

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

**Elektrophysiologische Studien, Impedanzmessungen und
Histologie bei PTFEP-beschichteten Cochlea-Implantaten
am Meerschweinchen-Modell**

von
Johannes Carl Fischer
aus Kulmbach

München 2015

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Lehrstuhl: Institut für Tierpathologie

Arbeit angefertigt unter der Leitung von
Univ.-Prof. Dr. med. vet. Kaspar Matiasek

Angefertigt in der Hals-Nasen-Ohrenklinik und Poliklinik
der Technischen Universität München

Mentor: PD Dr. med. Thomas Stark

**Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. vet. Joachim Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. med. vet. Kaspar Matiasek

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. med. vet. Rüdiger T. Korb

Tag der Promotion: 18. Juli 2015

INHALTSVERZEICHNIS

I	EINLEITUNG	1
II	LITERATURÜBERSICHT	2
1	Anatomie des menschlichen Hörorgans	2
1.1	Makroskopischer Aufbau des menschlichen Ohres	2
1.2	Die Gehörschnecke (Cochlea).....	3
1.3	Histologischer Aufbau des Corti-Organes	4
1.4	Aufbau der zentralen Hörbahn	6
2	Hörvorgänge	7
2.1	Physiologische Grundlagen.....	7
2.1.1	Reizleitung im Mittelohr und Reizaufnahme in der Hörbahn.....	7
2.1.2	Schalltransformation in der Cochlea	8
2.1.3	Schallcodierung und Signalverarbeitung in der Hörbahn	9
2.2	Ursachen und topodiagnostische Einteilung von Hörverlust	10
3	Das Meerschweinchen in der Hörforschung	10
4	Cochlea-Implantate	11
4.1	Indikationen.....	11
4.2	Technischer Aufbau	12
4.3	Funktionsweise.....	13
4.4	Hörimplantat-System mit elektrisch-akustischer Stimulation.....	14
4.5	Elektrodeninsertionstrauma.....	14
5	Cochleäre Gewebereaktion nach Elektrodeninsertion	16
5.1	Biokompatibilität von Silikon	16
5.2	Allgemeine molekulare Reaktionen des Körpers auf Biomaterialien.....	17
5.3	Gewebereaktion nach Cochlea-Implantation	19
5.4	Folgen.....	20
5.5	Alternative Elektrodenbeschichtungen	21
6	Poly[bis(trifluoroethoxy)phosphazene]	23
6.1	Molekularer Aufbau und Biokompatibilität.....	23
6.2	Klinische Anwendungen von PTFEP	24
III	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	26
1	ZIELSETZUNG	26

2 MATERIAL UND METHODEN	26
2.1 Versuchstiere	26
2.2 Implantat.....	27
2.3 Versuchsplan	29
2.3.1 Prä- und postoperative Hörmessungen.....	29
2.3.2 Impedanzmessungen	29
2.4 Versuchsdurchführung	30
2.4.1 Narkose und Narkoseüberwachung.....	30
2.4.2 Implantation	31
2.4.2.1 Cochlea-Implantation	31
2.4.2.2 Anbringen des Steckers	33
2.4.2.3 Schmerzmanagement und Infektionsprophylaxe	33
2.4.2.4 Überwachung der Versuchstiere und Abbruchkriterien.....	34
2.4.3 Messungen.....	34
2.4.3.1 Vorbereitung für die Messungen.....	34
2.4.3.2 Registrierung von ABRs („Auditory Brainstem Responses“)	35
2.4.3.3 Messung der Elektrodenimpedanzen	37
2.4.3.3.1 Messsystem MED-EL MAESTRO	37
2.4.3.3.2 Messsystem GP_Imp.....	38
2.4.3.3.3 Bestimmung komplexer Widerstände	39
2.4.3.3.4 Konditionierung der Elektroden.....	41
2.4.4 Versuchsende und Probengewinnung	42
2.4.5 Histologische Aufbereitung der Cochleae.....	42
2.4.5.1 Fixierung, Entkalkung und Paraffineinbettung	42
2.4.5.2 Entparaffinierung und histologische Färbungen	43
2.4.5.2.1 Hämatoxylin-Eosin (HE)-Färbung.....	43
2.4.5.2.2 Immunhistologische Färbung mit GAP43-Antikörpern.....	43
2.4.5.3 Auswertung der Hörmessungen	45
2.4.5.4 Auswertung der Impedanzmessungen.....	45
2.4.5.5 Histologie	46
2.4.5.6 Immunhistologie.....	48
2.4.6 Statistik.....	49
IV ERGEBNISSE.....	51
1 Hörmessungen	51

2	Impedanzmessungen	56
2.1	Validierung der Impedanzmesssysteme	56
2.2	Messergebnisse.....	59
2.2.1	Impedanzausfälle.....	59
2.2.2	Impedanzvergleich apikaler und basaler Kontakt	61
2.2.3	Gruppenvergleich der Messergebnisse von Tag 0 bis Woche 5	61
2.2.4	Einfluss einzelner Faktoren auf die Impedanzergebnisse	65
2.2.5	Konditionierung der Elektrodenkontakte	66
3	Histologie.....	68
3.1	Makroskopische Beurteilung äußerer Strukturen.....	68
3.2	HE-Färbungen	69
3.3	Korrelationsanalysen mit Ergebnissen der Hörmessungen.....	73
3.4	Immunhistologie.....	73
V	DISKUSSION.....	75
1	Impedanzmessungen	75
1.1	Methodenvalidierung: Differierende Messergebnisse bei MED-EL MAESTRO und GP_Imp aufgrund unterschiedlicher technischer Ansätze	75
1.2	Erhöhung der Messgenauigkeit bei GP_Imp durch aufeinander folgende Messwiederholungen und Mittelung.....	76
1.3	Technische Defekte an den Implantaten vermutlich ursächlich für Ausfälle bei den Impedanzmessungen.....	76
1.4	Reduktion der Impedanzen durch Elektrodenkonditionierung nachweisbar	79
1.5	PTFEP-Beschichtung und Impedanzen: Abweichende Resultate zwischen Ausgangsmessung an Tag 0 und Woche 1 bis Woche 16.....	80
2	Hörmessungen	83
2.1	Gruppenübergreifende Beobachtungen: Parallelen und Unterschiede der Messergebnisse zu vergleichbaren Studien.....	83
2.2	Gruppenvergleichende Beobachtungen: Multikausale Zusammenhänge als Ursache für nicht-signifikantes Ergebnis bei den Messergebnissen	86
3	Histologische Untersuchungen	87
4	Studiendesign	92
5	Ausblick.....	96

VI	ZUSAMMENFASSUNG	98
VII	SUMMARY	100
VIII	LITERATURVERZEICHNIS.....	102
IX	ANHANG	118
X	DANKSAGUNG	130

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung
ABR	<i>engl.</i> auditory brainstem response (akustisch evozierte Hirnstamm- potenziale)
BERA	<i>engl.</i> brainstem evoked response audiometry
µg/ml	Mykrogramm/Milliliter
AIV	Absolute Impedanzveränderung
A.	<i>Arteria</i>
AUC	<i>engl.</i> area under the curve
Aqua des.	<i>Aqua destillata</i>
BDNF	<i>engl.</i> brain-derived neurotrophic factor
°C	Grad Celsius
CI	Cochlea-Implantat
CI 95%	Konfidenzintervall 95 %
cm	Zentimeter
dB	Dezibel
DIN	Deutsches Institut für Normung
EAS	elektrisch-akustische Stimulation
EDV	Elektronische Datenverarbeitung
EIT	Elektrodeninsertionstrauma
et al.	<i>et alii</i>
eV	Elektronenvolt
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
FBGC	<i>engl.</i> foreign body giant cell (Fremdkörperriesenzelle)
G	Gauge
g	Gramm
GAP43	<i>engl.</i> growth-associated protein 43 (wachstumsassoziiertes Protein GAP43)
HE	Hämatoxylin-Eosin
Hz	Hertz
IgG	Immunglobulin G
IHZ	innere Haarzellen
IL-4	Interleukin-4
IL-13	Interleukin-13

kHz	Kilohertz
kg	Kilogramm
kΩ	Kilohm
LoA	<i>engl.</i> limits of agreement
M.	<i>Musculus</i>
mg/kg	Milligramm pro Kilogramm
mg/ml	Milligramm pro Milliliter
ml	Milliliter
ml/min	Milliliter pro Minute
mm	Millimeter
ms	Millisekunden
μg/ml	Mykrogramm/Milliliter
n	Anzahl der Fälle
OHZ	äußere Haarzellen
PBS	<i>engl.</i> phosphate-buffered saline solution (Phosphatgepufferte Kochsalzlösung)
PC	Personal Computer
PDMAA	Poly(dimethylacrylamid)
PDMS	Poly(dimethylsiloxan)
PEDOT	Poly(3,4-ethylendioxythiophen)
PEtOx	Poly(2-ethylloxazolin)
pH	pH-Wert
PMN	<i>engl.</i> polymorphonuclear neutrophil (Neutrophiler Granulozyt)
PTFEP	Poly[bis(trifluoroethoxy)phosphazen]
R	Widerstand
ROS	<i>engl.</i> reactive oxygen species (Sauerstoffradikale)
S.	<i>Scala</i>
SGN	<i>engl.</i> spiral ganglion neurons (Spiralganglienzellen)
SPLpe	<i>engl.</i> sound pressure level peak equivalent (Schalldruckpegel)
Tab.	Tabelle
U	Spannung
Stabw.	Standardabweichung
VAA	vollständig antagonisierbare Anästhesie
vWF	von-Willebrand-Faktor

ZNS	Zentralnervensystem
Ø	Durchschnitt
%	Prozent
<	kleiner als
>	größer als
≈	circa
=	gleich

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

<i>Abb. 1: Längsschnitt durch die Cochlea eines Meerschweinchens</i>	4
<i>Abb. 2: Komponenten eines Cochlea-Implantates</i>	13
<i>Abb. 3: Cochlea mit Implantat</i>	18
<i>Abb. 5: Strukturformel von Poly[bis(trifluoroethoxy)phosphazen]</i>	23
<i>Abb. 6: Biologische Eigenschaften von PTFEP als Beschichtung von Implantaten</i>	24
<i>Abb. 7: 5-poliger Stecker mit Implantat</i>	27
<i>Abb. 8: Messergebnisse der Röntgen-Photoelektronen-Spektroskopie, Teil I</i>	28
<i>Abb. 9: Messergebnisse der Röntgen-Photoelektronen-Spektroskopie, Teil II</i>	29
<i>Abb. 10: Versuchsplan</i>	30
<i>Abb. 11: Cochlea-Implantation</i>	32
<i>Abb. 12: Schematischer Aufbau der ABR-Messeinrichtung</i>	36
<i>Abb. 13: Schemazeichnung Messaufbau MED-EL MAESTRO</i>	37
<i>Abb. 14: Schaltbild der Messeinrichtung GP_Imp</i>	38
<i>Abb. 15: Schemazeichnung komplexer Widerstand</i>	39
<i>Abb. 16: Messreihen mit ohmschen Widerständen</i>	40
<i>Abb. 17: Schemazeichnung Elektrodenkonditionierung</i>	41
<i>Abb. 18: Entparaffinierungsprotokoll und Ablauf Hämatoxylin-Eosin-Färbung</i>	44
<i>Abb. 19: Einteilung der S. tympani in 4 Quadranten</i>	48
<i>Abb. 20: Immunhistologische Färbung der Spiralganglienzellen</i>	49
<i>Abb. 21: Verlauf der Schwellenverschiebungen (Click-Stimuli)</i>	52
<i>Abb. 22: Verlauf Schwellenverschiebungen (1–3 kHz)</i>	54
<i>Abb. 23: Verlauf Schwellenverschiebungen (4–12 kHz)</i>	55
<i>Abb. 24: Verlauf Schwellenverschiebungen (16–32 kHz)</i>	56
<i>Abb. 25: Methodenvergleich nach Bland-Altman</i>	57
<i>Abb. 26: Methodenvergleich nach Passing-Bablok</i>	58
<i>Abb. 27: Impedanz-Verlaufskurven basaler Kontakt</i>	63
<i>Abb. 28: Impedanz-Verlaufskurven apikaler Kontakt</i>	65
<i>Abb. 29: Einsicht in eröffnete Mittelohrhöhle eines Meerschweinchens</i>	68
<i>Abb. 30: Gewebeproliferation in der S. tympani der basalen Windung der Cochlea</i>	70
<i>Abb. 31: Implantierte Cochlea mit geringgradiger Gewebereaktion in der S. tympani</i>	70

TABELLENVERZEICHNIS

<i>Tab. 1: Akustisch gemessene Bezugsschalldruckpegel für 0 dB Einstellung</i>	36
<i>Tab. 2: Immunhistologie mit GAP43-Antikörpern</i>	45
<i>Tab. 3: Graduierungsschema für histologische Auswertung</i>	47
<i>Tab. 4: Übersicht p-Werte aus Ergebnissen der ABR-Hörmessungen</i>	53
<i>Tab. 5: Übersicht Impedanzausfälle</i>	60
<i>Tab. 6: Vergleich der Impedanzwerte zwischen apikalem und basalem Kontakt</i>	61
<i>Tab. 7: Übersicht Ergebnisse der Impedanzmessungen Tag 0 bis Woche 5</i>	64
<i>Tab. 8: Übersicht Effektstärken einzelner Faktoren auf die Impedanzergebnisse</i>	66
<i>Tab. 9: Übersicht Effekt der Konditionierung auf die Impedanzwerte</i>	67
<i>Tab. 10: Ergebnisse Histologie (HE-Färbung)</i>	72
<i>Tab. 11: Korrelationsanalyse Histologie und Hörmessungen</i>	73
<i>Tab. 12: Ergebnisse der immunhistologischen Untersuchung</i>	74
<i>Tab. 13: Überwachung der Versuchstiere und Abbruchkriterien</i>	118
<i>Tab. 14: Detail-Übersicht Ergebnisse der ABR-Hörmessungen</i>	120
<i>Tab. 15: Detail-Übersicht Ergebnisse der Impedanzmessungen am apikalen Kontakt</i>	122
<i>Tab. 16: Detail-Übersicht Ergebnisse der Impedanzmessungen am basalen Kontakt</i>	123
<i>Tab. 17: Detail-Übersicht Ergebnisse der histologischen Auswertung</i>	124
<i>Tab. 18: Messreihe ohmscher Widerstände mit GP_Imp und MED-EL MAESTRO</i>	125
<i>Tab. 19: Verbrauchs- und Materialliste</i>	126

I EINLEITUNG

Cochlea-Implantate (CIs) wandeln den ankommenden akustischen Schall in ein elektrisches Pulsmuster um. Über Stimulationselektroden werden diese Impulse im Innenohr direkt unter Umgehung der defekten Haarzellen an den Hörnerv weitergegeben und erzeugen dadurch einen Höreindruck bei den CI-Patienten. Mit der Etablierung von CIs ist es erstmals gelungen, in der Praxis ein defektes Sinnesorgan erfolgreich zu ersetzen (Dillier 2001). Seit Beginn der ersten Implantationen in den 70er Jahren hat sich die CI-Forschung enorm weiterentwickelt und es werden stetig neue, modifizierte Implantattypen auf den Markt gebracht, die bei den CI-Patienten zu einem immer besseren Hör- und Klangempfinden führen. Auch das Indikationsspektrum für eine Implantation hat sich dabei stetig erweitert. Wurden anfangs vornehmlich postlingual ertaubte Erwachsene implantiert, so ist heute eine frühzeitige CI-Versorgung bei ertaubten Kindern zu einem Routineeingriff geworden (Klingmann und Plinkert 2009). Ferner können durch eine Kombination von herkömmlichen schallverstärkenden Hörgeräten und CIs heutzutage auch Patienten mit Resthörvermögen im Tieftonbereich von einem CI profitieren. Es ist zu erwarten, dass die Zahl der CI-Patienten immer weiter ansteigt. Bis heute wurden bereits etwa 30.000 hörgeschädigte Patienten in Deutschland mit einem CI versorgt.

Es existieren zahlreiche Ansätze zur weiteren Verbesserung der Implantate. Neben vielen technischen Innovationen liegt ein weiterer Schwerpunkt der Forschung und Entwicklung auf der Eindämmung chronischer Entzündungsprozesse und fibrotischer Gewebereaktionen in der Cochlea nach der Implantation, deren Ursachen und Mechanismen noch nicht hinreichend geklärt werden konnten. Unter anderem wird hierfür eine Fremdkörperreaktion auf das Implantat verantwortlich gemacht (Nadol et al. 2008). Eine Möglichkeit wäre daher, durch Modifikationen der Implantatoberfläche diesen intracochleären Gewebereaktionen entgegenzuwirken. In der vorliegenden Studie wurde nun der Effekt einer Beschichtung der Implantate mit Poly[bis(trifluoroethoxy)phosphazen] (PTFEP), einem hoch biokompatiblen anorganischen Polymer, das bereits erfolgreich als passivierende Oberflächenbeschichtung von kardiovaskulären Stents eingesetzt wird, in diesem Zusammenhang untersucht.

II LITERATURÜBERSICHT

1 Anatomie des menschlichen Hörorgans

1.1 Makroskopischer Aufbau des menschlichen Ohres

Das menschliche Hörorgan besteht aus einem peripheren und einem zentralen Teil. Der periphere Teil setzt sich aus dem **äußeren Ohr** (*Auris externa*), dem **Mittelohr** (*Auris media*), dem **Innenohr** (*Auris interna*) und dem **achten Hirnnerv** (*Nervus vestibulocochlearis*) im inneren Gehörgang zusammen. Der zentrale Teil umfasst alle Strukturen des Zentralnervensystems vom Hirnstamm bis zum Cortex, die an der Reizverarbeitung bis hin zur Sinneswahrnehmung beteiligt sind (Boenninghaus und Lenarz 2007).

Zum **äußeren Ohr** gehört zum einen die Ohrmuschel (*Auricula*), die durch einen zwischen zwei Hautblättern liegenden elastischen Knorpel (*Cartilago auriculae*) geformt wird, und zum anderen der äußere Gehörgang (*Meatus acusticus externus*) mit einem knorpeligen äußeren und einem knöchernen inneren Anteil. Er hat eine Länge von 3,0 bis 3,5 cm und weist am Übergang vom knorpeligen zum knöchernen Abschnitt eine Engstelle (*Isthmus*) auf. Das Trommelfell (*Membrana tympani*) am medialen Ende des knöchernen Gehörgangs grenzt das Außenohr vom **Mittelohr** ab. Es wird von einem verdickten Rand aus Faserknorpel (*Anulus fibrocartilagineus*) umgeben, mit dem es in einer knöchernen Einkerbung (*Sulcus tympanicus*) straff eingespannt ist. Das Trommelfell hat die Form eines nach innen gerichteten flachen Trichters mit einem Nabel (*Umbo*) an seiner Spitze (Boenninghaus und Lenarz 2007). Hinter dem Trommelfell liegen folgende weitere Strukturen des Mittelohres: Hörtrompete (*Tuba auditiva eustachii*, *Eustachische Röhre*), Paukenhöhle (*Cavum tympani*) und verschiedene, mit Schleimhaut ausgekleidete, pneumatische Räume. Die Hörtrompete bildet das Verbindungsstück zwischen dem Mittelohr und dem Nasenrachenraum (*Rhinopharynx*) und dient dem Druckausgleich. In der Paukenhöhle liegen die drei kettenförmig angeordneten Gehörknöchelchen (*Ossicula auditoria*): Hammer (*Malleus*), Amboss (*Incus*) und Steigbügel (*Stapes*). Sie sind über zwei echte Gelenke miteinander verbunden und bilden ein Hebelsystem (Hees und Sinowatz 1992). Der Hammer ist über seinen Griff und einen kurzen Fortsatz in die straffe Bindegewebsschicht (*Pars tensa*) des Trommelfells eingelassen. Der Steigbügel liegt als letztes Gehörknöchelchen in Richtung Innenohr mit seiner Fußplatte (*Basis stapedis*) wie der Kolben einer Spritze beweglich dem ovalen Fenster auf (Klinke 2003).

Hinter dem ovalen Fenster beginnt das **Innenohr** mit seinen als Hohlraumssystem (Labyrinth) angelegten 2 funktionellen Hauptteilen, dem Vestibularapparat (*Organum vestibulare*) als Endorgan des Gleichgewichtssinnes und der rostroventral davon gelegenen Gehörschnecke (*Cochlea*), die für die Hörwahrnehmung zuständig ist. Sie liegen in der Pyramide des Felsenbeins (Hees und Sinowatz 1992). Das Hohlraumssystem, bestehend aus dem Vorhof (*Vestibulum*), den drei Bogengängen (*Canales semicirculares*) und der Gehörschnecke (*Cochlea*), wird aus einem häutigen Labyrinth (*Labyrinthus membranaceus*) gebildet, das von einem knöchernen Labyrinth (*Labyrinthus osseus*) schützend umgeben wird. Zwischen diesen beiden Strukturen befinden sich die perilymphatischen Räume. Sie stehen über den *Aquaeductus vestibuli* und *Aquaeductus cochleae* mit dem Subarachnoidalraum der Schädelhöhle in Verbindung (Böhme 2003).

1.2 Die Gehörschnecke (Cochlea)

Die Cochlea besteht aus 3 übereinanderliegenden Kanälen, den *Scalae* (siehe Abb. 1). Sie winden sich zweieinhalb mal spiralig um die zentrale Schneckenachse (*Modiolus*) (Probst et al. 2008). Im Modiolus verlaufen Blutgefäße und nervale Bahnen, die die Cochlea versorgen. Die oben verlaufende *Scala vestibuli* und die unterhalb liegende *Scala tympani* stehen am apikalen Ende der Cochlea durch das *Helicotrema* miteinander in Verbindung. Sie sind mit Perilymphe (Na^+ -reich, K^+ -arm) gefüllt. Die *Scala vestibuli* endet im Vorhof und wird durch die Stapedesfußplatte am ovalen Fenster (*Fenestra ovale*) abgeschlossen. Bei der *Scala tympani* bildet die nachgiebige Abschlussmembran des runden Fensters (*Fenestra rotunda*) den Übergang zum Mittelohr (Oliver und Fakler 2005). Zwischen den beiden Skalen liegt die mit Endolymphe (K^+ -reich, Na^+ -arm) gefüllte *Scala media (Ductus cochlearis)*. Sie endet blind und hat im Querschnitt eine dreieckige Form (Boenninghaus und Lenarz 2007). Die *Scala media* wird von beiden Seiten membranös begrenzt und wird daher auch als häutige Schnecke bezeichnet (Banfai 1985). Die obere Wand der *Scala media* wird von der gefäßlosen Reissnermembran gebildet (*Membrana vestibularis*). Sie fungiert als Abgrenzung zur oberhalb verlaufenden *Scala vestibuli*.

Die Basilarmembran (*Membrana basilaris*) bildet den Boden der *Scala media* und grenzt den *Ductus cochlearis* gegen die unterhalb gelegene *Scala tympani* ab. Sie ist zwischen der knöchernen *Lamina spiralis ossea*, eine von der Schneckenachse ausgehende, simsartige Knochenlamelle, und der lateralen Schneckenwand befestigt. Die Basilarmembran trägt den sensorischen Apparat, das Corti-Organ. Sie besteht im Wesentlichen aus kollagenen Fasern und verbreitert sich zunehmend von der Schneckenbasis bis zur Schneckenspitze (Hees und Sinowatz 1992). Seitlich wird die *Scala media* vom *Ligamentum spirale (Stria vascularis)*

begrenzt. Dieser kapillarreiche Gewebestreifen steuert den Stoffwechsel des gefäßlosen Corti-Organ und reguliert die Elektrolytzusammensetzung der Endolymphe (Banfai 1985). Die basale Schneckenwindung, die sich in die Paukenhöhle vorwölbt, wird als Promontorium bezeichnet.

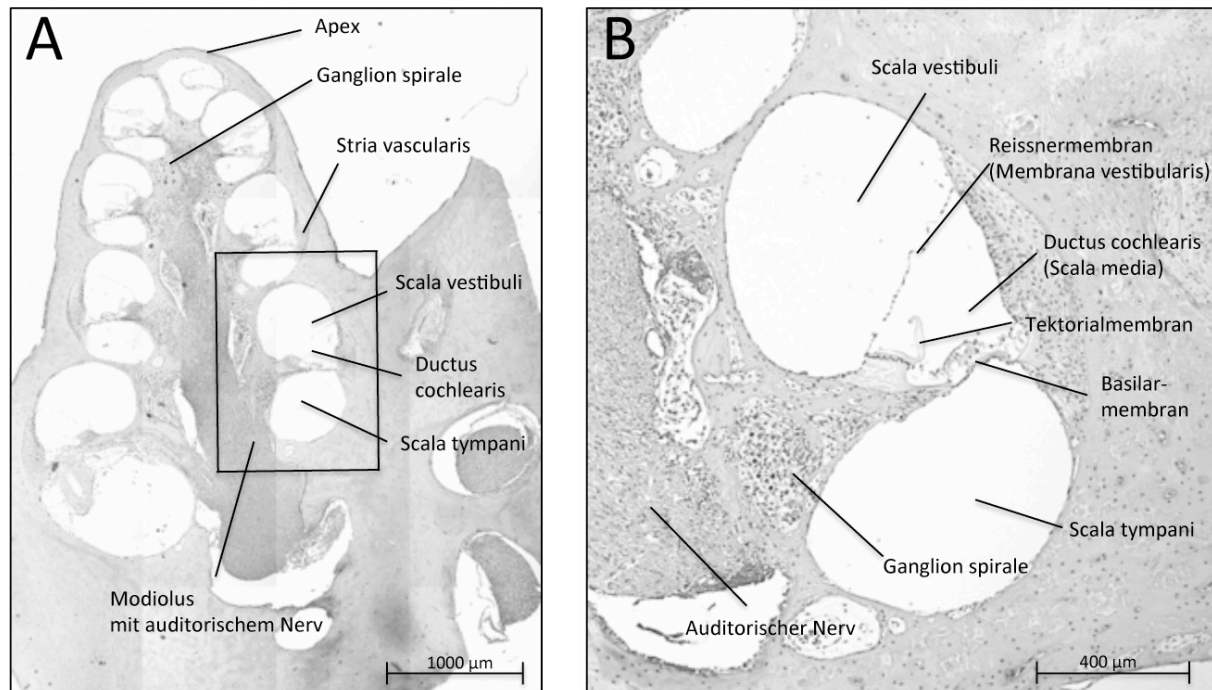


Abb. 1: Längsschnitt durch die Cochlea eines Meerschweinchen in der Übersicht (A) und Ausschnitt der basalen Cochlea-Windung (B), Schnittebene sagittal durch den Modiolus, Schnittdicke 4 µm, x 50 (A) und x 100 (B).

1.3 Histologischer Aufbau des Corti-Organ

Das Sinnesepithel in der Cochlea setzt sich aus zwei verschiedenen Arten von mechanorezeptiven Sinneszellen zusammen: Den inneren (IHZ) und den äußeren Haarzellen (OHZ). Sie sitzen der Basilmembran auf und bilden zusammen mit verschiedenen Typen von Stützzellen (Pfeiler-Zellen, Phalangen-Zellen, Hensen-Zellen, Claudius-Zellen) das Corti-Organ (Hees und Sinowatz 1992).

Die unterschiedlich geformten Stützzellen bilden innerhalb des Corti-Organ ein kompliziertes Raumsystem aus insgesamt drei spiralförmig verlaufenden Kanälen. Die dachbalkenartig gegeneinander geneigten inneren und äußeren Pfeiler-Zellen schließen einen Hohlraum ein, den sogenannten Cortischen Tunnel (innerer Tunnel) (Banfai 1985). Dieser trennt die axial gelegenen inneren Haarzellen von den weiter peripher gelegenen äußeren Haarzellen räumlich voneinander ab. Andere Stützzellen, die Phalangen-Zellen, dienen als Fundament für die Haarzellen. Außerdem bilden Fortsätze der Phalangen-Zellen an der

Oberfläche des Corti-Organs eine gitterartige Membran (Retikularmembran) aus, durch deren Öffnungen die Sinneszellen die Oberfläche erreichen (Banfai 1985). Die äußeren Phalangen-Zellen (Deuter-Stützzellen), Hensen- und Claudius-Zellen formen die beiden anderen, weiter lateral gelegenen Kanäle, den „Nuel-Raum“ (mittlerer Tunnel) und den äußeren Tunnel (Hees und Sinowatz 1992). Alle Kanäle des Corti-Organs stehen untereinander in Verbindung. Sie sind mit Corti-Lymphgefüllt, die in ihrer ionalen Zusammensetzung der Perilymphe ähnlich ist (Banfai 1985).

Jedes menschliche Ohr besitzt etwa 3.500 innere Haarzellen, die sich in einer einzelnen Reihe von der kochleären Basis bis zum Apex erstrecken. Die 12.000 äußeren Haarzellen sind in drei Reihen parallel zu den inneren Haarzellen angeordnet (Oliver und Fakler 2005). Jede Haarzelle trägt an ihrer freien, apikalen Oberfläche ein Haarbüschel von etwa 80 feinen Sinneshärchen, den Stereozilien. Diese sind auf jeder Sinneszelle in der charakteristischen Form eines nach innen konkaven V angeordnet (Hees und Sinowatz 1992) und orgelpfeifenartig abgestuft. Je weiter innen sich eine Stereozilienreihe befindet, desto kürzer ist diese. Somit folgt der innersten Stereozilienreihe einer Haarzelle eine Reihe längerer Stereozilien, auf die erneut eine Reihe längerer Stereozilien folgt (Zenner 2006). Untereinander sind die jeweils niedrigeren Stereozilien an ihren Spitzen mit den jeweils längeren Stereozilien über dünne Eiweißfäden (tip-links) verbunden. Am Ansatzpunkt dieser „tip-links“ an den Stereozilien befinden sich Ionenkanäle. Diese spielen bei der Transduktion des Schallreizes in ein Rezeptorpotential eine entscheidende Rolle. In den Stereozilien befindet sich ein Gerüst aus quervernetzten Aktinfilamenten (Oliver und Fakler 2005). Das Corti-Organ wird zungenförmig von der Tektorialmembran (*Membrana tectoria*) bedeckt. Es handelt sich dabei um eine gallertig-filamentöse Struktur, an deren Unterseite die Spitzen der längsten Stereozilien der äußeren Haarzellen hineinragen. Die Stereozilien der inneren Haarzellen flottieren hingegen frei in der Endolymphe.

Die Innervation der Haarzellen erfolgt durch den *Nervus cochlearis*, einen Ableger des VIII. Hirnnervs (*Nervus vestibulocochlearis*). Dessen Nervenbahnen verlaufen innerhalb des hohlen Modiolus der Schnecke und bilden darin das *Ganglion spirale cochleae*. Davon ausgehend verlassen dendritische Fortsätze der bipolaren Neurone den zentralen Kanal der Cochlea und ziehen unter Bildung eines weitmaschigen Geflechts durch die Nervenfächer der Lamina spiralis zum Cortischen Organ (Hees und Sinowatz 1992). Im weiteren Verlauf durchbrechen die Fasern unter Verlust ihrer Myelinscheide die Basilarmembran, überbrücken den Interzellularraum und enden mit Ausbildung einer Synapse an der Basis der Haarzellen (Bargmann 1967). Somit handelt es sich bei den Haarzellen um sekundäre Sinneszellen, da

sie selbst keine neuronalen Fortsätze ausbilden. Etwa 90 % der afferenten Fortsätze sind myelinisiert. Diese sind unverzweigt mit jeweils nur einer inneren Haarzelle verbunden. Eine innere Haarzelle wird dabei von etwa 20 dieser Axone innerviert. Die verbleibenden 10 % nicht-myelinisierten, afferenten Fasern sind dagegen vielfach verzweigt und ziehen zu den äußeren Haarzellen (Klinke 2003). Die inneren Haarzellen sind somit die eigentlichen Rezeptorzellen der Cochlea und sind für die Übermittlung der afferenten, akustischen Information über den Hörnerv an das zentrale Nervensystem (ZNS) verantwortlich (Hees und Sinowitz 1992). Die Cochlea wird auch von efferenten Fasern innerviert. Diese enden vorwiegend an den äußeren Haarzellen und haben eine regulierende Funktion. Die efferenten Fasern werden auch als olivokochleäres Bündel bezeichnet, da sie größtenteils von der kontralateralen und in geringem Maße auch von der ipsilateralen oberen Olive entstammen (Zenner 2006).

1.4 Aufbau der zentralen Hörbahn

Die akustische Information wird über eine Kette von mindestens fünf bis sechs hintereinander geschalteten Neuronen weitergeleitet. Die einzelnen Neurone sind dabei über Synapsen miteinander verbunden. Die neuronale Erregung wird über Neurotransmitter vermittelt. Innerhalb der einzelnen Neuronen erfolgt der Signaltransfer über Nervenaktionspotentiale (Oliver und Fakler 2005, Zenner 2006). In der Cochlea bilden die axonalen Fortsätze der bipolaren Neurone den N. cochlearis. Dieser verlässt das Innenohr über den inneren Gehörgang (*Meatus acusticus internus*), tritt mit seinen Nervenfasern über den Kleinhirnbrückenwinkel in den Hirnstamm ein und endet im dorsalen und ventralen Cochleariskern (*Nucleus cochlearis dorsalis et ventralis*) (Boenninghaus und Lenarz 2007). Im Cochleariskern werden die Nervenfasern jeweils zum zweiten Neuron umgeschaltet. Von dort beginnt die zentrale Hörbahn: Vom dorsalen Kern verlaufen die Fasern gekreuzt zum *Colliculus inferior* auf der anderen Seite (Boenninghaus und Lenarz 2007). Vom ventralen Kern ziehen sich die Fasern größtenteils gekreuzt zur oberen Olive der gegenüber liegenden Seite sowie teils ungekreuzt zur gleichen Seite. Im weiteren Verlauf ziehen die darauf folgenden höheren Neurone nach jeweiliger Umschaltung im *Lemniscus lateralis* über den *Colliculus inferior* zum *Corpus geniculatum mediale*. Die afferenten Nervenbahnen enden in der primären Hörrinde in den Heschelschen Querwindungen im dorsalen Bereich des Temporallappens oder im umliegenden sekundären auditorischen Kortex. Der Großteil der Nervenfasern kreuzt somit im zweiten Neuron auf die kontralaterale Seite. Jedes Corti-Organ steht allerdings mit beiden Seiten des auditorischen Kortex in Verbindung, da ein Teil der Fasern auch ipsilateral verläuft und eine ausgedehnte neuronale Vernetzung über zusätzliche

Interneurone und Kollaterale besteht (Oliver und Fakler 2005).

2 Hörvorgänge

2.1 Physiologische Grundlagen

Der Hörprozess kann topographisch wie auch funktionell in folgende vier Schritte unterteilt werden: **Schalltransport** über Luft- und Knochenleitung in das Innenohr, **Schalltransformation** in der Cochlea, **Reizfortleitung** in den Nervenfasern und **Reizverarbeitung** in der zentralen Hörbahn (Boenninghaus und Lenarz 2007).

2.1.1 Reizleitung im Mittelohr und Reizaufnahme in der Hörbahn

Die Gehörknöchelchen übertragen die auf das Trommelfell auftreffenden Schallwellen auf das ovale Fenster. Es kommt aufgrund bestimmter statischer und dynamischer Eigenschaften zu einer Impedanzwandlung, die eine 20-fache Druckverstärkung bewirkt. Dabei wirken die Gehörknöchelchen zum einen wie ein Hebelsystem. Zum anderen ist die Fläche der Steigbügelplatte (60 mm²) beträchtlich größer als die Fläche des Trommelfells (3,5 mm²) (Hees und Sinowatz 1992). Durch diese Mechanismen können 60 % und nicht nur 2 % der Schallenergie in das Innenohr übertragen werden (Zenner 2006). Die auftreffende Schallenergie versetzt die Steigbügelplatte in Bewegung und führt zu einer Volumenverschiebung der angrenzenden Perilymphe. Da die Perilymphe als Flüssigkeit nahezu inkompressibel ist, findet ein Druckausgleich über die elastische Membran des ovalen Fensters statt. Die Volumenverschiebung der Perilymphe führt nun zu einer wellenförmigen Bewegung (Wanderwelle) entlang der Basilar-, Tektorial- und Reissnermembran vom ovalen Fenster bis zur Schneckenspitze, vergleichbar mit den Wellen entlang eines sich horizontal gehaltenen und an einem Ende auf und ab bewegten Seils (Klinke 2003, Boenninghaus und Lenarz 2007).

Aufgrund spezieller mechanischer Eigenschaften der Basilarmembran bildet diese Wanderwelle in ihrem Verlauf entlang der Cochlea ein Amplitudenmaximum aus. Der Ort dieser Maximalauslenkung ist frequenzspezifisch: Je tiefer ein Ton ist, umso weiter muss die Wanderwelle zunächst entlang der cochleären Membranen in Richtung Schneckenspitze hineinlaufen, bis sie schließlich ihr Amplitudenmaximum erreicht und dahinter schnell wieder abflacht (Oliver und Fakler 2005, Keck und Mrowinski 2006, Zenner 2006). Dies ermöglicht eine räumliche Auftrennung der Schallwellen nach Frequenzen (tonotopische Frequenzdispersion) (Banfai 1985). Somit kann jedem Ort der Basilarmembran eine bestimmte Frequenz zugeordnet werden (Ortsprinzip, Ortstheorie, Tonotopie).

2.1.2 Schalltransformation in der Cochlea

Die Tektorialmembran sowie das Corti-Organ sind unabhängig voneinander an der Schneckenmitte befestigt. Dabei ergibt sich bei der Auslenkung der cochleären Membranen eine relative Verschiebung der Tektorialmembran gegenüber der Basilarmembran (Hees und Sinowatz 1992). Dies führt vorwiegend im Bereich des Amplitudenmaximums zu einer Scherbewegung (Deflektion) der Stereozilien der äußeren Haarzellen zunächst in Richtung der längsten Stereozilien. Auch die Stereozilien der inneren Haarzellen, die nicht direkt mit der Tektorialmembran in Verbindung stehen, werden durch eine radiale Flüssigkeitsbewegung im Spalt zwischen Corti-Organ und Tektorialmembran ausgelenkt (Oliver und Fakler 2005). Durch den Zug an den „tip-links“ werden nun temporär Ionenkanäle (Transduktionskanäle) der Haarzellen geöffnet. Aufgrund der hohen Potentialdifferenz zwischen der Scala media (+85 mV) und dem Inneren der Sinneszelle (-70 mV) kommt es entlang des Konzentrationsgefälles zu einem Einstrom von Kaliumionen von der positiv geladenen Endolymphe in das negativ geladene Zytoplasma der Sinneszellen. Diese Depolarisation erzeugt in den entsprechenden Haarzellen ein Rezeptorpotential. In den inneren Haarzellen führt dies zu einem intrazellulären Anstieg der Kalziumkonzentration und es werden Neurotransmitter, hauptsächlich Glutamat, in den synaptischen Spalt freigesetzt. In den dazugehörigen afferenten Nervenfasern werden nun Aktionspotentiale ausgelöst, wobei der Reiz weitergeleitet wird (Zenner 2006).

Das Stereozilienbündel ist richtungsempfindlich. Entsprechend der Auf- und Abbewegung der cochleären Membranen folgt der Scherbewegung der Stereozilienreihe zur nächsthöheren eine Deflektion in die Gegenrichtung, also zum niedrigsten Stereozilium (Oliver und Fakler 2005). Die Ionenkanäle werden nun wieder verschlossen und die Haarsinneszelle wird wieder über einen energieverbrauchenden Ionenrücktransport repolarisiert (Boenninghaus und Lenarz 2007). Die äußeren Haarzellen sind elektromotil und wirken beim Prozess der Schalltransformation als cochleäre Verstärker (Oliver und Fakler 2005). Sie kontrahieren sich bei Depolarisation über das Motorprotein Prestin und elongieren sich wieder im hyperpolarisierten Zustand. Die Wanderwelle entlang der cochleären Membranen wird dadurch bei geringem Schalldruckpegel um das fast 1.000-fache verstärkt und erzeugt ein extrem spitzes und eng umschriebenes Wanderwellenmaximum im Bereich der frequenzspezifischen Haarzellen (Zenner 2006). Zum einen wird durch diesen aktiven Vorgang die Sensitivität bei niedrigem und mittlerem Schalldruckpegel erhöht. Die Hörschwelle wird dadurch herabgesetzt. Zum anderen ermöglicht dies die Detektion feinsten Frequenzunterschiede, indem der Amplitudenverlauf schärfer dargestellt wird (Oliver und Fakler 2005). Je größer der Schalldruckpegel, umso geringer fällt dieser Verstärkungseffekt

aus. Ab 60dB SPL versagt dieser Verstärkungsmechanismus (Keck und Mrowinski 2006).

2.1.3 Schallcodierung und Signalverarbeitung in der Hörbahn

Die Mechanismen der Verarbeitung und Umwandlung der aufgenommenen akustischen Signale in eine bewusste Wahrnehmung sind komplex. Das Ortsprinzip bleibt grundsätzlich von der Cochlea bis zum auditorischen Kortex erhalten (Stumpner 2005). Jede Haarzelle besitzt eine Bestfrequenz, bei der die dazugehörigen afferenten Nervenfasern am empfindlichsten sind und bestmöglich erregt werden. Je weiter aber die Schallfrequenz von dieser Bestfrequenz abweicht, umso mehr muss der Schalldruckpegel erhöht werden, um diese Nervenfasern zu aktivieren (Klinke 2003, Oliver und Fakler 2005, Zenner 2006). Mit Zunahme der Schallintensität werden auch zunehmend benachbarte Nervenfasern angeregt (Rekrutierung) (Silbernagl und Despopoulos 2012). Bei Frequenzen bis 5 kHz erfolgt die Ortscodierung zusätzlich über die Periodizitätsanalyse. Dabei wertet das zentrale Nervensystem das zeitliche Muster von Aktionspotentialen in den erregten Neuronen aus und berechnet dann aus der Aktivität vieler paralleler Fasern die Tonfrequenz. Dieses Prinzip findet auch bei Cochlea-Implantaten Anwendung (Klinke 2003, Boenninghaus und Lenarz 2007).

Die Schallintensität wird anhand der Häufigkeit der ausgelösten Aktionspotentiale ermittelt. Die Dauer der Aktivierung der afferenten Bahnen kodiert die zeitliche Länge des Schallreizes. Je höher sich ein Neuron in der auditorischen Hörbahn befindet, umso mehr wird die im Schallreiz enthaltene Information über neuronale Schaltmechanismen und modulierend wirkende inhibitorische sowie exzitatorische Neurone weiter verarbeitet und für eine Auswertung im auditorischen Cortex vorbereitet (Zenner 2006). Es dominieren die kreuzenden Bahnen, sodass davon auszugehen ist, dass sich eine Erregung im linken Ohr vornehmlich in neuronalen Aktivitäten in der linken Gehirnhälfte widerspiegelt (Stumpner 2005). Im *Ganglion spirale* und in den *Nuclei cochlearis* erfolgt eine Rauschunterdrückung der ankommenden Signale. Die oberen Olivkerne und der *Nucleus accesorius* verarbeiten kontralaterale Impulse, detektieren Intensitätsunterschiede und erfassen Zeitunterschiede zwischen beiden Ohren. Sie bilden damit die Basis für Richtungshören (binaurales Hören). Der *Colliculus inferior* ist an auditorischen Reflexen beteiligt und koordiniert Informationen aus dem visuellen und akustischen Raum. Die Aufgaben der Hörrinde sind vielfältig. Sie analysiert komplexe Klänge und bildet das Kurzzeitgedächtnis für Tonhöhenunterschiede (Stumpner 2005, Silbernagl und Despopoulos 2012).

2.2 Ursachen und topodiagnostische Einteilung von Hörverlust

Je nach Lokalisation und Ätiologie unterscheidet man grundsätzlich zwischen drei Arten von Hörverlust. Bei einer **Schalleitungsschwerhörigkeit** (konduktive Schwerhörigkeit) liegt die Ursache im Außen- oder Mittelohr, bei der die Schallübertragung auf das Innenohr behindert oder blockiert wird. Bei einer **Schallempfindungsschwerhörigkeit** (sensorineuraler Schwerhörigkeit) ist ein Defekt im Innenohr (Innenohrschwerhörigkeit), seltener am Hörnerv oder im ZNS (retrocochleäre Hörstörung), der Grund für ein vermindertes Hörvermögen (Probst et al. 2008). Die häufigste Ursache ist ein Ausfall der Haarzellen in der Cochlea (Oshima et al. 2010). Die Gründe hierfür sind zahlreich. Ursachen können genetische Anomalien, Lärmexposition, ototoxische Substanzen, wie beispielsweise Aminoglykosid-Antibiotika oder bestimmte Zytostatika, lokale sowie systemische Infektionen und altersbedingte Schwerhörigkeit sein (Limberger und Zenner 1999, Richardson et al. 2008). Kann bei dieser Form von Hörverlust ein gering- bis mittelgradiger Hörverlust oftmals noch mit einem konventionellen Hörgerät für ein verbessertes Hörvermögen sorgen, so ist bei hochgradigem Hörverlust heute oft ein Cochlea-Implantat Mittel der Wahl (Oshima et al. 2010). Die dritte Form des Hörverlustes ist die **kombinierte Schwerhörigkeit**, also eine Kombination aus Schalleitungsschwerhörigkeit mit einer Schallempfindungsschwerhörigkeit.

3 Das Meerschweinchen in der Hörforschung

Das Meerschweinchen (*Cavia porcellus*) wird bereits seit langem in der Innenohrforschung eingesetzt, da die anatomischen Strukturen und der Aufbau einer Meerschweinchen-Cochlea weitestgehend denen einer menschlichen Cochlea entsprechen. Allerdings unterscheiden sie sich hinsichtlich ihrer Länge, der Anzahl der Windungen und der Ausrichtung. Die Cochlea eines Meerschweinchens ist 19 bis 21 mm lang (Felix 2002), besitzt 3,5 bis 3,75 Windungen und die Achse ist weniger geneigt als beim Menschen (Wysocki 2005). Die menschliche Cochlea hat hingegen 2,5 bis 2,75 Windungen (Biedron et al. 2009) und weist eine Länge von 28 bis 40 mm auf (Wright et al. 1987). Die basalen Anteile der Meerschweinchen-Cochlea liegen frei exponiert im Mittelohr (Cooper und Schiller 1975) und sind gleichzeitig mit dem runden und ovalen Fenster über den ventralen Anteil der *Bulla tympanica* zugänglich (Wysocki 2005). Die knöcherne Kapsel der Cochlea ist nagertypisch dünn. Im Gegensatz zu Mäusen und Gerbils ist die Cochlea eines Meerschweinchens schon zum Zeitpunkt der Geburt morphologisch und funktionell bereits sechs Tage nach der Geburt vollständig entwickelt (Counter et al. 1999, Saha und Slepecky 2000). Die beträchtliche Größe und Festigkeit des

Felsenbeins ermöglichen eine verhältnismäßig einfache Anfertigung von histologischen Präparaten des Innenohres (Albuquerque et al. 2009). Die *A. carotis interna* und *A. stapadius* sind beim Meerschweinchen degeneriert (Wysocki 2005). Die Blutungsgefahr bei einem chirurgischen Eingriff in der retroaurikulären Region ist deshalb deutlich minimiert. Bei einem Schalldruckpegel von 60 dB SPL liegt der Hörbereich des Meerschweinchens zwischen 45 Hz und 45 kHz (Heffner und Heffner 2007, Manoussaki et al. 2008) und deckt damit größtenteils den Hörbereich des Menschen ab, der zwischen 31 Hz bis 17,6 kHz liegt (Jackson et al. 1999). Der Bereich des besten Hörens beim Meerschweinchen liegt zwischen 4 und 8 kHz. Das menschliche Ohr ist im Bereich zwischen 1,5 bis 5 kHz am empfindlichsten (von Engelhardt et al. 2010).

4 Cochlea-Implantate

4.1 Indikationen

Cochlea-Implantate (CI) sind elektronische Innenohrprothesen, die bei Schwersthörigen sowie vollständig ertaubten Patienten mit Innenohrschwerhörigkeit eingesetzt werden können. Im Unterschied zu konventionellen, schallverstärkenden Hörgeräten wandelt das CI den akustischen Schall in elektrische Impulse um und stimuliert den Hörnerv oder die Spiralganglien direkt unter Umgehung der Haarsinneszellen. Dadurch wird ein Höreindruck bei dem Patienten erzeugt. Ein CI ist somit in der Lage, das defekte Innenohr funktional zu ersetzen.

Grundsätzlich ist die Indikation für ein CI bei Kindern und Erwachsenen mit einer beidseitig cochleären Gehörlosigkeit mit funktionierendem Hörnerv und intakter Hörbahn gegeben. Bei taub geborenen Kindern (prälinguale Taubheit) wird ein frühestmöglicher Implantationszeitpunkt, im Idealfall vor Vollendung des ersten Lebensjahres und spätestens im Vorschulalter, angestrebt (Lenarz und Boenninghaus 2007, Laszig et al. 2009, Stark und Helbig 2011). Bei postlingualer Ertaubung (Gehörlosigkeit nach erworbenem Spracherwerb) spielt die Dauer der Gehörlosigkeit eine entscheidende Rolle bei der CI-Versorgung. Die besten Ergebnisse werden erzielt, wenn die Implantation innerhalb des ersten Jahres nach der Ertaubung erfolgt. Der Nutzen eines CIs für das Sprachverstehen bei gehörlos geborenen adulten Patienten ist hingegen aufgrund der Entwicklungsdefizite und der Deprivation der zentralen Hörbahn mit weitgehendem Verlust der Plastizität nur bedingt zu erwarten (Lenarz und Boenninghaus 2007), kann in Einzelfällen aber durchaus gelingen. Dies gilt insbesondere für Erwachsene, die trotz der Gehörlosigkeit eine gute akustische Sprache durch intensives

logopädisches Training erworben haben.

Das Indikationsspektrum einer CI-Versorgung hat sich in den vergangenen Jahren stark erweitert. So werden heutzutage zunehmend auch Patienten mit Resthörvermögen im Tieftonbereich hörehaltend mit einem CI versorgt (Stark und Helbig 2011). Als Entscheidungskriterium für ein CI dient der Freiburger Einsilbertest mit einem Einsilberwortverständnis von unter 30 % bei 70 dB Sprachlautstärke in Kombination mit einem Sprachverstehen, das trotz optimal angepasstem Hörgerät nicht ausreichend ist (Laszig et al. 2004, Stark und Helbig 2011). In manchen Publikationen hingegen wird häufig schon ein Einsilberwortverständnis von unter 50 % als Richtwert angesehen (Müller-Deile et al. 1998, Klenzner et al. 1999, Copeland und Pillsbury 2004). Auch einseitig taube Patienten können von einer unilateralen CI-Versorgung profitieren, da diese die Wiederherstellung des binauralen Hörvermögens ermöglicht (Hansen et al. 2013). Bei beidseitiger Gehörlosigkeit werden heutzutage in der Regel beide Ohren mit CI-Systemen versorgt, da dadurch ein besseres Sprachverständnis, insbesondere in einer Geräuschkulisse, sowie verbessertes Richtungshören erreicht wird (Tyler et al. 2002, Van Hoesel et al. 2002, Eapen und Buchman 2009, Klingmann und Plinkert 2009).

4.2 Technischer Aufbau

Jedes CI-Modell besteht aus 2 Hauptkomponenten: Einem externen Audioprozessor (Sprachprozessor) und dem eigentlichen Implantat, das hinter dem Ohr operativ in einem ausgebohrten Knochenbett im Bereich des temporoparietalen Schädels subkutan positioniert wird (Stark und Helbig 2011) (siehe Abb. 2). Zum Audioprozessor gehören eine Kontrolleinheit mit Mikrophon, ein Batterieteil zur Energieversorgung und eine über ein Kabel verbundene Sendespule. Die Sendespule sitzt direkt auf der Kopfhaut und wird mit Hilfe eines Magneten auf Höhe der Empfängerspule des Implantats in Position gehalten. Die restlichen Bestandteile des Audioprozessors sind kompakt in einem Gehäuse zusammengefasst, das hinter der Ohrmuschel getragen werden kann. Das Implantat besteht aus einem hermetisch verschlossenen Elektronikteil, einer Empfangsspule zur Aufnahme der ankommenden Signale, einem flexiblen Elektrodenträger aus Silikon und je nach Implantattyp zusätzlich einer Referenzelektrode (Mühler und Ziese 2010). Der Elektrodenträger aus Silikon wird über eine Rund-Fenster-Insertion oder ein in die basale Windung der Cochlea gebohrtes Loch in die Scala tympani eingesetzt (Havenith et al. 2013). In diesem Elektrodenträger sind je nach CI-Modell bis zu 22 einzelne Stimulationselektroden aus Platin-Iridium eingebettet, deren Kontakte die freien Fortsätze des Hörnervs entlang der Cochlea stimulieren (siehe Abb. 3).

4.3 Funktionsweise

Die ankommenden Schallwellen werden über das Mikrofon im Audioprozessor aufgenommen, analysiert und dort in Form von elektrischen Stimulationsmustern digitalisiert. Diese elektrischen Pulsmuster werden anschließend mit Hilfe von Radiofrequenzwellen über die Sendespule transkutan zum Implantat übertragen (Lenarz und Boenninghaus 2007). Das Implantat entschlüsselt das empfangene Signal und leitet es über die Stimulationselektroden in die Cochlea weiter. Dort wird das elektrische Pulsmuster entlang der Basilarmembran, ähnlich der tonotopischen Frequenzdispersion beim natürlichen Hören, auf die Hörnervenfasern übertragen. Je nach Hersteller unterscheidet man zwischen zwei Strategien, um die Hörnervenfasern zu stimulieren (Bahmer und Baumann 2012). Bei der parallelen Stimulation reizen mehrere Elektrodenkontakte den Hörnerven gleichzeitig, wohingegen bei der sequentiellen Stimulation die Anregung nacheinander erfolgt. Die Reize werden über die Nervenbahnen zum Gehirn weitergeleitet und erzeugen dort ein Hör- und Klangempfinden (Dillier 2001).

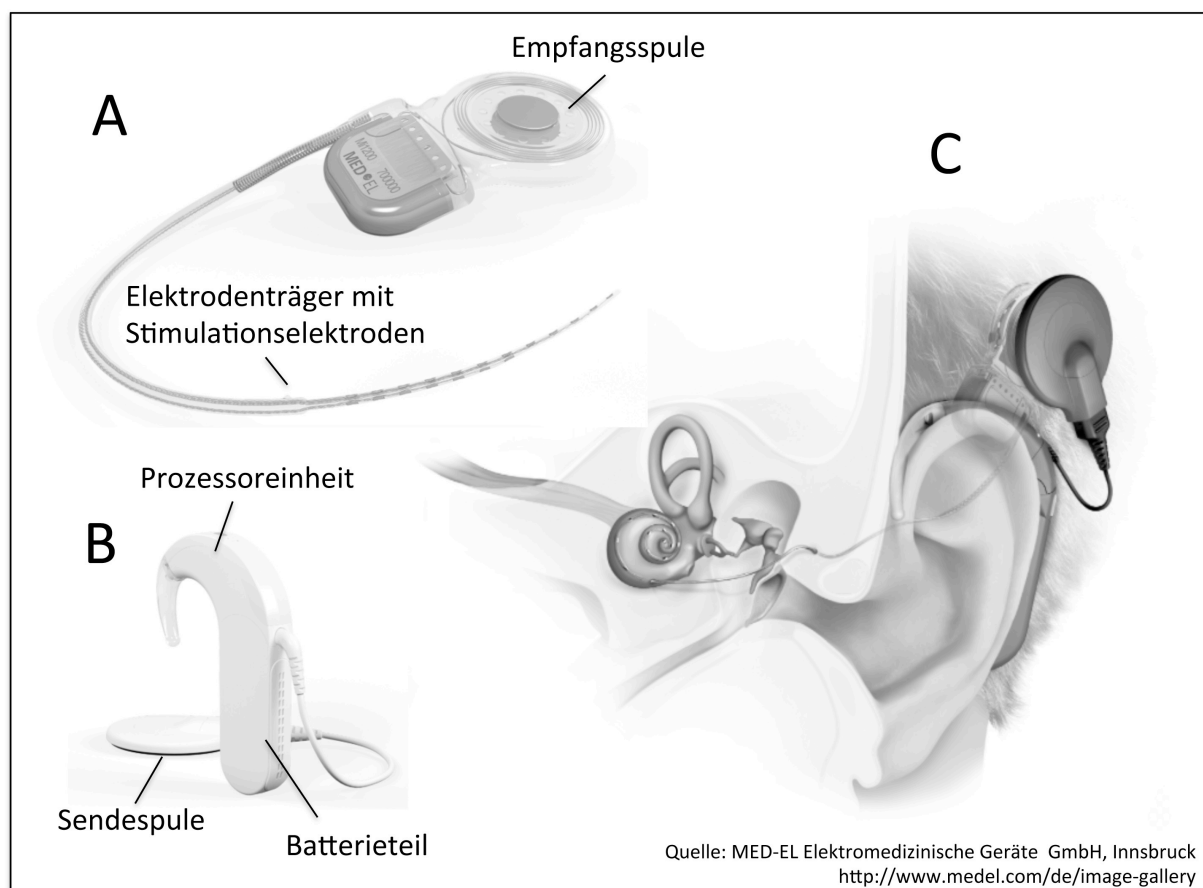


Abb. 2: Komponenten eines Cochlea-Implantates (MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH, Innsbruck).

*A: Implantat: Empfangsspule, Elektroden-Träger mit Stimulationselektroden am apikalen Ende
 B: Externer Sprachprozessor: Prozessoreinheit, Batterieteil, Kabel und Sendespule
 C: Schemazeichnung eines Cochlea-Implantates in situ*

4.4 Hörimplantat-System mit elektrisch-akustischer Stimulation

Das EAS (elektrisch-akustische Stimulation) Hörimplantat-System ist eine neuartige Weiterentwicklung von CIs für Patienten mit partiellem Hörverlust (von Ilberg et al. 1999). Bei einem partiellen Hörverlust liegt eine leichte bis mittelgradige Hörminderung im Tieftonbereich sowie ein hochgradiger Hörverlust im Hochtonbereich vor. Konventionelle schallverstärkende Hörgeräte können Hochton-Frequenzen ab 1 kHz nur unzureichend versorgen (Kiefer et al. 2005). Aber auch ein traditionelles CI ist nach den herkömmlichen Indikationskriterien für diese Patientengruppe keine Lösung, da bei diesen Implantaten unwiederbringlich das Restgehör verloren geht (Baumann und Helbig 2009). Bei den EAS-CI-Modellen hingegen werden lediglich die Hörnervenfasern im Bereich der hohen Frequenzen oberhalb von 1 kHz über einen verkürzten Elektrodenträger elektrisch stimuliert, während im Tieftonbereich die noch intakten Haarsinneszellen in den weiter apikal liegenden Strukturen der Cochlea simultan über eine schallverstärkende Hörgeräteeinheit angeregt werden (Hybrid-Stimulation). Im Vergleich zu konventionellen Hörgeräten oder Standard-CIs erreicht eine Kombination aus beiden Stimulationsstrategien in einem System bei einem partiellen Hörverlust ein verbessertes Sprachverstehen in Stille und besonders bei Störgeräuschen (Gstoettner et al. 2004, Gantz et al. 2005, Kiefer et al. 2005). Auch die Wahrnehmung von Musik kann möglicherweise durch eine Hybrid-Stimulation verbessert werden (Kong et al. 2005).

4.5 Elektrodeninsertionstrauma

Für EAS-Hörimplantatsysteme ist es von enormer Bedeutung, dass das noch vorhandene Resthörvermögen nach dem Einsetzen des Implantats weitestgehend erhalten bleibt. Eine potentielle Gefahr für eine sofortige Verschlechterung oder gar einen vollständigen Verlust des Resthörvermögens nach der Implantation stellt auf makroskopischer Ebene ein direktes mechanisches Trauma an den cochleären Strukturen durch die Cochleostomie-Bohrung und die Insertion der Elektrode (Elektrodeninsertionstrauma, EIT) dar. Dabei kann es zu einer Fraktur der knöchernen Lamina spiralis wie auch entlang der lateralen Wand der Scala tympani oder auch zur Zerstörung des Corti-Organs kommen. Es kann außerdem zu einem verzögerten akuten Hörverlust in den folgenden Tagen nach der Implantation kommen (Eshraghi 2006). Es ist davon auszugehen, dass sich auf molekularer Ebene innerhalb der traumatisierten Cochlea Sauerstoffradikale („reactive oxygen species, ROS“) bilden (Eshraghi et al. 2005). Durch diesen oxidativen Stress können Zelltod-Signalkaskaden wie der programmierte Zelltod (Apoptose) in den Sinneszellen ausgelöst werden (Kopke et al. 1997, Lefebvre et al. 2002, Scarpidis et al. 2003). Ferner wird angenommen, dass auch nekrotische

Prozesse und nekroseähnliche Vorgänge an der Zerstörung von Haarsinneszellen beteiligt sind (Van De Water et al. 2010, Jia et al. 2013). Der Untergang der Haarsinneszellen führt sekundär auch zu einer Degeneration der nachgeschalteten Nervenbahnen, wodurch sich die Anzahl intakter Spiralganglienzellen vermindert (Nadol und Hsu 1991, Leake et al. 1992, Gantz et al. 1993, Eshraghi 2006, Chikar et al. 2012). Intakte Spiralganglienzellen sind allerdings für eine elektrische Stimulation durch das Implantat notwendig. Blutungen im Bereich der Cochleostomie mit anschließender Kontamination der Perilymphe können die endocochleäre Homöostase aus dem Gleichgewicht bringen und ebenfalls zu einem signifikanten und permanenten Hörverlust führen (Radeloff et al. 2007). Auch der Bohrvorgang für die Cochleostomie kann zum Hörverlust beitragen. In einer Untersuchung wurden Spitzenwerte von bis zu 130 dB SPL gemessen, die ein Lärmtrauma an den Haarzellen verursachen können (Pau et al. 2007).

Die Modifizierung des Elektrodenträgerdesigns ist ein wirkungsvoller Ansatz, das mechanische Trauma auf makroskopischer Ebene zu minimieren und damit die funktionellen Strukturen im Innenohr zu erhalten. Durch den Einsatz kürzerer und dünnerer Elektroden kann der traumatisch bedingte Hörverlust reduziert werden (Jolly et al. 2010, von Ilberg et al. 2011). So werden für die EAS-CI-Modelle verkürzte Elektrodenträger mit einer Länge von bis zu 20 mm eingesetzt. Sie reichen damit lediglich bis zu einem Bereich von 1 kHz in die Cochlea hinein. Dies entspricht einem Insertionsradius von etwa 360 Grad. Flexiblere Elektrodenträger mit einer Insertionstiefe von 30 mm reduzieren ebenfalls den implantationsbedingten Hörverlust (Punte et al. 2010).

Außerdem wurden schonendere Operationstechniken („soft-surgery-Techniken“) entwickelt, um eine möglichst atraumatische Elektrodenimplantation zu gewährleisten (James et al. 2005, Balkany et al. 2006, Briggs et al. 2006, Postelmans et al. 2011). Der Elektrodenträger soll zum Beispiel möglichst langsam in die Scala tympani vorgeschoben werden, sodass die verdrängte Perilymphe abfließen kann und dadurch keine Druckwellen in der Scala tympani entstehen (Gstoettner et al. 2009). Eine Verunreinigung des Elektrodenträgers mit Blut oder Knochenmehl ist zu vermeiden. Nach der Elektrodeninsertion wird empfohlen, die Cochleostomie mit Faszienewebe zu verschließen (Kiefer et al. 2004). Mehrere klinische Studien zeigen, dass durch eine atraumatische Elektrodenimplantation bei 80 % bis zu 96 % der Patienten Restgehör erhalten werden konnte (Gantz et al. 2005, Gantz et al. 2006, Gstoettner et al. 2008). Allerdings konnte bei nur annähernd 50 % der Patienten das Restgehör nach der Implantation vollständig erhalten werden (Adunka et al. 2010). Eine Implantation durch das runde Fenster wird heute als die am geringsten traumatische

Implantationsmethode angesehen. Obwohl bisher kein eindeutiger Vorteil dieser Methode gegenüber einer Cochleostomie nachgewiesen werden konnte (Havenith et al. 2013), hat sich diese Vorgehensweise weitgehend durchgesetzt. Ein wichtiger Grund dafür ist, dass man sich bei einem Zugang über das runde Fenster sicher in der S. tympani befindet.

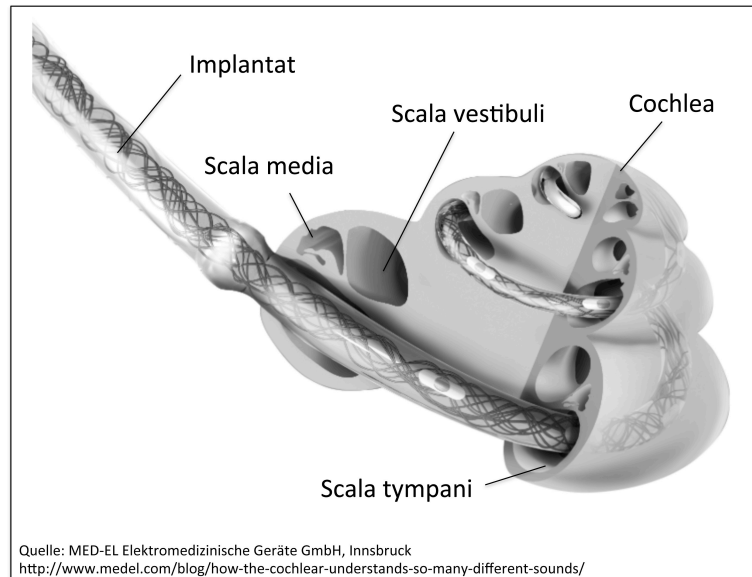


Abb. 3: Cochlea mit Implantat (MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH, Innsbruck)

5 Cochleäre Gewebereaktion nach Elektrodeninsertion

5.1 Biokompatibilität von Silikon

Der Elektrodenträger herkömmlicher CIs besteht aus medizinischem Silikon (Polydimethylsiloxan, PDMS). Dieses synthetisch hergestellte Polymer besteht aus einem Grundgerüst aus Siliciumatomen mit Methylgruppen sowie Sauerstoffatomen als Brückenglieder. Die physikalischen Eigenschaften dieser Silikone werden durch die Kettenlänge und durch Quervernetzung der Siloxaneinheiten untereinander bestimmt (William Luria 2002). Medizinisches Silikon besitzt eine gute Biostabilität sowie eine ausreichende Biokompatibilität und wird bereits seit mehreren Jahrzehnten erfolgreich in verschiedenen Bereichen der Medizintechnik als Biomaterial für Prothesen und Implantate verwendet (Stöver und Lenarz 2009, Franca et al. 2013).

Ein synthetisch hergestellter Stoff als Ausgangsmaterial für Prothesen und Implantate gilt als biokompatibel, wenn sein biologischer Effekt die erwünschte Wirkung zeigt und keinen Schaden am Patienten verursacht (Anderson 2001). Die Biokompatibilität eines Materials wird bestimmt durch die Form und das Ausmaß der Interaktion zwischen der Oberfläche des

Biomaterials und des umliegenden körpereigenen Gewebes, der Zellen und deren Mediatoren. Biokompatible Materialien sollten neben hervorragenden physikalischen und mechanischen Qualitäten keine toxischen Eigenschaften besitzen, die eine Irritation oder gar Degeneration des umliegenden Gewebes verursachen (Bal et al. 2009).

Unabhängig davon löst jeder implantierte Fremdkörper eine entzündlich bedingte Gewebereaktion an der Grenzfläche zwischen dem körperfremden Biomaterial und dem umgebenden Gewebe aus, wobei das Ausmaß dieser Gewebereaktion stark variieren kann (Hanekom 2005, Haddad Filho et al. 2007). Diese Reaktion des Organismus auf einen implantierten Fremdkörper wird als entzündlich bedingte Fremdkörperreaktion bezeichnet. Sie ist ein Resultat des körpereigenen Immunsystems und manifestiert sich letzten Endes in Form der Neubildung einer bindegewebigen Kapsel um den Fremdkörper (Franca et al. 2013). Der Begriff der Biokompatibilität beschreibt somit die Gewebeverträglichkeit eines Implantates einschließlich des Ausmaßes einer Fremdkörperreaktion.

5.2 Allgemeine molekulare Reaktionen des Körpers auf Biomaterialien

Das Einbringen eines sterilen Fremdkörpers löst im Körper eine Reaktionskette von Mechanismen aus, die schließlich zu einer Einkapselung des Fremdkörpers mit Bindegewebe führt (Abb. 4). Diese Neubildung von Bindegewebe ist sowohl im Tiermodell wie auch beim Menschen zu beobachten (Haddad Filho et al. 2007, Bal et al. 2009, Franca et al. 2013). Initial führt die Implantation eines Fremdkörpers zu einer Traumatisierung des umliegenden Gewebes und löst dort eine lokale Entzündungsreaktion aus. Innerhalb von Sekunden bis Minuten nach der Implantation treten bereits Plasmaproteine als Exsudat aus den Kapillaren heraus und lagern sich an der Oberfläche des Implantates ab. Die Zusammensetzung dieser adsorbierten Proteine spielt eine entscheidende Rolle für die Biokompatibilität des Materials (Tang und Eaton 1999). Die vorherrschenden Proteine auf Polymer-Biomaterialien sind Albumin, Fibrinogen, Immunglobulin G (IgG) und Komponenten des Komplement-Systems (Anderson et al. 1990). Minuten bis Stunden nach der Implantation hat sich auf der Oberfläche des Implantates eine temporäre Matrix aus einem komplexen dreidimensionalen Fibringerüst mit eingelagerten Entzündungsprodukten gebildet (Anderson 2001). Dieser Matrix folgen zunächst neutrophile Granulozyten und Mastzellen. Durch Mastzelldegranulation kommt es unter anderem zur Freisetzung von den Entzündungsmediatoren Histamin, Interleukin-4 sowie Interleukin-13, die entscheidenden Einfluss auf das weitere Entzündungsgeschehen nehmen (Zdolsek et al. 2007, Anderson et al. 2008).

Innerhalb einer Woche nach dem Einbringen des Fremdkörpers wechselt die Entzündungsform von einer akuten zu einer chronischen. Mononukleäre Zellen, wie Monozyten, Lymphozyten und Plasmazellen, dominieren nun das Zellbild. An der Oberfläche des Fremdkörpers können sich Makrophagen und vielkernige Fremdkörperriesenzellen anlagern. Durch die fortdauernde Immunstimulation werden schließlich Fibroblasten über Cytokine chemotaktisch angezogen, die vor Ort proliferieren und Kollagen sezernieren (Newbold et al. 2004). Es bildet sich ein vaskularisiertes Granulationsgewebe um den Fremdkörper. Das Granulationsgewebe dient schließlich auch als Ausgangssubstanz für die Bildung einer fibrotischen Kapsel, die den Fremdkörper umgibt und ihn vom restlichen Organismus räumlich isoliert (Anderson et al. 2008). Folgende aus histologischer Sicht pathognomonisch zwiebelschalenförmige Anordnung ergibt sich somit für das Finalstadium solch einer Fremdkörperreaktion: Im Zentrum liegt der nicht-phagozytierbare extrazelluläre Fremdkörper, um den sich konzentrisch Monozyten, Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen angelagert haben. Darauf folgt eine Schicht aus Lymphozyten. Die äußerste Schale besteht primär aus Fibroblasten und dem neugebildeten Bindegewebe.

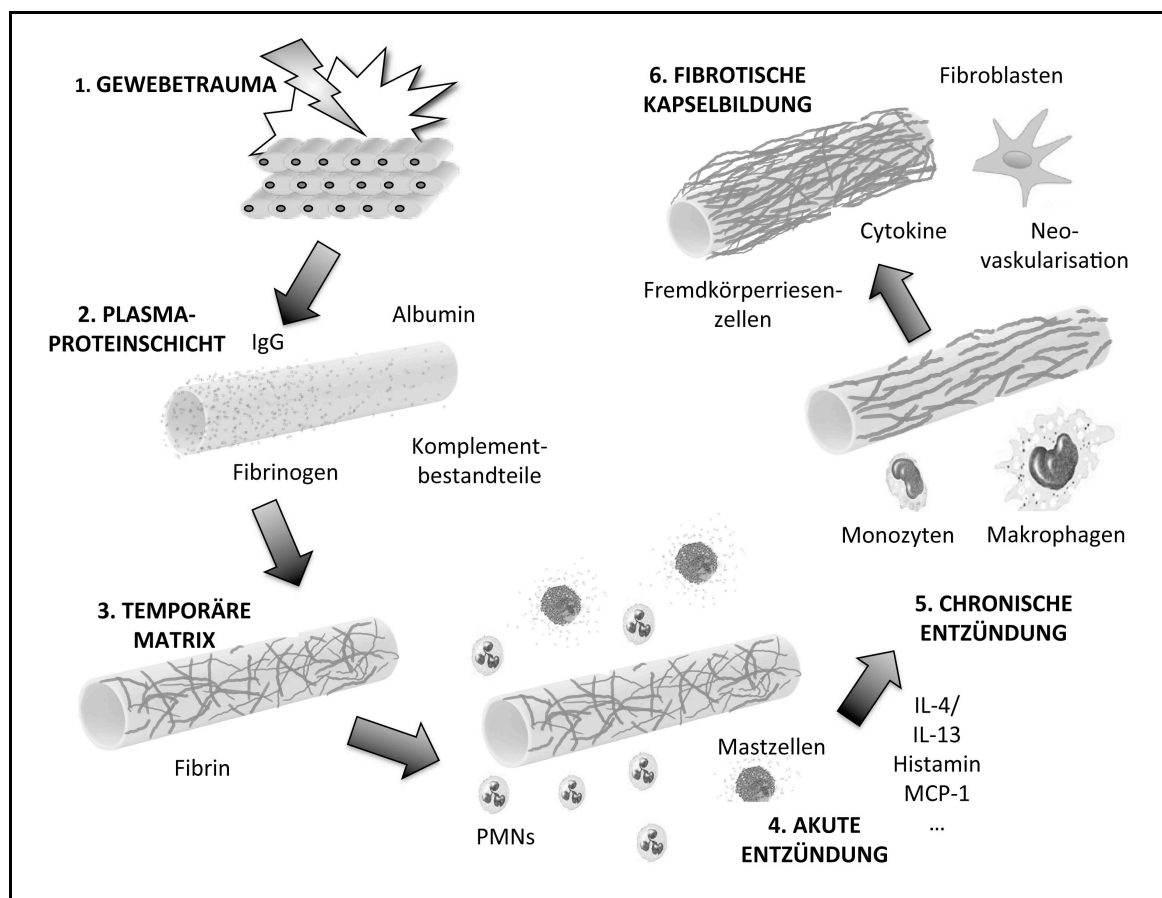


Abb. 4: Molekulare und zelluläre Gewebereaktion auf einen implantierten Fremdkörper (abgewandelt nach Jia et al. 2013)

5.3 Gewebereaktion nach Cochlea-Implantation

Auch in histologischen Präparaten implantierter Cochleae findet man am Tier wie auch beim Menschen häufig Anzeichen einer Gewebereaktion mit einer Infiltration von Entzündungszellen, bindegewebiger Proliferationen (Fibrose) sowie Knochenneubildung (Osteoneogenese) um den Elektrodenträger. In einer Studie wurden 14 Cochleae von verstorbenen CI-Patienten untersucht (Fayad und Linthicum 2006). Das histologische Bild variierte stark bei den einzelnen Präparaten. In manchen Fällen war der Elektrodenträger lediglich von einer Bindegewebshülle umgeben, die zum Teil auch mit Entzündungszellen durchsetzt war. In anderen Fällen hatte sich eine knöcherne Hülle um das Implantat gebildet. In weiteren vergleichbaren Studien an humanen Cochlea-Präparaten von CI-Patienten zeigte sich ein ähnliches pathohistologisches Bild mit einer großen Variabilität in Form und Ausmaß der Gewebereaktion um das Implantat (Clark et al. 1988, Linthicum et al. 1991, Nadol und Shiao 2000, Nadol und Eddington 2006, Somdas et al. 2007). In einer anderen histologischen Untersuchung wurden in 6 von 8 Cochlea-Präparaten von CI-Patienten Fremdkörperriesenzellen oder eine Lymphozyteninfiltration nachgewiesen (Nadol et al. 2008). Im Allgemeinen ist die Gewebeneubildung in den basalen Anteilen der Cochlea stärker ausgeprägt als in den apikalen Regionen (Choi und Oghalai 2005, Somdas et al. 2007). Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass das Implantat zur Spitze hin dünner wird und auch nicht bis in den Apex der Cochlea reicht (Skinner et al. 2002). Daneben wird auch diskutiert, ob das Alter des CI-Patienten, die Größe und Platzierung der Cochleostomie sowie das Elektrodendesign ebenfalls Einfluss auf die Gewebereaktion nehmen können (Somdas et al. 2007). Auch Biokompatibilitätsstudien von CIs an Tiermodellen (Ratten und Katzen) haben eine gemäßigte Gewebereaktion mit mononukleärer Infiltration und bindegewebiger Proliferation entlang des Implantats zeigen können (Shepherd et al. 1984). Die Verweildauer der Implantate in diesen Untersuchungen betrug 2, 8 beziehungsweise 16 Wochen. Das Auftreten von Fremdkörperriesenzellen wurde in diesen Studien nicht beschrieben. In einer anderen Untersuchung wurden die Cochleae implantierter Meerschweinchen nach 2 und 6 Wochen auf morphologische Veränderungen in der Cochlea rasterelektronenmikroskopisch untersucht (Rogowski et al. 1995). Auch hier konnte in allen 16 Fällen eine bindegewebige Umhüllung des intracochleären Implantats als obligate Reaktion beobachtet werden.

Die genauen zellulären Mechanismen, die nach einer Implantation zu reaktivem fibrotischen Gewebewachstum und Knochenneubildung in der Cochlea führen, wurden noch nicht hinreichend untersucht (Li et al. 2007). Es wird aber vermutet, dass - vergleichbar mit den Mechanismen in anderen Geweben – chronische Entzündungsprozesse sowie die übermäßige Sekretion extrazellulärer Matrix und eine nachfolgende Fibroblastenproliferation für eine

implantationsbedingte Fibrose verantwortlich sind (Jia et al. 2013). In einer Untersuchung an Gerbils konnte zum Beispiel nachgewiesen werden, dass entzündliche Prozesse maßgeblich für den Umfang fibrotischer Veränderungen in der Cochlea verantwortlich sind (DeSautel und Brodie 1999). Diese These wird auch durch Studien verstärkt, die zeigen konnten, dass der pharmakologische Einsatz mit anti-inflammatorischen Substanzen ein wirkungsvoller Ansatz zur Eindämmung der Gewebereaktion ist (siehe Kapitel 5.5). Der Auslöser für das initiale Entzündungsgeschehen könnte das Implantat als Fremdkörper an sich sein (Nadol et al. 2008). Aber auch weitere Faktoren, wie beispielsweise ein Elektrodeninsertionstrauma an der lateralen Wand der Cochlea (Li et al. 2007), Kontaminationen der Perilymphe mit Blut und Knochenpartikeln oder auch postoperative Infektionen (Huang et al. 2007) können eine Rolle bei der Bindegewebsproliferation in der Cochlea spielen. Auch die intracochleäre Knochenneubildung nach der Implantation könnte auf eine Verletzung des Endosteums durch die Elektrodeninsertion zurückzuführen sein (Fayad und Linthicum 2006). In einer anderen Studie wird vermutet, dass inflammatorische Zytokine bei der Knochenneubildung beteiligt sind (Aminpour et al. 2005).

5.4 Folgen

Die bindegewebige Ummantelung fixiert den Elektrodenträger in seiner Position und verhindert somit eine potentielle Dislokation des Implantats (Stöver und Lenarz 2009). Daneben fungiert das neugebildete Gewebe an der Cochleostomie auch als funktionelle Barriere zwischen der Mittelohrhöhle und dem Innenohr. Ein Entweichen von Perilymphe aus der Cochlea wird dadurch verhindert und das Eindringen von Infektionserregern über die Cochleostomie in das Innenohr wird erschwert (Stöver und Lenarz 2009). Neben diesem möglichen Nutzen einer Gewebemanschette um das Implantat sind allerdings auch zahlreiche Nachteile für CI-Patienten zu erwarten. Zum einen geht man davon aus, dass reaktive Gewebeproliferationen zu einem Anstieg der elektrischen Widerstände (Impedanzen) der einzelnen Elektrodenkontakte nach der Implantation führen (Clark et al. 1995, Newbold et al. 2004, Bohl et al. 2012). Impedanzen sind frequenzabhängige, komplexe Widerstände. Sie werden im klinischen Gebrauch intra- und postoperativ als Messgröße verwendet, um die Höhe des Widerstandes zu beurteilen, den der elektrische Impuls für die Signaltransduktion vom Implantat auf den Hörnerv überwinden muss. Ein Gewebe um das Implantat wirkt dabei wie eine Isolierschicht, die zu einem Anstieg der Impedanzen führt und die Übertragung des elektrischen Impulses auf den Hörnerv erschwert (Grill und Mortimer 1994, Farhadi et al. 2013). Ein Anstieg der postoperativen Impedanzen erfordert auch eine höhere Batterieleistung des CIs zur Signaltransduktion. Die Nutzungsdauer der Batterien ist dadurch verkürzt

(Wrzeszcz et al. 2013). Die benötigten höheren elektrischen Stimulationsraten des CIs können auch zu irreversiblen elektrochemischen Reaktionen in der Cochlea führen, die Schäden sowohl am Implantat wie auch am umliegenden Gewebe verursachen (Brummer und Turner 1977, Huang et al. 2007).

Eine Gewebehülle um den Elektrodenträger hat auch negativen Einfluss auf das neuronale Erregungsmuster und die Qualität der Signalübertragung. Ist der Widerstand zu groß, kann womöglich der Stimulationsreiz nicht mehr ausreichen, um einen lauten Höreindruck zu erzeugen. Ein geringerer Widerstand an der Elektrode hingegen ermöglicht eine größere Spannbreite in der Dynamik, also dem Lautstärkebereich. Der elektrisch-dynamische Bereich des CIs wird durch eine Gewebehülle also geringer (Kawano et al. 1998, Jia et al. 2013). In einer Untersuchung konnte auch nachgewiesen werden, dass ein Anstieg der Wahrnehmungsschwelle der elektrischen Impulse beim CI-Patienten mit dem Umfang der Gewebereaktion in der Cochlea korreliert (Kawano et al. 1998). Für EAS CI-Systeme ist ein vorhandenes Resthörvermögen nach der Implantation essentiell. Bindegewebige oder knöcherne Gewebeproliferationen besonders im apikalen Bereich der Cochlea könnten allerdings negative Auswirkungen auf das postoperative Resthörvermögen haben (Somdas et al. 2007). Zum einen geht man davon aus, dass die mechanischen Eigenschaften funktioneller Strukturen in der Cochlea, wie zum Beispiel der Basilarmembran, durch Gewebeproliferation beeinträchtigt werden (Choi und Oghalai 2005). Zum anderen wird vermutet, dass eine intracochleäre Gewebezubildung auch die Schallübertragung in apikalen Bereiche der Cochlea behindern könnte (Elliott et al. 2011). Man geht außerdem davon aus, dass das reaktive Gewebewachstum sekundär auch zu einem Verlust von noch intakten Haarzellen führen kann oder auch eine Degeneration von Spiralganglienzellen verursacht (Farhadi et al. 2013). Aus chirurgischer Sicht könnte eine Obstruktion der Cochlea mit Binde- oder Knochengewebe auch Probleme bei Re-Implantationen und Explantation bereiten, wenn der Elektrodenträger ausgetauscht oder vollständig entfernt werden muss (Wrzeszcz et al. 2013).

5.5 Alternative Elektrodenbeschichtungen

Die CI-Forschung hat sich schon seit längerem mit der Entwicklung alternativer Beschichtungen der Elektrodenträger („Coating“) beschäftigt. Der Einsatz von Glucocorticoiden erscheint hierbei aufgrund ihrer anti-inflammatorischen und anti-proliferativen Eigenschaften vielversprechend zu sein. Es wurden bereits einige Studien mit Glucocorticoid-freisetzenden Implantaten mit dem Ziel durchgeführt, neuronale Strukturen in der Cochlea zu erhalten oder das reaktive Bindegewebswachstum entlang des Implantats

einzudämmen (Dinh et al. 2008, Farahmand Ghavi et al. 2010, Farhadi et al. 2013, Stathopoulos et al. 2014). In zwei klinischen Studien konnte zudem nachgewiesen werden, dass der Einsatz von Glucocorticoiden sowohl in den ersten Wochen wie auch 3 bis 4 Jahre nach der Implantation auch zu einer Reduktion der Impedanzen führt. (Paasche et al. 2006, Paasche et al. 2009). Die Verwendung von Glucocorticoiden könnte allerdings auch das Risiko für lokale Infektionen aufgrund der immunsuppressiven Wirkung dieser Wirkstoffgruppe erhöhen. Außerdem könnten initial sehr hohe Wirkstoffkonzentrationen toxisch für bestimmte Zelltypen sein (Bohl et al. 2012). Gleichwohl möchte man aber auch möglichst lange den Wirkspiegel aufrechterhalten.

In anderen Studien wurde bereits über weitere alternative Coating-Ansätze berichtet. Die Polymere Poly(dimethylacrylamid) [PDMAA] und Poly(2-ethylloxazolin) [PEtOx] („Protein repellent polymers, PRPs“) zeigten beide in einer in-vitro Untersuchung eine reduzierte unspezifische Fibroblastenadhäsion an Oberflächen. Sie würden sich daher als Beschichtung für Elektrodenträger anbieten (Aliuos et al. 2013). In einer anderen Studie wurden zwei Stoffe in Kombination als potentielle Implantatsbeschichtung untersucht (Chikar et al. 2012): Die erste Komponente, das Polymer Poly(3,4-ethylenedioxythiophen) [PEDOT], soll die elektrischen Eigenschaften des Implantates verbessern. Die zweite Komponente ist ein mit einer Arginin-Glycin-Asparaginsäure-Verbindung modifiziertes Alginat-Hydrogel, das mit dem neurotrophen Faktor BDNF („Brain-Derived Neurotrophic Factor“) beladen wurde und als künstliche extrazelluläre Matrix der neuronalen Degeneration in der Cochlea nach der Implantation entgegenwirken soll. Die Studie kam zu dem Ergebnis, dass durch den synergistischen Effekt dieser Zweikomponentenbeschichtung die Impedanz verringert werden konnte, die Leitfähigkeit in der Cochlea verbessert wurde und relevante Mengen an BDNF in die Perilymphe freigesetzt wurden. Eine klinische Untersuchung hat gezeigt, dass eine Beschichtung der Elektrode mit Hyaluronsäure das Insertionstrauma minimiert und möglicherweise einen zytoprotektiven Effekt besitzt (Laszig et al. 2002). Obwohl es auf dem Gebiet der Grundlagenforschung wie beschrieben bereits einige Ansätze alternativer Materialien gibt, hat sich bisher noch keine neue Beschichtung auf dem Markt etabliert. Da die intracochleäre Bindegewebszubildung um die Implantate und deren Folgen, wie beispielsweise eine Erhöhung der Impedanz und dadurch eine mögliche Beeinträchtigung der Signaltransduktion, dennoch ein häufiges Problem darstellt, besteht auf diesem Gebiet immer noch ein erheblicher Forschungsbedarf auf der Suche nach gewebeverträglicheren Materialien.

6 Poly[bis(trifluoroethoxy)phosphazen]

6.1 Molekularer Aufbau und Biokompatibilität

Poly[bis(trifluoroethoxy)phosphazen] (PTFEP) ist ein anorganisches Polymer mit einem Grundgerüst aus alternierenden Stickstoff- und Phosphoratomen und besitzt aufgrund der angehängten Trifluor-Äthoxyl-Nebengruppen einen hydrophoben Charakter (Welle et al. 1998) (siehe Abb. 5). PTFEP-beschichtete Oberflächen können aufgrund dieser Molekülstruktur selektiv Albumin adsorbieren. Dadurch kann eine Thrombozytenadhäsion an diesen Oberflächen reduziert werden (Satzl et al. 2007). Diese anti-thrombogene Eigenschaft von PTFEP konnte in verschiedenen in-vivo Studien bestätigt werden (De Scheerder et al. 1995, Richter et al. 2005). Daneben zeigen PTFEP-Beschichtungen auch eine geringe Affinität zu plasmatischen proteinogenen Gerinnungsfaktoren wie dem von-Willebrand-Faktor (vWF), Fibronektin und Fibrinogen (Capodanno und Tamburino 2010). Die extreme Reinheit, die hohe molekulare Masse und die strikte Linearität der Polymer-Kette erzeugen außerdem eine hohe chemische Stabilität und eine hervorragende Biokompatibilität (Zeifang et al. 2008).

Eine in-vivo Untersuchung für PTFEP-beschichtete Stents am Schwein konnte eine langzeitstabile Biokompatibilität über sechs Monate nachweisen (Huang et al. 2003). In einer in-vivo Untersuchung mit PTFEP-beschichteten Gefäßstents bei Minipigs gab es außerdem Hinweise auf ein anti-inflammatorisches Potential bei diesem Polymer (Henn et al. 2008). So zeigte eine Woche nach der Implantation die Gewebereaktion auf beschichtete Metallstents in Becken- und Nierenarterien im Vergleich zu den unbeschichteten eine geringere lymphohystiozytäre Infiltration. Zu späteren Zeitpunkten (Woche 4 und 12) konnte allerdings in dieser Untersuchung kein Unterschied mehr festgestellt werden. In anderen präklinischen

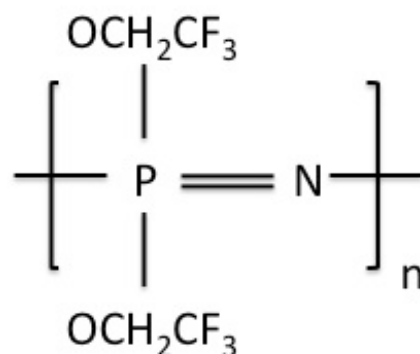


Abb. 5: Strukturformel von Poly[bis(trifluoroethoxy)phosphazen] (PTFEP)

Studien an porcinen Coronararterien hingegen gab es noch nach vier (Radeleff et al. 2008) beziehungsweise sogar nach zwölf (Satzl et al. 2007) Wochen Hinweise auf entzündungshemmende Eigenschaften von PTFEP-beschichteten Stents. Man geht davon aus, dass eine PTFEP-Oberflächenbeschichtung die Anlagerung von Entzündungszellen reduziert, die Fremdkörperreaktion eindämmt und darüberhinaus resistent gegenüber bakterieller Besiedelung von Oberflächen ist (Welle et al. 1998, Zeifang et al. 2008). Eine Übersicht über die biologischen Eigenschaften von PTFEP als Beschichtung von Implantaten ist in Abb. 6 abgebildet.

6.2 Klinische Anwendungen von PTFEP

PTFEP-beschichtete Stents werden mittlerweile erfolgreich in der Herz-Kreislaufchirurgie eingesetzt. Klinische Studien konnten bereits einen positiven Effekt dieser hoch biokompatiblen Stent-Beschichtung nachweisen: Sie zeigten reduzierte neointimale Reaktionen wie Re-Stenosen (= überschießende lokale Narbenbildung und Proliferation nach der Implantation des Stents) oder Thrombusbildung (La Manna et al. 2009, Tamburino et al. 2012). PTFEP findet außerdem klinische Anwendung als Oberflächenbeschichtung von Hydrogel-Mikrokügelchen zur Embolisation von bestimmten Tumoren, wie zum Beispiel Gebärmuttermyomen oder hepatozellulären Karzinomen (Stampfl et al. 2008, Stampfl et al. 2012). Das Einsatzspektrum von PTFEP könnte sich zukünftig aufgrund seiner zahlreichen positiven Eigenschaften aber noch weiter ausweiten. So zeigte PTFEP in einer präklinischen

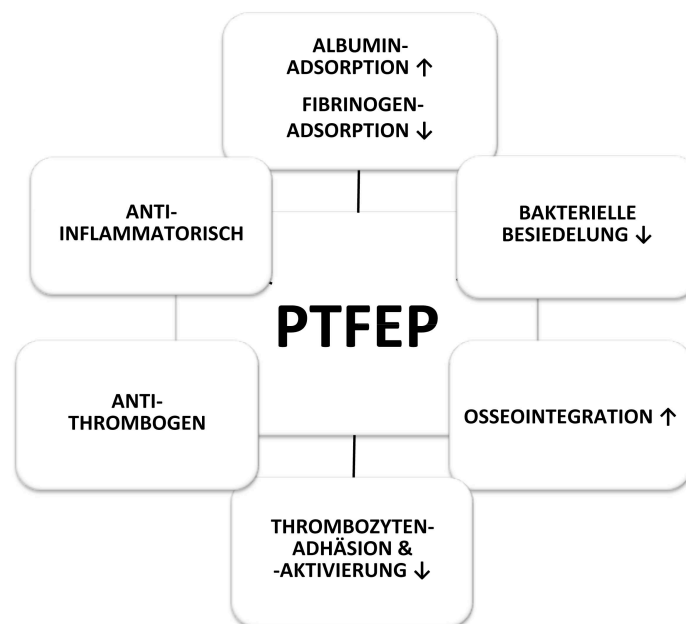


Abb. 6: Biologische Eigenschaften von PTFEP als Beschichtung von Implantaten (abgewandelt nach Capodanno und Tamburino 2010)

Studie am Kaninchen beispielsweise vielversprechende Ergebnisse als Oberflächenbeschichtung für Knochenimplantate (Zeifang et al. 2008). Auch weitere medizinische Produkte verschiedener medizinischer Disziplinen, wie Zahnimplantate, Herzschrittmacher oder Katheter sowie Schlauchsysteme, könnten von solch einer Beschichtung profitieren (Capodanno und Tamburino 2010).

III EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1 ZIELSETZUNG

Ziel der vorliegenden Studie war es, die Oberflächeneigenschaften von PTFEP als Elektrodenträger-Beschichtung von CIs gegenüber unbeschichteten konventionellen Implantaten in einem Tiermodell am Meerschweinchen zu untersuchen. Hierfür wurden unbeschichtete (Gruppe NO-PTFEP) und beschichtete Implantate (Gruppe PTFEP) in normalhörende Meerschweinchen implantiert. Nach der Implantation erfolgten objektive Hörmessungen (ABRs) sowie Bestimmungen der Impedanzen mit zwei Messsystemen (MED-EL MAESTRO-System und GP_Imp von H.-J. Steinhoff) zu bestimmten Zeitpunkten nach der Implantation und eine abschließende histologische Untersuchung der Cochleae nach 4 Monaten. Zum einen sollte dadurch untersucht werden, welchen Einfluss die Beschichtung auf die postoperativen Impedanzen und das Hörvermögen im zeitlichen Verlauf hat. Zum anderen sollte in der histologischen Untersuchung die Gewebereaktion um den Elektrodenträger evaluiert werden. Daneben wurden beide Impedanzmesssysteme miteinander verglichen und hinsichtlich der Richtigkeit und Reproduzierbarkeit der erfassten Werte untersucht. Ferner sollten auch die Ergebnisse der Hör- und Impedanzmessungen sowie der histologischen Auswertungen auf mögliche Zusammenhänge überprüft werden. Darüberhinaus war es Ziel dieser Studie, den Effekt einer 15-minütigen elektrischen Stimulation der Elektroden auf die Messwerte der Impedanzen zu untersuchen. Die Studie wurde verblindet durchgeführt, um eine möglichst objektive Bewertung der Ergebnisse zu gewährleisten. Die Entblindung der Daten erfolgte erst für die statistische Aufarbeitung der Ergebnisse.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Versuchstiere

Für das Versuchsvorhaben wurden albinotische Meerschweinchen (Stamm: Dunkin Hartley, Crl:HA, Geschlecht: weiblich) der Firma Charles River (WIGA) GmbH in Sulzfeld verwendet. Bei ihrer Ankunft wogen die Tiere zwischen 290 und 350 Gramm. Nach dem Transport erhielten die Tiere eine Adaptationszeit von mindestens 7 Tagen. Es waren keine weiteren speziellen Vorbereitungen der Tiere auf den Versuch erforderlich. Die Unterbringung der Tiere erfolgte in den Tierhaltungsräumen des Zentrums für Präklinische

Forschung des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München. Der Zutritt zu den Tierhaltungsräumen war limitiert und personenbegrenzt. Die Unterbringung umfasste eine Klimatisierung des Raumes mit Temperaturkontrolle, sowie einen geregelten Hell-Dunkel-Rhythmus von je 12 Stunden mit Dämmerungsphase. Die Haltung der Tiere erfolgte in Umsetzung der EU-Richtlinie 2010/63/EU. Die Meerschweinchen wurden in einer Großtierbox, die jeweils durch Trennwände unterteilt werden konnte, in Kleingruppen von jeweils bis zu 6 Tieren gehalten. In einer Großtierbox konnten maximal 24 Meerschweinchen mit einem Gewicht von bis zu 700 Gramm untergebracht werden. Die Tiere erhielten Grünpellets (Fa. Altromin Spezialfutter GmbH & Co. KG, Lage), Wasser (tägliches Wechsel) sowie Heu ad libitum. Als Einstreu diente spezielles Holzgranulat bei 1-2 maligem Wechseln pro Woche. Die Tiere erhielten ein Häuschen als Rückzugsmöglichkeit, das gleichermaßen als erhöhte Sitzfläche genutzt werden konnte, sowie Heu und Nagehölzer zur Beschäftigung („Enriched Environment“).

Das Tierversuchsvorhaben wurde gemäß § 8 des deutschen Tierschutzgesetzes durch die Regierung von Oberbayern genehmigt (Versuchsvorhaben 55.2-1-54-2532-98-13).

2.2 Implantat

Als Implantat diente ein speziell für diese Versuchsreihe hergestellter Elektroenträger aus Silikon (MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH, Innsbruck, S. Schilp), der mit einer Länge von 5 cm und einem Durchmesser zwischen 0,3 und 0,6 mm an die Größenverhältnisse der Cochlea des Meerschweinchens angepasst war (siehe Abb. 7). Die Platin-Iridium-Drähte in dem Elektroenträger waren mit einem mehrpoligen Stecker verlötet, der auf dem Schädeldach des Meerschweinchens positioniert wurde, um die im weiteren Verlauf beschriebenen Messungen

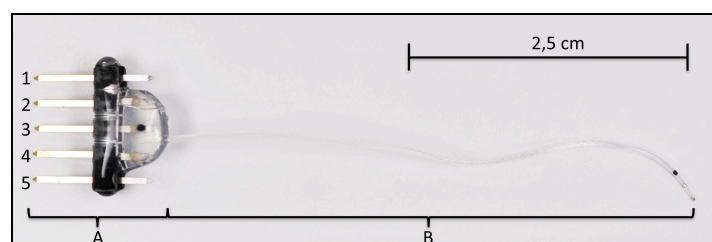


Abb. 7: 5-poliger Stecker (A) und Implantat (B) mit einem apikalen und basalen Elektrodenkontakt am freien Ende des Implantates (MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH, Innsbruck, S. Schilp)

Metallstift 3 und 4 des Steckers stehen über Platin-Iridium-Drähte in Verbindung mit dem basalen Elektrodenkontakt (= näher an der schwarzen Insertionsmarkierung) und apikalen Elektrodenkontakt (= näher an der Spitze des Implantates) am freien Ende des Implantates. Bei 12 Implantaten war die Spitze des Elektroenträgers (5 mm) inklusive der auf dem Silikon freiliegenden Kontakte mit einer PTFEP-Beschichtung überzogen.

nach der Implantation durchzuführen. Das freie Ende des Implantates besaß eine konisch zulaufende Spitze und wies im Abstand von 3 mm einen schwarzen Punkt als Markierung auf. Dieser half dem Operateur während der intracochleären Platzierung des Implantat-Endstückes die Implantationstiefe zu kontrollieren. An der Spitze des Elektrodenträgers befanden sich auch die beiden freiliegenden Elektrodenkontakte (apikal und basal) aus Platin-Iridium für die Impedanzmessungen. Der apikale Kontakt befand sich dabei näher an der Spitze des Implantates als der basale Kontakt. Bei der einen Hälfte der Implantate war die äußere Oberfläche des freien Endes des Implantates auf einer Länge von 5 mm mit PTFEP beschichtet, bei der anderen Hälfte der Implantate blieb die Oberfläche des medizinischen Silikons hingegen unbeschichtet. Eine qualitative Elementanalyse zur Bestimmung der chemischen Zusammensetzung mit Hilfe einer Röntgen-Photoelektronen-Spektroskopie zeigte, dass bei den beschichteten Implantaten neben der Silikonoberfläche auch die freiliegenden Platin-Iridium-Kontakte von dem Polymer überzogen waren (siehe Abb. 8 und Abb. 9). Die Beschichtung war transparent und für den Operateur nicht erkennbar. Die Auswahl des Implantats bei jeder Operation erfolgte daher willkürlich.

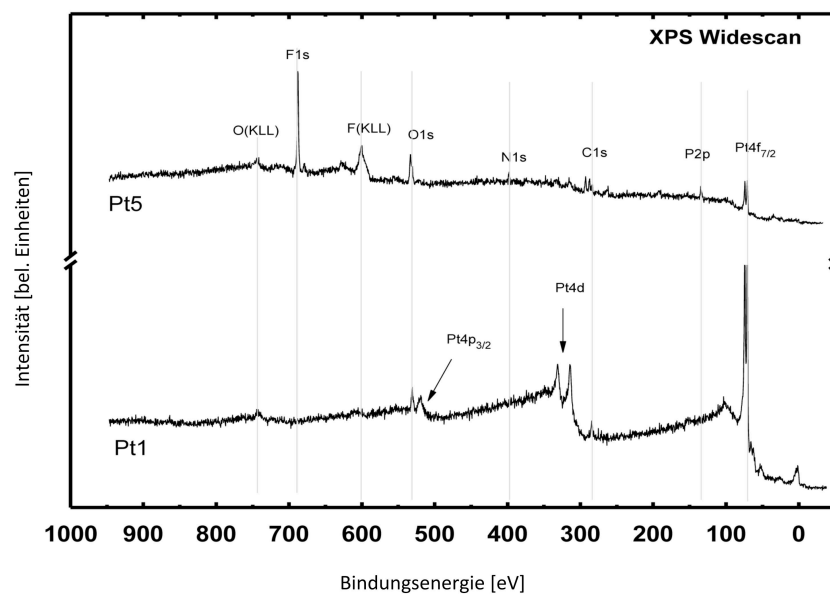


Abb. 8: Messergebnisse der Röntgen-Photoelektronen-Spektroskopie, Teil I

Instrument MAX 200; Pt 1 = Platin-Iridium-Kontakt eines unbeschichteten Implantates als Kontrollfestkörper, Pt 5 = Platin-Iridium-Kontakt eines Implantates mit PTFEP-Beschichtung. Die qualitative Elementanalyse des Kontaktes eines beschichteten Implantates wies alle chemische Elemente von PTFEP nach (Stickstoff-, Phosphor-, Fluor-, Kohlen- und Wasserstoffatome). Der Platinkontakt war also mit PTFEP beschichtet. Als Kontrollfestkörper für die Analyse diente der Kontakt eines unbeschichteten Implantates. In diesem Fall ließen sich keine chemischen Bestandteile von PTFEP, sondern lediglich Platinatome nachweisen.

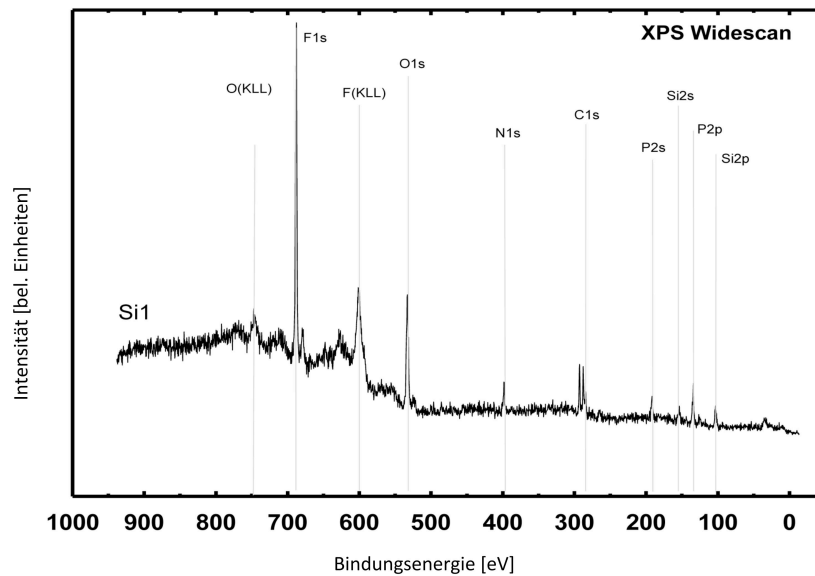


Abb. 9: Messergebnisse der Röntgen-Photoelektronen-Spektroskopie, Teil II

Instrument MAX 200; Si1 = Silikon mit einer PTFEP-Beschichtung. In dieser Analyse wurde die chemische Zusammensetzung von PTFEP-beschichtetem Silikon überprüft. Es ließen sich alle chemischen Elemente von PTFEP nachweisen. Die Silikonoberfläche des Implantates war also erfolgreich mit PTFEP überzogen.

2.3 Versuchsplan

2.3.1 Prä- und postoperative Hörmessungen

Die Hörschwellen der Meerschweinchen wurden mittels ABR-Methode (= „auditory brainstem response“, Messungen von akustisch evozierten Hirnstammpotentialen) erfasst - einem Messverfahren der objektiven Audiometrie, das sich bereits seit langem in der experimentellen Hörforschung bewährt hat. Bei dieser Messmethode können Potentialnachweisschwellen bestimmt werden. Diese sind erfahrungsgemäß nahezu identisch mit der jeweiligen Hörschwelle.

2.3.2 Impedanzmessungen

Durch den Hersteller (MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH, Innsbruck, S. Schilp) wurden bei allen Implantaten bereits Impedanzmessungen zur Funktionskontrolle durchgeführt. Es wurden ausschließlich Implantate mit Widerständen unter 4 k Ω verwendet. In dem Versuchsvorhaben wurden die elektrischen Widerstandswerte am apikalen und basalen Elektrodenkontakt jeweils mittels einer eigens für diesen Versuch konzipierten Messeinrichtung (GP_Imp, H.-J. Steinhoff) und einem Messverfahren aus der klinischen Praxis für humane CI-Patienten (MED-EL MAESTRO) bestimmt. Die Impedanzmessungen an den Kontakten erfolgten zu den gleichen Zeitpunkten wie die ABR-Hörmessungen: Am

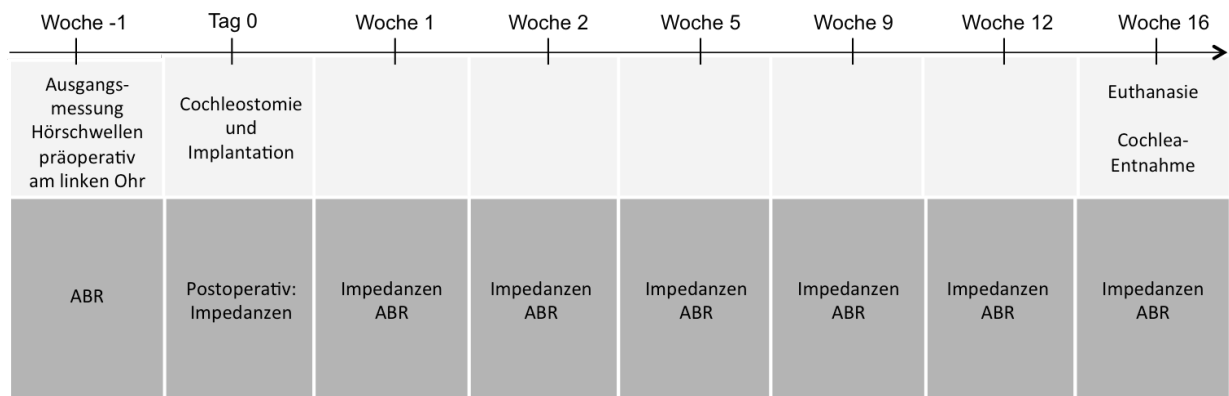


Abb. 10: Versuchsplan (grafische Darstellung angelehnt an James et al. 2008)

Tag 0 unmittelbar nach dem operativen Eingriff zur Bestimmung des Ausgangswertes sowie 1, 2, 5, 9, 12 und 16 Wochen nach dem Einsetzen des Implantates. Die Bestimmung dieser Elektrodenwiderstände wurde stets nach folgendem standardisierten Messprotokoll durchgeführt: Zunächst wurden die Ausgangswiderstände des apikalen und basalen Elektrodenkontaktes alternierend mit beiden Messvorrichtungen gemessen (Erstmessung). Danach wurde der apikale Kontakt 15 Minuten elektrisch stimuliert (= Konditionierung). Anschließend wurde die elektrische Widerstandsmessung an dem apikalen und basalen Kontakt wiederholt (Zweitmessung).

Die Hör- und Impedanzmessungen wurden in Vollnarkose und nach jeweiligem Umsetzen der benötigten Kabel direkt hintereinander ausgeführt. Die Gesamtdauer für einen kompletten Messvorgang betrug maximal 1,5 Stunden. Eine Übersicht über den Versuchsplan ist in Abb. 10 dargestellt.

2.4 Versuchsdurchführung

2.4.1 Narkose und Narkoseüberwachung

Als Anästhesie für das Meerschweinchen wurde eine vollständig antagonisierbare Injektionsnarkose (VAA) durch Kombination folgender Präparate angewandt: Medetomidin (Sedator[®] 1 mg/ml Injektionslösung, Eurovet Animal Health B.V., Bladel, 0,2 mg/kg), Midazolam (Midazolam 5 mg/5 ml Injektionslösung, Hexal AG, Holzkirchen, 1 mg/kg) und (Fentadon[®], 50 µg/ml, Eurovet Animal Health B.V., Bladel, 0,025 mg/kg). Die einzelnen Injektionslösungen wurden gemeinsam in einer Mischspritze aufgezogen und intramuskulär appliziert. Eine konstante Narkosetiefe für das Versuchstier wurde durch eine erneute intramuskuläre Verabreichung von 2/3 der Initialdosis von Medetomidin/Midazolam/Fentanyl in einer Mischspritze sichergestellt. Die vollständige Antagonisierung

der Narkose erfolgte durch die gemeinsame subkutane Verabreichung von Atipamezol (Antisedan[®] 5mg/ml Injektionslösung, Elanco Animal Health, Bad Homburg, 1 mg/kg), Naloxon (Naloxon 0,4mg/ml[®] Injektionslösung, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, 0,03 mg/kg) und Flumazenil (Flumazenil 0,1 mg/ml Injektionslösung, Hexal AG, Holzkirchen, 0,1 mg/kg) in einer Mischspritze. Das Operationsfeld wurde mit 0,2 ml Lokalanästhetikum (Ultracain[®] 1 % Suprarenin[®] 5 ml, Injektionslösung, Sanofi Aventis Deutschland GmbH, Frankfurt am Main) subkutan infiltriert.

Während der Narkose wurden die Atemfrequenz und Schleimhautfarbe der Maulhöhle durch regelmäßige visuelle Kontrolle überprüft. Zur Beurteilung der Narkosetiefe wurden Lid-, Ohr-, vorderer und hinterer Zwischenzehen- sowie der Stellreflex in regelmäßigen Abständen überprüft. Das chirurgische Toleranzstadium wurde anhand folgender Kennzeichen bestimmt: Lidreflex nicht mehr vorhanden, Kornealreflex vorhanden, Bulbus leicht rotiert, Zwischenzehenreflex unvollständig vorhanden und gleichmäßiges Atemmuster. In gleichmäßigen Abständen wurde zudem eine Herzauskultation durchgeführt.

Die Körpertemperatur (37,5 °C - 38,5 °C) wurde mittels einer Rektalsonde überwacht und durch Lagerung des Meerschweinchens auf einem Heizkissen, das über drei Temperaturstufen verfügte, aufrechterhalten. Zusätzlich wurde der Wärmeverlust mit Latexhandschuhen, die mit warmen Wasser befüllt wurden und an das Meerschweinchen gelegt wurden, ausgeglichen. Es wurde Bepanthen[®]-Salbe (Bepanthen[®] Augen- und Nasensalbe, Bayer Vital GmbH, Leverkusen) als Schutz vor Austrocknung auf die Corneae aufgetragen. Zur Stabilisierung des Kreislaufes und zur Aufrechterhaltung des Elektrolythaushalts während der Narkose wurden zusätzlich 5 ml Ringer-Lactat-Lösung (Infusionslösung zur intravenösen Anwendung, AlleMan Pharma GmbH, Rimbach) subkutan appliziert.

2.4.2 Implantation

2.4.2.1 Cochlea-Implantation

Das Operationsfeld wurde entlang der geplanten Schnittführung hinter dem linken Ohr und auf dem Schädeldach großflächig rasiert und mit Jodlösung (Braunol[®], B. Braun Melsungen AG, Melsungen) desinfiziert. Zunächst wurde palpatorisch das Mastoid am temporalen Schädelknochen aufgesucht und dann retroaurikulär auf Höhe der geplanten Eröffnung des Mittelohrs (Bullostomie) eine Inzision von 2 cm Länge mit einem Abstand von 0,5 cm vom hinteren Ohrmuschelrand gesetzt. Mit einer feinen Präparationsschere und einem Raspatorium wurden dann die Muskelschichten bis zum temporalen Schädelknochen abpräpariert, sodass ein klares Sichtfeld auf die noch geschlossene, knöcherne Oberfläche der Bulla möglich war.

Anschließend wurde auf Höhe des Mastoids mit der Spitze eines Skalpells ein feines Loch gebohrt und mit einer Pinzette so erweitert, dass über das eröffnete Mittelohr eine freie Sicht auf das runde Fenster (*Foramen ovale*) der Cochlea möglich war.

Anschließend wurde mit einem Diamantbohrer (Durchmesser des Bohrkopfes 0,7 mm) etwa 1 mm ventral des runden Fensters eine Öffnung in der Wand der basalen Windung der Cochlea geschaffen (Cochleostomie, siehe Abb. 11). Nach der Befestigung des Steckers am Schädeldach (siehe 2.4.2.2) wurde ein Venenverweilkatheter ausgehend vom retroaurikulären Operationsfeld subkutan in Richtung der Schädelkalotte bis zum sagittalen Hautschnitt am Schädeldach vorgeschoben. Dadurch wurde eine kleinlumige Verbindung unter der noch intakten Hautbrücke zwischen dem retroaurikulären Operationsfeld und dem Hautschnitt am Schädeldach mit Stecker und Implantat geschaffen. Anschließend wurde die freie Spitze des Implantates retrograd in den Venenverweilkatheter eingefädelt und bis in das Bullostomie-Operationsfeld vorgeschoben. Der Venenverweilkatheter wurde dann unter Verbleib des Implantates wieder entfernt. Das freie apikale Endstück des Implantates befand sich somit nun im Operationsfeld der Bullostomie. Die Spitze des Implantates wurde bis einschließlich einer Markierung (schwarzer Punkt bei einer Länge von 3 mm) in die basale Windung der Cochlea eingeführt (siehe Abb. 11). Die Insertionsstelle wurde mit einem Stück Faszienewebe abgedeckt, das aus der Nackenmuskulatur entnommen und ringförmig um das Implantat gelegt wurde. Das Implantat wurde dann mit einem Tropfen Gewebekleber (Histoacryl[®], B.Braun, AESCULAP AG, Tuttlingen) an die freiliegende knöcherne Oberfläche der Bulla geklebt, um ein Herausrutschen des Implantats nach dem Verschluss der Wunde zu verhindern. Zur Infektionsprophylaxe wurden zwei Tropfen (ca. 50 µl)

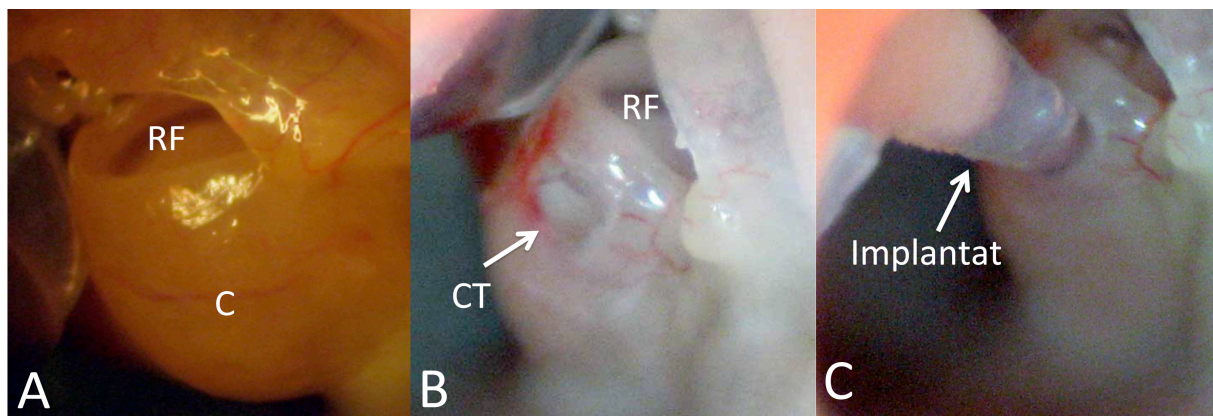


Abb. 11: Cochlea-Implantation

- A: Blick in das eröffnete Mittelohr mit der Cochlea (C) und dem runden Fenster (RF)*
B: Cochlea mit Cochleostomie (CT) etwa 1 mm ventral des runden Fensters (RF)
C: Implantierte Cochlea

Enrofloxacin (Baytril® - Das Original 2,5 % - Injektionslösung, Bayer Vital GmbH, Leverkusen) in das Mittelohr appliziert und die Muskulatur über der Bulla mit einer Naht verschlossen. Zuletzt wurde die Haut über der Bulla mit Einzelknopfheften (ETHICON® VICRYL™ 4-0 resorbierbar/polyfil, Johnson & Johnson AG, Diegem) verschlossen.

2.4.2.2 Anbringen des Steckers

Mit einem Skalpell wurde ein sagittaler Hautschnitt auf dem Schädeldach des Meerschweinchens von der Stirn beginnend nach kaudal gesetzt. Das Kalottendach wurde freipräpariert und mit einem scharfen Löffel flächig angeraut. Nun wurden dorsal auf dem Schädel etwas kaudal vom Vertex zwei Löcher für Stahlschrauben gebohrt (Durchmesser: 1,0 mm), die den Abstand des mehrpoligen Steckers aufwiesen. Es wurde darauf geachtet, dass die Bohrung keine Verletzungen an zerebralen Strukturen verursachte. Die Schrauben, die als Verankerung für den Stecker dienten, wurden schließlich in die Bohrlöcher eingedreht. Daraufhin wurde der mehrpolige Stecker zwischen den Schrauben an der Schädelplatte befestigt und die Fixierung des Steckers zusätzlich mit Zahnprothesen-Kunststoff (Paladur®, Heraeus Kulzer GmbH, Hanau) verstärkt. Der Sitz des Steckers wurde täglich im Rahmen der klinischen Untersuchung der Tiere kontrolliert. Der Stecker heilte in allen Fällen sehr gut ein, wurde problemlos von den Tieren toleriert und verursachte keine Beschwerden oder Bewegungseinschränkungen.

2.4.2.3 Schmerzmanagement und Infektionsprophylaxe

Jedes Meerschweinchen wurde 30 Minuten vor der Operation präemptiv zum einen analgetisch mit dem nicht-steroidalen Antiphlogistikum Meloxicam (Metacam®, 1,5 mg/ml Suspension zur oralen Eingabe, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim, 0,2 mg/kg) sowie dem nicht-opioid Analgetikum Metamizol (Metapyrin® 500 mg/ml Tropfen, Medistar Arzneimittelvertrieb GmbH, Ascheberg, 50-100 mg/kg) versorgt. Zum anderen bekam das Meerschweinchen zur Infektionsprophylaxe präoperativ das Antibiotikum Enrofloxacin (Baytril® 2,5 % ad us. vet. orale Lösung, Bayer Vital GmbH, Leverkusen, 10 mg/kg) peroral verabreicht. Die operativen Eingriffe wurden unter einer vollständigen antagonisierbaren Anästhesie (VAA) der Tiere durchgeführt. Hierbei wurde das Opioid Fentanyl (Fentadon®, 50 µg/ml, Eurovet Animal Health B.V., Bladel, 0,025mg/kg) zur Schmerzausschaltung eingesetzt.

Nach Anbringen des Steckers und der Implantation erhielten die Tiere 1 mal täglich das nicht-steroidale Antiphlogistikum Meloxicam (Metacam® 1,5 mg/ml Suspension zur oralen Eingabe, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim) in einer Dosierung von

0,1 mg/kg peroral für insgesamt 3 Tage. Zusätzlich wurde zur Schmerzlinderung das nicht-opioide Analgetikum Metamizol (Metapyrin[®] 500 mg/ml Tropfen, Medistar Arzneimittelvertrieb GmbH, Ascheberg, 50-100 mg/kg) peroral 3mal täglich verabreicht. Zur Infektionsprophylaxe erhielten die Tiere ebenfalls für 3 Tage einmal täglich peroral Enrofloxacin (Baytril[®] 2,5 % ad us. vet. orale Lösung, Bayer Vital GmbH, Leverkusen) in einer Dosierung von 10 mg/kg.

2.4.2.4 Überwachung der Versuchstiere und Abbruchkriterien

Zur Beurteilung ihres Gesundheitszustandes wurden die Tiere über die gesamte Versuchsdauer 1 mal täglich klinisch untersucht. Nach der Implantation der Cochlea-Implantat-Elektroden wurden die Tiere über einen Zeitraum von 7 Tagen engmaschiger mindestens 2 mal täglich untersucht. Neben der klinischen Untersuchung wurden zusätzliche Parameter, die genau auf den Versuch abgestimmt waren, über ein Punktesystem (siehe Tab. 13 im Anhang) erfasst und dokumentiert. Darüber hinaus wurden auch mit Hilfe des Punktesystems spezifische Abbruchkriterien definiert. Eine Gesamtpunktzahl („Score“) von 10 galt als Abbruchkriterium.

2.4.3 Messungen

2.4.3.1 Vorbereitung für die Messungen

Alle Messungen erfolgten in Vollnarkose unter Verwendung der in Kapitel 2.4.1 beschriebenen vollständig antagonisierbaren Anästhesie (VAA). Unmittelbar nach Erreichen des chirurgischen Toleranzstadiums wurden 3 Silberdrahtelektroden ($\varnothing = 0,6$ mm) an 3 verschiedenen Lokalisationen mit Hilfe einer sterilen Kanüle (20 G) subkutan platziert. In der Medianen am Vertex (= Positivelektrode), am linken Mastoid (= Negativelektrode) und in der linken Kniefalte (= Referenzelektrode, Masse). Die betroffenen Stellen wurden vorher ausrasiert. Anschließend wurden die Silberdrahtelektroden über Kabel mit den Eingängen der Hardware der Messeinrichtung verbunden.

Während der gesamten Narkose wurden die Tiere auf einem Heizkissen gelagert, das über eine Rektalsonde die Körpertemperatur (37,5 °C - 38,5 °C) des Meerschweinchens überwachte und aufrechterhielt. Zusätzlich wurde der Wärmeverlust mit Latexhandschuhen, die mit warmem Wasser befüllt und an das Meerschweinchen gelegt wurden, ausgeglichen. Es wurde Bepanthen[®]- Salbe (Bepanthen[®] Augen- und Nasensalbe, Bayer Vital GmbH, Leverkusen) als Schutz vor Austrocknung auf die Corneae aufgetragen.

Die Hörmessungen wurden in einer akustisch-elektrisch geschützten Kammer durchgeführt.

Das anästhesierte Meerschweinchen wurde darin auf dem Heizkissen in die rechte Seitenlage gebracht und so ausgerichtet, dass die linke Ohrmuschel unterhalb des elektro-akustischen Wandlers zu liegen kam. Ein 1,8 cm langer Schallschlauch aus Silikon wurde als Verbindungsstück zwischen dem elektro-akustischen Wandler und dem Ohr des Meerschweinchens in den Eingang des äußeren Gehörgangs eingeführt.

2.4.3.2 Registrierung von ABRs („Auditory Brainstem Responses“)

Durch ABR-Messungen können Antworten des Hirnstamms auf eine akustische Stimulation des Ohres erfasst werden. Diese Methode ist eine objektive Hörprüfung und wird in der Hörforschung schon seit langem zur Bestimmung der Hörschwelle bei Versuchstieren und Menschen (dort: BERA = „brainstem evoked response audiometry“) eingesetzt.

Die Apparatur („Hardware“) für die Ableitung evozierter Potentiale (ABRs) bestand aus einem hochwertigen Industrie-PC, einem rauscharmen Biosignalverstärker (g.BSamp, g.tec, Graz) und einem programmierbaren Abschwächer mit integriertem Leistungsverstärker (g.PAH, g.tec, Graz) (siehe Abb. 12). Zur Erfassung der Hörschwellen wurden die akustischen Stimuli im PC über ein eigens für diesen Versuch programmiertes EDV-Programm („Software“) berechnet (ABR by H.-J. Steinhoff 2013, Version 1.1) und über die Multi-I/O-Karte (ME 4680 PCI, Meilhaus Electronic GmbH, Alling) an den Abschwächer g.PAH ausgegeben. Hier erfolgten die Einstellung des gewünschten Pegels und die Anpassung an die Impedanz des elektro-akustischen Wandlers MF1 (TDT, Alachua). Als Stimuli kamen Gaussdruckimpulse (Click) mit einer äquivalenten Pulsbreite von 100 μ s und Gausstonimpulse mit den Frequenzen 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 16, 24 und 32 kHz zum Einsatz. Die äquivalente Pulsbreite der Tonimpulse war $t_p = 4/f$ und die Reizfolgefrequenz ≈ 30 Hz. Die Hörschwellenbestimmung wurde in einem geschlossenen System durchgeführt. Das akustische Signal gelangte aus dem akustischen Wandler über einen 1,8 cm langen Schallschlauch aus Silikon direkt in den linken äußeren Gehörgang des anästhesierten Meerschweinchens. Die evozierten Biosignale der ABR-Messungen wurden über die 3 subkutan liegenden Silberdrahtelektroden abgeleitet, die mit den Eingängen des Biosignalverstärkers kontaktiert wurden (Vertex \rightarrow +, linkes Mastoid \rightarrow -, linke Kniefalte \rightarrow Masse). Für den Biosignalverstärker wurden folgende Einstellungen gewählt: Verstärkung 100 dB, untere Grenzfrequenz 2 Hz, obere Grenzfrequenz 1.000 Hz, Notch-Filter off. Mit der Multi-I/O-Karte wurden nach jedem Stimulus Biosignalabschnitte der Länge 15 ms mit einer Samplerate von 20 kHz erfasst. Zur Verbesserung des Signal/Rausch-Verhältnisses wurde im

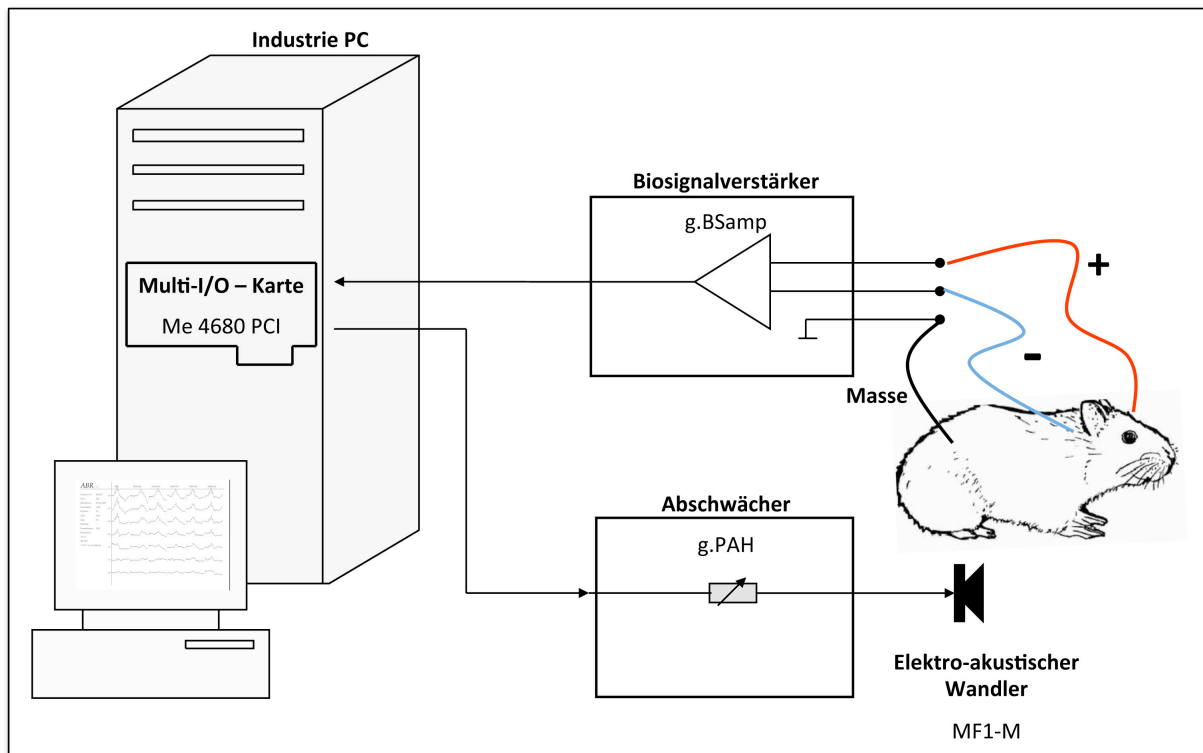


Abb. 12: Schematischer Aufbau der ABR-Messeinrichtung

PC der Mittelwert über n reizsynchrone Biosignalabschnitte gebildet. Die Zahl der Mittelungen lag bei der Erfassung der ABRs bei $n = 500$. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, Hörschwellenverschiebungen zwischen dem präoperativen Hörvermögen und dem Hörvermögen zu definierten Zeitpunkten nach der Implantation zu bestimmen. Aus diesem Grund wurde auf die Kalibrierung eines einheitlichen dB (SPL_{pe})-Wertes verzichtet. Der Bezugswert wurde über die Klemmenspannung am elektro-akustischen Wandler definiert ($0 \text{ dB} = 1V_{SS}$). Die akustisch gemessenen Bezugsschalldruckpegel für die 0 dB-Einstellung der verschiedenen Stimuli können aus Tab. 1 entnommen werden.

Zur Ermittlung der Hörschwellen in den verschiedenen Frequenzen wurde für die akustischen Stimuli $0 \text{ dB re } 1 V_{SS}$ als Startwert gewählt und der Pegel dann in 5 dB Schritten bis $80 \text{ dB re } 1 V_{SS}$ verringert. Als Hörschwelle wurde die letzte Pegel-Reizstärke in der 5 dB Dämpfungsabfolge ausgewählt, die noch ein Summationspotential in der Mittelwertkurve erkennen ließ. Bei den darauffolgenden Pegeln mit höherer Dämpfung war kein Potential

Tab. 1: Akustisch gemessene Bezugsschalldruckpegel für 0 dB Einstellung der verschiedenen akustischen Stimuli

Stimulus [kHz]	Click	1	1,5	2	3	4	6	8	12	16	24	32
Bezugsschalldruckpegel [dB (SPL_{pe})]	85	83,5	91	92,5	85,5	89	91,5	88,5	81,5	79	73	68

mehr zu erkennen. Sie lagen somit im unterschwelligem Bereich unterhalb der Hörschwelle. Bei der Auswertung wurde anschließend die Differenz aus der präoperativen Hörschwelle und der Hörschwelle zum jeweiligen Messzeitpunkt nach der Implantation gebildet. Aus diesem Grund zeigte eine positive Hörschwellenverschiebung eine Verschlechterung des Hörvermögens mit Anhebung der Hörschwelle an.

2.4.3.3 Messung der Elektrodenimpedanzen

Die Impedanzen wurden in jeder Messsitzung mit zwei unterschiedlichen Messsystemen erfasst: Die Messvorrichtung MED-EL MAESTRO ist in der klinischen Praxis ein seit langem für intra- und postoperative Impedanzmessungen bei CI-Patienten etabliertes System. Das zweite Messverfahren GP_Imp wurde eigens für die Impedanzbestimmungen der vorliegenden Versuchsreihe konzipiert und konfiguriert.

2.4.3.3.1 Messsystem MED-EL MAESTRO

Für die Impedanzmessung mit dem CI-Diagnostiksystem MED-EL MAESTRO wurde die MAESTRO-Software Version 4.4.1 (MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH, Innsbruck), eine Diagnostic Interfacebox dib II (Universität Innsbruck, Otto Peter) und ein „Implant in the box“ (Pulsar I¹⁰⁰- Implantat ohne Elektrodenarray, MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH, Innsbruck) eingesetzt (siehe Abb. 13). Der Ausgang des Kanals 1 des Implantates wurde über ein Kabel mit dem apikalen und anschließend mit dem basalen Elektrodenkontakt des Meerschweinchen-Implantates verbunden. Die subkutane Silberdrahtelektrode am Vertex diente als Referenzelektrode und wurde ebenfalls mit dem System kontaktiert. Die Widerstandswerte der beiden Elektrodenkontakte wurden jeweils über das MAESTRO-Messprogramm bestimmt.

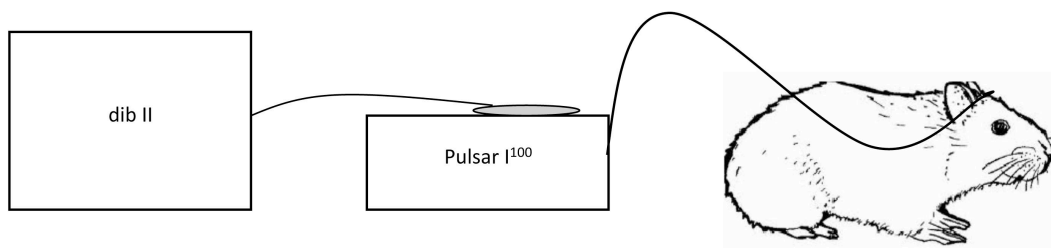


Abb. 13: Schemazeichnung des Messaufbaus zur Impedanzbestimmung mit dem MED-EL MAESTRO-System

2.4.3.3.2 Messsystem GP_Imp

Für diese Impedanzmessungen wurden eine Multi-I/O-Karte (ME 4680 PCI, Meilhaus Electronic GmbH, Alling) und eine eigens für diesen Versuch programmierte Software (GP_Imp by H.-J. Steinhoff, 2012/2013) verwendet. Die komplexen Widerstände des Implantates wurden bei einer vorgegebenen Frequenz von 1 kHz mit zwei kontaktierten Klemmen zwischen der gereizten apikalen und basalen Elektrode gegenüber einer Referenzelektrode bestimmt. Als Referenzelektrode diente die für die Hörmessungen verwendete subkutane Silberdrahtelektrode am Vertex. Die Widerstandsmessungen an beiden Elektroden wurden jeweils 20 Mal wiederholt. Die Messung mit der höchsten Übereinstimmung zwischen U_R und U_Z lieferte den unbekanntem Widerstandswert Z , den komplexen Elektrodenwiderstand.

In der untenstehenden Schaltung (Abb. 14) kann der Betrag des unbekanntem Widerstandes Z (= komplexer Elektrodenwiderstand) durch Messung der Spannungen U_R und U_Z berechnet werden, wenn der Referenzwiderstand R bekannt ist. Bei ungünstigen Widerstandsverhältnissen $R \ll Z$ wird die Messung der Spannung U_R sehr ungenau. Dies würde dann auch eine Ungenauigkeit bei der Bestimmung des Betrages des unbekanntem Widerstandes Z bedeuten. Daher wurde der Referenzwiderstand R als veränderbarer Widerstand ausgeführt. Die Werte für R konnten zwischen 100Ω und $100 \text{ k}\Omega$ in 100Ω - Schritten eingestellt werden. Regelt man nun den Widerstand R so, dass U_R gleich U_Z wird, dann ist der Betrag von Z gleich dem Widerstand R .

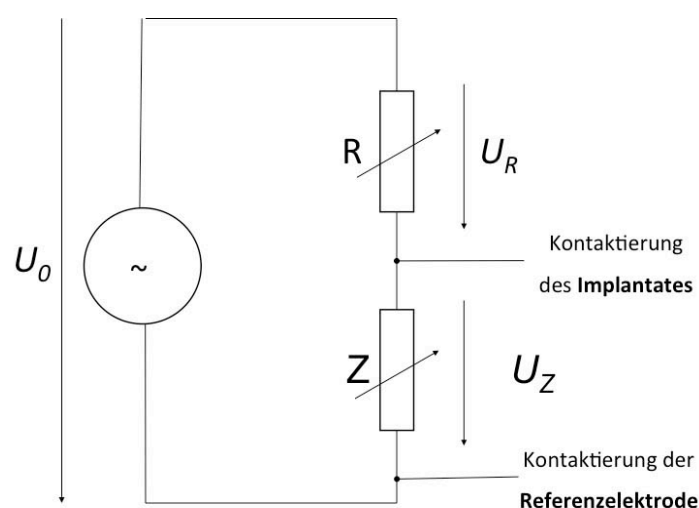


Abb. 14: Schaltbild der Messeinrichtung GP_Imp zur Impedanzbestimmung

2.4.3.3 Bestimmung komplexer Widerstände

Die Messung der Impedanzen erfolgte monopolar zwischen dem basalen oder apikalen Elektrodenkontakt des Implantates und einer externen, subkutan gelegenen Referenzelektrode. Die erfassten elektrischen Widerstände an den Elektrodenkontakten der CIs sind komplexe Widerstände (Impedanzen). Im Gegensatz zu reinen ohmschen Widerständen enthalten derartige Widerstände in aller Regel neben einem reellen Anteil (Realteil) auch einen kapazitiven Anteil (Imaginärteil). Mit dem selbstentwickelten Messsystem GP_Imp wurde an den Implantaten der Betrag dieses komplexen Widerstandes an den beiden Elektrodenkontakten mit einer anregenden Frequenz von 1 kHz bestimmt.

Ein komplexer Widerstand ergibt sich durch eine geometrische Addition des Real- mit dem Imaginärteil (siehe Abb. 15). Reelle Widerstände ohne kapazitive Komponente konnten mit dem Messaufbau relativ exakt bestimmt werden. So war der Messfehler an angelegten ohmschen Widerständen $< 2\%$. Allerdings ist zu beachten, dass bei der Bestimmung eines komplexen Widerstandes der Imaginärteil frequenzabhängig ist. Eine Bestimmung des Frequenzganges (Funktion der Spannung über die Frequenz) war bei dem Messaufbau von GP_Imp allerdings nicht möglich. Um die Frequenzabhängigkeit herauszurechnen, müsste zusätzlich der dazugehörige Phasenwinkel ρ bekannt sein. Dieser Phasenwinkel konnte mit

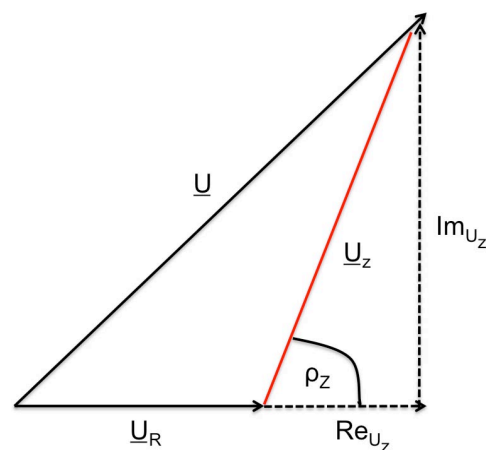


Abb. 15: Schemazeichnung komplexer Widerstand

\underline{U} = angelegte Spannung, \underline{U}_r = Spannung am Referenzwiderstand, \underline{U}_z = Spannung, die am komplexen Widerstand abfällt, Im_{U_z} = Imaginärteil (kapazitiver Anteil) von \underline{U}_z , Re_{U_z} = Realteil von \underline{U}_z , Phasenwinkel ρ . Mit GP_Imp wurden mit einer anregenden Frequenz von 1 kHz die beiden Spannungen \underline{U}_z und \underline{U}_r bestimmt. Das Messsystem veränderte \underline{U}_r so lange, bis $\underline{U}_r = \underline{U}_z$. Damit war $|Z| = R$. Nach dem Ohmschen Gesetz ist $U \sim R$. Somit konnte der Betrag des komplexen Widerstandes bei 1 kHz bestimmt werden.

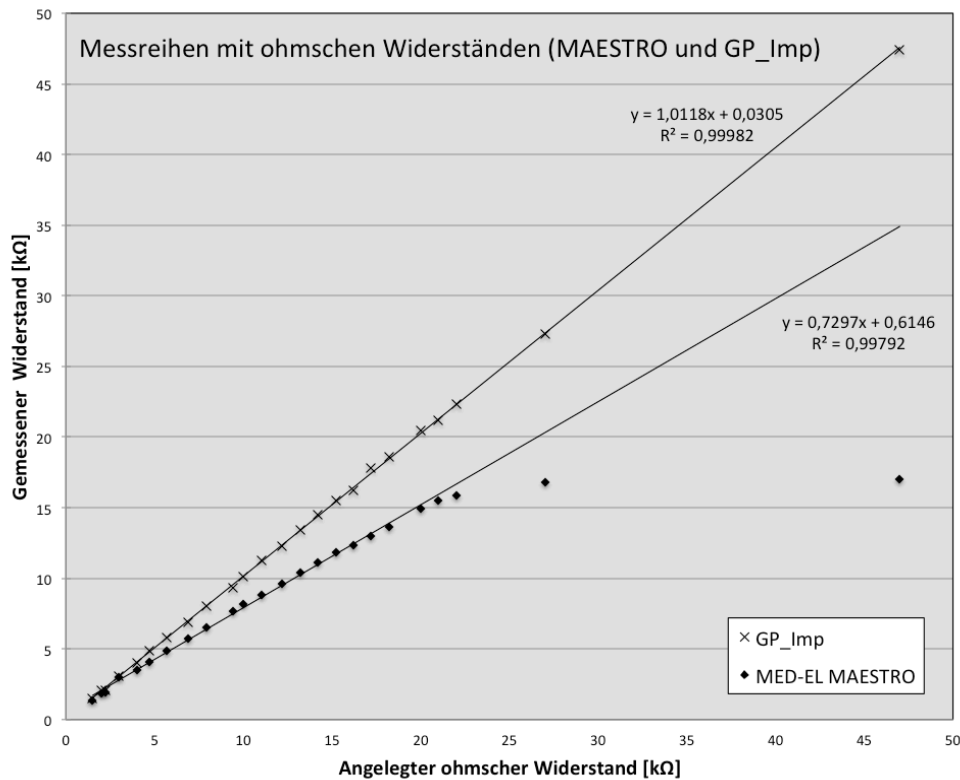


Abb. 16: Messreihen mit ohmschen Widerständen

Reine, ohmsche Widerstände wurden jeweils mit den beiden Impedanz-Messsystemen GP_Imp und MED-EL MAESTRO bestimmt. Mit GP_Imp konnten diese reellen Widerstände ohne kapazitive Komponente relativ exakt bestimmt werden. So war der durchschnittliche Messfehler an den angelegten Widerständen $< 2\%$. Auch bei MED-EL MAESTRO konnte ein linearer Zusammenhang zwischen gemessenen und angelegten ohmschen Widerständen (bis 20 k Ω) bestimmt werden. In der Messreihe wurde aber deutlich, dass im Gegensatz zu GP_Imp die angelegten ohmschen Widerstände grundsätzlich zu klein angenommen wurden. Außerdem konnten ohmsche Widerstände über 20 k Ω mit diesem Messsystem nicht mehr bestimmt werden, da sie sich außerhalb des Messbereiches befanden.

GP_Imp aufgrund der zu geringen Abtastrate (200 kHz) nicht hinreichend genau bestimmt werden. Aus diesem Grund beruhten die Impedanzdaten für GP_Imp auf Basis einer definierten Sinusspannung von 1 kHz. Eine Frequenz von 1 kHz wurde gewählt, da der spektrale Schwerpunkt der Reizantwort der ABR-Ableitungen ebenfalls in diesem Frequenzbereich liegt. MED-EL MAESTRO ist hingegen ein Messsystem, über dessen Funktionsweise der Hersteller keine genaue Auskunft gibt. Es war davon auszugehen, dass sich die angegebenen elektrischen Widerstände auch bei diesem System aus einem Real- und einem Imaginärteil zusammensetzten. Allerdings war unter anderem nicht bekannt, mit welcher Frequenz die Impedanzen bestimmt wurden. Im Gegensatz zu GP_Imp wurden die Impedanzen der Implantate bei MED-EL MAESTRO mit Rechteckimpulsen und nicht mit Sinusspannung bestimmt.

Für die beiden Messsysteme GP_Imp und MED-EL MAESTRO wurde mit verschiedenen reellen, ohmschen Widerständen eine Messserie durchgeführt (siehe Abb. 16 und Tab. 18 im Anhang). Die Analyse ergab bei beiden Messsystemen einen linearen Zusammenhang zwischen den gemessenen und angelegten ohmschen Widerständen. In der Messreihe wurde aber deutlich, dass im Gegensatz zu GP_Imp die angelegten ohmschen Widerstände bei MED-EL MAESTRO grundsätzlich zu klein angenommen wurden. Reelle Widerstände wurden also mit diesem Messprogramm systematisch unterschätzt. Daneben konnte mit der Messreihe auch nachgewiesen werden, dass dieser systematische Fehler mit zunehmenden Werten größer wurde.

2.4.3.3.4 Konditionierung der Elektroden

Nach der ersten Impedanzmessung an beiden Kontakten wurde der apikale Kontakt am Stecker über ein Kabel mit einem „Implant in the box -box“ (Pulsar I¹⁰⁰ - Implantat ohne Elektrodenarray, MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH, Innsbruck) kontaktiert (siehe Abb. 17). Für die Konditionierung wurde ein Stimulationsschema angewendet, das sich in der klinischen Praxis bei Patienten mit CIs bewährt hat. Ein Sprachprozessor CIS pro+ (MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH, Innsbruck) wurde so programmiert, dass das angeschlossene Implantat Pulsar I¹⁰⁰ (MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH, Innsbruck) den apikalen Kontakt mit folgenden CIS-Impuls-Parametern stimulierte: Pulsbreite von 35,42 μ s und Pulsrate von 750/s. Der eingeprägte Strom betrug unabhängig von der Lautstärkeinstellung 452,1 μ A. Der apikale Kontakt wurde über 15 Minuten mit dieser Einstellung konditioniert, der basale Kontakt wurde nicht stimuliert. Daraufhin erfolgte eine erneute Impedanzmessung beider Kontakte mit beiden Messsystemen.

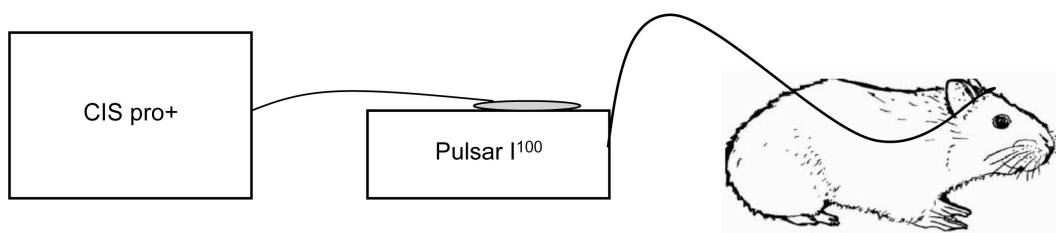


Abb. 17: Schemazeichnung für die Elektrodenkonditionierung

Der apikale Kontakt wurde mit einem CIS pro+ Sprachprozessor und einem Implantat Pulsar I¹⁰⁰ (beide Komponenten von MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH, Innsbruck) über 15 Minuten elektrisch stimuliert. Der basale Kontakt wurde hingegen nicht stimuliert. Anschließend erfolgte eine erneute Impedanzmessung beider Kontakte.

2.4.4 Versuchsende und Probengewinnung

Am Ende der Versuchsreihe nach 4 Monaten wurden die Tiere ohne Wiedererwachen aus der Narkose nach der letzten Messung schmerzfrei durch eine intrakardiale Injektion von Pentobarbital (Narcoren[®], 16g/100ml Injektionslösung, Merial GmbH, Halbergmoos, 100 mg/kg, intracardial) getötet. Nach der Feststellung des Todes wurde die Kopf- und Nackenregion großflächig ausrasiert. Ausgehend von Mastoid wurde dann retroaurikulär eine Hautinzision in Richtung Schädeldach bis zum Stecker gesetzt. Anschließend erfolgte eine vorsichtige Freilegung des temporoparietalen Anteils des Implantates, sodass der gesamte Verlauf des Implantates vom Stecker bis zur verheilten Bullostomie sichtbar war. Das Implantat wurde vorsichtig mit einem Scherenschnitt nahe der Eintrittsstelle in das Mittelohr durchtrennt.

Für die Entnahme der Cochlea wurde anschließend die Schädelhaut von der Schädeldecke entfernt und die Muskelschichten in der Nackenregion bis zur Halswirbelsäule abpräpariert. Das Hinterhauptsloch (*Foramen magnum*) war somit durch leichtes Abknicken des Kopfes einsehbar. Mithilfe von zwei Scherenschnitten ausgehend vom *Foramen magnum* in Richtung des linken und rechten lateralen Augenwinkels konnte dann das Schädeldach durch Umklappen nach rostral entfernt werden. Das nun freiliegende Gehirn wurde herauspräpariert und das linke Felsenbein konnte mit einer Zange aus dem Schädel herausgelöst werden. An einer Ecke des nun isolierten Felsenbeins wurde danach vorsichtig mit einem Skalpell eine wenige Millimeter große Öffnung zum Mittelohr geschaffen. Anschließend wurde das Felsenbein zur Fixierung in 4 %-iges Formalin überführt.

2.4.5 Histologische Aufbereitung der Cochleae

2.4.5.1 Fixierung, Entkalkung und Paraffineinbettung

Das entnommene Felsenbein wurde zur Gewebefixierung 24 Stunden in 4 %-igem Formalin belassen. Für eine schonende Entkalkung des Knochengewebes wurde das Felsenbein anschließend in EDTA-Citronensäure-PBS-Lösung (0,35 %) überführt. Die Verweildauer der Cochlea in dieser Lösung (bei Raumtemperatur) war abhängig von der jeweiligen Knochendichte der einzelnen Cochleae und betrug maximal 21 Tage. Um den Fortschritt des Entkalkungsprozesses des jeweiligen Präparates zu kontrollieren, wurde vorsichtig mit Hilfe einer Kanüle (24 G) in eine nicht relevante Stelle des Felsenbeines gestochen und auf Durchgängigkeit überprüft. Die Entkalkungslösung wurde täglich gewechselt. Nach Abschluss der Entkalkung wurde unter Verwendung einer feinen Präparierschere nach Metzenbaum und einem spitzen Skalpell das entmineralisierte Bullagehäuse um die Cochlea

entfernt und die Spitze des Implantates vorsichtig aus der Cochlea extrahiert. Die nun freigelegte Cochlea wurde anschließend mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS-Lösung) für 60 Minuten auf einem Schwingtisch gespült.

Für die weitere histologische Aufarbeitung wurde die Cochlea über Nacht in einem Automaten über eine aufsteigende Alkoholreihe entwässert und abschließend in Paraffin eingebettet. Danach erfolgte ein Ausblocken der Cochlea mit Paraffin in ein Einbettförmchen. Die Schneckenlängsachse wurde dabei parallel zum Boden des Einbettförmchens ausgerichtet. Mit einem Mikrotom wurden Serienschritte der eingebetteten Cochlea (Schnittdicke: 4,0 µm, midmodiolare Schnittebene entlang der Schneckenlängsachse) angefertigt. Die einzelnen Paraffinschnitte wurden in einem Wasserbad bei 37 °C geglättet und auf Objektträger (Superfrost® Plus, 25 x 75 x 1,0 mm, Thermo Scientific, Gerhard Menzel GmbH, Braunschweig) aufgezogen. Es konnten bis zu 4 aufeinanderfolgende Schnitte auf einen Objektträger aufgebracht werden.

2.4.5.2 Entparaffinierung und histologische Färbungen

2.4.5.2.1 Hämatoxylin-Eosin (HE)-Färbung

Zunächst wurde jeder zehnte Objektträger einer Cochlea-Schnittserie ausgewählt und über Nacht in einem Brutschrank bei 58 °C aufbewahrt. Diese Schnitte wurden anschließend über eine absteigende Alkoholreihe entparaffiniert (Abb. 18, Teil A) und anschließend 1 Minute lang in Aqua dest. verbracht. Die entparaffinierten Schnitte konnten danach mit Hämatoxylin-Eosin (HE-Färbung) angefärbt werden (Abb. 18, Teil B). Nach dem Durchlaufen einer aufsteigenden Alkoholreihe und Xylol wurden die gefärbten Schnitte abschließend mit dem Einschlussmittel Roti®-Histokitt II (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe) und einem Deckglas eingedeckt. Innerhalb jeder Schnittserie wurden nach einer Begutachtung der bereits gefärbten Objektträger weitere native Schnitte aus dem midmodiolaren Abschnitt sowie aus dem Insertionsbereich einer Cochlea ausgewählt und ebenfalls nach diesem Protokoll gefärbt.

2.4.5.2.2 Immunhistologische Färbung mit GAP43-Antikörpern

Zur Evaluierung der implantationsbedingten Degeneration von Spiralganglienzellen in der Cochlea wurde eine immunhistologische Färbemethodik mit GAP43-Antikörpern durchgeführt. Das wachstumsassoziierte Protein GAP43 („growth-associated protein 43“) ist ein selektiv neuronales Protein, das membrangebunden vorrangig in präsynaptischen Bereichen zu finden ist. Es wird verstärkt in wachsenden und regenerierenden Neuronen und in geringem Maße auch in reaktiven Gliazellen exprimiert („Wachstums- oder Plastizitätsprotein“). Der GAP43-Antikörper wird in der Immunhistologie als diagnostischer

Marker verwendet, um beschädigte Nervenzellen detektieren zu können.

Für die immunhistologische Färbung wurden Paraffinschnitte verwendet. Von jeder implantierten Cochlea wurden jeweils 5 Objektträger mit Schnitten aus dem midmodiolaren Bereich ausgewählt. Die selektierten Schnitte wurden 24 Stunden lang in einem Brutschrank bei 58 °C aufbewahrt und anschließend maschinell in dem Färbeautomat BondMax (Leica Biosystems GmbH, Nussloch) mit dem GAP43-Antikörper (Anti-GAP43 antibody [EP890Y], ab75810, Abcam plc, UK) inkubiert und gefärbt (siehe Tab. 2). Der Antikörper wurde mit einer Lösung 1:1.000 verdünnt (Bond™ Primary Antibody Diluent, Leica Biosystems GmbH, Nussloch). Zur Epitopdemaskierung wurde der Citratpuffer Bond™ Epitope Retrieval Solution 1 (Leica Biosystems GmbH, Nussloch) verwendet. Die Inkubationszeit mit dem Primäantikörper betrug 20 Minuten.

Für den Nachweis der Antigen-Antikörper-Reaktion wurde eine alkalische Phosphatase-Reaktion gewählt. Unter Anwendung des Färbekits Bond Polymer Refine Red Detection (Leica Biosystems GmbH, Nussloch) konnte dies durch eine rote Färbung erkennbar gemacht werden. Die Schnitte wurden anschließend manuell über eine aufsteigenden Alkoholreihe (siehe Abb. 18, Teil A) entwässert und fixiert. Die Schnitte wurden dann abschließend mit Roti®-Histokitt II (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe) und einem Deckglas eingedeckt.

A: ENTPARAFFINIERUNGSPROTOKOLL		B: HÄMATOXYLIN-EOSIN-FÄRBUNG	
Alkohol	Zeit	Färbelösung	Zeit
Xylol	5 min	1. Hämatoxylin	6 min
Xylol	5 min	2. Wässern unter laufendem Leitungswasser bis keine Farbschlieren mehr abgehen	variabel
Xylol	5 min	3. Eosin	1 min
Xylol	5 min	4. Wässern mit Leitungswasser	10 Sekunden
Ethanol 100 %	5 min		
Ethanol 100 %	5 min		
Ethanol 96 %	5 min		
Ethanol 96 %	5 min		
Ethanol 70 %	5 min		
Ethanol 70 %	5 min		

Abb. 18: Entparaffinierungsprotokoll (A) und Ablauf Hämatoxylin-Eosin-Färbung (B)

Tab. 2: Immunhistologie mit GAP43-Antikörpern

Färbeautomat BondMax (Leica Bond™)	
Antikörper	Anti-GAP43 antibody [EP890Y], ab75810, Abcam plc, UK
Verdünnung	1:1000
Verdünnungslösung	Bond Primary Antibody Diluent (Leica Bond™)
Retrieval Solution	Citratpuffer Bond Epitope Retrieval Solution 1 (Leica Bond™)
Inkubationszeit mit Antikörper	20 min
Färbekit	Bond Polymer Refine Red Detection (Leica Bond™)

2.4.5.3 Auswertung der Hörmessungen

7 Tage vor der Implantation wurden die frequenzspezifischen Ausgangshörschwellen des Meerschweinchens mittels ABR-Messverfahren am linken Ohr bestimmt. In dieser Studie wurden ausschließlich Tiere mit Hörschwellen über 50 dB (0 dB = 1 V_{SS}, Dämpfung in 5 dB-Schritten) in allen Frequenzen verwendet. Dieser Grenzwert wurde in Voruntersuchungen an der im Versuch verwendeten Messeinrichtung ermittelt, um Meerschweinchen mit einem bereits vorhandenen beeinträchtigten Hörvermögen vom Versuch auszuschließen. Zur Ableitung evozierter Hirnstammpotentiale wurde ein Click-Reiz sowie 11 frequenzspezifische akustische Stimuli („tone-bursts“) angewendet. Für die Evaluierung der Hörmessungen wurden für jedes Tier die absoluten Hörschwellenverschiebungen bei den verschiedenen akustischen Stimuli zwischen dem präoperativen Hörvermögen (= Ausgangshörschwellen) und dem Hörvermögen zu den jeweiligen Messzeitpunkten nach der Implantation bestimmt. Die 12 ermittelten Werte (Einheit: dB) je Messzeitpunkt und Tier wurden anschließend durch die Berechnung des jeweiligen Mittelwertes nach folgendem Schema zu insgesamt 4 Gruppen zusammengefasst: Click, tiefe Frequenzen (1-3 kHz), mittlere Frequenzen (4-12 kHz) und hohe Frequenzen (16-32 kHz). Jeder Messzeitpunkt ergab somit 4 Werte pro Tier.

2.4.5.4 Auswertung der Impedanzmessungen

Die Impedanzbestimmungen an beiden Kontakten wurden zu jedem Messzeitpunkt mit beiden Messsystemen (MED_EL MAESTRO und GP_Imp) alternierend jeweils zweimal mit einem zeitlichen Abstand von 15 Minuten durchgeführt. Jeder Messzeitpunkt ergab somit 4 Werte pro Tier und Messsystem: Impedanzwerte apikaler und basaler Kontakt aus der 1. Messung

(Erstmessung) sowie Impedanzwerte apikaler und basaler Kontakt aus der 2. Messung (Wiederholungsmessung/Zweitmessung). Am Tag der Implantation (Tag 0) wurden unmittelbar nach der Operation erstmalig die elektrischen Widerstände vom apikalen und basalen Kontakt gemessen. Ausgehend von diesen Basiswerten (= Nullwert) wurden die jeweiligen absoluten Impedanzveränderungen [$k\Omega$] zu den verschiedenen Messzeitpunkten (Absolute Impedanzveränderungen, AIV) berechnet sowie die relativen Abweichungen [%] zwischen dem Basiswert an Tag 0 und den verschiedenen Messzeitpunkten bestimmt.

Daneben wurden beide Impedanz-Messsysteme (MED-EL MAESTRO und GP_Imp) hinsichtlich Richtigkeit und Genauigkeit der erfassten Impedanzwerte verglichen (siehe Abschnitt 2.4.6). Als Kennwerte für diese Methodvalidierung wurden die mittlere Abweichung und Varianz ermittelt. Dabei wurden für das Bland-Altman-Diagramm die Ergebnisse aus der 1. Messung am basalen Kontakt verwendet. Für die Berechnung des Variationskoeffizienten bei beiden Messsystemen wurden die jeweiligen Impedanzpaare aus der 1. und 2. Messung am basalen Kontakt herangezogen. Die Impedanz-Messergebnisse der apikalen Kontakte wurden hier nicht berücksichtigt, da dieser Kontakt zwischen der 1. und 2. Messung elektrisch stimuliert wurde. Für die Ermittlung der Passing-Pablok-Regression wurden hingegen alle messbaren Impedanzwerte beider Kontakte aus der ersten Messung sowie der Wiederholungsmessung nach 15 Minuten verwendet.

Außerdem erfolgte gruppenvergleichend eine Evaluierung der Impedanzausfälle pro Messzeitpunkt sowie der totalen Anzahl an Implantaten mit Impedanzausfällen in beiden Gruppen. Darüber hinaus wurde ein gruppenunabhängiger Vergleich zwischen den Impedanzwerten vom apikalen und basalen Kontakt von jedem Implantat und Messzeitpunkt durchgeführt. Für diese Gegenüberstellung wurden die Impedanzpaare (apikal und basal) aus der 1. Messung verwendet. Für eine Evaluierung des Einflusses der elektrischen Stimulation auf die Impedanzergebnisse wurden gruppenübergreifend die Impedanzpaare aus der 1. und 2. Messung des apikalen und basalen Kontaktes herangezogen. Impedanzmessungen mit nicht bestimmbarer Impedanz an einem oder beiden Kontakten wurden für die Vergleiche nicht berücksichtigt.

2.4.5.5 Histologie

Nach 16 Wochen wurde die Gewebereaktion der Cochlea auf das Implantat histologisch untersucht. Während der Präparation der Cochleae für die Histologie erfolgte bereits makroskopisch eine qualitative Beurteilung der Bullahöhle und äußerlich sichtbarer Strukturen der Cochlea nach folgenden Kriterien: Anzeichen von Wundheilungsstörungen im

Bereich der Bullostomie, Beschaffenheit der Schleimhaut der Paukenhöhle (Exsudat, entzündungsbedingte Auflagerungen und farbliche Abweichungen), korrekter Sitz des Implantats, Ausmaß von bindegewebigen Proliferationen entlang des extracochleären Anteils des Implantates und an der Cochleostomie und Hinweise für Drahtbrüche am Implantat. Außerdem wurde der Widerstand beim Extrahieren des Implantats aus der Cochlea beurteilt. Es wurde darauf geachtet, dass das neugebildete Gewebe um das Implantat dabei nicht mit entfernt wurde.

Von jedem Cochlea-Präparat wurden jeweils 3 Objektträger mit Schnitten aus der midmodiolaren Region sowie 3 Schnitte aus dem Bereich der Cochleostomie ausgewählt. Die selektierten Gewebeschnitte wurden nach einem genau definierten Bewertungsschema unter einem Lichtmikroskop semi-quantitativ ausgewertet (Tab. 3). Zum einen wurde innerhalb der basalen cochleären Windung der Grad einer mononukleären Infiltration mit Lymphozyten, Plasmazellen sowie Makrophagen als Indikatoren für eine chronische Entzündungsreaktion auf eine fortdauernde Immunstimulation bestimmt. Zum anderen wurden das Auftreten von Fremdkörperriesenzellen und die reaktive Knochenneubildung (Osteoneogenese) in den basalen Anteilen der Cochlea semi-quantitativ erfasst. Außerdem wurden das Vorkommen und die Ausdehnung von lockerem Bindegewebe im basalen Abschnitt der S. tympani als Reaktion auf das Implantat beurteilt. Die Methodik der Graduierung dieses Parameters wurde angelehnt an eine thematisch ähnlich orientierte Studie

Tab. 3: Graduierungsschema für histologische Auswertung

Histologischer Parameter	Grad 0	Grad 1	Grad 2	Grad 3
Chronisch-lymphoplasmatische Entzündung in basaler Windung der Cochlea (Diffuse mononukleäre Infiltration mit Lymphozyten, Plasmazellen und Makrophagen) ⁺	0	1 - 25	26 - 50	> 50
Konzentrische Ansammlung von Fremdkörperriesenzellen um Implantat ⁺	0	1 - 5	6- 10	> 10
Knochenneubildung (<i>Osteoneogenese</i>)	nicht vorhanden	gering	moderat	hoch
Blutgefäßneubildung (<i>Angiogenese</i>)	nicht vorhanden	vorhanden	-	-
Lamelläre Gewebemanschette um Implantat	nicht vorhanden	schwach	stark	-
Lockeres Bindegewebe in S. tympani	nicht vorhanden	minimal	< 1 Quadrant	> 1 Quadrant

Die Präparate wurde in sagittaler Ebene entlang des Modiolus geschnitten (Schnittstärke: 4 µm). Jeweils 3 Objektträger mit Schnitten aus der midmodiolaren Region sowie 3 Schnitte aus dem Bereich der Cochleostomie wurden evaluiert.

⁺ Die Auszählung der Zellzahlen erfolgte bei 200-facher Vergrößerung.

(O'Leary et al. 2013). Zur Lokalisation und Graduierung dieser Gewebereaktion wurde hierfür die basale *S. tympani* in 4 Quadranten unterteilt (Abb. 19). Es erfolgte zudem eine semi-quantitative Beurteilung der fibrösen, lamellären Gewebemanschette um das Implantat und die Schnitte wurden auf das Vorhandensein von neugebildeten Blutgefäßen in der Scala tympani überprüft.

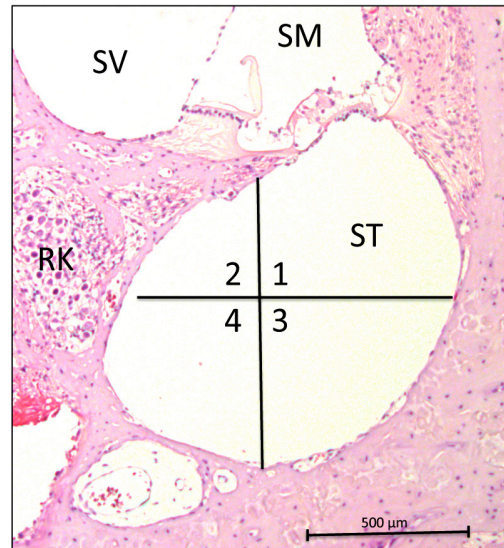


Abb. 19: Einteilung der *S. tympani* in 4 Quadranten

ST = *S. tympani*, *SM* = *S. media*, *SV* = *S. vestibuli*, *RK* = Rosenthal Kanal mit Spiralganglienzellen. Schnittebene sagittal durch den Modiolus, Schnittdicke 4 µm x 100, Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE). Die basale *S. tympani* wurde in 4 Quadranten unterteilt (1, 2, 3 und 4). Quadrant 1 wurde vom lateralen Anteil der knöchernen Lamina spiralis, der Basilarmembran und dem oberen Anteil der lateralen Wand der *S. tympani* begrenzt. Quadrant 2 befindet sich in direkter Nähe zum RK und dem medialen Anteil der Lamina spiralis. Quadrant 3 beschreibt das untere laterale Viertel der Scala tympani. Quadrant 4 befindet sich auf der medialen Seite unterhalb von Quadrant 2.

2.4.5.6 Immunhistologie

Die immunhistologische Färbung der Präparate mit GAP43 wurde durchgeführt, um degenerierte Spiralganglienzellen (SGN) im Rosenthal Kanal implantierter Cochleae zu detektieren. Die midmodiolaren Gewebeschnitte einer Cochlea wurden entsprechend ihrem Aufbau in 3 Windungsabschnitte unterteilt: Apikale, mittlere und basale Windung. Für jede Windung wurden die Spiralganglienzellen der dazugehörigen Rosenthal Kanäle nach folgendem Bewertungsschema ausgezählt: GAP-negative SGN, SGN mit schwach-positivem GAP43 Signal, SGN mit stark-positivem GAP43 Signal (siehe Abb. 20). Aus der Gesamtzahl der SGN in jedem Windungsabschnitt wurde anschließend der jeweilige prozentuale Anteil dieser 3 SGN-Untergruppen für den apikalen, mittleren und basalen Windungsabschnitt berechnet. Von jedem Cochlea-Präparat wurden nach diesem Prinzip 5 Schnitte beurteilt.

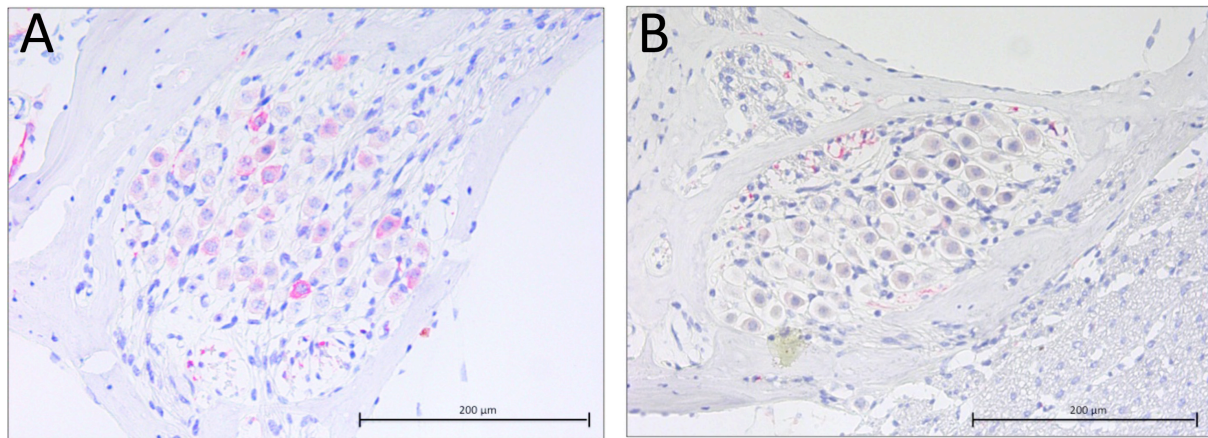


Abb. 20: Immunhistologische Färbung der Spiralganglienzellen (SGN) im Rosenthal Kanal mit GAP43-Antikörpern, Schnittebene sagittal durch den Modiolus, Schnittdicke 4 µm x 200.

Rosenthal Kanal mit einem großen Anteil an GAP43-positiven SGN (A) und Rosenthal Kanal mit SGN ohne positives GAP43 Signal (B).

2.4.6 Statistik

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit dem Computerprogramm IBM SPSS Statistics 22 (Version 22.0.0.0). Aus den Ergebnissen der Hörmessungen wurde für jedes Tier und jede Frequenzgruppe eine Verlaufskurve über 16 Wochen mit den absoluten Hörschwellenverschiebungen zu den verschiedenen Messzeitpunkten nach der Implantation und die Fläche unterhalb dieser Verlaufskurve als Kenngröße berechnet („Area under the curve“, AUC). Die Daten der beiden Gruppen PTFEP und NO-PTFEP aus den Hörmessungen und der histologischen Auswertung wurden mit einem nicht-parametrischen, zweiseitigen Mann-Whitney-U-Hypothesentest für unabhängige Stichproben verglichen. Bei den Hörmessungen dienten hierbei die AUC-Werte von jedem Tier als Berechnungsgrundlage.

Bei der Validierung der beiden Impedanz-Messverfahren MED-EL MAESTRO und GP_Imp wurde ein Bland-Altman-Plot für die grafische Darstellung der mittleren Abweichung und Streuung erstellt. Daneben wurde für die biometrische Auswertung dieses Methodenvergleichs ein lineares Regressionsverfahren nach Passing-Bablok für nicht-parametrische Daten durchgeführt. Gegenüber konventionellen Regressionsverfahren können bei dieser statistischen Methode die Messergebnisse beider Messverfahren fehlerbehaftet sein. Für eine Beurteilung der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse aus den Impedanzmessungen wurde der jeweilige Variationskoeffizient für beide Messsysteme aus den Daten der Ausgangs- und Wiederholungsmessungen am basalen Kontakt ermittelt. Zur Quantifizierung der Effektstärke einzelner Faktoren auf die Impedanzveränderungen wurde eine

multifaktorielle Varianzanalyse für alle Messzeitpunkte durchgeführt. Die statistische Evaluierung der Impedanzausfälle erfolgte durch Anwendung des exakten Tests nach Fisher. Der Vergleich der erfassten Impedanzwerte aus der Erstmessung mit den Ergebnissen aus der Messwiederholung nach 15 Minuten sowie der Vergleich der Impedanzdaten des apikalen und basalen Kontaktes erfolgte mit einem nicht-parametrischen, zweiseitigen Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test für verbundene Stichproben. Für eine Zusammenhangsanalyse zwischen den ordinalskalierten Ergebnissen aus der histologischen Auswertung und den Daten aus den Hörmessungen wurde der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman bestimmt.

Ein p-Wert kleiner 0,05 wurde als signifikant betrachtet. Bei multiplen Paarvergleichen wurde eine Adjustierung des p-Wertes nach Bonferoni-Holm vorgenommen. Im Fließtext wurde bei den Ergebnissen der Hör- und Impedanzmessungen für beide Gruppen der Medianwert mit dem dazugehörigen Interquartilsabstand (25%-Perzentil/75%-Perzentil) angegeben. In den Liniendiagrammen der Hörmessungen wurde der Medianwert beider Gruppen zu den Messzeitpunkten dargestellt. Die tabellarischen Darstellungen der Ergebnisse der Impedanzmessungen von Tag 0 bis Woche 5 und der immunhistologischen Untersuchung zeigen den jeweiligen Medianwert mit dem dazugehörigen Interquartilsabstand (25%-Perzentil/75%-Perzentil) als Streuungsmaß. In der Tabelle mit den Ergebnissen der histologischen Untersuchung wurde der Mittelwert \pm Standardabweichung der Graduierungsstufen von beiden Gruppen angegeben.

IV ERGEBNISSE

1 Hörmessungen

In beiden Gruppen konnte postoperativ zu allen Messzeitpunkten ein reduziertes Hörvermögen im Vergleich zu den Ausgangshörmessungen vor der Implantation beobachtet werden. Das Ausmaß dieses Hörverlustes war sehr variabel und abhängig vom Messzeitpunkt und der gemessenen Frequenz. Zum ersten postoperativen Messzeitpunkt eine Woche nach der Implantation zeigten gruppenübergreifend alle Tiere eine initiale, teils erhebliche Anhebung der Hörschwellen in allen Frequenzbereichen. Im Allgemeinen war die Größe des Hörverlustes von der verwendeten Frequenz des akustischen Stimulus abhängig. Je höher die gewählte Frequenz war, umso größer war auch der Hörverlust. Der größte Hörverlust konnte im Frequenzbereich von 16-32 kHz registriert werden. Die durch einen Click-Reiz evozierten Hörschwellen zeigten allerdings eine leichte Erholung des Hörvermögens in den darauf folgenden Messzeitpunkten in Woche 2 und Woche 5. Dies konnte besonders in Gruppe PTFEP beobachtet werden. In Gruppe NO-PTFEP war dies geringer ausgeprägt. Der Hörverlust in den frequenzspezifischen Hörmessungen blieb hingegen eher auf einem konstanten Niveau bis Woche 5 ohne größere Anzeichen für eine Erholung des Hörvermögens.

Die Hörmessungen zu späteren Zeitpunkten nach der Implantation zeigten bei den Click-Impulsen und bei den tiefen Frequenzen gruppenunabhängig einen kontinuierlichen Anstieg der Hörschwellen bis zum finalen Messzeitpunkt in Woche 16. In den mittleren und hohen Frequenzen blieben die Hörschwellenverschiebungen auf einem gleichbleibend höheren Niveau mit geringeren Schwankungen zwischen den verschiedenen Messzeitpunkten.

Im Folgenden sind die Ergebnisse im Detail dargestellt.

CLICK-EVOZIERTE POTENTIALIA

Gruppe PTFEP zeigte in Woche 1 einen größeren Hörverlust (Median: 35,0 dB, 25%-Perzentil/75%-Perzentil: 40,0) als Gruppe NO-PTFEP (Median: 32,5 dB, 25%-Perzentil: 25,0/75%-Perzentil: 40,0) (siehe Abb. 21). Eine Woche später hatte sich das Hörvermögen bei Gruppe PTFEP um 5 dB leicht verbessert (30,0 dB, 12,5/30,0). Bei Gruppe NO-PTFEP blieb der Hörverlust hingegen nahezu unverändert (30,0 dB, 22,5/40,0). Zwischen den Messzeitpunkten Woche 2 und 5 zeigten die Kurven beider Gruppen einen Abwärtstrend. Das

Hörvermögen verbesserte sich in beiden Gruppen. Die Schwellenverschiebungen waren sowohl bei Gruppe PTFEP (25,0 dB, 7,5/35,0) wie auch bei Gruppe NO-PTFEP (27,5 dB, 12,5/40,0) kleiner geworden.

Ab Woche 5 zeigten die Kurven beider Gruppen eine ähnliche Entwicklung mit einem zunehmenden Hörverlust bis zum finalen Messzeitpunkt nach 16 Wochen. Allerdings konnten bei Gruppe NO-PTFEP zunehmend größere Hörschwellenverschiebungen beobachtet werden als bei Gruppe PTFEP und die Kurven der beiden Gruppen divergierten. Bei Gruppe PTFEP blieb zwischen Woche 5 und Woche 9 das Hörvermögen noch unverändert (25,0 dB, 12,5/47,5). Erst zum Messzeitpunkt Woche 12 (30,0 dB, 17,5/52,5) und Woche 16 (37,5 dB; 25,0/55,0) konnte ein kontinuierlicher Anstieg der Kurve beobachtet werden. NO-PTFEP hingegen zeigte bereits in Woche 9 eine weitere Verschlechterung des Hörvermögens (30,0 dB, 22,5/42,5), die sich an den folgenden Messzeitpunkten in Woche 12 (37,5 dB, 22,5/50,0) und in Woche 16 (47,5 dB, 30,0/55,0) fortsetzte. Der Unterschied zwischen beiden Gruppen über den Gesamtmesszeitraum von 16 Wochen war bei diesen Hörmessungen nicht signifikant (Mann-Whitney-U-Test, $p = 0,644$) (siehe Tab. 4).

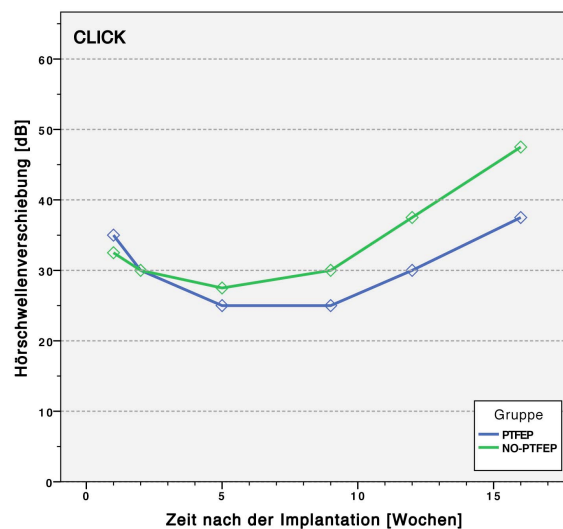


Abb. 21: Darstellung des Verlaufs der Schwellenverschiebungen (Medianwerte) von Gruppe PTFEP und NO-PTFEP über 16 Wochen bei Click-Stimuli, Gruppengröße: $n=12$

Die Kurven beider Gruppen zeigten über den Gesamtverlauf eine ähnliche Entwicklung der Schwellenverschiebungen mit einer initialen Erholung des Hörvermögens in den ersten 3 Messzeitpunkten und einem erneuten Anstieg der Hörkurve zu späteren Messzeitpunkten. Ab Woche 2 zeigte Gruppe NO-PTFEP zunehmend größere Schwellenverschiebungen als Gruppe PTFEP.

Tab. 4: Übersicht p-Werte aus den Ergebnissen der ABR-Hörmessungen

	Click	Tiefe Frequenzen (1-3kHz)	Mittlere Frequenzen (4-12kHz)	Hohe Frequenzen (16-32kHz)
p-Wert	0,644	0,908	0,326	0,057

Statistische Evaluierung: Auf Grundlage der ABR-Hörmessungen wurden für jedes Tier individuelle Verlaufskurven der Schwellenverschiebungen in den einzelnen Frequenzbereichen über 16 Wochen erstellt und der jeweilige AUC-Wert („Area under the curve“) berechnet. Die AUC-Werte dienten als Berechnungsgrundlage für einen Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben, zweiseitige asymptotische Signifikanz: kein p-Wert < 0.05; Tierzahl pro Gruppe n = 12.

FREQUENZSPEZIFISCHE HÖRMESSUNGEN

Tiefer Frequenzbereich: Im tiefen Frequenzbereich (1-3 kHz) konnte bei den ersten 3 Messzeitpunkten kein klarer Trend oder Unterschied zwischen den beiden Gruppen beobachtet werden (siehe Abb. 22). So lagen in Woche 1, 2 und 5 die Hörschwellenverschiebungen bei beiden Gruppen konstant in einem Bereich zwischen 30 und 35 dB und die Kurven zeigten lediglich geringe Schwankungen zwischen den Messzeitpunkten: 1 Woche nach der Implantation wurde bei Gruppe PTFEP ein Hörverlust von 31,9 dB (19,4/41,9) gemessen. Eine Woche später hatte sich das Hörvermögen lediglich um 0,6 dB (32,5 dB, IQR: 15,0/38,8) und in Woche 5 nochmals um 1,9 dB (34,4 dB, 14,4/45,0) verschlechtert. Bei Gruppe NO-PTFEP lag der initiale Hörverlust bei 31,3 dB (22,5/48,8). Identische Schwellenverschiebungen mit 31,3 dB konnten auch in Woche 2 (19,4/43,1) und in Woche 5 (16,9/44,4) gemessen werden.

Zwischen Woche 5 und Woche 9 wurde der Hörverlust bei Gruppe NO-PTFEP geringfügig größer (36,9 dB, 28,1/52,5), wohingegen sich bei Gruppe PTFEP das Hörvermögen wieder etwas besserte (30,0 dB, 16,9/56,9). Ab Woche 9 konnte hingegen bei beiden Gruppen eine fortlaufende Verschlechterung des Hörvermögens bis zum finalen Messzeitpunkt festgestellt werden. In Woche 12 wurde eine Schwellenverschiebung von 41,3 dB (20,6/58,8) bei Gruppe PTFEP und 40,0 dB (27,5/57,5) bei Gruppe NO-PTFEP gemessen. Zum finalen Messzeitpunkt zeigte Gruppe NO-PTFEP eine deutlich größere Schwellenverschiebung (52,5 dB, 28,8/63,8) als Gruppe PTFEP (44,4 dB, 36,3/58,8). Über den Gesamtversuchszeitraum konnte kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen nachgewiesen werden (Mann-Whitney-U Test, p = 0,908).

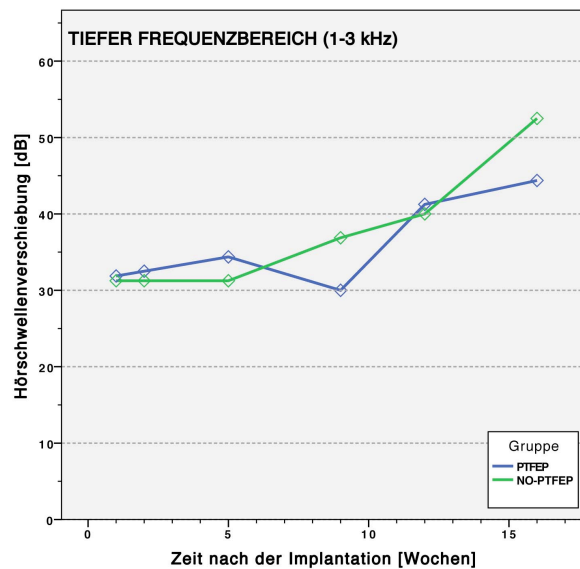


Abb. 22: Darstellung des Verlaufs der Schwellenverschiebungen (Medianwerte) bei Gruppe PTFEP und NO-PTFEP im tiefen Frequenzbereich (1–3 kHz), Gruppengröße: n=12

Zu den ersten 3 Messzeitpunkten lagen die Schwellenverschiebungen beider Gruppen konstant in einem Bereich zwischen 30 und 35 dB. Zwischen Woche 5 und Woche 9 zeigte Gruppe NO-PTFEP dann eine deutliche Verschlechterung des Hörvermögens, die sich an den letzten beiden Messzeitpunkten weiter fortsetzte. Bei Gruppe PTFEP war hingegen erst in Woche 12 und Woche 16 ein fortlaufender Anstieg der Hörschwelle messbar.

Mittlerer Frequenzbereich: In den mittleren Frequenzen (4-12 kHz) wurde 1 Woche nach der Implantation bei Gruppe PTFEP eine ähnliche Schwellenverschiebung (40,6 kHz, 30,6/46,9) wie bei Gruppe NO-PTFEP gemessen (42,5 dB, 42,5/37,5). Danach lagen die Schwellenverschiebungen von Gruppe NO-PTFEP an allen Messzeitpunkten meist deutlich über den Schwellenverschiebungen von Gruppe PTFEP (siehe Abb. 23). Die größten Differenzen konnten in Woche 2 mit 8,8 dB und Woche 9 mit 10,6 dB beobachtet werden. Außerdem zeigten beide Kurven einen unterschiedlichen Verlauf. Bei Gruppe NO-PTFEP konnte über den Messzeitraum ein geringfügiger, aber doch kontinuierlicher Anstieg der Schwellenverschiebungen von 45,0 dB (33,8/50,6) in Woche 2 auf 47,5 dB (36,3/56,9) in Woche 16 beobachtet werden. Die Kurve bei Gruppe PTFEP hingegen zeigte einen wechselhaften Verlauf zwischen den Messzeitpunkten mit Schwellenverschiebungen von 40,0 dB (30,0/43,1) in Woche 5, 35,6 dB (25,6/51,9) in Woche 9 und 41,3 dB (28,8/51,9) in Woche 12. Zum finalen Messzeitpunkt in Woche 16 wurde der Hörverlust in dieser Gruppe noch geringfügig größer (42,5 dB, 37,5/52,5). Über den Gesamtversuchszeitraum von 16 Wochen war kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Gruppe PTFEP und NO-PTFEP nachweisbar (Mann-Whitney-U Test, $p = 0,326$).

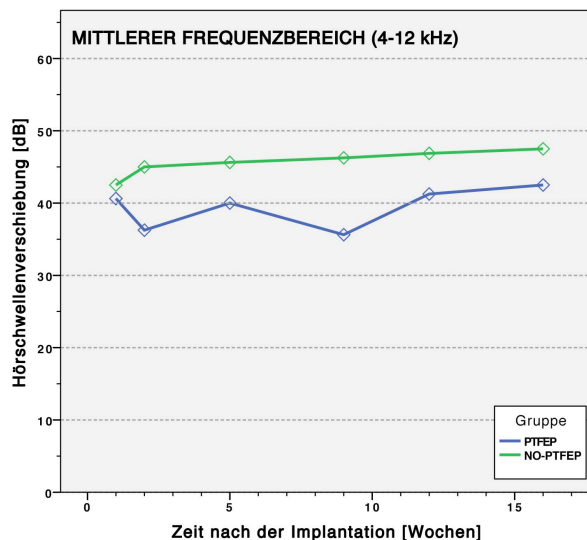


Abb. 23: Darstellung des Verlaufs der Schwellenverschiebungen (Medianwerte) bei Gruppe PTFEP und NO-PTFEP im mittleren Frequenzbereich (4–12 kHz), Gruppengröße: n=12

Gruppe NO-PTFEP zeigte an allen Messzeitpunkten größere Hörverluste als Gruppe PTFEP. Die erfassten Daten zeigten allerdings über den Gesamtversuchszeitraum keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen (Mann-Whitney-U Test, $p = 0,326$).

Hoher Frequenzbereich: In den hohen Frequenzen (16-32 kHz) lagen die Schwellenverschiebungen von Gruppe NO-PTFEP zu allen Messzeitpunkten über den Schwellenverschiebungen von Gruppe PTFEP (siehe Abb. 24). Der größte Unterschied mit 10 dB war zum ersten postoperativen Messzeitpunkt in Woche 1 messbar. Hier wurde bei Gruppe PTFEP ein Hörverlust von 50,0 dB (37,5/59,1) gemessen. Gruppe NO-PTFEP zeigte eine größere Schwellenverschiebung mit 60,0 dB (51,7/60,8). Eine Woche später hatte sich das Hörvermögen bei Gruppe NO-PTFEP geringfügig gebessert (58,3 dB, 56,7/62,5), wohingegen bei Gruppe PTFEP eine unveränderte Schwellenverschiebung mit 50,0 dB (34,2/58,3) gemessen wurde. Zwischen Woche 2 und Woche 5 verschlechterte sich das Hörvermögen bei beiden Gruppen wieder erneut. Bei Gruppe NO-PTFEP kam es in Woche 5 zu einem Anstieg der Schwellenverschiebung auf 60,8 dB (59,1/63,3). Bei Gruppe PTFEP fiel der Anstieg auf 54,2 dB (41,7/58,3) deutlicher aus. Bei Gruppe PTFEP wurden in den darauffolgenden Messzeitpunkten nur noch geringfügige Veränderungen im Hörvermögen gemessen. In Woche 9 blieb die Schwellenverschiebung weiterhin konstant bei 54,2 dB (31,7/60,0). In den letzten beiden Messzeitpunkten kam es dann in dieser Gruppe zu einem erneut geringen Anstieg der Schwellenverschiebungen mit 55,8 dB (33,3/60,8) in Woche 12 und mit 56,7 dB (39,2/60,0) in Woche 16.

Die Kurve von Gruppe NO-PTFEP zeigte hingegen von Woche 5 auf Woche 9 zunächst eine Reduktion der Schwellenverschiebung auf 56,7 dB (53,3/60,8). In Woche 12 wurde anschließend ein Anstieg der Schwellenverschiebung auf 60,0 dB (57,5/62,5) gemessen. Zum letzten Messzeitpunkt in Woche 16 blieb der Hörverlust hingegen unverändert bei 60,0 dB (58,3/63,3). Die erfassten Daten zeigten über den Gesamtversuchszeitraum keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen (Mann-Whitney-U Test, $p = 0,057$).

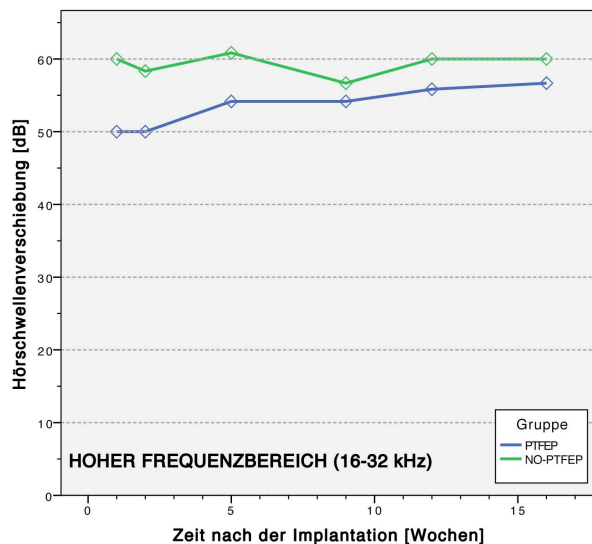


Abb. 24: Darstellung des Verlaufs der Schwellenverschiebungen (Medianwerte) bei Gruppe PTFEP und NO-PTFEP im hohen Frequenzbereich (16–32 kHz), Gruppengröße: n=12

In den hohen Frequenzen lagen die Schwellenverschiebungen von Gruppe NO-PTFEP zu allen Messzeitpunkten über den Schwellenverschiebungen von Gruppe PTFEP. Der Unterschied zwischen beiden Gruppen war allerdings über den Gesamtversuchszeitraum von 16 Wochen nicht signifikant (Mann-Whitney-U Test, $p = 0,057$).

2 Impedanzmessungen

2.1 Validierung der Impedanzmesssysteme

Für die Auswertung der Impedanzergebnisse standen 2 Messverfahren zur Auswahl: MED-EL MAESTRO und GP_Imp. Bei dem Methodenvergleich nach Bland-Altman (Abb. 25) wurden die Differenzen aus den jeweilig mit beiden Messverfahren GP_Imp und MAESTRO ermittelten Impedanzwerten berechnet (Ordinate) und gegen den gemeinsamen Mittelwert dieser beiden Impedanzwerte (Abszisse) grafisch in einem Punktediagramm aufgetragen. Die Bildung eines Mittelwertes erlaubte dabei die bestmögliche Schätzung des unbekanntem wahren Wertes. Die Differenzen der Impedanzpaare wurden bei diesem Vergleich als prozentualer Anteil des Durchschnittswertes angegeben. Die mittlere horizontale Linie in

dieser Grafik stellt die mittlere Abweichung (Bias) dar. Sie ergibt sich aus dem Mittelwert der Differenzen aller Messpaare und dient zur Visualisierung einer systematischen Abweichung. Die beiden äußeren gestrichelten Linien stellen jeweils die zugehörigen 1,96-fachen Standardabweichungen (Stabw.) der Mittelwertlinie dar. Unter Annahme einer Normalverteilung begrenzen diese Linien einen Übereinstimmungsbereich („limits of agreement, LoA“), in dem sich 95 % aller Messdifferenzen befinden. Die LoA dient als Maßstab für die Genauigkeit der Messungen. Die Analyse zeigte bei diesem Methodenvergleich eine Mittelwertlinie der Differenzen von 104,67 %. Somit war von einer systematischen Abweichung zwischen den beiden Messverfahren auszugehen. Das 95 %-ige Übereinstimmungsintervall verlief von 59,95 % bis 149,39 %. Der Methodenvergleich lässt somit auf eine hohe intra-individuelle Streuung zwischen den Messungen schließen. Außerdem wurde deutlich, dass die Differenz zwischen den beiden Messwerten anstieg, je größer der Mittelwert dieses Impedanzpaares war.

Als Maß für die Übereinstimmung der beiden Impedanz-Messverfahren wurde außerdem ein Regressionsverfahren nach Passing-Pablok durchgeführt. In Abb. 26 wurden dafür die mit GP_Imp gemessenen Impedanzen (Ordinate) gegen die mit MED-EL MAESTRO erfassten Impedanzwerte (Abszisse) aufgetragen. Die Analyse ergab keine signifikante Abweichung von der Linearität ($p = 0,22$). Die ermittelte Regressionsgerade zeigte eine Steigung von 3,85

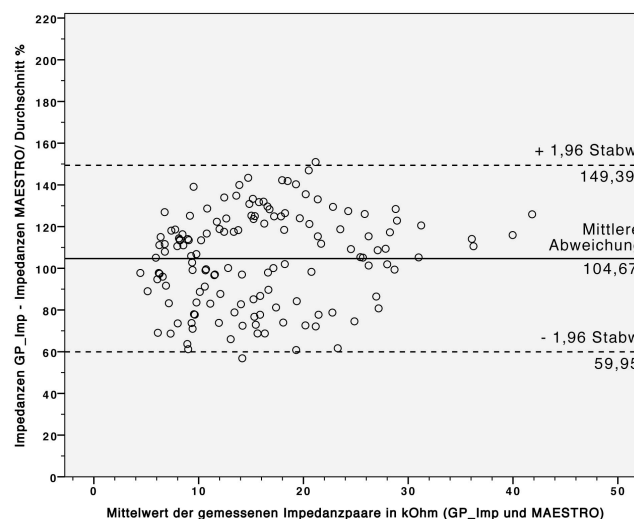


Abb. 25: Methodenvergleich nach Bland-Altman

Für die Analyse wurden $n = 145$ Messpaare verglichen. X-Achse: Mittelwert der beiden Impedanzwerte jeweils gemessen mit GP_Imp und MAESTRO. Angabe in $k\Omega$. Y-Achse: Differenz aus dem mit beiden Messverfahren jeweils ermittelten Impedanzwert. Die Differenzen der Impedanzpaare wurden als prozentualer Anteil des Durchschnittswertes angegeben. Als Daten dienen die Impedanzmessungen am basalen Kontakt aus der 1. Messung. Die Gegenüberstellung der beiden Methoden zeigte eine Bias von 104,67, % und ein Übereinstimmungsintervall von 59,95 bis 149,39.

mit einem 95 %-igen Konfidenzintervall (CI 95 %) von 3,54 bis 4,18 und einen Schnittpunkt mit der y-Achse bei -4,35 mit einem 95 %-igen Konfidenzintervall von -5,75 bis -2,80. Damit beinhalteten die beiden 95 %-igen Konfidenzintervalle jeweils nicht den Idealwert von 0 (Achsenschnittpunkt) beziehungsweise 1 (Steigung). Man konnte also davon ausgehen, dass zwischen den Messergebnissen beider Methoden ein signifikanter Unterschied besteht. Die berechnete Gerade wies eine deutliche Abweichung von der Identitätslinie (optimale Winkelhalbierende) auf. Außerdem lagen zahlreiche Datenpunkte außerhalb des Konfidenzintervalls (gestrichelte Linien). Erwartungsgemäß lag ohne Ausnahme jeweils der mit GP_Imp gemessene Impedanzwert über dem mit MED-EL MAESTRO bestimmten Impedanzwert. Ferner konnte bei den Messpunkten eine hohe Verteilungsbreite bei den Daten von GP_Imp beobachtet werden. Der Großteil der erfassten Impedanzwerte lag in einem Bereich zwischen 15 und 35 k Ω . Des Weiteren konnte mit Zunahme der Widerstände eine erhöhte Streuung der Daten beobachtet werden. Bei MED-EL MAESTRO beschränkte sich der Verteilungsbereich der Daten lediglich auf maximal 17 k Ω . Die Berechnung des

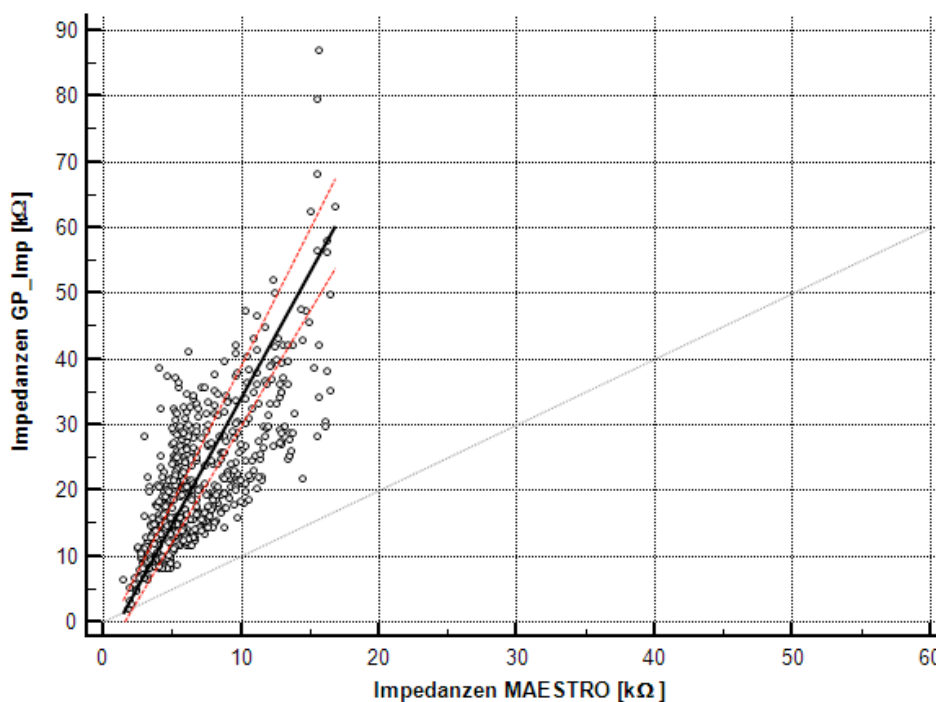


Abb. 26: Methodenvergleich nach Passing-Bablok der Impedanz-Messsysteme MED-EL MAESTRO versus GP_Imp

Für die Analyse wurden insgesamt $n = 571$ Messpaare verglichen. Die Formel nach Passing-Pablok lautet: $y = -4,353229 + 3,849389 x$. X-Achse: Impedanzen gemessen mit MED-EL MAESTRO, Y-Achse: Impedanzen gemessen mit GP_Imp. Angaben in k Ω . Zu sehen sind außerdem die berechnete Ausgleichsgerade (schwarze Linie) mit dem dazugehörigen 95 %-igen Konfidenzintervall (rote Linien) sowie die optimale Winkelhalbierende (graue Linie). Es konnte davon ausgegangen werden, dass sich die erfassten Werte beider Messverfahren signifikant unterscheiden.

Variationskoeffizienten aus den Impedanzdaten der Ausgangs- und den Wiederholungsmessungen am basalen Kontakt ergab für GP_Imp einen Wert von 18,51 % und für MED-EL MAESTRO einen Wert von 5,71 %.

Die Methodenanalyse ergab somit, dass die Messergebnisse beider Systeme statistisch nicht gleichwertig waren. Der Vergleich der Messdaten zeigt eine systematische Abweichung (Bias) zwischen den beiden Messverfahren und eine intra-individuelle Streuung der Messdaten. Für die weitere Auswertung der Impedanzergebnisse wurden aufgrund des niedrigeren Variationskoeffizienten die gemessenen Daten von MED-EL MAESTRO gewählt.

2.2 Messergebnisse

2.2.1 Impedanzausfälle

An den ersten beiden Messzeitpunkten konnten bei allen 24 Implantaten die Impedanzen vom apikalen und basalen Kontakt bestimmt werden. An den darauf folgenden Messzeitpunkten zeigte das Messsystem in einigen Fällen jedoch einen unendlichen Messwert für den elektrischen Widerstand an. Die Impedanzen waren in diesen Fällen nicht bestimmbar.

In Gruppe PTFEP war bei 9 Implantaten zu allen Messzeitpunkten eine Impedanzbestimmung an beiden Kontakten möglich, wohingegen bei insgesamt 3 Implantaten in dieser Gruppe Impedanzausfälle beobachtet werden konnten (siehe Tab. 5). Dabei war bei einem Implantat ab Woche 5 für beide Kontakte kein Impedanzwert mehr bestimmbar, ein weiteres Implantat hatte ab Woche 9 einen anhaltenden Impedanzausfall an beiden Kontakten bis zum finalen Messzeitpunkt. Das dritte Implantat in Gruppe PTFEP wies ab Woche 9 lediglich intermittierend Impedanzausfälle auf. Dabei war beim apikalen Kontakt lediglich zum Messzeitpunkt Woche 9 kein Widerstandswert messbar. Beim basalen Kontakt war in Woche 9 und 12 keine Impedanz bestimmbar.

Bei Gruppe NO-PTFEP waren im Ganzen bei 7 von insgesamt 12 Implantaten im gesamten Versuchszeitraum Impedanzausfälle zu verzeichnen (siehe Tab. 5). 2 Implantate zeigten dabei ab Woche 9 an beiden Kontakten einen dauerhaften Impedanzausfall. Bei einem weiteren Implantat waren nur am basalen Kontakt ab Woche 5 keine Impedanzen mehr messbar. Bei einem anderen Implantat kam es am basalen Kontakt ab Woche 2 durchgehend und am apikalen Kontakt ebenfalls zum Messzeitpunkt Woche 2 sowie ab Woche 9 zu einem anhaltenden Impedanzausfall. Ein weiteres Implantat zeigte nur am apikalen Kontakt am finalen Messzeitpunkt Woche 16 einen Impedanzausfall. Intermittierend messbare

Impedanzen waren auch bei einem weiteren Implantat in Gruppe NO-PTFEP zu beobachten. In diesem Fall waren beim apikalen Kontakt in Woche 9 und 12 und beim basalen Kontakt lediglich in Woche 9 keine Impedanzen messbar. Ein anderes Implantat zeigte an beiden Kontakten in Woche 9 und 12 und zusätzlich in Woche 16 am basalen Kontakt einen Impedanzausfall. Die Impedanzausfälle waren gewöhnlich sowohl in der Erstmessung wie auch in der Messwiederholung nach 15 Minuten zu beobachten. Allerdings zeigte sich bei den Messzeitpunkten Woche 9 und 12, dass bei jeweils einem Implantat aus Gruppe NO-PTFEP am apikalen Kontakt die Impedanzen lediglich in der Wiederholungsmessung bestimmbar waren. Eine Übersicht über die Impedanzausfälle über den gesamten Versuchszeitraum zeigt Tab. 5. Im Vergleich der beiden Gruppen konnte an den jeweiligen Einzelmesszeitpunkten sowohl basal wie auch apikal kein signifikanter Unterschied hinsichtlich des Vorkommens

Tab. 5: Übersicht Impedanzausfälle

			Tag 0	Woche 1	Woche 2	Woche 5	Woche 9	Woche 12	Woche 16	Total
Basal	PTFEP	messbar	12	12	12	11	9	9	10	9
		nicht messbar	0	0	0	1	3	3	2	3
	NO-PTFEP	messbar	12	12	11	10	6	7	7	6
		nicht messbar	0	0	1	2	6	5	5	6
p-Wert			1,00	1,00	0,500	0,500	0,200	0,333	0,185	0,400
Apikal	PTFEP	messbar	12	12	12	11	9	10	10	10
		nicht messbar	0	0	0	1	3	2	2	2
	NO-PTFEP	messbar	12	12	11	12	7	7	8	6
		nicht messbar	0	0	1	0	5	5	4	6
p-Wert			1,00	1,00	0,500	0,500	0,333	0,185	0,320	0,193

Statistische Evaluierung: Vergleich der Häufigkeitsverteilung der Anzahl der Messungen an den Kontakten ohne/mit Impedanzausfällen pro Messzeitpunkt zwischen PTFEP und NO-PTFEP mit Exakter Test nach Fisher, einseitige asymptotische Signifikanz: *p-Wert < 0,05.

Die Tabelle zeigt eine Übersicht über die Anzahl an Messungen an den Kontakten (basal und apikal) in Gruppe PTFEP und NO-PTFEP mit messbaren bzw. nicht-messbaren Impedanzwerten zu den verschiedenen Messzeitpunkten sowie die totale Anzahl an Implantaten mit messbaren bzw. nicht messbaren Impedanzen. Die ersten vereinzelt Impedanzausfälle konnten zu den Messzeitpunkten Woche 2 und Woche 5 beobachtet werden. Einen Messzeitpunkt später in Woche 9 stieg die Zahl der Kontakte mit Impedanzausfällen dann deutlich an. In wenigen Fällen waren die Widerstände zu späteren Messzeitpunkten wieder messbar. Bei einem Großteil der Implantate waren beide Kontakte von dem Impedanzausfall betroffen. Im Gruppenvergleich zeigten die Implantate der Gruppe NO-PTFEP über den Gesamtversuchszeitraum eine größere Anzahl an Messungen mit Impedanzausfällen als Gruppe PTFEP. In der totalen Anzahl an Implantaten mit Impedanzausfällen war der Unterschied zwischen den beiden Gruppen sowohl basal wie auch apikal nicht signifikant.

von Impedanzausfällen nachgewiesen werden (Exakter Test nach Fisher, kein p-Wert < 0,05). Betrachtet man auch die totale Anzahl an Implantaten mit Impedanzausfällen über den gesamten Messzeitraum in beiden Gruppen, so waren am basalen Kontakt wie auch beim apikalen Kontakt keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich des Auftretens von Impedanzausfällen zu verzeichnen [Exakter Test nach Fisher, p = 0,400 (basal) und p = 0,193 (apikal)].

2.2.2 Impedanzvergleich apikaler und basaler Kontakt

Beim gruppenunabhängigen Vergleich der erfassten Impedanzwerte zwischen den beiden Kontakten wurden insgesamt 139 Impedanzpaare (apikal und basal) untersucht (Tab. 6). Dabei war in 61 Fällen am basalen Kontakt ein kleinerer Wert als am apikalen Kontakt messbar. Bei 76 Impedanzpaaren hingegen zeigte der Messwert am basalen Kontakt einen größeren Wert gegenüber dem Messwert am apikalen Kontakt an. In einem Fall waren die gemessenen Impedanzen an beiden Kontakten identisch. Bei der Ermittlung der Summenrangplätze der basalen Impedanzwerte gegenüber den apikalen Impedanzwerten lag die positive Rangsumme mit 5956,50 deutlich über der negativen Rangsumme mit 3496,50. Somit konnte davon ausgegangen werden, dass am apikalen Kontakt im Durchschnitt signifikant kleinere Impedanzwerte gemessen wurden als am basalen Kontakt (Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test, p = 0,008).

Tab. 6: Gruppenunabhängiger Vergleich der Impedanzwerte zwischen apikalem und basalem Kontakt mit Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test

	Anzahl	Rangsumme
BASAL < APIKAL	61	3496,50
BASAL > APIKAL	76	5956,50
BASAL = APIKAL	1	
Gesamt	139	
p-Wert	0,008*	

Berechnung des p-Wertes mit einem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test für verbundene Stichproben, zweiseitige asymptotische Signifikanz: *p-Wert < 0.05; Anzahl der Impedanzpaare n = 139 (apikal und basal).

2.2.3 Gruppenvergleich der Messergebnisse von Tag 0 bis Woche 5

Die deutlichsten Impedanzveränderungen an den Implantaten waren in der Regel bis Woche 5 zu sehen. Zu späteren Messzeitpunkten zeigte die Verlaufskurve bei einem Großteil der Implantate hingegen ein Plateau mit nur noch geringen Schwankungen der Impedanzen zwischen den Messzeitpunkten (siehe Abb. 27 und Abb. 28). Die gruppenvergleichende deskriptive Analyse der Impedanzen im Folgenden beschränkt sich daher auf den

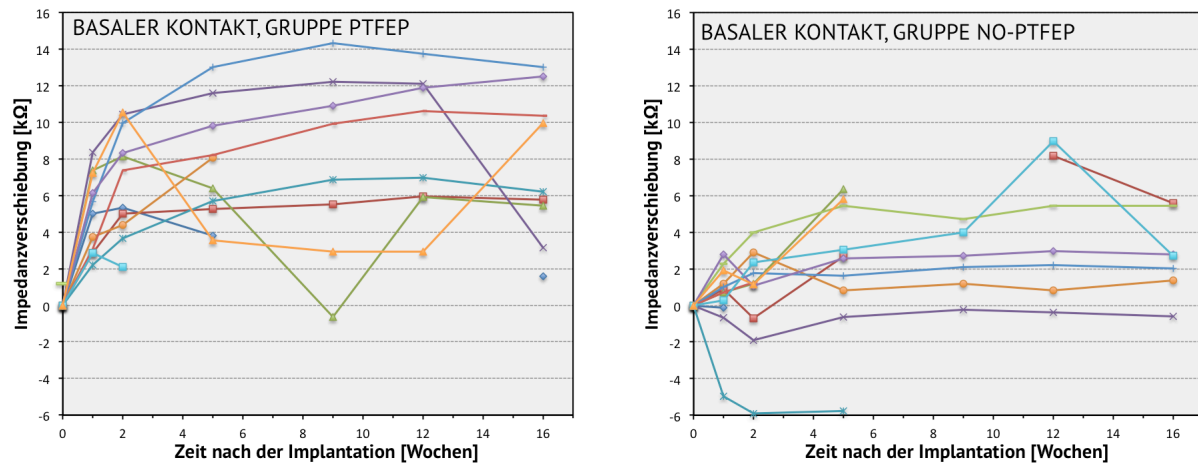
Versuchszeitraum Tag 0 bis Woche 5. Ergänzend zeigen Tab. 15 und Tab. 16 im Anhang eine Übersicht über die Impedanzergebnisse zu allen Messzeitpunkten bei beiden Gruppen. Bei der anschließenden multifaktoriellen Varianzanalyse der Impedanzwerte wurden alle Messzeitpunkte berücksichtigt (siehe Abschnitt 2.2.4 in diesem Kapitel).

BASALER KONTAKT

Die Impedanz-Ausgangswerte an Tag 0 waren bei Gruppe NO-PTFEP mit einem Medianwert von 3,99 k Ω (25%-Perzentil: 3,50/75%-Perzentil: 4,53) signifikant größer (Mann-Whitney-U Test, $p = 0,019$) als die Ausgangswerte von Gruppe PTFEP mit einem Medianwert von 3,10 k Ω (25%-Perzentil: 2,83/75%-Perzentil: 3,48). Die Streuung der Impedanzdaten von Tag 0 war im Vergleich zu späteren Messzeitpunkten verhältnismäßig gering in beiden Gruppen (siehe Tab. 7). Zum darauffolgenden Messzeitpunkt in Woche 1 zeigten bei Gruppe PTFEP alle Implantate eine Zunahme des Widerstandswertes am basalen Kontakt. Der mediane Anstieg der Impedanzen eine Woche nach der Implantation betrug in Gruppe PTFEP 4,39 k Ω (2,86/8,37). Somit hatten sich die Impedanzen dieser Gruppe innerhalb einer Woche um 129 % (92/214) erhöht. Der Anstieg des medianen Impedanzwertes bei Gruppe NO-PTFEP fiel von Tag 0 auf Woche 1 hingegen am basalen Kontakt mit 0,79 k Ω (0,07/2,77) deutlich geringer aus. Im Vergleich zu den gemessenen Impedanz-Ausgangswerten direkt nach der Implantation stellt dies eine mediane Erhöhung um lediglich 21 % (3/36) dar. Bei 3 basalen Kontakten in dieser Gruppe wurde in Woche 1 sogar ein geringerer Impedanzwert im Vergleich zu der Ausgangsmessung an Tag 0 gemessen.

Zwischen Woche 1 und Woche 2 konnte am basalen Kontakt in beiden Gruppen ein fortschreitender Anstieg des medianen Impedanzwertes beobachtet werden. Jedoch fiel die relative Erhöhung der Impedanzen von 162 % (144/279) in Gruppe PTFEP erneut sehr viel deutlicher aus als in Gruppe NO-PTFEP mit 33 % (-18/64). Gegenüber den Ausgangswerten an Tag 0 wurde eine mediane Impedanzerhöhung um 6,35 k Ω (4,63/10,54) in Gruppe PTFEP und um 1,20 k Ω (-0,70/3,99) in Gruppe NO-PTFEP zum Messzeitpunkt Woche 2 gemessen. Bei 3 Tieren in Gruppe NO-PTFEP wurden erneut kleinere Impedanzwerte gegenüber den korrespondierenden Ausgangswerten an Tag 0 beobachtet. Auch zwischen den Messzeitpunkten Woche 2 und Woche 5 war in beiden Gruppen ein fortschreitender Anstieg in der medianen Impedanz-Verlaufskurve zu beobachten. Bei Gruppe PTFEP fiel dieser mediane Impedanzanstieg gegenüber Woche 2 jedoch nur minimal aus und erreichte 6,40 k Ω (3,80/13,03). Dies entspricht gegenüber den Basis-Impedanzwerten an Tag 0 einer relativen

Erhöhung der elektrischen Widerstände um durchschnittlich 182 % (112/278). Auch zu diesem Messzeitpunkt lagen alle gemessenen Impedanzen in dieser Gruppe über den Ausgangswerten von Tag 0. Bei Gruppe NO-PTFEP hingegen war der mediane Impedanzanstieg von Woche 2 auf Woche 5 deutlicher. Dabei lag die mediane Impedanzveränderung zum Messzeitpunkt Woche 5 in dieser Gruppe bei 2,62 kΩ (0,82/6,35). Somit waren die Impedanzen im Vergleich zu Tag 0 um 58 % (0/121) angestiegen. 2 Impedanzwerte lagen weiterhin unterhalb des Ausgangswertes von Tag 0.



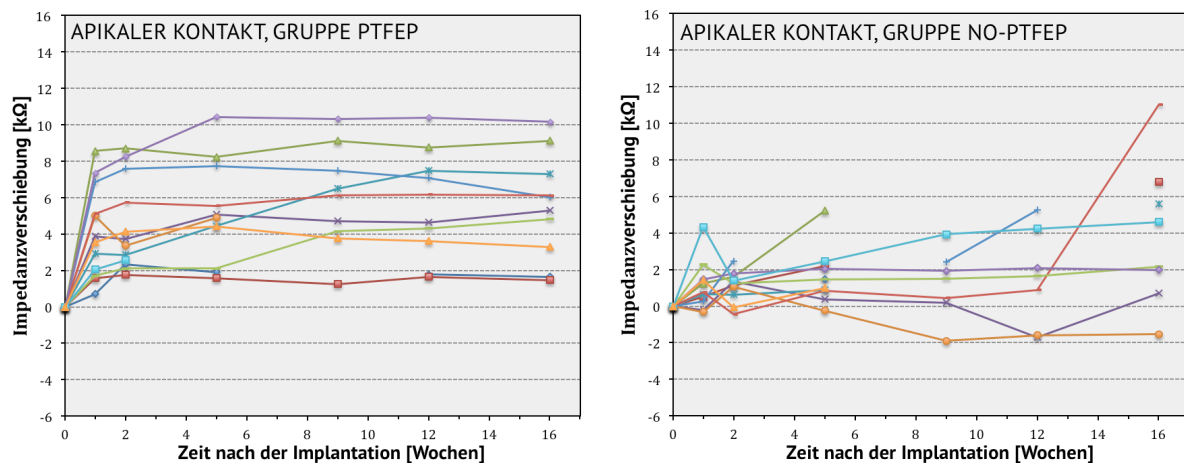
APIKALER KONTAKT

Bei Gruppe PTFEP waren die Ausgangswerte der Impedanzen am Tag 0 mit einem Medianwert von 3,23 kΩ (25%-Perzentil: 2,58//75%-Perzentil: 3,54) wie beim basalen Kontakt signifikant kleiner (Mann-Whitney-U Test, $p = 0,024$) als die gemessenen Basiswerte von Gruppe NO-PTFEP mit einem Medianwert von 4,31 kΩ (25%-Perzentil: 3,58/75%-Perzentil: 4,87). Vergleichbar mit den Daten des basalen Kontaktes war die Streuung der Ausgangswerte gegenüber den Streuung der Impedanzdaten zu späteren Messzeitpunkten in beiden Gruppen verhältnismäßig gering (siehe Tab. 7). Ebenfalls korrespondierend mit den Beobachtungen am basalen Kontakt zeigten alle apikalen Kontakte von Gruppe PTFEP eine Woche später einen Anstieg der Widerstände mit einer medianen Impedanzerhöhung um 3,72 kΩ (1,89/8,55). Dies entspricht einer relativen Zunahme der Impedanzen um 117 % (58/207) innerhalb von einer Woche in dieser Gruppe. Bei Gruppe NO-PTFEP fiel der

Tab. 7: Tabellarische Übersicht über Ergebnisse der Impedanzmessungen in Gruppe PTFEP und NO-PTFEP zu den Messzeitpunkten Tag 0, Woche 1, 2 und 5; Angabe des Medianwertes (25%-Perzentil/75%-Perzentil)

		Gruppe	Tag 0	Woche 1	Woche 2	Woche 5
Basaler Kontakt	Absolute Messwerte [kΩ]	PTFEP	3,10 (2,83/3,48)	7,46 (6,02/9,54)	9,81 (7,73/12,68)	11,10 (7,53/12,62)
		NO-PTFEP	3,99 (3,50/4,53)	5,06 (3,96/5,82)	5,13 (4,18/6,01)	5,73 (5,06/9,56)
	Differenz zum Ausgangswert an Tag 0 [kΩ]	PTFEP	0	4,39 (2,86/8,37)	6,35 (4,63/10,54)	6,40 (3,80/13,03)
		NO-PTFEP	0	0,79 (0,07/2,77)	1,20 (-0,70/3,99)	2,62 (0,82/6,35)
	Prozentualer Anstieg zum Ausgangswert [%]	PTFEP	---	129 (92/214)	162 (144/279)	182 (112/278)
		NO-PTFEP	---	21 (3/36)	33 (-18/64)	58 (0/121)
Apikaler Kontakt	Absolute Messwerte [kΩ]	PTFEP	3,23 (2,58/3,54)	6,90 (5,07/9,23)	7,12 (5,61/9,86)	7,92 (5,57/11,56)
		NO-PTFEP	4,31 (3,58/4,87)	5,29 (4,34/6,59)	5,57 (4,05/6,44)	5,76 (5,26/6,71)
	Differenz zum Ausgangswert an Tag 0 [kΩ]	PTFEP	0	3,72 (1,89/8,55)	3,54 (2,46/8,70)	4,91 (2,08/10,43)
		NO-PTFEP	0	0,98 (0,39/4,33)	1,27 (0,64/2,47)	1,46 (0,86/5,21)
	Prozentualer Anstieg zum Ausgangswert [%]	PTFEP	---	117 (58/207)	123 (64/222)	150 (58/215)
		NO-PTFEP	---	22 (10/42)	27 (15/39)	30 (13/59)

gemessene Impedanzanstieg von 0,98 kΩ (0,39/4,33) erneut deutlich geringer aus. Der elektrische Widerstand hatte sich in dieser Gruppe eine Woche nach der Implantation lediglich um 22 % (10/42) erhöht. Zwischen Woche 1 und Woche 2 zeigten auch am apikalen Kontakt die medianen Impedanz-Verlaufskurven in beiden Gruppen einen fortschreitenden Anstieg. Die mediane Impedanzveränderung zum Messzeitpunkt Woche 2 lag bei Gruppe PTFEP mit 3,54 kΩ (2,46/8,70) erneut über dem erfassten Wert von Gruppe NO-PTFEP mit 1,27 kΩ (0,64/2,47). Gegenüber dem gemessenen Ausgangswert an Tag 0 entspricht dies einem relativen Anstieg des elektrischen Widerstandes um 123 % (64/222) in Gruppe PTFEP und 27 % (15/39) in Gruppe NO-PTFEP. Vergleichbar mit den Ergebnissen am basalen Kontakt zeigten die Verlaufskurven der medianen Impedanzveränderungen zwischen Woche 2 und Woche 5 bei beiden Gruppen einen fortschreitenden Impedanzanstieg. So war bei Gruppe PTFEP gegenüber dem Messzeitpunkt Woche 2 ein etwas deutlicherer Anstieg auf 4,91 kΩ (2,08/10,43) messbar. Bei Gruppe NO-PTFEP fiel der Anstieg hingegen mit 1,46 kΩ (0,86/5,21) nur gering aus. Im Vergleich zu den Ausgangswerten waren die Impedanzen um 150 % (58/215) in Gruppe PTFEP und um 30 % (13/59) in Gruppe NO-PTFEP gestiegen.



2.2.4 Einfluss einzelner Faktoren auf die Impedanzergebnisse

Für die Evaluierung der Effektstärke einzelner Faktoren auf die Impedanzwerte wurde als statistisches Verfahren das allgemeine lineare Modell gewählt. Mit diesem Berechnungsmodell konnte bestimmt werden, wie groß der Anteil einzelner Faktoren für die Veränderung der Impedanzen zu den einzelnen Messzeitpunkten war. Die Impedanzausfälle wurden bei den Berechnungen nicht berücksichtigt. Als Kennzahlen dienten bei dieser multifaktoriellen Betrachtungsweise das partielle Eta-Quadrat (η^2 , R^2) und der dazugehörige p-Wert. Je größer das jeweilige R^2 bei den einzelnen Faktoren war, umso stärker war dieser Faktor auch für Veränderungen bei den Impedanzwerten verantwortlich. Als Einflussfaktoren wurden die Beschichtung, die Kontakte (apikal oder basal) und die Konditionierung ausgewählt. Außerdem wurde untersucht, ob die Größe des Effektes durch die Beschichtung davon abhängig war, ob apikal oder basal gemessen wurde. Eine Übersicht der Ergebnisse dieser Analyse ist in Tab. 8 dargestellt.

Mit Ausnahme von Woche 16 konnte zu allen Messzeitpunkten durch die Beschichtung ein relevanter Effekt auf die Impedanzergebnisse nachgewiesen werden (Faktor „Beschichtung allgemein“). Auch in Woche 16 zeigte das Berechnungsverfahren zwar ein signifikantes Ergebnis mit einem p-Wert von 0,025 an, allerdings lag das Effektmaß mit 0,075 unter dem kritischen Grenzwert von 0,1. Somit ist der Effekt durch die Beschichtung zu diesem Messzeitpunkt vernachlässigbar klein und es ist von einem Zufallseffekt auszugehen. Betrachtet man die Entwicklung von R^2 der Beschichtung, so ist eine progrediente Reduktion der Effektstärke über den gesamten Messzeitraum erkennbar. Je länger der Versuchszeitraum also war, umso geringer war auch der Einfluss der Beschichtung auf die Impedanzergebnisse.

Die Analyse zeigte zusätzlich, dass der nachgewiesene Effekt durch die Beschichtung unabhängig davon war, ob die Impedanzen am apikalen oder basalen Kontakt gemessen wurden (Faktor „Unterschied Beschichtung apikal/basal“).

Schwache partielle Effektgrößen auf die Impedanzveränderungen konnten auch bei dem Faktor Konditionierung beobachtet werden (Faktor „Konditionierung“). Abgesehen von Woche 12 waren die Impedanzveränderungen auch unabhängig davon, ob die Impedanzen am apikalen oder basalen Kontakt gemessen wurden (Faktor „Kontakt“).

Tab. 8: Übersicht Effektstärken einzelner Faktoren auf die Impedanzergebnisse

	Beschichtung allgemein		Kontakt		Konditionierung		Unterschied Beschichtung apikal/basal	
	R ²	p-Wert	R ²	p-Wert	R ²	p-Wert	R ²	p-Wert
Woche 1	0,481	0,000**	0,003	0,602	0,000	0,845	0,030	0,099
Woche 2	0,530	0,000**	0,060	0,021*	0,001	0,723	0,071	0,012*
Woche 5	0,363	0,000**	0,055	0,030*	0,000	0,870	0,014	0,273
Woche 9	0,345	0,000**	0,047	0,098	0,002	0,720	0,000	0,991
Woche 12	0,340	0,000**	0,165	0,001*	0,000	0,982	0,000	0,958
Woche 16	0,075	0,025*	0,001	0,770	0,000	0,943	0,030	0,164

Statistische Evaluierung: Allgemeines lineares Modell: Evaluierung der Effektstärke einzelner Faktoren auf die Impedanzveränderungen zu den einzelnen Messzeitpunkten, Kennzahl: partielles Eta-Quadrat (R²), Grenzwert für R² als relevante Effektstärke R² > 0,1, Signifikanz: *p-Wert < 0,05, **p-Wert < 0,01.

Als Einflussfaktoren wurden die Beschichtung, die Kontakte (apikal oder basal) und die Konditionierung gewählt. Außerdem wurde untersucht, ob die Größe des Effektes durch die Beschichtung davon abhängig war, ob apikal oder basal gemessen wurde. Als Kenngrößen dienten R² sowie der dazugehörige p-Wert. Je größer R² war, umso stärker war der Einfluss dieses Faktors auf die Impedanzveränderungen. Ein relevanter Effekt konnte mit Ausnahme von Woche 16 durch die Beschichtung nachgewiesen werden. Allerdings nahm der Einfluss der Beschichtung auf die Impedanzergebnisse über den Versuchszeitraum kontinuierlich ab.

2.2.5 Konditionierung der Elektrodenkontakte

Beim apikalen Kontakt konnte über den gesamten Messzeitraum ein eindeutiger Trend zu niedrigeren Impedanzwerten nach der 2. Messung beobachtet werden (Tab. 9). Nur an Tag 0 zeigte der Medianwert nach der Messwiederholung eine geringfügige Impedanzerhöhung um 0,03 kΩ an (Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test, p = 0,476). Zu allen anderen Messzeitpunkten wurde bei den Medianwerten ein Rückgang der Impedanz bei der 2. Messung registriert. Die deutlichsten Impedanzreduktionen konnten mit 0,76 kΩ in Woche 2 und 0,62 kΩ in Woche 5 gemessen werden. Auch in Woche 9 und Woche 12 fiel der Impedanzrückgang mit jeweils

0,58 k Ω nur geringfügig kleiner aus. Eine signifikante Reduktion der Impedanzen zwischen der Erst- und Zweitmessung wurde am apikalen Kontakt zu den Messzeitpunkten Woche 2, 5, 12 und 16 nachgewiesen.

Im Gegensatz zum apikalen Kontakt wurde der basale Kontakt in den 15 Minuten zwischen den beiden Messungen nicht elektrisch stimuliert. Bei diesem Kontakt wurden im Allgemeinen geringere Schwankungen zwischen den Medianwerten der Erstmessung und der Messwiederholung nach 15 Minuten beobachtet. Geringfügige Rückgänge der Impedanzen ohne Signifikanz zeigten bei diesem Kontakt die Medianwerte der Messwiederholungen in Woche 5 (Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test, $p = 0,513$) mit einer Impedanzreduktion von 0,17 k Ω und in Woche 9 (Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test, $p = 0,093$) mit einem Rückgang um 0,06 k Ω . Ein nahezu identischer Medianwert mit 3,50 k Ω in der 1. Messung und mit 3,48 k Ω in der 2. Messung war an Tag 0 messbar. Nicht-signifikante Impedanzanstiege in der Wiederholungsmessung zeigten die Medianwerte

Tab. 9: Effekt einer 15-minütigen elektrischen Stimulation auf die Impedanzwerte zu den verschiedenen Messzeitpunkten

	Tag 0	Woche 1	Woche 2	Woche 5	Woche 9	Woche 12	Woche 16
1. Messung [k Ω]	3,50	5,92	7,41	8,48	6,71	9,70	8,99
2. Messung [k Ω]	3,48	6,01	7,54	8,31	6,65	10,04	9,05
Impedanzen ↓	16	7	11	8	9	10	7
Impedanzen ↑	5	14	10	10	4	3	6
Impedanzen ↔	9	3	2	3	2	3	4
p-Wert	0,017	0,626	0,531	0,513	0,093	0,080	0,442
1. Messung [k Ω]	3,58	5,51	6,01	6,63	7,29	7,53	8,25
2. Messung [k Ω]	3,61	5,45	5,25	6,01	6,71	6,95	8,01
Impedanzen ↓	14	16	19	19	14	14	16
Impedanzen ↑	7	6	3	3	2	0	2
Impedanzen ↔	3	2	1	1	0	3	0
p-Wert	0,476	0,013	0,000*	0,003*	0,008	0,001*	0,002*

Statistische Evaluierung: Berechnung des p-Wertes mit einem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test für verbundene Stichproben, zweiseitige asymptotische Signifikanz; Korrektur des p-Wertes bei multiplen Paarvergleichen nach Bonferoni-Holm *p-Wert < 0.007

Die Tabelle zeigt jeweils den Medianwert [k Ω] der erfassten Impedanzwerte aus der 1. Messung sowie 2. Messung 15 Minuten später (Wiederholungsmessung) vom apikalen und basalen Kontakt und die jeweilige Anzahl der insgesamt 24 Kontakte mit einer Erniedrigung der Impedanz (↓), Erhöhung der Impedanz (↑) sowie unverändertem Impedanzwert (↔) bei der 2. Messung. Der apikale Kontakt wurde in den 15 Minuten zwischen 1. und 2. Messung elektrisch stimuliert (Konditionierung), der basale Kontakt wurde hingegen nicht elektrisch stimuliert. Bei dieser Fragestellung wurde auf eine Gruppenunterteilung in PTFEP/NO-PTFEP verzichtet.

in Woche 1 (Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test, $p = 0,626$) und in Woche 2 (Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test, $p = 0,531$). Die medianen Impedanzwerte waren hier nach der 2. Messung um $0,09 \text{ k}\Omega$ in Woche 1 und um $0,13 \text{ k}\Omega$ in Woche 2 größer geworden. Ein deutlicherer Anstieg des medianen Impedanzwertes von $9,70 \text{ k}\Omega$ auf $10,04 \text{ k}\Omega$ zeigte sich in Woche 12 (Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test, $p = 0,080$). Auch zum finalen Messzeitpunkt in Woche 16 zeigte der Medianwert der Impedanzen einen leichten Impedanzanstieg nach der Messwiederholung mit $8,99 \text{ k}\Omega$ in der Erstmessung und $9,05 \text{ k}\Omega$ in der Messwiederholung (Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test, $p = 0,442$).

3 Histologie

3.1 Makroskopische Beurteilung äußerer Strukturen

Der äußere Zugang zum Mittelohr war bei allen Meerschweinchen verheilt und es gab keine Hinweise auf Wundheilungsstörungen. Das Schleimhautepithel der Bullahöhle war bei allen Präparaten in einem physiologisch gesunden Zustand und es gab keine makroskopischen Hinweise auf Entzündungsprozesse im Mittelohr. In allen Cochleae verlief das freie apikale Ende des Implantates bis zum markierten Insertionspunkt über die Cochlestomie in die basale

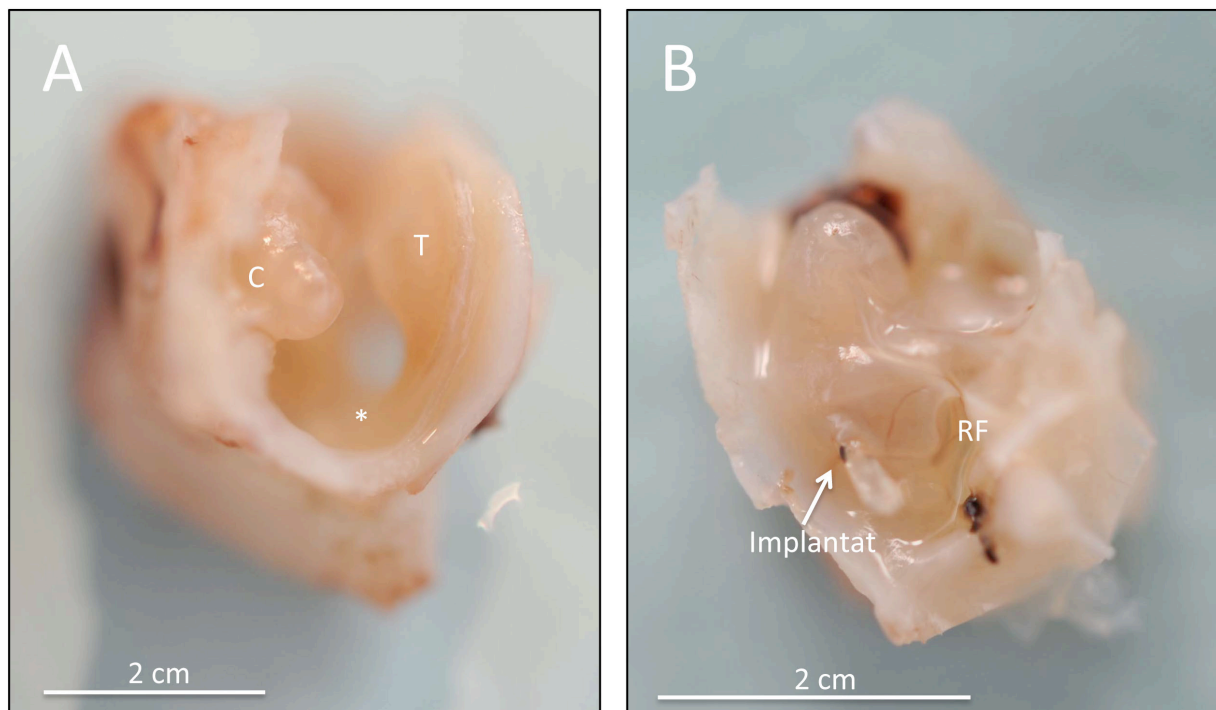


Abb. 29: Apikale Einsicht in das Mittelohr eines Meerschweinchens (A) und präparierte Meerschweinchen-Cochlea mit Implantat (B)

*C = Cochlea, * = Mittelohrhöhle, T = Trommelfell, RF = Rundes Fenster*

Windung der Cochlea (siehe Abb. 29). Somit waren alle Implantationen korrekt ausgeführt worden. Gruppenübergreifend waren bei zahlreichen Präparaten außerhalb der Cochleae in unterschiedlichem Ausmaß bindegewebige Proliferationen entlang der Elektrodenträger, besonders im Bereich der Cochleostomie, erkennbar. Diese Beobachtung wurde in der Auswertung allerdings nicht weiter berücksichtigt, da bei dem Herstellungsprozess ausgehend von der Spitze des Implantates lediglich eine PTFEP-Beschichtung des intracochleären Anteils sichergestellt werden konnte und bindegewebige Reaktionen an anderen Stellen des Implantates somit für eine Auswertung nur von geringer Relevanz waren. Alle Implantate ließen sich ohne größere Widerstände vorsichtig aus der Cochlea entfernen. Eine gleichzeitige Extraktion des umgebenden Gewebes beim Herausziehen des Implantates war daher unwahrscheinlich. Ferner waren bei der Kontrolle der explantierten Implantate makroskopisch beurteilt keine offensichtlichen Drahtbrüche erkennbar.

3.2 HE-Färbungen

Die histologisch nachweisbaren Reaktionen auf das Implantat waren auf die erste Hälfte der basalen Windung in der Scala tympani begrenzt (siehe Abb. 30 und Abb. 31). Scala media und Scala vestibuli waren frei von implantationsbedingten Gewebereaktionen. Im Allgemeinen zeigte die histologische Untersuchung der Gewebeschnitte in beiden Gruppen eine hohe individuelle Variabilität in Form und Ausmaß der untersuchten Parameter. Typischerweise war das Implantat von einer inneren Schicht aus Fremdkörperriesenzellen (FBGCs) und einer schlauchförmigen Gewebehülle aus kompakt liegenden Kollagenfasern umgeben. Hinzu kamen je nach Präparat knöcherne Proliferationen entlang des Implantates sowie eine mononukleäre Infiltration des neugebildeten Gewebes. Weiter peripher vom Implantat gelegen hatte sich locker angeordnetes Bindegewebe als äußere Schicht der Gewebereaktion gebildet. Eine Übersicht über die Ergebnisse der histologischen Auswertung ist in Tab. 10 dargestellt.

LOCKERES BINDEGEWEBE

In je einem Cochlea-Präparat pro Gruppe war kein lockeres Bindegewebe erkennbar. Bei den anderen 22 Cochleae war die erste Hälfte des basalen Anteils der Scala tympani hingegen in unterschiedlichem Ausmaß mit lockerem Bindegewebe ausgefüllt. Das lockere Bindegewebe bestand aus einem Geflecht aus kollagenen Fasern und extrazellulärer Matrix, in das Fibroblasten und Fibrozyten eingelagert waren. 5 Tiere in Gruppe PTFEP und 7 Tiere in Gruppe NO-PTFEP zeigten eine Bindegewebsproliferation, die eine Fläche von mehr als einem Quadranten in der Scala tympani ausfüllte. Das bindegewebige Netzwerk hatte sich peripher locker um das Implantat angeordnet und war in den meisten Fällen in der lateralen

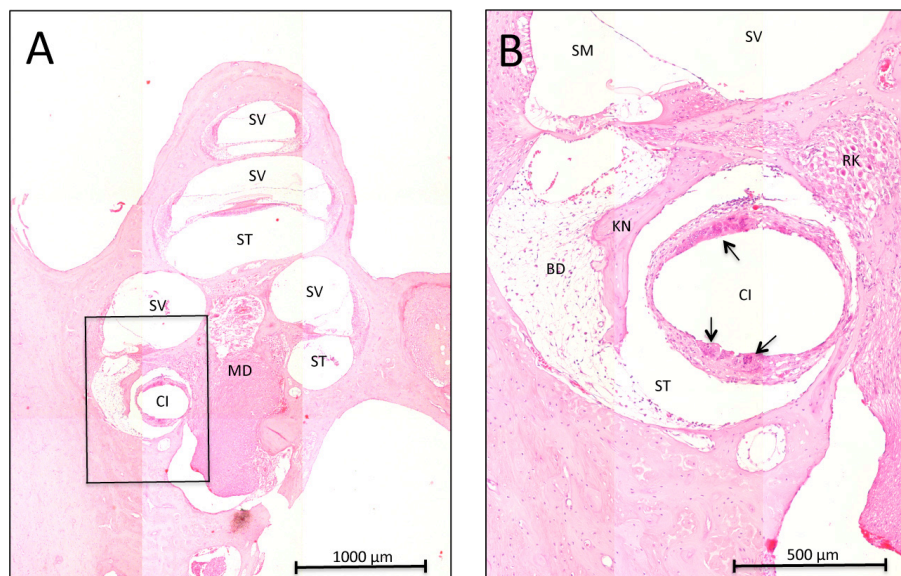


Abb. 30: Gewebeproliferation in der S. tympani der basalen Windung der Cochlea

Implantierte Cochlea in der Übersicht (A) und Ausschnitt der basalen Windung (B), Schnittebene sagittal durch den Modiolus, Schnittdicke: 4 µm x 50 (A) und x 100 (B), Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE). Das Implantat wurde vor der histologischen Aufarbeitung der Präparate entfernt. Konzentrisch um den früheren Verlauf des Implantates (CI) ist eine Bindegewebshülle mit Fremdkörperriesenzellen (Pfeil →) erkennbar. Weiter peripher gelegen können in der S. tympani (ST) Knochengewebe (KN) und lockeres Bindegewebe (BD) mit einem diffusen mononukleären Infiltrat beobachtet werden. S. vestibuli (SV), S. media (SM), Rosenthal Kanal (RK), Modiolus (MD).

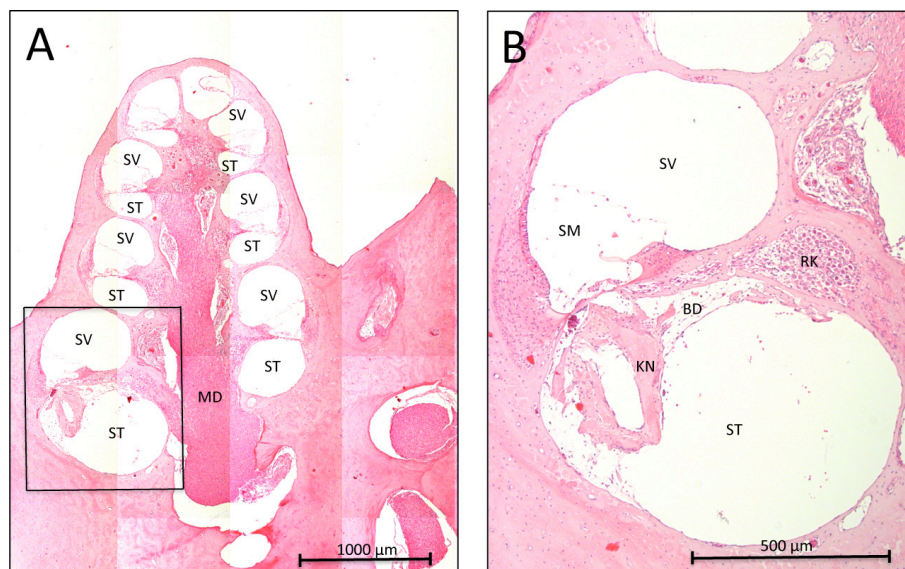


Abb. 31: Implantierte Cochlea mit geringfügiger Gewebereaktion in der S. tympani

Implantierte Cochlea in der Übersicht (A) und Ausschnitt der basalen Windung (B), Schnittebene sagittal durch den Modiolus, Schnittdicke: 4 µm x 50 (A) und x 100 (B), Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE). Das Implantat wurde vor der histologischen Aufarbeitung der Präparate entfernt. Der ehemalige Verlauf des Implantates in der S. tympani (ST) ist nicht erkennbar. Unterhalb der knöchernen Lamina spiralis und Basilarmembran hat sich Knochengewebe (KN) und geringgradig lockeres Bindegewebe (BD) gebildet, das vereinzelt von mononukleären Zellen durchsetzt ist. S. vestibuli (SV), S. media (SM), Rosenthal Kanal (RK), Modiolus (MD).

Hälfte der Scala tympani (Quadranten 1 und 3) und unterhalb der knöchernen Lamina spiralis und Basilarmembran (Quadranten 1 und 2) lokalisiert. Bei 3 Tieren in Gruppe PTFEP und bei 1 Tier in Gruppe NO-PTFEP war die Bindegewebsproliferation nur minimal. Eine Bindegewebsproliferation, die weniger als einen Quadranten ausfüllte, war bei jeweils 3 Tieren pro Gruppe zu erkennen. Die histologische Auswertung zeigte bei Gruppe PTFEP im Durchschnitt eine geringere Bindegewebsproliferation ($2,00 \pm 1,044$) als bei Gruppe NO-PTFEP ($2,33 \pm 0,985$). Dennoch erreichte dieser Unterschied keine statistische Signifikanz (Mann-Whitney-U Test, $p = 0,382$).

KNOCHENNEUBILDUNG (OSTEONEOGENESE)

In Gruppe PTFEP war bei allen 12 Cochleae Knochengewebe in unterschiedlichem Ausmaß in der Scala tympani zu finden. In Gruppe NO-PTFEP waren hingegen 4 von 12 Präparaten frei von Knochengewebe in der Scala tympani. 5 Tiere in Gruppe PTFEP und 1 Tier in Gruppe NO-PTFEP zeigten solitäre Knochenfragmente in heterogener Anzahl, Form und Größe unterhalb der Lamina spiralis ossea und der Basilarmembran. Bei 7 Tieren der Gruppe PTFEP und bei 6 Tieren der Gruppe NO-PTFEP hatte sich dagegen in der Scala tympani eine deutliche zirkuläre Knochenhülle entlang des Implantats gebildet. Bei einem Tier aus Gruppe NO-PTFEP waren die Knochenproliferationen lediglich auf den Bereich der Insertionsstelle begrenzt. Die Analyse zeigte bei diesem Parameter keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen (Mann-Whitney-U Test, $p = 0,239$).

CHRONISCH-LYMPHOPLASMATISCHE ENTZÜNDUNG

Bei 21 von 24 Präparaten war die Scala tympani im basalen Windungsabschnitt unterschiedlich stark von mononukleären Zellen (Lymphozyten, Plasmazellen und Monozyten) infiltriert. Dabei zeigten 1 Präparat aus Gruppe PTFEP und 6 Präparate aus Gruppe NO-PTFEP neben einer hohen Dichte an mononukleären Infiltraten im peripheren lockeren Bindegewebe zugleich eine konzentrische Akkumulation mononukleärer Entzündungszellen in unmittelbarer Nähe zum Implantat. Bei 8 Präparaten in Gruppe PTFEP und bei 6 Präparaten in Gruppe NO-PTFEP war im angrenzenden Gewebe um das Implantat lediglich eine geringe bis mäßige, diffuse Infiltration mit lymphoplasmatischen Entzündungszellen ohne lokale Häufung zu beobachten. 3 Cochleae von Gruppe PTFEP waren gänzlich frei von Entzündungszellen. Im Gruppenvergleich zeigte Gruppe PTFEP im Durchschnitt eine signifikant geringere mononukleäre Infiltration als Gruppe NO-PTFEP (Mann-Whitney-U Test, $p = 0,012$). Die chronische Entzündung war lokal begrenzt auf den basalen Windungsabschnitt der Cochlea und es gab keine Hinweise auf eine Streuung der Entzündung. Weiter apikal gelegene Regionen der Cochlea und auch die Membran des

runden Fensters waren bei allen Präparaten frei von Entzündungszellen.

FREMDKÖRPERRIESENZELLEN (FBGCs)

Vielkernige Fremdkörperriesenzellen (FBGCs) waren bei allen 12 Cochleae in Gruppe NO-PTFEP und bei 10 von 12 Cochleae in Gruppe PTFEP zu finden. Die FBGCs hatten sich konzentrisch unmittelbar an der Oberfläche des Implantates angelagert und waren Bestandteil der innersten Schicht der das Implantat umgebenden Gewebehülle. Im Mittel konnten bei Gruppe PTFEP weniger Fremdkörperriesenzellen ($1,33, \pm 0,778$) als bei Gruppe NO-PTFEP ($1,50, \pm 0,674$) gefunden werden. Die Analyse zeigte aber bei diesem Parameter keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen (Mann-Whitney-U Test, $p = 0,800$).

LAMELLÄRE GEWEBEHÜLLE UM IMPLANTAT

Bei allen 12 Tieren von Gruppe PTFEP und bei 11 Tieren von Gruppe NO-PTFEP hatte sich schlauchförmig eine Gewebehülle aus kompakt liegenden Kollagenlamellen um den Elektrodenträger gebildet. Dabei zeigten 2 Präparate von Gruppe PTFEP und 3 Präparate von Gruppe NO-PTFEP einen schwach ausgebildeten kollagenen Gewebemantel, der nur im Bereich der Insertionsstelle zu finden war. Bei 10 Cochleae aus Gruppe PTFEP und bei 8 Cochleae aus Gruppe NO-PTFEP war die Gewebehülle hingegen deutlicher ausgeprägt und konnte über weite Teile des intracochleären Anteils der Elektrodenträgers nachverfolgt

Tab. 10: Vergleich der Ergebnisse der histologischen Auswertung zwischen Gruppe PTFEP und NO-PTFEP (Mann-Whitney-U-Test)

Histologischer Parameter	Gruppe PTFEP ⁺	Gruppe NO-PTFEP ⁺	p-Wert
Chronisch-lymphoplasmatische Entzündung in basaler Windung der Cochlea (Diffuse mononukleäre Infiltration mit Lymphozyten, Plasmazellen und Makrophagen)	1,17 ± 0,937	2,25 ± 0.866	0,012*
Konzentrische Ansammlung von Fremdkörperriesenzellen um Implantat	1,33 ± 0,778	1,50 ± 0.674	0,800
Knochenneubildung (<i>Osteoneogenese</i>)	2,58 ± 0,515	1,75 ± 1.422	0,239
Blutgefäßneubildung (<i>Angiogenese</i>)	-	-	0,397
Lockeres Bindegewebe in S. tympani	2,00 ± 1,044	2,33 ± 0.985	0,382
Lamelläre Gewebemanschette um Implantat	1,83 ± 0.389	1,58 ± 0.669	0,329

Statistische Evaluierung: ⁺Mittelwert der Graduierungsstufen 0 – 3 ± Standardabweichung von Gruppe PTFEP und NO-PTFEP; Berechnung des p-Wertes mit einem Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben, zweiseitige asymptotische Signifikanz: *p-Wert < 0.05; Tierzahl pro Gruppe n = 12

werden. Zwischen den beiden Gruppen bestand bei diesem Parameter kein statistisch signifikanter Unterschied (Mann-Whitney-U Test, $p = 0,329$).

ANGIOGENESE UND NEUTROPHILE GRANULOZYTEN

Bei 9 Tieren in Gruppe PTFEP und bei 7 Tieren in Gruppe NO-PTFEP hatten sich in dem neugebildeten Gewebe in der Scala tympani kleine Blutgefäße ausgebildet (Mann-Whitney-U Test, $p = 0,397$). Eine geringe Anzahl an neutrophilen Granulozyten (PMNs) als Indikator für eine akute Entzündung wurde in einem Präparat von Gruppe PTFEP beobachtet. Bei allen anderen Cochlea-Präparaten gab es keinen Hinweis auf ein akutes Entzündungsgeschehen.

3.3 Korrelationsanalysen mit Ergebnissen der Hörmessungen

Für die Untersuchung möglicher Zusammenhänge zwischen den Ergebnissen der Hörmessungen und den einzelnen histologischen Parametern wurde der jeweilige Korrelationskoeffizient nach Spearman berechnet. Die Analyse ergab bei keinem Parameter einen signifikant nachweisbaren Zusammenhang. Eine detaillierte Übersicht über die Resultate dieser Auswertung ist in Tab. 11 dargestellt.

Tab. 11: Korrelationskoeffizienten zwischen den Resultaten aus den ABR-Messungen und der histologischen Auswertung

	Chronisch- lymphoplasmatische Entzündung	FBGCs	Knochen- neubildung	Blutgefäß- neubildung	Lockerer Bindegewebe
Click	0.157	0.226	0.280	0.396	0.333
Niedrige Frequenzen	0.157	0.360	0.265	0.370	0.396
Mittlere Frequenzen	0.190	0.141	- 0.081	0.013	0.059
Hohe Frequenzen	0.271	- 0.095	- 0.194	- 0.115	- 0.230

Statistische Evaluierung: Bestimmung des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman zwischen den ordinalskalierten histologischen Parametern und den 4 Frequenzgruppen der ABR-Hörmessungen. Als Datengrundlage für die Hörmessungen wurden die individuell berechneten AUC („Area under the curve“) – Werte aus den Verlaufskurven der Schwellenverschiebungen über 16 Wochen herangezogen. Signifikanz: kein p -Wert < 0.05 ; Tierzahl pro Gruppe $n = 12$.

3.4 Immunhistologie

Die Untersuchung zeigte, dass bei Gruppe PTFEP eine signifikant größere Anzahl an GAP43-negativen Spiralganglienzellen in den beiden Rosenthal Kanälen des basalen Windungsabschnitts zu finden war als in Gruppe NO-PTFEP (Mann-Whitney-U Test, $p = 0,003$) (siehe Tab. 12). Gruppe PTFEP hatte im Durchschnitt 80 % GAP43-negative Spiralganglienzellen im basalen Windungsabschnitt. Bei Gruppe NO-PTFEP zeigten hingegen im Mittel lediglich 65% Spiralganglienzellen keine Antikörperbindung. Die

Streuung innerhalb der beiden Gruppen war mit einem Interquartilsabstand von 59 % (Perzentil 25) bis 95 % (Perzentil 75) in Gruppe PTFEP und von 50 % (Perzentil 25) bis 72 % (Perzentil 75) in Gruppe NO-PTFEP verhältnismäßig groß.

Korrespondierend zu den GAP43-negativen Resultaten wurden im basalen Windungsabschnitt in Gruppe PTFEP 18 % (25/40) Spiralganglienzellen mit einem schwach-positiven Signal detektiert, wohingegen bei Gruppe NO-PTFEP ein signifikant höherer prozentualen Anteil mit 30 % (20/44) an GAP43-positiven Spiralganglienzellen mit schwachem Signal zu finden war (Mann-Whitney-U Test, $p = 0,01$). Der Anteil an Spiralganglienzellen mit einem stark-positiven GAP43-Signal war in beiden Gruppen gering. Auch hier war der Unterschied zwischen den beiden Gruppen statistisch signifikant (Mann-Whitney-U Test, $p = 0,001$). Der Prozentsatz an GAP43-positiven Spiralganglienzellen war im mittleren Cochlea-Segment gruppenübergreifend deutlich kleiner (Gruppe PTFEP: 12 % und Gruppe NO-PTFEP 8 %) und war im apikalen Cochlea-Segment noch weiter gesunken mit 7 % in Gruppe PTFEP und 5 % in Gruppe NO-PTFEP. Ferner konnten in den mittleren und apikalen Windungsabschnitten keine signifikanten Unterschiede zwischen Gruppe PTFEP und Gruppe NO-PTFEP gefunden werden (Tab. 12).

Tab. 12: Ergebnisse der immunhistologischen Untersuchung der Spiralganglienzellen (SGN) im Rosenthal Kanal mit GAP43-Antikörpern. Angabe des prozentualen Anteils (Medianwert) und Interquartilsabstand (IQR) von GAP43-negativen und positiven (schwaches oder starkes Signal) SGN von beiden Gruppen und des p-Wertes, Unterteilung nach Windungsabschnitten.

		GAP 43 - negativ	GAP 43 – positiv: schwaches Signal	GAP 43 – positiv: starkes Signal
Basaler Windungsabschnitt	PTFEP	80 (59/95)	18 (5/40)	0 (0/0)
	NO-PTFEP	65 (50/72)	30 (20/44)	1 (0/10)
	p-Wert	0.003**	0.010**	0.001**
Mittlerer Windungsabschnitt	PTFEP	88 (66/100)	12 (0/34)	0 (0/0)
	NO-PTFEP	92 (77/100)	8 (0/23)	0 (0/0)
	p-Wert	0.279	0.283	0.751
Apikaler Windungsabschnitt	PTFEP	93 (76/99)	7 (1/24)	0 (0/0)
	NO-PTFEP	95 (89/100)	5 (0/109)	0 (0/0)
	p-Wert	0.070	0.091	0.500

Statistische Evaluierung: Berechnung des p-Wertes mit einem Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben, zweiseitige asymptotische Signifikanz: *p-Wert < 0.05, **p-Wert < 0.01; Tierzahl pro Gruppe $n = 12$. Die Präparate wurden in sagittaler Ebene entlang des Modiolus geschnitten (Schnittdicke: 4 μm). Von jedem Präparat wurden 5 Schnitte aus der midmodiolaren Region beurteilt.

V DISKUSSION

1 Impedanzmessungen

1.1 Methodenvalidierung: Differierende Messergebnisse bei MED-EL MAESTRO und GP_Imp aufgrund unterschiedlicher technischer Ansätze

In dem durchgeführten Versuchsvorhaben wurden die elektrischen Widerstände mit jeweils 2 unterschiedlichen Messverfahren bestimmt. Das erste Impedanzmesssystem GP_Imp wurde eigens für dieses Versuchsvorhaben für die Impedanzbestimmung bei implantierten Meerschweinchen entwickelt. Vergleichbare Studien mit einem identischen Messaufbau und analoger Fragestellung lagen deshalb nicht vor. Ergänzend wurden die Impedanzen mit dem klinischen CI-Diagnostiksystem MED-EL MAESTRO gemessen. Daten von Impedanzmessungen mit MED-EL MAESTRO aus präklinischen Studien an Tiermodellen lagen auch hier nicht vor. Allerdings ist dieses zweite Messsystem bereits seit langem in der klinischen Routine für die intra- und postoperative Anpassung der Implantate humaner CI-Patienten etabliert. Die Analyse der Impedanzdaten von MED-EL MAESTRO in dieser Studie erlaubte somit einen Querbezug zu den Erfahrungen aus der klinischen Praxis. Einschränkend muss allerdings vermerkt werden, dass im Allgemeinen ein translationaler Vergleich stets nur bedingt aussagekräftig ist (Hartung 2008).

Mit beiden Messsystemen wurden in dieser Studie komplexe Widerstände an den Implantaten bestimmt. In der Methodenvalidierung der Impedanzergebnissen stellte sich heraus, dass die erfassten Messwerte von GP_Imp und MED-EL MAESTRO statistisch nicht gleichwertig waren. Auch die durchgeführte in-vitro Bestimmung von angelegten reinen ohmschen Widerständen ergab bei den beiden Systemen unterschiedliche Messergebnisse. Es war also davon auszugehen, dass die beiden Impedanz-Messsysteme auf unterschiedlichen technischen Ansätzen basieren. Vor diesem Hintergrund waren die Impedanzwerte beider Messsysteme nicht direkt miteinander vergleichbar.

Neben der grundlegenden Ungleichheit zwischen den erfassten Impedanzdaten von GP_Imp und MED-EL MAESTRO lag bei beiden Systemen auch eine Diskrepanz bei der oberen Grenze des Messbereichs vor. Das CI-Diagnostiksystem MED-EL MAESTRO dient zur Anpassung und Einstellung von CIs humaner Patienten. Die elektrischen Widerstände werden dabei mit Stromimpulsen konstanter Amplitude gemessen, die nicht im hörbaren Bereich liegen. Der Messbereich wird dabei durch die limitierte Betriebsspannung von maximal 3,5 V im CI begrenzt. Damit ergibt sich eine obere Grenze des Impedanz-Messbereichs von

maximal 17,4 k Ω . Bei GP_Imp war dieser obere Grenzbereich hingegen beliebig einstellbar und nur durch den zur Verfügung stehenden maximalen Referenzwiderstand limitiert. Dieser wurde mit 100 k Ω festgelegt, da größere Impedanzveränderungen bedingt durch Gewebe-neubildungen um das Implantat bei diesem Messaufbau nicht zu erwarten waren.

1.2 Erhöhung der Messgenauigkeit bei GP_Imp durch aufeinander folgende Messwiederholungen und Mittelung

Ein Vergleich der Impedanzergebnisse aus der Erstmessung mit einer Zweitmessung nach 15 Minuten (Doppelmessung) am basalen Kontakt ermöglichte eine Evaluierung der Präzision der Messsysteme. Für die weitere Auswertung der Impedanzergebnisse wurden die Daten von MED-EL MAESTRO herangezogen, da die Analyse der Impedanzdaten aus den Doppelmessungen für dieses System einen relativ geringen Variationskoeffizienten (5,71 %) ergab. Bei GP_Imp war die Streuung innerhalb der Messwertpaare mit einem Variationskoeffizienten von 18,51 % hingegen evident größer. Die Präzision bei der Bestimmung der komplexen Widerstände an den Implantaten war mit dem Messsystem MED-EL MAESTRO somit höher. Eine Erhöhung der Messgenauigkeit bei der Bestimmung der Impedanzwerte mit GP_Imp wäre allerdings folgendermaßen denkbar: Der Versuchsaufbau sah vor, dass die Impedanzwerte jeweils einmalig ohne Messwiederholung bestimmt wurden. Durch mehrmalige, unmittelbar aufeinanderfolgende Messvorgänge und eine Mittelung der erfassten Daten dieser Messwiederholungen würde die Fehlerstreuung der Doppelmessungen minimiert werden und einen geringeren Variationskoeffizienten zur Folge haben. Ein direkter Vergleich der Daten von GP_Imp und MED-EL MAESTRO wäre in diesem Fall möglicherweise aussagekräftiger.

1.3 Technische Defekte an den Implantaten vermutlich ursächlich für Ausfälle bei den Impedanzmessungen

Ab dem Messzeitpunkt Woche 2 wurden in einigen Fällen bei der Bestimmung der elektrischen Widerstände an den Kontakten unendliche Werte angezeigt. Somit lagen in diesen Fällen die Werte der erfassten elektrischen Widerstände außerhalb des oberen Messbereichs von 17,4 k Ω bei MED-EL MAESTRO beziehungsweise 100 k Ω bei GP_Imp. Derartig sprunghafte Anstiege zwischen zwei Messzeitpunkten sind durch biologische Effekte nicht sehr wahrscheinlich. Bekannte spezifische Widerstände von biologischen Geweben liegen in einem Bereich zwischen 10 Ω m und 100 Ω m. Es ist deshalb nicht plausibel, dass ein derart hoher Anstieg der Impedanz durch intraocochleäre Gewebezubildungen um das Implantat verursacht wurde. Vielmehr dürften diese plötzlichen Impedanzsprünge außerhalb des Messbereichs auf einen technischen Defekt am Implantat zurückzuführen sein. Möglich

wäre ein Bruch der mechanisch empfindlichen Platin-Iridium-Drähte des Implantats. Auch in der klinischen Praxis bei Impedanzmessungen an humanen CI-Patienten können Überschreitungen des Impedanznormbereiches auf einen Defekt an der betroffenen Elektrode hindeuten (Wesarg et al. 2014). Aber auch kleine Luftbläschen, die die Elektrodenkontakte umgeben, oder unvollständig inserierte Elektrodenträger, bei denen die entsprechenden Kontakte außerhalb der Cochlea zu liegen kommen, können zu Impedanzwerten außerhalb des oberen Meßbereichs führen (Goehring et al. 2013, Wesarg et al. 2014). Unvollständig inserierte Elektrodenträger als Ursache für die nicht bestimmbar Impedanzen können in diesem Fall allerdings ausgeschlossen werden. So waren zu den ersten Messzeitpunkten bei allen Implantaten noch Impedanzen messbar. Wären die Implantate nicht vollständig inseriert gewesen, wären bereits zu diesen frühen Messzeitpunkten Impedanzausfälle zu verzeichnen gewesen. Außerdem wurde nach dem Versuchsende der korrekte Sitz der Implantate visuell bei der Präparation des Felsenbeines überprüft. Eine Dislokation des Implantates aus der ursprünglichen Position zu einem späteren Zeitpunkt konnte daher ebenfalls ausgeschlossen werden.

Werden Verlaufskurven bei Meerschweinchen mit Impedanzausfällen mit denen ohne Impedanzausfälle verglichen, lässt sich folgendes feststellen: Beide Gruppen zeigten bis einschließlich Woche 5 einen kontinuierlichen Anstieg der Impedanzen. In der Gruppe der messbaren Meerschweinchen-Implantate folgte dann zu späteren Zeitpunkten in der Regel ein Plateau der Messwerte mit nur noch geringen Impedanzschwankungen. Ohne einen mutmaßlichen technischen Defekt der Implantate wäre auch in der anderen Gruppe mit Impedanzausfällen ein solches Plateau zu erwarten gewesen. Sprunghafte Anstiege der Impedanzen in diesem späten Versuchszeitraum wären, legt man den Vergleich mit den Impedanzverläufen bei messbaren Meerschweinchen-Implantaten zu Grunde, unwahrscheinlich. Bei der Präparation der Cochleae nach dem Versuchsende konnten bei der visuellen Überprüfung der Implantate jedoch soweit einsehbar keine makroskopisch sichtbaren Defekte an den Drähten festgestellt werden. Eine prädisponierende Lokalisation für einen Drahtbruch wäre der Übergang zwischen dem am Schädel fixierten Stecker und dem Implantat, der durch Nackenbewegungen des Meerschweinchens ständiger Belastung ausgesetzt war. Die notwendige Abdeckung des Steckers mit Paladur[®]-Prothesenkunststoff zur Fixierung verhinderte allerdings eine genauere visuelle Kontrolle dieser potentiellen Sollbruchstelle am Implantat.

Eine weitere Beobachtung lässt darauf schließen, dass ein technischer Defekt ursächlich für die Impedanzausfälle war. Da in einigen Fällen die Impedanzausfälle nur intermittierend

auftraten, liegt es nahe, die Ursache in einem Kabelbruch, nicht aber in Gewebeveränderungen zu vermuten. In diesen Fällen waren nach einem dem Impedanzausfall folgenden Messzeitpunkt wieder Impedanzen im messbaren Bereich bestimmbar. Möglicherweise führten hier lagerungsbedingte Veränderungen im Nackenbereich des Meerschweinchens während des Messvorganges zu einer Re-Kontaktierung der gebrochenen Drähte. Impedanzmessungen waren somit wieder möglich. Mit geringerer Wahrscheinlichkeit könnten auch hier temporär vorhandene, feine Luftbläschen um den Kontakt, die sich bis zum nächsten Messzeitpunkt wieder auflösten, für einen intermittierenden Impedanzausfall verantwortlich gewesen sein.

Für das Auftreten eines technischen Defektes spricht weiterhin, dass vereinzelt bei der Messung der beiden Kontakte eines Implantates der Ausfall entweder nur basal oder apikal auftrat. Da der apikale und basale Kontakt an der Spitze des Implantates jeweils über einen eigenen Draht mit dem Stecker in Verbindung stand, ist anzunehmen, dass in diesen Fällen nur einer der beiden Drähte gebrochen war. Übermäßiges Gewebewachstum um das Implantat hätte hingegen aufgrund des geringen Abstandes der beiden Kontakte zueinander vermutlich einen gleichzeitigen Impedanzausfall zur Folge gehabt.

Um den mutmaßlichen technischen Defekt zu verifizieren, wäre post mortem eine in-vitro Funktionskontrolle mit Impedanzmessungen am isolierten Implantat nötig gewesen. Es konnte allerdings nicht sichergestellt werden, dass das Implantat nach dem Versuchsende bei der Freilegung des Felsenbeines unbeschädigt vom umgebenden Gewebe separiert werden konnte. Außerdem musste für die Präparation des Felsenbeins das Implantat vorsichtig mit einem Scherenschnitt nahe der Eintrittsstelle in das Mittelohr durchtrennt werden. Auf eine Entnahme in-toto mit einer Funktionskontrolle der Implantate post mortem wurde daher verzichtet. Unter der Annahme, dass eine vollständige Entnahme des Implantates ohne Beschädigung post mortem möglich gewesen wäre, würde sich eine Impedanzbestimmung der Elektrodenkontakte in physiologischer Kochsalzlösung zur Überprüfung der Funktionsfähigkeit anbieten.

Vergleicht man das Vorkommen der Impedanzausfälle zwischen beschichteten und unbeschichteten Implantaten, so zeigten die Implantate mit Beschichtung in der Gesamtheit deutlich weniger Ausfälle als die unbeschichteten. Allerdings war die Gruppengröße mit $n = 12$ zu gering und der Unterschied hinsichtlich der totalen Anzahl an Implantaten mit Impedanzausfällen erreichte sowohl an den basalen wie auch apikalen Kontakten keine statistische Signifikanz. Geht man davon aus, dass die Impedanzausfälle technischen Ursprungs sind, könnte sich ein Zusammenhang zwischen der Beschichtung und

funktionellen Haltbarkeit der Implantate schlussfolgern lassen. Einschränkend muss allerdings vermerkt werden, dass eine derartige Schlussfolgerung spekulativ ist, da nur ein kleiner Teil an der Spitze des Implantates mit PTFEP beschichtet war und ein Zusammenhang mit dem erwähnten Effekt dadurch in Zweifel zu ziehen ist.

1.4 Reduktion der Impedanzen durch Elektrodenkonditionierung nachweisbar

Einen Abfall der Impedanzen durch eine Elektrodenkonditionierung konnte sowohl in präklinischen Untersuchungen (Charlet de Sauvage et al. 1997) wie auch in klinischen Studien an CI-Patienten beobachtet werden (Busby et al. 2002, Saunders et al. 2002, Paasche et al. 2009). Auch Erfahrungen aus der klinischen Praxis bei der Anpassung der CIs bestätigen diese Beobachtung. Dabei führt bereits das Nichttragen des Sprachprozessors über Nacht zu einer Impedanzerhöhung (Müller-Deile 2009). Müssen einzelne Elektrodenkontakte aufgrund von Missempfindungen beim CI-Patienten deaktiviert werden, so kann es ebenfalls zu einem Anstieg der Impedanzen an diesen Kontakten kommen.

Die Mechanismen, die zu einem Impedanzabfall bei elektrischer Stimulation führen, konnten noch nicht hinreichend geklärt werden. In einer in-vitro Studie von Newbold et al. (2011) war ein Schwund von Zellen auf der Oberfläche stimulierter Elektroden zu sehen. Möglich wäre, dass dabei das induzierte elektrische Feld zu einer erhöhten Permeabilität der anhaftenden Zellen führt (Elektroporation) und damit die Zelladhäsion herabsetzt. Denkbar wäre aber auch eine Veränderung der Zellmorphologie der anhaftenden Zellen durch die Stimulation (Newbold et al. 2011). Eine aktuellere Studie geht hingegen davon aus, dass Veränderungen direkt auf der Oberfläche der Elektrode, wie Adsorption und Desorption von Oberflächenproteinen oder eine verminderte Adhäsion der fibrösen Matrix, für den stimulationsinduzierten Impedanzabfall führen können (Newbold et al. 2014). In einer anderen Studie wird vermutet, dass die Stimulation zu einer Akkumulation von Elektrolyten um die Elektrode führt oder es zu einer verstärkten Elektrolyt-Sekretion der umgebenden, aktivierten Epithelien kommt (Charlet de Sauvage et al. 1997).

Liegen die Stimulationsschemata innerhalb tolerierbarer Grenzen, so ist davon auszugehen, dass eine elektrische Stimulation der Elektrodenkontakte keinen nachteiligen Effekt auf das Hörvermögen hat (Shannon 1992, Charlet de Sauvage et al. 1997, Newbold et al. 2014). Für die Konditionierung in diesem Versuchsvorhaben wurde aus diesem Grund ein Stimulationsschema angewandt, das sich in der klinischen Praxis bei CI-Patienten bewährt hat. Auch im vorliegenden Versuchsvorhaben konnte größtenteils nachgewiesen werden, dass eine elektrische Stimulation an den apikalen Kontakten zu einer signifikanten Reduktion der Impedanzen führt. Lediglich in Woche 1 und Woche 9 war am apikalen Kontakt der

Rückgang der Elektrodenimpedanzen nach der Konditionierung nicht signifikant. Die Konditionierung der Kontakte war auf 15 Minuten begrenzt. Möglicherweise war dieser kurze Zeitraum in diesen beiden Fällen nicht ausreichend, um einen signifikanten Effekt nachweisen zu können. Allerdings geht man davon aus, dass der größte Effekt der elektrischen Stimulation zu Beginn zu beobachten ist. So waren in zwei in-vivo Studien innerhalb der ersten 15 Minuten (Tiermodell) und 30 Minuten (klinische Studie) bereits die verhältnismäßig größten Reduktionen messbar (Newbold et al. 2014). In der hier vorliegenden Studie konnte zudem nicht ausgeschlossen werden, dass ein noch kürzerer Zeitraum für einen deutlich messbaren Effekt ausreichend ist.

Interessanterweise war an Tag 0 bei der Wiederholungsmessung am apikalen Kontakt trotz Stimulation sogar ein geringer Anstieg des medianen Impedanzwertes zu beobachten. Eine mögliche Erklärung für diese Beobachtung wäre, dass das Ausmaß der Impedanzreduktion durch eine elektrische Stimulation von der Größe des Ausgangswertes abhängig ist. Je höher dieser Basiswert ist, umso ausgeprägter fällt die Impedanzreduktion aus (Newbold et al. 2014). Bis auf wenige Ausnahmen wurden dem hier vorliegenden Versuchsvorhaben an Tag 0 die niedrigsten Impedanzen im Vergleich zu späteren Zeitpunkten gemessen. Somit wären auch zu diesem Zeitpunkt die geringsten Impedanzveränderungen durch eine Konditionierung zu erwarten gewesen.

Eine Impedanzreduktion durch Elektrodenkonditionierung konnte in der vorliegenden Studie also durchaus nachgewiesen werden, berücksichtigt man insbesondere, dass am basalen, nicht stimulierten Elektrodenkontakt zu keinem Messzeitpunkt ein Rückgang der Impedanz bei der Zweitmessung nachweisbar war.

1.5 PTFEP-Beschichtung und Impedanzen: Abweichende Resultate zwischen Ausgangsmessung an Tag 0 und Woche 1 bis Woche 16.

Betrachtet man die Ausgangs-Impedanzwerte zum Messzeitpunkt Tag 0, so waren an beiden Elektrodenkontakten die Impedanzen bei den beschichteten Implantaten signifikant kleiner als bei den unbeschichteten Implantaten. Diese Beobachtung lässt die Annahme zu, dass eine PTFEP-Beschichtung durch eine veränderte Molekülstruktur an der Elektrodenkontaktfläche möglicherweise die Leitfähigkeit und damit den elektrischen Leitwert (= Kehrwert des Widerstandes) an den Kontakten erhöht. Der Strom kann leichter entlang des Elektrodenträgers fließen und der Elektrodenwiderstand wird kleiner. Diese Hypothese könnte durch geeignete in-vitro Messungen an den Implantaten verifiziert werden.

Gruppenübergreifend wurden vor allem in den ersten Wochen nach der Implantation die

größten Anstiege der absoluten Impedanzveränderungen (AIV) gemessen. Ab Woche 5 hingegen war bei beiden Gruppen ein Plateau mit nur noch kleinen Impedanzsprüngen zwischen den Messzeitpunkten zu erkennen. Vergleicht man nun die Verlaufskurven der AIV beider Gruppen über 16 Wochen, so war der niedrigere initiale Impedanzwert bei den beschichteten Implantaten an Tag 0 bereits zum zweiten Messzeitpunkt (Woche 1) nicht nur neutralisiert, vielmehr wurden ab diesem Messzeitpunkt bei den beschichteten Implantaten konstant bis zum finalen Messzeitpunkt in Woche 16 höhere AIV-Werte gemessen. Diese Beobachtung konnte auch in der multifaktoriellen Varianzanalyse bestätigt werden, in der ein relevanter Effekt durch die Beschichtung nachgewiesen werden konnte. Einschränkend ist allerdings zu vermerken, dass der nachgewiesene Effekt erhöhter AIV-Werte durch die Beschichtung kontinuierlich kleiner wurde und zum Messzeitpunkt 16 schließlich nicht mehr relevant war. Eine mögliche Erklärung für den nachgewiesenen Rückgang der Effektstärke durch die Beschichtung ist, dass sich die Beschichtung mit der Zeit von der Elektrodenkontakt-Oberfläche löst und ihre Wirksamkeit verliert. Eine röntgenphotoelektronenspektroskopische Untersuchung der Oberfläche der explantierten Implantate post mortem könnte diese Vermutung verifizieren, wurde aber in dem vorliegenden Versuchsvorhaben nicht durchgeführt.

Ein derartig gegensätzliches Ergebnis bei den oben dargestellten gruppenvergleichenden Verläufen der AIV war nicht zu erwarten. Im Allgemeinen setzen sich die gemessenen Widerstände an den implantierten Elektroden aus zwei Teil-Komponenten zusammen. Die elektrischen Impedanzen der einzelnen Elemente der Elektrode bilden die statische Komponente dieses Widerstandes. Die dynamische Komponente hingegen wird durch elektrochemische und histologische Prozesse an der Grenzfläche zwischen der Kontaktoberfläche und dem umgebenden Gewebe bestimmt (De Ceulaer et al. 2003). Einige Untersuchungen konnten bereits eine positive Korrelation zwischen fibrotischen Gewebereaktionen in der Scala tympani und postoperativen AIV nachweisen (Ni et al. 1992, Shepherd et al. 1994, Xu et al. 1997). Eine direkte statistische Berechnung der Korrelationen zwischen den histologischen Parametern und den AIV über 16 Wochen wurde im vorliegenden Versuchsvorhaben aufgrund der Impedanzausfälle an einigen Implantaten nicht durchgeführt. Dennoch lässt der anfänglich deutliche Impedanzanstieg an den ersten Messzeitpunkten die Vermutung zu, dass auch in der vorliegenden Studie durchaus fibrotische Gewebereaktionen in der Cochlea entlang des Implantates für einen Impedanzanstieg verantwortlich waren, da besonders inflammatorische Prozesse sowie die daraus resultierenden Gewebereaktionen für einen Impedanzanstieg in den ersten Wochen verantwortlich gemacht werden (Suzuki und Harris 1995, Huang et al. 2007). Einschränkend

muss allerdings festgestellt werden, dass zwar zwischen den beiden Gruppen mit Ausnahme von Woche 16 ein signifikanter Unterschied bei den Ergebnissen der AIV erkennbar war, allerdings kein signifikanter Unterschied bei dem Ausmaß der Gewebereaktion zwischen beschichteten und unbeschichteten Implantaten zu beobachten war.

Auf molekularer Ebene wird vermutet, dass entzündliche Prozesse und Gewebeproliferationen die Zusammensetzung der extrazellulären Flüssigkeit oder der Perilymphe verändern und damit die elektrochemischen Verhältnisse direkt an der Elektrodenoberfläche beeinflussen (Duan et al. 2004). Duan et al. (2004) kamen daher zu dem Ergebnis, dass dies die Impedanzergebnisse an den intracochleären Elektrodenkontakten entscheidend beeinflusst. Paasche et al. (2006) konnten bei CI-Patienten einen leichten Impedanzanstieg in den ersten Wochen nach der Implantation im Gegensatz zu den intraoperativ gemessenen Impedanzen erkennen und machten Ablagerungen auf den Elektrodenkontakten dafür verantwortlich. Durch eine initiale Aktivierung des CIs kommt es wiederum zu einem Abfall der Impedanzwerte, der durch eine partielle Loslösung dieser Ablagerungen von der Oberfläche erklärbar wäre (Tykocinski et al. 2005, Paasche et al. 2006).

Vorstellbar wäre in diesem Zusammenhang also, dass es bei PTFEP-beschichteten Implantaten zu elektrochemischen, molekularen Veränderungen an der Schnittstelle zwischen der Elektrodenoberfläche und dem umgebenden Gewebe kam, die in der Histologie nicht sichtbar waren und zu erhöhten Impedanzergebnissen geführt haben. In der vorliegenden Untersuchung war bei den unbeschichteten Implantaten die Infiltration der basalen Windung mit mononukleären Entzündungszellen signifikant stärker ausgeprägt als bei den beschichteten Implantaten. Folglich veränderte möglicherweise vermehrtes Exsudat die elektrochemischen Verhältnisse und hatte Einfluss auf die Impedanzergebnisse. Die Studie von Neuburger et al. 2009 kam allerdings zu einem konträren Ergebnis. Er beobachtete bei einer Untersuchung von CI-Patienten eine enge zeitliche Korrelation zwischen Impedanzanstieg und klinischen Entzündungssymptomen. Er schlussfolgerte daraus, dass die Bildung von Exsudat zu einem Impedanzanstieg führte (Neuburger et al. 2009). Einen möglichen Erklärungsansatz für das Ergebnis von Neuburger et al. (2009) lieferte die Studie von Durising et al. (2011). Bei dieser Studie wurden bei einer elektronenmikroskopischen Untersuchung von explantierten CIs humaner CI-Patienten Oberflächenkorrosionen an den Elektrodenoberflächen festgestellt, die möglicherweise durch aggressive Entzündungsprodukte verursacht worden waren und in der Folge zu Impedanzanstiegen führten (Durisin et al. 2011). Weiterführende Untersuchungen an den Implantaten sind nötig,

um den Einfluss von Entzündungsprodukten auf die Impedanzergebnisse zu klären. Vorstellbar in diesem Zusammenhang wären beispielsweise Untersuchungen der Oberflächeneigenschaften beschichteter und unbeschichteter Implantate in Zellkulturen.

2 Hörmessungen

2.1 Gruppenübergreifende Beobachtungen: Parallelen und Unterschiede der Messergebnisse zu vergleichbaren Studien

Initial zeigten gruppenübergreifend alle Tiere eine zum Teil enorme Verschlechterung des Hörvermögens eine Woche nach der Implantation. Das Ausmaß dieser Schwellenverschiebung war frequenzabhängig. Je höher die gewählte Frequenz, umso größer war auch der Hörverlust. Die größten Schwellenverschiebungen konnten im Frequenzbereich 16-32 kHz registriert werden. Diese Beobachtung deckte sich auch mit den Erfahrungen aus vergleichbaren, prä-klinischen Versuchsvorhaben an implantierten Meerschweinchen (Ye et al. 2007, James et al. 2008, Maini et al. 2009, Eastwood et al. 2010, Braun et al. 2011, O'Leary et al. 2013). Korrespondierend mit der tonotopischen Frequenzdispersion entlang der Basilarmembran entspricht dieser hohe Frequenzbereich dem basalen Anteil der Cochlea, also dem Abschnitt, in dem auch das Implantat platziert wurde.

Es ist davon auszugehen, dass dieser initiale Hörverlust über alle Frequenzen auf das implantationsbedingte Trauma zurückzuführen ist (Chang et al. 2009, O'Leary et al. 2013). Zahlreiche Einflussfaktoren werden damit in Zusammenhang gebracht. Eine besonders starke Bedeutung wird der Bohrung für die Cochleostomie aufgrund des akustischen Traumas sowie der Störung der cochleären Homöostase durch den Verlust von Perilymphe zugeschrieben (Giordano et al. 2014). Daneben kann auch durch das Implantat selbst ein mechanisches Trauma gesetzt werden und intracochleäre Strukturen wie der Lamina spiralis ossea, des Ligamentum spirale oder der Basiliarmembran beschädigt werden (Briggs et al. 2005). Somit ist auch erklärbar, dass der größte Hörverlust auch im implantierten, basalen Abschnitt der Cochlea lag.

Das Ausmaß der Schwellenverschiebung fiel im hohen Frequenzbereich im Vergleich zu anderen Studien an implantierten Meerschweinchen noch deutlicher aus (James et al. 2008, Maini et al. 2009, Eastwood et al. 2010, Braun et al. 2011). So lag die mediane Schwellenverschiebung zum ersten Messzeitpunkt 1 Woche nach der Implantation von Gruppe PTFEP bei 50 dB (25%-Perzentil: 37,50/75%-Perzentil: 59,17) und von Gruppe NO-

PTFEP sogar bei 60 dB (25%-Perzentil: 51,67/75%-Perzentil: 60,84). Ein möglicher Grund könnte die unterschiedliche mechanische Beschaffenheit der Implantate sein. Durch die Platin-Iridium-Drähte und die freiliegenden Kontakte war die Implantatsspitze verhältnismäßig starr. Möglicherweise wurde aufgrund der geringen Flexibilität des Implantates bei der Insertion ein größeres Trauma an den cochleären Strukturen gesetzt. Zu dieser Annahme kommt auch die Studie von Giordano et al. (2014), in der am Meerschweinchenmodell zwei unterschiedliche Implantat-Typen (mit oder ohne Draht) hinsichtlich des Implantationstraumas untersucht wurden. Entgegen der Erwartungen könnten in dem vorliegenden Versuchsvorhaben die Drähte und die freiliegenden Kontakte an der Implantatsspitze also durchaus ein Einflussfaktor hinsichtlich des Ausmaßes des Hörverlustes gewesen sein. Aus der anschließenden histologischen Untersuchung konnten in der vorliegenden Arbeit jedoch keine Rückschlüsse auf diesen Zusammenhang gezogen werden. So war in Woche 16 nicht mehr ersichtlich, ob die erkennbaren Veränderungen an den intracochleären Strukturen direkt auf das Implantationsgeschehen oder auf die nachfolgende Gewebereaktion zurückzuführen waren. Weiterführende Untersuchungen der Implantate und ihrer biomechanischen Eigenschaften sind daher notwendig.

Interessanterweise war bei zwei prä-klinischen Studien an implantierten Katzen eine nahezu vollständige Erholung des Hörvermögens in Frequenzregionen, die oberhalb des Implantats gelegen waren, zu beobachten (Ni et al. 1992, Xu et al. 1997). Auch James et al. (2008) und Braun et al. (2011) konnten an implantierten Meerschweinchen innerhalb von wenigen Tagen eine vollständige Erholung des Hörvermögens in den tiefen Frequenzen ab 2 kHz (James et al. 2008) und ab 0,5 kHz (Braun et al. 2011) beobachten. Dieser Frequenzbereich entspricht dabei der zweiten Cochlea-Windung (O'Leary et al. 2013). Dies konnte in der vorliegenden Untersuchung nicht bestätigt werden, da gruppenübergreifend auch im mittleren und tiefen Frequenzbereich eine dauerhafte Hörschädigung bis zum Versuchsende zu verzeichnen war. Allerdings war die Entwicklung der Hörkurven bei den einzelnen Frequenzgruppen bis Woche 16 unterschiedlich. Die Schwellenverschiebungen der mittleren und hohen Frequenzgruppen blieben über den gesamten Versuchszeitraum relativ konstant auf hohem Niveau. Eine Erholung des Hörvermögens war zu späteren Messzeitpunkten nicht erkennbar. Eine mögliche Ursache könnte das Implantat selbst sein, das direkt in den hohen und mittleren Frequenzbereichen die cochleäre Mechanik störte. Ferner ist anzunehmen, dass durch das initiale Elektrodeninsertionstrauma bei der Implantation dauerhafte und irreparable Schäden in diesem Bereich der Cochlea verursacht wurden, die zu einer gleichbleibenden Hörbeeinträchtigung führten. Vorstellbar wären beispielsweise irreversible Verletzungen des Corti-Organs oder der Haarzellen. Das Ausmaß der Schädigungen am Corti-Organ und an den

Haarzellen wurde in dem vorliegenden Versuchsvorhaben nicht als Parameter erfasst. Denkbar wäre aber, weiterführende spezielle Untersuchungen, wie zum Beispiel immunhistologische Färbungen, an diesen Strukturen durchzuführen, um eine sensitive Detektion und Bewertung solcher traumatisch bedingter Defekte zu ermöglichen.

Korrespondierend mit den Beobachtungen aus anderen präklinischen Studien war in der vorliegenden Studie im tiefen Frequenzbereich (1-3 kHz) allerdings mit zunehmender Versuchsdauer bei beiden Gruppen eine progrediente Verschlechterung des Hörvermögens messbar (Giordano et al. 2014, Tanaka et al. 2014). Eine ähnliche Entwicklung zeigten auch die Click-evozierten Potentiale in beiden Gruppen, die nach einer leichten Regeneration bis Woche 5 ebenfalls eine progressive Verschlechterung des Hörvermögens bis Woche 16 zeigten. Ein derartig protrahierter und progredienter Hörverlust nach einer CI-Implantation im tiefen Frequenzbereich ist auch ein häufig beobachtetes Problem in der klinischen Praxis (Gantz et al. 2009, Gstöttner et al. 2009, Santa Maria et al. 2013). Gerade mit der Etablierung von Hybrid-CI-Systemen, die akustische mit elektrischer Stimulation kombinieren, liegt ein Fokus der CI-Forschung daher auf der Erhaltung von Resthörvermögen im Tieftonbereich nach der Implantation. Interessanterweise ist gerade die Frequenzregion von dem progredienten Hörverlust in der Cochlea betroffen, die nicht in direktem Zusammenhang mit der Implantation steht. Möglicherweise führt eine apikale Streuung entzündlicher Prozesse und oxidativer Stress zu einem progredienten Untergang der Haarzellen in dieser Region (Eshraghi et al. 2013). Diskutiert wird auch ein möglicher Zusammenhang mit der implantationsbedingt veränderten Dichte an Blutgefäßen in der basalen Stria vascularis (Wright und Roland 2013, Tanaka et al. 2014). In der Studie von Tanaka et al. (2014) wurde dabei angenommen, dass die Veränderungen in der cochleären Blutzirkulation zu einem reduzierten endocochleären Potential führen können. Denkbar wäre aber auch hier eine passive Störung der cochleären Mechanik durch das Implantat. Zum einen könnte das Implantat selbst durch hydrodynamische Verdrängung von Perilymphe und deren Position die Wellenbewegung entlang der Basilarmembran beeinträchtigen. Dabei wird allerdings diskutiert, ob davon nur basale Abschnitte (Kiefer et al. 2006) oder die gesamte Cochlea (Giordano et al. 2014) betroffen sind. Zum anderen wäre auch denkbar, dass reaktives Gewebe um das Implantat die Schalltransformation in apikale Bereiche der Cochlea beeinträchtigt (Clark et al. 1995, Choi und Oghalai 2005). O'Leary et al. (2013) konnten in diesem Zusammenhang eine Korrelation zwischen einem progredienten Hörverlust und dem Ausmaß der Gewebereaktion in der Cochlea nachweisen. In einer weiteren Studie konnte drei Monate nach einer Cochlea-Implantation im Meerschweinchen keine Korrelation zwischen Hörverlust und Gewebewachstum gefunden werden (Braun et al. 2011). Die Diskrepanz unter

den Studien könnte mit der starken inter-individuellen Variabilität der Gewebereaktion erklärbar sein.

2.2 Gruppenvergleichende Beobachtungen: Multikausale Zusammenhänge als Ursache für nicht-signifikantes Ergebnis bei den Messergebnissen

Das Elektrodeninsertionstrauma löst neben dem direkten Insult an den Strukturen zusätzlich einen etwas verzögerten, schädigenden oxidativen Stress im betroffenen cochleären Gewebe aus und beeinträchtigt das Resthörvermögen nach der Implantation (Eshraghi et al. 2005). Durch den Einsatz von Glukokortikoiden kann dieser initiale Hörverlust nach der Implantation reduziert werden (Eshraghi et al. 2007, Vivero et al. 2008, Chang et al. 2009, Braun et al. 2011). James et al. (2008) kamen zu dem Ergebnis, dass dieser schützende Effekt umso größer war, je schwieriger die Insertion des Implantates war. Ein derartig otoprotektiver Effekt unmittelbar nach der Implantation, vergleichbar mit den Mechanismen von Glukokortikoiden, war durch PTFEP als passive Beschichtung zur Maskierung des Implantates hingegen nicht zu erwarten. Auf engmaschige Hörmessungen in den ersten Tagen nach der Implantation wurde daher in der vorliegenden Studie verzichtet. Als erster Messzeitpunkt wurde deshalb Woche 1 nach der Implantation gewählt. Dabei lagen die Schwellenverschiebungen bei den Click-evozierten Potentialen und im mittleren und tiefen Frequenzbereich auf annähernd gleichem Niveau. Nur im hohen Frequenzbereich, also im Bereich der Implantation, war eine Woche nach der Implantation bei Meerschweinchen mit beschichteten Implantaten interessanterweise das Hörvermögen im Medianen um 10 dB besser als bei der Gruppe mit unbeschichteten Implantaten. Ob diese Beobachtung zu diesem frühen Zeitpunkt in Zusammenhang mit der Beschichtung steht, kann retrospektiv nicht hinreichend beantwortet werden. Bemerkenswert ist allerdings, dass auch durch den lokalen Einsatz von Glukokortikoiden der positive Effekt auf das Resthörvermögen primär im hohen Frequenzbereich zu verzeichnen ist. (James et al. 2008, Maini et al. 2009, Braun et al. 2011, Connolly et al. 2011). Möglicherweise war dies aber auf die geringe Konzentration des Wirkstoffes im apikalen Bereich zurückzuführen.

Der Fokus dieser ABR-Messungen lag auf einem möglicherweise vorhandenen Langzeiteffekt dieser hoch biokompatiblen CI-Beschichtung auf das Resthörvermögen über einen Zeitraum von 16 Wochen. Die Zusammenhänge und Mechanismen hinsichtlich postoperativem Resthörvermögen sind komplex und konnten noch nicht hinreichend geklärt werden (Braun et al. 2011). Man geht aber davon aus, dass inflammatorische Prozesse dabei eine bedeutende Rolle spielen (Somdas et al. 2007). In diesem Zusammenhang war auch in chronischen Versuchen eine anhaltend hörerhaltende Wirkung durch Glukokortikoide

vorrangig im hochfrequenten Bereich nachweisbar (Maini et al. 2009, Braun et al. 2011). Legt man eine chronische lokale Entzündungsreaktion mit nachfolgenden bindegewebigen Proliferationen dem progredienten Hörverlust als mögliche Ursache zugrunde, könnte sich auch eine PTFEP-Beschichtung der Implantate positiv auf das Resthörvermögen auswirken. Betrachtet man in dieser Studie nun den Gesamtzeitraum von 16 Wochen, so war bei Click-evozierten Potentialen und im mittleren sowie hohen Frequenzbereich ein Trend zu geringeren Schwellenverschiebungen bei den beschichteten Implantaten zu beobachten. Bei den Click-evozierten Potentialen wurde der Unterschied zwischen den beiden Gruppen sogar zunehmend größer. Dennoch erreichte der Unterschied bei keiner der 3 Frequenzgruppen statistische Signifikanz. Im tiefen Frequenzbereich (1-3 kHz) war hingegen kein klarer Trend zwischen beschichteten und unbeschichteten Implantaten zu erkennen und der Gruppenvergleich über den Gesamtverlauf von 16 Wochen zeigte auch hier keinen signifikanten Unterschied.

Zwar war kein signifikantes Ergebnis im Gruppenvergleich zu beobachten, dennoch lassen sich Parallelen zu Ergebnissen aus Studien mit Glukokortikoiden ziehen. Zum einen konnten auch in dieser Untersuchung die größten Unterschiede im hohen Frequenzbereich beobachtet werden. Zum anderen waren mit Ausnahme des tiefen Frequenzbereiches die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen sowohl zu frühen wie auch späteren Messzeitpunkten erkennbar. Im Gegensatz zu aktiven, pharmakologischen Substanzen wird durch eine Beschichtung mit PTFEP versucht, passiv und kausal durch eine verbesserte Biokompatibilität den chronischen Entzündungsprozessen entgegen zu wirken. Allerdings setzt dies voraus, dass die implantatsbedingte Fremdkörperreaktion eine entscheidende Rolle bei den chronischen, protrahierten Entzündungsprozessen und dem Verlust von Resthörvermögen spielt. Es könnte sich allerdings auch um ein multifaktorielles Geschehen handeln, bei dem die Eigenschaft der Implantatoberfläche eine weniger tragende Rolle spielt und man damit auch die nur geringen Abweichungen zwischen beiden Gruppen hinsichtlich des Resthörvermögens nach der Implantation erklären kann.

3 Histologische Untersuchungen

Die histologische Untersuchung der Präparate zeigte gruppenunabhängig eine hohe interindividuelle Variabilität in Form und Ausmaß der Gewebereaktion auf das Implantat. Ein einheitliches Bild bei beiden Gruppen war nicht zu erkennen. Diese Beobachtung deckt sich auch mit Ergebnissen vergleichbarer Studien an implantierten Meerschweinchen (Braun et al.

2011, Connolly et al. 2011). Im Allgemeinen waren die implantationsbedingten pathohistologischen Beobachtungen in dieser Studie außerdem kongruent mit Befunden bei Präparaten von humanen CI-Patienten (Clark et al. 1988, Linthicum et al. 1991, Kawano et al. 1998, Fayad und Linthicum 2006, Nadol und Eddington 2006). Somit konnte auch mit dieser Studie dargelegt werden, dass das Meerschweinchen durchaus ein geeignetes und übertragbares Tiermodell für derartige histologische Fragestellungen in der CI-Forschung ist.

Das apikale Ende des Implantates wurde 3 mm tief in die basale Windung der Cochlea inseriert. Auch die sichtbaren Gewebereaktionen waren lediglich auf die basalen Abschnitte der Cochlea beschränkt. Betrachtet man die Ergebnisse der ABR-Messungen, so waren in dem entsprechenden Frequenzbereich auch die größten Hörverluste zu verzeichnen. In weiter apikal gelegenen Windungsbereichen waren in den konventionellen HE-Schnitten keine Gewebereaktionen oder Defekte zu erkennen. Dennoch konnten auch in den korrespondierenden Frequenzbereichen Hörbeeinträchtigungen gemessen werden. Verantwortlich könnten dafür molekulare Schäden an den cochleären Strukturen sein, die lichtmikroskopisch mit HE-Färbungen nicht erkennbar waren. Der Verdacht auf Mikroläsionen in den oberen Windungsabschnitten der Cochlea konnte durch Ergebnisse aus der immunhistologischen Analyse der Spiralganglienzellen mit GAP43-Antikörpern erhärtet werden. So waren auch im mittleren wie auch apikalen Windungsabschnitt kleine Anteile der SGN degeneriert. Auffällig in diesem Zusammenhang war außerdem, dass der Anteil der degenerierten SGN von basal nach apikal zunehmend geringer wurde. O'Leary et al. (2013) waren in diesem Zusammenhang der Ansicht, dass neben einer passiven Modulation der cochleären Mechanik durch weiter basal gelegenes, proliferierendes fibrotisches Gewebe auch strukturelle Veränderungen in den Haarzellen und an den Synapsen afferenter Nervenbahnen für einen Hörverlust im den Frequenzbereich 8 kHz verantwortlich sein könnten.

Ein Zusammenhang zwischen dem progressiven Verlust von Resthörvermögen nach der Implantation und dem Ausmaß der Gewebereaktion wurde in einigen Studien am Meerschweinchenmodell bereits vermutet (Braun et al. 2011, Connolly et al. 2011) und konnte durch die Untersuchung von O'Leary et al. (2013) nachgewiesen werden. In der vorliegenden Studie hingegen war bei keinem der histologisch untersuchten Parameter ein Zusammenhang mit dem Hörvermögen in den einzelnen Frequenzgruppen nachweisbar.

Implantationsbedingte Gewebereaktionen waren grundsätzlich sowohl in der Gruppe mit beschichteten wie auch in der Gruppe mit unbeschichteten Implantaten zu erkennen. Betrachtet man die einzelnen histologischen Parameter, so waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen bei den peripheren Proliferationen mit lockerem

Bindegewebe und dem Gewebeschlauch aus kollagenen Fasern um das Implantat zu erkennen. Mit Ausnahme von 2 Cochleae mit beschichteten Implantaten waren auch in allen anderen Präparaten Fremdkörperriesenzellen auffindbar. Es ist daher davon auszugehen, dass eine PTFEP-Beschichtung keinen direkten Einfluss auf die bindegewebigen Proliferationen um das Implantat hatte und eine Fremdkörperreaktion auf das Implantat in der Cochlea nicht unterdrücken konnte. Einschränkend muss allerdings vermerkt werden, dass die Ursachen und zellulären Mechanismen für die Gewebereaktionen auf das Implantat noch nicht hinreichend geklärt werden konnten (Li et al. 2007). O'Leary et al. (2013) stellten in diesem Zusammenhang zwei potentielle Mechanismen gegenüber. Zum einen könnten die Gewebereaktionen die Folge von postoperativen entzündlichen Vorgängen mit der Rekrutierung von Makrophagen und Fibroblasten sein (entzündliche Theorie). Die Oberflächeneigenschaften des Implantats als Fremdkörper könnten also dabei durchaus entscheidend sein. Zum anderen könnte aber auch der implantationsbedingte Insult an den cochleären Strukturen zu Gewebeproliferationen im Rahmen von Wundheilungsprozessen führen (mechanische Theorie). Unterstützt wird diese These von einer Untersuchung von Somdas et al. (2007), in der postuliert wird, dass neben dem Elektrodenträger-Design auch die Größe und Platzierung der Cochleostomie die Gewebereaktion beeinflusst. Ergänzend kommen Nadol et al. (2001) zu dem Ergebnis, dass ein Trauma an der lateralen cochleären Wand und Verletzungen des Endosteums in Zusammenhang mit den fibrotischen Proliferationen stehen. Außerdem scheinen schonende Implantationstechniken („soft surgery techniques“) ebenfalls fibrotische Gewebereaktionen zu reduzieren (Jia et al. 2011). Einschränkend muss allerdings vermerkt werden, dass vermutlich beide Mechanismen eine Rolle bei der implantatsbedingten Gewebereaktion spielen und auch nicht klar voneinander abzugrenzen sind. Geht man also von solchen komplexen Zusammenhängen zwischen intracochleären Entzündungsprozessen und den Gewebereaktionen aus, dann wäre auch erklärbar, dass eine hoch biokompatible Beschichtung alleine möglicherweise zu keiner deutlichen Gewebereduktion führt.

Bei der Beurteilung der Osteoneogenese konnten bei einigen Präparaten solitäre, intracochleäre Knochenfragmente beobachtet werden. Im Gegensatz zu einer zirkulären Knochenhülle, die sich bei manchen Implantaten ausgehend von der Cochleostomie gebildet hatte, standen diese Knochenstücke in keinem sichtbaren direkten Kontakt zur Cochleostomie. Es ist daher wahrscheinlich, dass derartige Knochenfragmente auf die Cochleostomie-Bohrung zurückzuführen waren und dies kein de novo entstandenes Knochengewebe nach der Implantation war. Eine genaue Differenzierung zwischen bohrungsbedingten Knochenfragmenten und neugebildetem Knochengewebe war allerdings

bei den HE-gefärbten Schnitten nicht möglich. Ungeachtet dessen war auch bei den knöchernen Proliferationen kein Effekt durch eine PTFEP-Beschichtung nachweisbar.

In der vorliegenden Arbeit konnte jedoch bei den beschichteten Implantaten eine signifikant reduzierte Infiltration der basalen Windung mit mononukleären Entzündungszellen beobachtet werden. Sie dienten als Marker für eine unspezifische chronische Entzündung in der Cochlea. Diese Beobachtung deckt sich auch mit Ergebnissen einer in-vitro Studie von Welle et al. (1998), bei der die Oberflächeneigenschaften von PTFEP untersucht wurden. Die Autoren dieser Untersuchung vermuteten eine hohe Albuminresorption und eine geringe Fibrinogen- und Fibronectinresorption als Ursache für die herabgesetzte Zelladhäsion an PTFEP-beschichteten Oberflächen (Welle et al. 1998). Möglich wäre also, dass durch die Beschichtung der Implantate der Stimulus für eine lymphoplasmazelluläre Infiltration entlang der Implantatoberfläche herabgesetzt wird. Eine direkte Folge für das Ausmaß der bindegewebigen Proliferationen war in der vorliegenden Studie allerdings nicht zu erkennen.

Zur Evaluierung der funktionellen Beschaffenheit der Spiralganglienzellen (SGN) wurde in dieser Studie eine immunhistologische Färbung der SGN mit GAP43-Antikörpern durchgeführt. Araki et al. (2002) stellten am Katzenmodell eine positive Korrelation zwischen dem Überleben der Spiralganglienzellen und dem Ausmaß der Fibrose in *S. tympani* implantierter Cochleae sowie einen negativen Zusammenhang zwischen dem SGN-Überleben und dem Grad der Degeneration des Corti-Organs her. In der vorliegenden Studie konnte in der Tat ein Unterschied zwischen beschichteten und unbeschichteten Implantaten hinsichtlich der SGN-Degeneration festgestellt werden, nicht aber hinsichtlich des Ausmaßes der Fibrose.

Im Allgemeinen führt ein Verlust von inneren Haarzellen sekundär zu einem fortschreitenden Schwund von SGN. Auf molekularer Ebene geht man davon aus, dass dabei die herabgesetzte metabolische Aktivierung der SGN durch beschädigte Haarzellen auch eine reduzierte Sekretion neurotropher Faktoren bei den SGN selbst und damit deren Untergang zur Folge hat (Agterberg et al. 2010). Agterberg et al. (2010) vermuteten daher in der fehlenden Neurotrophin-Sekretion bei der Interaktion zwischen Haarzellen und SGN einen entscheidenden Faktor bei der Degeneration des Hörnervs. In Zusammenhang mit CIs sind intakte Spiralganglienzellen entscheidend für das Funktionieren der CIs (Gstoettner et al. 2004, Farhadi et al. 2013). Bisherige Untersuchungsstandards bei vergleichbaren Studien zu CIs waren konventionelle Färbungen. So wurde in manchen Studien mit Hilfe gefärbter HE-Schnitte die Anzahl der sichtbaren Nukleoli in den Spiralganglienzellen zur Beurteilung der Funktionalität der SGN ermittelt (Araki et al. 2000, Maini et al. 2009, Connolly et al. 2011). Agterberg et al. 2010 unterstellten die Faltenfreiheit der Zelloberfläche und Freiheit von

Artefakt-bedingten intrazellulären Kristallen aus der Färbelösung mit der Methylenblau-Azur-Färbung als relevantes Kriterium. In einer anderen Studie wurde ein Elektronenmikroskop zur Beurteilung der SGN eingesetzt (Dodson et al. 1994). Im Gegensatz zu diesen genannten Studien könnte die GAP43-Methode möglicherweise eine erhöhte Gewähr zur feineren Unterscheidung von degenerierten und nicht degenerierten SGN bieten. Lediglich in einer Studie wurden bislang GAP43-Antikörper an histologischen Präparaten der Meerschweinchen-Cochlea zur Untersuchung der SGN bei Aminoglykosid-induziertem Haarzellverlust eingesetzt (Dodson und Mohuiddin 2000). Dodson und Mohuiddin 2000 vermuteten, dass die Hochregulierung der GAP43-Expression Hinweise auf eine erhöhte metabolische Aktivierung dieser Zellen und auf Regeneration, neuronale Plastizität sowie eine Reaktion nach traumatischem Insult gibt.

Hinsichtlich CIs wurde in mehreren Studien ein Zusammenhang zwischen der Degeneration von SGN und einem traumatischen Insult hergestellt. Jia et al. 2013 bestätigten einen Rückgang der SGN bei Beschädigung des Modiolus. Auch eine weitere Studie am Tiermodell konnte nachweisen, dass eine traumatische Elektrodeninsertion unter Verletzung des Modiolus und Zerstörung der Basilarmembran mit einem weitgehenden Verlust neuronaler Strukturen einhergeht (Schindler 1976). Richter et al. (2005) bestätigten auch unter Verweis auf andere Untersuchungen von Schindler (Schindler und Merzenich 1974, Schindler und Bjorkroth 1979) die ursächliche Wirkung des Implantationstraumas für einen Verlust von SGN (Richter et al. 2005).

Es ist deshalb davon auszugehen, dass auch in der vorliegenden Untersuchung positive GAP43-Reaktionen und Implantationstraumata in direktem Zusammenhang mit einem Haarzellverlust und neuronaler Degeneration standen. Aber auch chronisch inflammatorische Prozesse im Innenohr können zu SGN-Degenerationen führen (Shepherd et al. 1984). Es gilt deshalb, den ursächlichen Einfluss dieser beiden Faktoren auf die Degeneration der SGN abzuwägen. Die Beobachtung, dass bei Cochleae mit beschichteten Implantaten in der basalen Windung weniger Spiralganglienzellen GAP43-positiv als bei Cochleae mit unbeschichteten Implantaten auftraten, lässt mit allem gebotenen Vorbehalt durchaus die Möglichkeit zu, dass eine PTFEP-Beschichtung einen protektiven Effekt auf die SGN bei implantierten Cochleae hat. Unterstützt wird diese Annahme durch das Auftreten einer geringeren intracochleären lymphoplasmatischen Infiltration in der Peripherie beschichteter Implantate. Der Vorbehalt wiederum gründet sich in erster Linie auf einen nicht auszuschließenden multikausalen Zusammenhang mit einer vermutlich starken Betonung des traumatischen Insultes.

4 Studiendesign

Das anorganische Polymer PTFEP hat sich bereits erfolgreich in der klinischen Praxis als Oberflächenbeschichtung für Stents in der Herz-Kreislauf-Chirurgie etabliert. Die hohe Biokompatibilität und die anti-inflammatorischen Eigenschaften dieses Stoffes könnten aber das Indikationsspektrum als Oberflächenbeschichtung im Bereich medizinischer Implantate noch erweitern. Im vorliegenden Versuchsvorhaben wurde PTFEP erstmals und in-vivo als potentielle Beschichtung von CIs untersucht. Als Versuchstier für diesen in-vivo Versuch wurde das Meerschweinchen gewählt, da es sich auf dem Gebiet der Hörforschung aufgrund der anatomischen und physiologischen Eigenschaften seines Innenohres in präklinischen Studien zu CIs hinsichtlich Entzündungs- und Gewebereaktionen bereits als geeignet erwiesen hat.

Für das vorliegende Versuchsvorhaben wurden normalhörende Meerschweinchen verwendet. Damit war es möglich, den Nettoeffekt einer Implantation auf das Hörvermögen zu untersuchen, ohne dabei eine Vorschädigung berücksichtigen zu müssen. Um eine potentiell bereits vorhandene, angeborene oder erworbene Hörbeeinträchtigung der Meerschweinchen ausschließen zu können, wurden in dieser Studie 7 Tage vor der Implantation die frequenzspezifischen Ausgangshörschwellen mittels ABR-Messungen bestimmt. In Voruntersuchungen wurde dafür ein Grenzwert unter 50 dB (0 dB = 1 V_{SS}, Dämpfung in 5 dB-Schritten) für alle Frequenzen als Ausschlusskriterium festgelegt. Um die Ausgangssituationen humaner CI-Patienten, die in der Regel eine Vorschädigung des Innenohres mit mehr oder weniger stark ausgeprägtem Hörverlust unterschiedlicher Genese aufweisen, besser simulieren zu können, wird in Tiermodell-Studien eine Zerstörung der Haarsinneszellen aus Praktikabilitätsgründen in der Regel durch eine Applikation von ototoxischen Substanzen induziert (Tanaka et al. 2014). Tanaka et al. (2014) waren allerdings der Meinung, dass auch in diesen Fällen die Ergebnisse nur eingeschränkt auf den Menschen übertragbar seien, da neben ototoxischen Substanzen auch zahlreiche anderen Ursachen für einen Hörverlust existieren und die Vergleichbarkeit dadurch nicht in jedem Fall gegeben sei.

Die Implantate bestanden aus einem Elektrodenträger aus Silikon mit den darin verlaufenden Elektrodendrähten und zwei freiliegenden Platin-Iridium-Kontakten an der freien Spitze des Implantates. In der vorangegangenen röntgenphotoelektronenspektroskopischen Untersuchung der mit PTFEP beschichteten Implantate konnte nachgewiesen werden, dass die Beschichtung auf allen Oberflächenanteilen des apikalen Anteils des Implantates inklusive der Elektrodenkontakte vorhanden war. Dies bot den Vorteil, dass die potentiellen Effekte durch die Beschichtung auch an den Grenzflächen zu den Elektrodenkontakten untersucht

werden konnten.

In der Literatur finden sich verschiedene Ansätze hinsichtlich Reduktion der implantationsbedingten Entzündungs- und Gewebereaktionen. Aufgrund ihrer anti-inflammatorischen Eigenschaften haben sich beispielsweise Glukokortikoide in diesem Zusammenhang bereits als effektiv erwiesen (Huang et al. 2007, James et al. 2008, Jolly et al. 2010, Braun et al. 2011, Farhadi et al. 2013). Ein direkter Vergleich von PTFEP und Glukokortikoiden ist in diesem Zusammenhang allerdings nur bedingt möglich, da sich die Ansatzpunkte und Wirkmechanismen grundlegend voneinander unterscheiden. Glukokortikoide wirken symptomatisch den inflammatorischen Prozessen im Ohr entgegen (Cope und Bova 2008). Die Ursachen für die Entzündung spielen dabei eine untergeordnete Rolle. Dagegen sind bei dieser aktiven pharmakologischen Intervention die Art der Applikation, Dosierungen, der Zeitpunkt der Gabe, Diffusion des Wirkstoffes zum Zielgewebe und intracochleäre Konzentrationsgradienten entscheidende Einflussfaktoren (Barriat et al. 2010). Der positive Effekt solcher aktiven Substanzen ist allerdings zeitlich limitiert, da es bei einer pharmakologischen Intervention beispielsweise durch eine einmalige Applikation ins Mittelohr bereits kurze Zeit nach der Applikation zu einem Abfall des Wirkspiegels kommt (Jia et al. 2013). Passive Oberflächenbeschichtungen könnten hingegen einen dauerhaften Nutzen mit sich bringen, da sie nach der Implantation im Idealfall weder abgebaut werden noch Stoffwechselforgängen unterliegen. Für das Versuchsvorhaben wurde daher ein subchronischer bis chronischer Zeitraum von insgesamt 16 Wochen angesetzt. Hiermit war das Detektieren eines potentiell chronisch nachweisbaren Effektes durch die Beschichtung gegeben.

Betrachtet man gruppenübergreifend die Verlaufskurven von Tieren, bei denen die Impedanzen durchgehend zu allen Zeitpunkten messbar waren, so waren an den ersten Messzeitpunkten (Tag 0, Woche 1, Woche 2 und Woche 5) in aller Regel die deutlichsten Anstiege bei den absoluten Impedanzverschiebungen (AIV) zu erkennen. Zu späteren Messzeitpunkten (Woche 9, 12 und Woche 16) fielen die Schwankungen der AIV in der Regel hingegen merklich geringer aus, obwohl die Messintervalle sogar größer wurden. Somit schienen gerade die ersten Wochen nach der Implantation bedeutend für die Impedanzentwicklung zu sein. Eine Verkürzung der Messintervalle mit zusätzlichen Messzeitpunkten könnte daher eine engmaschigere Beobachtung der Verläufe der AIV in diesem frühen Zeitraum ermöglichen. Gegen eine Erhöhung der Messfrequenz sprechen jedoch ethische Bedenken. Die Impedanz- und auch die ABR-Messungen wurden analog zum Menschen durchgeführt. Somit kann davon ausgegangen werden, dass die Messungen selbst

zwar keine Belastungen für das Einzeltier bedeuteten und auch im Anschluss jeder einzelnen Messung keine Schmerzen zu erwarten waren. Allerdings mussten die Meerschweinchen im Gegensatz zu humanen Patienten in Narkose gelegt werden. Aus diesem Grund würde mit einer Erhöhung der Messfrequenz auch die Gesamtbelastung der Tiere durch die höhere Anzahl an erforderlichen Narkosen steigen.

Eine Funktionsüberprüfung der Implantate durch in-vitro Impedanzmessungen wurde bereits vom Hersteller (MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH, Innsbruck) vor der Sterilisation und dem Aufbringen der Beschichtung durchgeführt. In die Studie wurden nur Implantate mit einer Impedanz unter 4 k Ω einbezogen. Daher wurde unmittelbar vor der Implantation auf eine erneute Impedanzmessung der Implantate verzichtet. Die Gefahr einer Beschädigung der PTFEP-beschichteten Spitze des Implantates oder eines Drahtbruchs der Elektroden bei einer zusätzlichen in-vitro-Messung vor der Implantation wurde dadurch vermieden. Denkbar wäre allerdings, eine schonende Methode einer weiteren in-vitro Impedanzmessung an dem Implantat unmittelbar vor der Implantation in steriler Kochsalzlösung oder steriler, künstlicher Perilymphe zu etablieren. Mithilfe dieser in-vitro gemessenen Startwerte der Implantate könnte neben der erneuten Prüfung auf Unversehrtheit auch eine Aussage über die Impedanzänderungen unmittelbar nach Implantation getroffen werden. Ferner wäre eine in-vitro Bestimmung des Effektes einer PTFEP-Beschichtung auf die Impedanzwerte möglich. In dieser Studie dienten die Impedanzergebnisse aus den Messungen an Tag 0 im direkten Anschluss an die Implantation als Ausgangswerte für die Impedanzen. Die Messergebnisse zeigten an Tag 0 bei keinem Implantat extreme Impedanzwerte, die auf eine präoperative Beschädigung des Implantates hindeuteten. Außerdem war auch bei den bereits implantierten CIs erkennbar, dass beschichtete Implantate gegenüber unbeschichteten Kontrollimplantaten kleinere Impedanzwerte aufwiesen.

Kontroverse Diskussionen werden derzeit über den schonendsten Zugang geführt, über den der Elektrodenträger in die Scala tympani der Cochlea eingebracht wird. Die Mehrheit der Operateure bevorzugt derzeit die klassische Eröffnung der Cochlea über eine Cochleostomie. Allerdings ist bei einer Cochleostomie nicht auszuschließen, dass durch den Bohrvorgang ein Lärmtrauma gesetzt wird und dies Auswirkungen auf die Ergebnisse der Hörmessungen haben könnte (Pau et al. 2007, Braun et al. 2011). In einer aktuellen Studie am Meerschweinchen konnte jedoch gezeigt werden, dass sich das durch den Bohrvorgang initial reduzierte Hörvermögen innerhalb von 2 Wochen wieder nahezu regenerierte (Giordano et al. 2014). Als weitere Komplikation könnten die bei der Bohrung entstandenen Knochenspäne die Cochlea verunreinigen (Radeloff et al. 2007). Alternativ kann die Elektrodeninsertion

auch über das runde Fenster erfolgen. Dieser Eingriff erfordert keine Bohrung an der Cochlea und ist daher atraumatischer (Adunka et al. 2004). Allerdings ist das runde Fenster beim humanen Patienten in vielen Fällen aufgrund der hohen morphologischen Variabilität der davorliegenden „Runden-Fenster-Nische“ für eine direkte Elektrodeninsertion in die Cochlea nur schwer zugänglich. Außerdem war in den bisherigen Studien kein klarer Vorteil der Rund-Fenster-Insertion gegenüber der klassischen Cochleostomie zu erkennen (Havenith et al. 2013). Für das vorliegende Versuchsvorhaben wurde die Cochleostomie als Zugang in die Cochlea gewählt. Vergleichbar mit den Erkenntnissen aus der Studie von Braun et al. (2011) war eine Insertion des Implantates über das runde Fenster beim Meerschweinchen aufgrund des ungünstigen Insertionswinkels schwierig, zumal der Elektrodenträger aufgrund der darin verlaufenden Drähte verhältnismäßig starr war. Intracochleäre Strukturen wie der Modiolus hätten bei einem Insertionsversuch über das runde Fenster beschädigt werden können (Braun et al. 2011).

Der Stichprobenumfang von 12 Tieren pro Gruppe war gemäß der statistischen Planung adäquat, jedoch zeigten die Tiere besonders bei den Impedanz- und Hörmessungen eine erhebliche Variabilität in den Ergebnissen. In den histologischen Untersuchungen zeichneten sich ebenfalls tendenzielle Veränderungen ab, die allerdings keine statistische Signifikanz erreichten. Daher würde eine Erhöhung der Gesamtanzahl womöglich noch mehr signifikante Unterschiede erbringen. Diese Annahme entspricht auch der Darstellung in der Untersuchung von Braun et al. (2011), in der der Einfluss von Glukokortikoiden auf das postoperative Hörvermögen am implantierten Meerschweinchen untersucht wurde.

Der Fokus der vorliegenden Studie lag auf der Evaluierung der Oberflächeneigenschaften von PTFEP als Implantatbeschichtung gegenüber konventionellen, nicht beschichteten Implantaten. Bei diesem Versuchsvorhaben wurde nur jeweils das linke Ohr implantiert, gemessen und histologisch untersucht. Das rechte Ohr war keiner Manipulation ausgesetzt. Für die Auswertung erfolgte ein inter-individueller Vergleich von 12 Tieren mit beschichteten Implantaten sowie 12 Tieren mit konventionellen, unbeschichteten Implantaten als Kontrollgruppe. Denkbar wären aber auch folgende zwei alternative Vorgehensweisen gewesen: Zum einem könnte an dem kontralateralen, rechten Ohr ebenfalls eine Cochleostomie ohne Implantation durchgeführt werden („sham surgery“), um zusätzlich den Einfluss des Lärmtraumas durch die Bohrung und der Eröffnung der Cochlea auf das postoperative Hörvermögen zu evaluieren. Allerdings müsste bei solch einer vergleichenden Untersuchung zwischen dem rechten und linken Ohr bei den ABR-Messungen auch stets der Einfluss des Hörens mit dem kontralateralen Ohr (Übersprechen) mit berücksichtigt werden.

Ferner würde dieser zusätzliche Eingriff auch eine erhöhte Belastung für das Einzeltier mit sich bringen.

Zum anderen wäre eine bilaterale Cochlea-Implantation mit jeweils einem unbeschichteten sowie einem beschichteten Implantat denkbar. Gerade die Ergebnisse der histologischen Untersuchung zeigten eine hohe inter-individuelle Variabilität in Form und Ausmaß der Gewebereaktion. Vor diesem Hintergrund wäre es dann nicht mehr erforderlich, eine möglicherweise vorhandene individuelle Komponente bei der Gewebereaktion zu berücksichtigen. Für diese Überlegung ist allerdings auch der ethische Aspekt zu beachten. Einerseits würde dadurch eine Reduktion der Tierzahl erreicht werden. Andererseits würden die hierfür erforderliche längere Operationsdauer inklusive zweiter Implantation am selben Tier und die umfangreicheren Messungen unter Narkose auch eine größere Belastung des Einzeltieres bedeuten. So ist abzuwägen, ob eine mögliche Tierzahlreduktion gegenüber einer erhöhten Belastung für jedes Einzeltier zu rechtfertigen ist.

5 Ausblick

Ein entscheidendes Ziel der CI-Forschung ist es, chronische Entzündungsprozesse und fibrotische Gewebeproliferationen nach der Implantation zu minimieren. In dieser Studie sollte in diesem Zusammenhang erstmalig und am Tiermodell evaluiert werden, welche Auswirkung eine Beschichtung der Implantate mit dem hoch biokompatiblen anorganischen Polymer auf die Impedanzen der Elektrodenkontakte, das postoperative Resthörvermögen und die histologischen Ergebnisse hat. Die Untersuchung zeigte dabei durchaus vielversprechende Resultate. Die chronisch-lymphoplasmazelluläre Infiltration der basalen Windung war bei beschichteten Implantaten nach 16 Wochen signifikant reduziert und Cochleae mit beschichteten Implantaten zeigten eine signifikant geringere Anzahl an degenerierten SGN in den Rosenthal Kanälen der basalen Windung.

Dennoch wird es notwendig sein, weitere Untersuchungen durchzuführen, da andere Parameter in der histologischen Untersuchung sowie die Hörmessungen keinen signifikanten Unterschied zwischen beschichteten und unbeschichteten Implantaten ergaben. Auch führten die Impedanzmessungen zu unerwarteten Ergebnissen und bedürfen einer Evaluation in weiterführenden Untersuchungen. Aufbauend auf den Erkenntnissen aus dieser Studie wären Modifikationen am Studiendesign denkbar, wie beispielweise eine Verkürzung der Messintervalle in den ersten Wochen nach der Implantation oder histologische Untersuchungen zu verschiedenen Zeitpunkten, um die Zusammenhänge zwischen den Hör-

und Impedanzveränderungen und den histologisch erkennbaren geweblichen Veränderungen sowie unterschiedliche Stadien der Gewebereaktion auf das Implantat in der Cochlea besser evaluieren zu können. Daneben wären auch in-vitro Studien an den Implantaten vorstellbar, um beispielsweise den Einfluss der Beschichtung auf die elektrischen Eigenschaften an der Kontaktfläche der Elektroden oder auf die mechanische Beschaffenheit des Elektrodenträgers untersuchen zu können. Denkbar wären zudem in-vivo Verlaufsstudien mit PTFEP-beschichteten Implantaten in Kombination mit anti-inflammatorischen, pharmakologisch aktiven Substanzen, wie beispielsweise Glukokortikoiden, um potentielle synergistische Effekte dieser beiden Komponenten untersuchen zu können.

VI ZUSAMMENFASSUNG

Johannes Carl Fischer

Elektrophysiologische Studien, Impedanzmessungen und Histologie bei PTFEP-beschichteten Cochlea-Implantaten am Meerschweinchen-Modell

Eingereicht im März 2015

117 Seiten, 31 Abbildungen, 12 Tabellen, 179 Literaturangaben, Anhang (7 Tabellen)

Schlüsselwörter: Cochlea-Implantat, PTFEP, Fremdkörperreaktion, Tiermodell

Die Cochlea-Implantat (CI)-Forschung ist ständig bestrebt, CI-Elektroden weiterzuentwickeln sowie neue Implantattypen zu etablieren, um einen immer besseren Höreindruck bei den CI-Patienten zu erzeugen. Ein entscheidendes Ziel in diesem Zusammenhang ist es, chronische Entzündungsprozesse und fibrotische Gewebeproliferationen, die als Reaktion auf den implantierten Fremdkörper in der Cochlea auftreten können, zu minimieren. So können bindegewebige Einkapselungen des Implantates zu einer Erhöhung der Impedanzen an den Elektrodenkontakten und damit zu einer geringeren Spannbreite in der Dynamik, also dem Lautstärkebereich, führen. Weiterhin können die cochleäre Mechanik wie auch die Signaltransduktion zum Hörnerv durch fibrotische Gewebereaktionen beeinträchtigt werden. Darüber hinaus können chronisch inflammatorische Prozesse eine fortschreitende Zerstörung sensorineuraler Strukturen in der Cochlea verursachen. Es gibt verschiedene Ansätze, diesen implantationsbedingten chronischen Entzündungsprozessen und fibrotischen Proliferationen entgegenzuwirken. Eine erfolgversprechende Methode zielt darauf ab, die chemische Zusammensetzung der Materialien auf der Oberfläche des Implantates zu modifizieren.

Poly[bis(trifluoroethoxy)phosphazen] (PTFEP) ist ein hoch biokompatibles, anorganisches Polymer, das bereits erfolgreich als passivierende Oberflächenbeschichtung von kardiovaskulären Stents eingesetzt wird. In dieser in-vivo Studie am Meerschweinchen-Modell wurde PTFEP erstmals als Oberflächenbeschichtung von CIs untersucht. Impedanzuntersuchungen und ABR-Hörmessungen implantierter Meerschweinchen (mit oder ohne Beschichtung) wurden zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Implantation (Woche 1, 2, 5, 9, 12 und 16) durchgeführt. Ferner wurde 16 Wochen nach der Implantation eine abschließende histologische Untersuchung der Cochleae einschließlich einer immunhistologischen Analyse von degenerierten Spiralganglienzellen (SGN) vorgenommen.

Obwohl die Hörmessungen zwar in keinem Frequenzbereich einen signifikanten Unterschied

zwischen beiden Gruppen ergaben, zeigten Meerschweinchen mit beschichteten Implantaten dennoch ein zumindest tendenziell besseres Hörvermögen in den hohen Frequenzbereichen (4-32 kHz). Die histologische Untersuchung zeigte bei Cochleae mit beschichteten Implantaten zudem eine signifikant geringere lymphoplasmatische Infiltration der basalen Windung ($p = 0,012$). Ein überraschendes und zugleich positives Ergebnis war außerdem, dass der SGN-Verlust in der basalen Windung bei beschichteten Implantaten gegenüber unbeschichteten Implantaten nach 16 Wochen signifikant geringer war ($p = 0,003$). Trotz dieser vielversprechenden Resultate sind dennoch weiterführende Untersuchungen nötig, da bei beiden Implantat-Typen kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Anzahl an Fremdkörperriesenzellen ($p = 0,800$) zu erkennen war. Weiterhin konnten keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der bindegewebigen Proliferationen ($p = 0,382$) und der Knochenneubildung ($p = 0,239$) beobachtet werden. Es ist daher davon auszugehen, dass eine PTFEP-Beschichtung keinen direkten Einfluss auf die bindegewebigen Proliferationen um das Implantat hatte und eine Fremdkörperreaktion auf das Implantat in der Cochlea nicht unterdrücken konnte. Ein unerwartetes Ergebnis ergaben auch die Impedanzmessungen. Die Ausgangsmessungen an Tag 0 unmittelbar nach der Implantation zeigten bei beschichteten Implantaten signifikant geringere Impedanzwerte im Vergleich zu unbeschichteten Implantaten (basaler Elektrodenkontakt: $p = 0,019$, apikaler Elektrodenkontakt: $p = 0,024$). Ab dem nächsten Messzeitpunkt Woche 1 bis zum Messzeitpunkt Woche 12 jedoch waren die Impedanzen bei den PTFEP-beschichteten Implantaten signifikant größer statt, wie zu erwarten war, kleiner. Die Ursachen für dieses überraschende Ergebnis konnten in dieser Untersuchung allerdings nicht hinreichend geklärt werden und müssen in Folgestudien weiter evaluiert werden.

Die Studie konnte zeigen, dass die hoch biokompatible Beschichtung möglicherweise einer mononukleären Infiltration in der basalen Windung und einer Degeneration von Spiralganglienzellen nach der Implantation entgegenwirkt. Diese passive Beschichtung scheint daher ein vielversprechender Ansatz zur Verbesserung künftiger Implantate zu sein, möglicherweise in Kombination mit anti-inflammatorischen, pharmakologisch aktiven Substanzen, wie beispielsweise Glukokortikoiden. Dennoch wird es notwendig sein, weitere Untersuchung durchzuführen, da andere Parameter in der histologischen Untersuchung sowie die Hörmessungen keinen signifikanten Unterschied zwischen beschichteten und unbeschichteten Implantaten ergaben. Auch führten die Impedanzmessungen zu unerwarteten Ergebnissen und bedürfen einer Evaluation in weiteren Untersuchungen.

VII SUMMARY

Johannes Carl Fischer

Histology, impedance measurements and electrophysiological studies of PTFEP-coated cochlear implants in a guinea pig model

Submitted in March 2015

117 pages, 31 figures, 12 tables, 179 references, appendix (7 tables)

Key words: Cochlear Implant, PTFEP, foreign body reaction, animal model

The cochlear implant research continuously strives for improving the electrodes and inventing new electrode types to enable the best possible performance of cochlear implant (CI) recipients. One crucial goal is to minimize intracochlear chronic inflammation and fibrosis due to foreign body reaction after implantation as these may provoke a progressive increase in electrode impedance and a decrease of the dynamic fitting range of loudness levels. Furthermore the functional cochlear mechanics as well as the sound transmission to the auditory nerve may be dampened by fibrosis. Moreover chronic inflammatory processes may lead to a continuing destruction of sensorineural structures. There are several approaches to reduce implantation-induced inflammatory processes and fibrosis in the cochlea. A forward-looking method to reduce the inflammatory processes and encapsulation reaction after implantation is the modification of the material chemistry of the implant's surface. The inorganic polymer Poly[bis(trifluoroethoxy)phosphazene] (PTFEP) is a highly biocompatible polymer, which has already been used successfully as a passivating coating for cardiovascular stents.

In this in-vivo study on guinea pigs, PTFEP was tested as a potential coating for CIs for the first time. Impedance analyses and ABR-hearing measurements of implanted guinea pigs (with or without coating) were made on different time points after the implantation (week 1, 2, 5, 9, 12 and 16). Besides, a final histological examination of the cochleae including an immunohistological analysis of degenerated spiral ganglion neurons (SGN) was made to evaluate the effect of this alternative coating.

Although there was no significant difference between both groups in the hearing measurements, guinea pigs with coated implants showed a tendency of better hearing in the higher frequencies (4 – 32 kHz). In the histological analysis, cochleae with coated implants showed a significant reduction of chronic lymphoplasmatic infiltration in the basal turn ($p = 0.012$). The most unexpected yet positive outcome though was that SGN loss was

significantly reduced in the basal turn even 4 months after implantation ($p = 0.003$). Despite these promising results there is still room for further investigations seeing that the PTFEP-coated implants did not reduce the number of Foreign Body Giant Cells (FBGC) ($p = 0.800$), which suggests that the coated implant was still visible to the immune system. Furthermore, no significant differences could be observed concerning fibrosis ($p = 0.382$) and new bone formation ($p = 0.239$). Another surprising outcome of this study was provided by the impedance measurements. In the basic measurement on day 0 directly after implantation, coated implants showed significantly lower impedance values compared to non-coated implants (basal electrode: $p = 0,019$, apical electrode: $p = 0,024$). From the next point of measurement (week 1) up to week 12, however, the impedances of coated implants were significantly higher than control implants without coating. This unexpected result could not be clarified sufficiently in this study and needs to be evaluated in further investigations.

The study could demonstrate that the highly biocompatible polymer PTFEP shows a potential benefit towards dampening chronic inflammatory processes in the cochlea and an improved survival of SGN after implantation. Therefore it seems to be a promising improvement for future implants, possibly in combination with anti-inflammatory drugs like glucocorticoids. Nevertheless, there is still the need for further investigations as other histological parameters and the hearing measurements did not show any significant difference between coated and non-coated implants. Furthermore, the results of the impedance measurements were unexpected and need to be evaluated in further studies.

VIII LITERATURVERZEICHNIS

Adunka, O., Unkelbach, M. H., Mack, M., Hambek, M., Gstoettner, W. und Kiefer, J. "Cochlear implantation via the round window membrane minimizes trauma to cochlear structures: a histologically controlled insertion study." *Acta Otolaryngol*, 2004, 124(7), 807-812

Adunka, O. F., Pillsbury, H. C. und Buchman, C. A. "Minimizing intracochlear trauma during cochlear implantation." *Adv Otorhinolaryngol*, 2010, 67, 96-107

Agterberg, M. J., Versnel, H., de Groot, J. C., van den Broek, M. und Klis, S. F. "Chronic electrical stimulation does not prevent spiral ganglion cell degeneration in deafened guinea pigs." *Hear Res*, 2010, 269(1-2), 169-179

Albuquerque, A. A., Rossato, M., Oliveira, J. A. und Hyppolito, M. A. "Understanding the anatomy of ears from guinea pigs and rats and its use in basic otologic research." *Braz J Otorhinolaryngol*, 2009, 75(1), 43-49

Aliuos, P., Sen, A., Reich, U., Dempwolf, W., Warnecke, A., Hadler, C., Lenarz, T., Menzel, H. und Reuter, G. "Inhibition of fibroblast adhesion by covalently immobilized protein repellent polymer coatings studied by single cell force spectroscopy." *J Biomed Mater Res A*, 2013

Aminpour, S., Tinling, S. P. und Brodie, H. A. "Role of tumor necrosis factor-alpha in sensorineural hearing loss after bacterial meningitis." *Otol Neurotol*, 2005, 26(4), 602-609

Anderson, A. W. "Biological responses to materials." *Annual Review of Materials Research*, 2001, 31, 81-110

Anderson, J. M., Bonfield, T. L. und Ziats, N. P. "Protein adsorption and cellular adhesion and activation on biomedical polymers." *Int J Artif Organs*, 1990, 13(6), 375-382

Anderson, J. M., Rodriguez, A. und Chang, D. T. "Foreign body reaction to biomaterials." *Semin Immunol*, 2008, 20(2), 86-100

Araki, S., Kawano, A., Seldon, H. L., Shepherd, R. K., Funasaka, S. und Clark, G. M. "Effects of intracochlear factors on spiral ganglion cells and auditory brain stem response after long-term electrical stimulation in deafened kittens." *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2000, 122(3), 425-433

Bahmer, A. und Baumann, U. "New parallel stimulation strategies revisited: Effect of synchronous multi electrode stimulation on rate discrimination in cochlear implant users." *Cochlear Implants Int*, 2012

Bal, B. T., Yilmaz, H., Aydin, C., Karakoca, S. und Tokman, B. "Histopathologic study of rat connective tissue responses to maxillofacial silicone elastomers." *J Mater Sci Mater Med*, 2009, 20(9), 1901-1907

Balkany, T. J., Connell, S. S., Hodges, A. V., Payne, S. L., Telischi, F. F., Eshraghi, A. A., Angeli, S. I., Germani, R., Messiah, S. und Arheart, K. L. "Conservation of residual acoustic hearing after cochlear implantation." *Otol Neurotol*, 2006, 27(8), 1083-1088

Banfai, P., Hartmann, G. "Das Cochlear Implant der Köln-Dürener Forschungsgruppe: Erfahrungen und Ergebnisse." Julius Groos Verlag, Heidelberg, 1985

Bargmann, W. "Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen." Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 6. überarbeitete Auflage, 1967

Barriat, S., Poirrier, A., Malgrange, B. und Lefebvre, P. "Hearing preservation in cochlear implantation and drug treatment." *Adv Otorhinolaryngol*, 2010, 67, 6-13

Baumann, U. und Helbig, S. "Hearing with combined electric acoustic stimulation." *HNO*, 2009, 57(6), 542-550

Biedron, S., Westhofen, M. und Ilgner, J. "On the number of turns in human cochleae." *Otol Neurotol*, 2009, 30(3), 414-417

Boenninghaus, H.-G. und Lenarz, T. "Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde." Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 13. Auflage, 2007

Bohl, A., Rohm, H. W., Ceschi, P., Paasche, G., Hahn, A., Barcikowski, S., Lenarz, T., Stover, T., Pau, H. W., Schmitz, K. P. und Sternberg, K. "Development of a specially tailored local drug delivery system for the prevention of fibrosis after insertion of cochlear implants into the inner ear." *J Mater Sci Mater Med*, 2012, 23(9), 2151-2162

Böhme, G. "Lehrbuch der Anatomie der Haustiere Band 4: Nervensystem, Sinnesorgane, Endokrine Drüsen." Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2003

Braun, S., Ye, Q., Radeloff, A., Kiefer, J., Gstoettner, W. und Tillein, J. "Protection of inner ear function after cochlear implantation: compound action potential measurements after local application of glucocorticoids in the guinea pig cochlea." *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*, 2011, 73(4), 219-228

Briggs, R. J., Tykocinski, M., Stidham, K. und Roberson, J. B. "Cochleostomy site: implications for electrode placement and hearing preservation." *Acta Otolaryngol*, 2005, 125(8), 870-876

Briggs, R. J., Tykocinski, M., Xu, J., Risi, F., Svehla, M., Cowan, R., Stover, T., Erfurt, P. und Lenarz, T. "Comparison of round window and cochleostomy approaches with a prototype hearing preservation electrode." *Audiol Neurootol*, 2006, 11 Suppl 1, 42-48

Brummer, S. B. und Turner, M. J. "Electrochemical considerations for safe electrical stimulation of the nervous system with platinum electrodes." *IEEE Trans Biomed Eng*, 1977, 24(1), 59-63

Busby, P. A., Plant, K. L. und Whitford, L. A. "Electrode impedance in adults and children using the Nucleus 24 cochlear implant system." *Cochlear Implants Int*, 2002, 3(2), 87-103

Capodanno, D. und Tamburino, C. "Properties and clinical development of a novel coating technology: the poly[bis(trifluoroethoxy)phosphazene]." *Recent Pat Drug Deliv Formul*, 2010, 4(1), 18-22

Chang, A., Eastwood, H., Sly, D., James, D., Richardson, R. und O'Leary, S. "Factors influencing the efficacy of round window dexamethasone protection of residual hearing post-cochlear implant surgery." *Hear Res*, 2009, 255(1-2), 67-72

Charlet de Sauvage, R., Lima da Costa, D., Erre, J. P. und Aran, J. M. "Electrical and physiological changes during short-term and chronic electrical stimulation of the normal cochlea." *Hear Res*, 1997, 110(1-2), 119-134

Chikar, J. A., Hendricks, J. L., Richardson-Burns, S. M., Raphael, Y., Pfingst, B. E. und Martin, D. C. "The use of a dual PEDOT and RGD-functionalized alginate hydrogel coating to provide sustained drug delivery and improved cochlear implant function." *Biomaterials*, 2012, 33(7), 1982-1990

Choi, C. H. und Oghalai, J. S. "Predicting the effect of post-implant cochlear fibrosis on residual hearing." *Hear Res*, 2005, 205(1-2), 193-200

Clark, G. M., Shepherd, R. K., Franz, B. K., Dowell, R. C., Tong, Y. C., Blamey, P. J., Webb, R. L., Pyman, B. C., McNaughtan, J., Bloom, D. M. und et al. "The histopathology of the human temporal bone and auditory central nervous system following cochlear implantation in a patient. Correlation with psychophysics and speech perception results." *Acta Otolaryngol Suppl*, 1988, 448, 1-65

Clark, G. M., Shute, S. A., Shepherd, R. K. und Carter, T. D. "Cochlear implantation: osteoneogenesis, electrode-tissue impedance, and residual hearing." *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl*, 1995, 166, 40-42

Connolly, T. M., Eastwood, H., Kel, G., Lisnichuk, H., Richardson, R. und O'Leary, S. "Pre-operative intravenous dexamethasone prevents auditory threshold shift in a guinea pig model of cochlear implantation." *Audiol Neurootol*, 2011, 16(3), 137-144

Cooper, G. und Schiller, A. L. "Anatomy of the guinea pig." Harvard University Press, 1975

Cope, D. und Bova, R. "Steroids in otolaryngology." *Laryngoscope*, 2008, 118(9), 1556-1560

Copeland, B. J. und Pillsbury, H. C. "Cochlear implantation for the treatment of deafness." *Annual Review of Medicine*, 2004, 55, 157-167

Counter, S. A., Bjelke, B., Klason, T., Chen, Z. und Borg, E. "Magnetic resonance imaging of the cochlea, spiral ganglia and eighth nerve of the guinea pig." *Neuroreport*, 1999, 10(3), 473-479

De Ceulaer, G., Johnson, S., Yperman, M., Daemers, K., Offeciers, F. E., O'Donoghue, G. M. und Govaerts, P. J. "Long-term evaluation of the effect of intracochlear steroid deposition on electrode impedance in cochlear implant patients." *Otol Neurotol*, 2003, 24(5), 769-774

De Scheerder, I. K., Wilczek, K. L., Verbeken, E. V., Vandorpe, J., Lan, P. N., Schacht, E., De Geest, H. und Piessens, J. "Biocompatibility of polymer-coated oversized metallic stents implanted in normal porcine coronary arteries." *Atherosclerosis*, 1995, 114(1), 105-114

DeSautel, M. G. und Brodie, H. A. "Effects of depletion of complement in the development of labyrinthitis ossificans." *Laryngoscope*, 1999, 109(10), 1674-1678

Dillier, N. "Heutiger Entwicklungsstand bei Cochlea-Implantaten." Tagung CRS Amplifon, Zürich, 2001

Dinh, C., Hoang, K., Haake, S., Chen, S., Angeli, S., Nong, E., Eshraghi, A. A., Balkany, T. J. und Van De Water, T. R. "Biopolymer-released dexamethasone prevents tumor necrosis factor alpha-induced loss of auditory hair cells in vitro: implications toward the development of a drug-eluting cochlear implant electrode array." *Otol Neurotol*, 2008, 29(7), 1012-1019

Dodson, H. C., Bannister, L. H. und Douek, E. E. "Effects of unilateral deafening on the cochlear nucleus of the guinea pig at different ages." *Brain Res Dev Brain Res*, 1994, 80(1-2), 261-267

Dodson, H. C. und Mohiuddin, A. "Response of spiral ganglion neurones to cochlear hair cell destruction in the guinea pig." *J Neurocytol*, 2000, 29(7), 525-537

Duan, Y. Y., Clark, G. M. und Cowan, R. S. "A study of intra-cochlear electrodes and tissue interface by electrochemical impedance methods in vivo." *Biomaterials*, 2004, 25(17), 3813-3828

Durisin, M., Krause, C., Arnoldner, C., Kontorinis, G., Buechner, A., Lenarz, T., Lesink-Schiedat, A., Profant, O. und Neuburger, J. "Electron microscopy changes of cochlear

implant electrodes with permanently high impedances." *Cochlear Implants Int*, 2011, 12(4), 228-233

Eapen, R. J. und Buchman, C. A. "Bilateral cochlear implantation: current concepts." *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*, 2009, 17(5), 351-355

Eastwood, H., Chang, A., Kel, G., Sly, D., Richardson, R. und O'Leary, S. J. "Round window delivery of dexamethasone ameliorates local and remote hearing loss produced by cochlear implantation into the second turn of the guinea pig cochlea." *Hear Res*, 2010, 265(1-2), 25-29

Elliott, S. J., Lineton, B. und Ni, G. "Fluid coupling in a discrete model of cochlear mechanics." *J Acoust Soc Am*, 2011, 130(3), 1441-1451

Eshraghi, A. A. "Prevention of cochlear implant electrode damage." *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*, 2006, 14(5), 323-328

Eshraghi, A. A., Adil, E., He, J., Graves, R., Balkany, T. J. und Van De Water, T. R. "Local dexamethasone therapy conserves hearing in an animal model of electrode insertion trauma-induced hearing loss." *Otol Neurotol*, 2007, 28(6), 842-849

Eshraghi, A. A., Gupta, C., Van De Water, T. R., Bohorquez, J. E., Garnham, C., Bas, E. und Talamo, V. M. "Molecular mechanisms involved in cochlear implantation trauma and the protection of hearing and auditory sensory cells by inhibition of c-Jun-N-terminal kinase signaling." *Laryngoscope*, 2013, 123 Suppl 1, 1-14

Eshraghi, A. A., Polak, M., He, J., Telischi, F. F., Balkany, T. J. und Van De Water, T. R. "Pattern of hearing loss in a rat model of cochlear implantation trauma." *Otol Neurotol*, 2005, 26(3), 442-447

Farahmand Ghavi, F., Mirzadeh, H., Imani, M., Jolly, C. und Farhadi, M. "Corticosteroid-releasing cochlear implant: a novel hybrid of biomaterial and drug delivery system." *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2010, 94(2), 388-398

Farhadi, M., Jalessi, M., Salehian, P., Ghavi, F. F., Emamjomeh, H., Mirzadeh, H., Imani, M. und Jolly, C. "Dexamethasone eluting cochlear implant: Histological study in animal model." *Cochlear Implants Int*, 2013, 14(1), 45-50

Fayad, J. N. und Linthicum, F. H., Jr. "Multichannel cochlear implants: relation of histopathology to performance." *Laryngoscope*, 2006, 116(8), 1310-1320

Felix, H. "Anatomical differences in the peripheral auditory system of mammals and man. A mini review." *Adv Otorhinolaryngol*, 2002, 59, 1-10

Franca, D. C., de Castro, A. L., Soubhia, A. M., de Aguiar, S. M. und Goiato, M. C. "Evaluation of the biocompatibility of silicone gel implants - histomorphometric study." *Acta Inform Med*, 2013, 21(2), 93-97

Gantz, B. J., Hansen, M. R., Turner, C. W., Oleson, J. J., Reiss, L. A. und Parkinson, A. J. "Hybrid 10 clinical trial: preliminary results." *Audiol Neurotol*, 2009, 14 Suppl 1, 32-38

Gantz, B. J., Turner, C. und Gfeller, K. E. "Acoustic plus electric speech processing: preliminary results of a multicenter clinical trial of the Iowa/Nucleus Hybrid implant." *Audiol Neurotol*, 2006, 11 Suppl 1, 63-68

Gantz, B. J., Turner, C., Gfeller, K. E. und Lowder, M. W. "Preservation of hearing in cochlear implant surgery: advantages of combined electrical and acoustical speech processing." *Laryngoscope*, 2005, 115(5), 796-802

Gantz, B. J., Woodworth, G. G., Knutson, J. F., Abbas, P. J. und Tyler, R. S. "Multivariate predictors of audiological success with multichannel cochlear implants." *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1993, 102(12), 909-916

Giordano, P., Hatzopoulos, S., Giarbini, N., Prosser, S., Petruccelli, J., Simoni, E., Faccioli, C., Astolfi, L. und Martini, A. "A soft-surgery approach to minimize hearing damage caused by the insertion of a cochlear implant electrode: a guinea pig animal model." *Otol Neurotol*, 2014, 35(8), 1440-1445

Goehring, J. L., Hughes, M. L., Baudhuin, J. L. und Lusk, R. P. "How well do cochlear implant intraoperative impedance measures predict postoperative electrode function?", *Otol Neurotol*, 2013, 34(2), 239-244

Grill, W. M. und Mortimer, J. T. "Electrical properties of implant encapsulation tissue." *Ann Biomed Eng*, 1994, 22(1), 23-33

Gstoettner, W., Helbig, S., Settevendemie, C., Baumann, U., Wagenblast, J. und Arnoldner, C. "A new electrode for residual hearing preservation in cochlear implantation: first clinical results." *Acta Otolaryngol*, 2009, 129(4), 372-379

Gstoettner, W., Kiefer, J., Baumgartner, W. D., Pok, S., Peters, S. und Adunka, O. "Hearing preservation in cochlear implantation for electric acoustic stimulation." *Acta Otolaryngol*, 2004, 124(4), 348-352

Gstoettner, W. K., van de Heyning, P., O'Connor, A. F., Morera, C., Sainz, M., Vermeire, K., McDonald, S., Cavalle, L., Helbig, S., Valdecasas, J. G., Anderson, I. und Adunka, O. F. "Electric acoustic stimulation of the auditory system: results of a multi-centre investigation." *Acta Otolaryngol*, 2008, 128(9), 968-975

Haddad Filho, D., Zveibel, D. K., Alonso, N. und Gemperli, R. "Comparison between textured silicone implants and those bonded with expanded polytetrafluoroethylene in rats." *Acta Cir Bras*, 2007, 22(3), 187-194

Hanekom, T. "Modelling encapsulation tissue around cochlear implant electrodes." *Med Biol Eng Comput*, 2005, 43(1), 47-55

Hansen, M. R., Gantz, B. J. und Dunn, C. "Outcomes after cochlear implantation for patients with single-sided deafness, including those with recalcitrant meniere's disease." *Otol Neurotol*, 2013, 34(9), 1681-1687

Hartung, T. "Thoughts on limitations of animal models." *Parkinsonism Relat Disord*, 2008, 14 Suppl 2, S81-83

Havenith, S., Lammers, M. J., Tange, R. A., Trabalzini, F., della Volpe, A., van der Heijden, G. J. und Grolman, W. "Hearing preservation surgery: cochleostomy or round window approach? A systematic review." *Otol Neurotol*, 2013, 34(4), 667-674

Hees, H. und Sinowatz, F. "Histologie: Kurzlehrbuch der Zytologie und mikroskopischen Anatomie." Deutscher Ärzte-Verlag, Köln, 2. völlig neu bearbeitete Auflage, 1992

Heffner, H. E. und Heffner, R. S. "Hearing ranges of laboratory animals." *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 2007, 46(1), 20-22

Henn, C., Satz, S., Christoph, P., Kurz, P., Radeleff, B., Stampfl, U., Stampfl, S., Berger, I. und Richter, G. M. "Efficacy of a polyphosphazene nanocoat in reducing thrombogenicity, in-stent stenosis, and inflammatory response in porcine renal and iliac artery stents." *J Vasc Interv Radiol*, 2008, 19(3), 427-437

Huang, C. Q., Tykocinski, M., Stathopoulos, D. und Cowan, R. "Effects of steroids and lubricants on electrical impedance and tissue response following cochlear implantation." *Cochlear Implants Int*, 2007, 8(3), 123-147

Huang, Y., Liu, X., Wang, L., Li, S., Verbeken, E. und De Scheerder, I. "Long-term biocompatibility evaluation of a novel polymer-coated stent in a porcine coronary stent model." *Coron Artery Dis*, 2003, 14(5), 401-408

Jackson, L. L., Heffner, R. S. und Heffner, H. E. "Free-field audiogram of the Japanese macaque (*Macaca fuscata*)." *J Acoust Soc Am*, 1999, 106(5), 3017-3023

James, C., Albegger, K., Battmer, R., Burdo, S., Deggouj, N., Deguine, O., Dillier, N., Gersdorff, M., Laszig, R., Lenarz, T., Rodriguez, M. M., Mondain, M., Offeciers, E., Macias, A. R., Ramsden, R., Sterkers, O., Von Wallenberg, E., Weber, B. und Fraysse, B. "Preservation of residual hearing with cochlear implantation: how and why." *Acta Otolaryngol*, 2005,

125(5), 481-491

James, D. P., Eastwood, H., Richardson, R. T. und O'Leary, S. J. "Effects of round window dexamethasone on residual hearing in a Guinea pig model of cochlear implantation." *Audiol Neurootol*, 2008, 13(2), 86-96

Jia, H., Venail, F., Piron, J. P., Batrel, C., Pelliccia, P., Artieres, F., Uziel, A. und Mondain, M. "Effect of surgical technique on electrode impedance after cochlear implantation." *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 2011, 120(8), 529-534

Jia, H., Wang, J., Francois, F., Uziel, A., Puel, J. L. und Venail, F. "Molecular and cellular mechanisms of loss of residual hearing after cochlear implantation." *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 2013, 122(1), 33-39

Jolly, C., Garnham, C., Mirzadeh, H., Truy, E., Martini, A., Kiefer, J. und Braun, S. "Electrode features for hearing preservation and drug delivery strategies." *Adv Otorhinolaryngol*, 2010, 67, 28-42

Kawano, A., Seldon, H. L., Clark, G. M., Ramsden, R. T. und Raine, C. H. "Intracochlear factors contributing to psychophysical percepts following cochlear implantation." *Acta Otolaryngol*, 1998, 118(3), 313-326

Keck, W. und Mrowinski, D. "Audiometrie: Eine Anleitung für die praktische Hörprüfung ", Thieme Georg Verlag, Stuttgart, 3. Auflage, 2006

Kiefer, J., Bohnke, F., Adunka, O. und Arnold, W. "Representation of acoustic signals in the human cochlea in presence of a cochlear implant electrode." *Hear Res*, 2006, 221(1-2), 36-43

Kiefer, J., Gstoettner, W., Baumgartner, W., Pok, S. M., Tillein, J., Ye, Q. und von Ilberg, C. "Conservation of low-frequency hearing in cochlear implantation." *Acta Otolaryngol*, 2004, 124(3), 272-280

Kiefer, J., Pok, M., Adunka, O., Sturzebecher, E., Baumgartner, W., Schmidt, M., Tillein, J., Ye, Q. und Gstoettner, W. "Combined electric and acoustic stimulation of the auditory system: results of a clinical study." *Audiol Neurootol*, 2005, 10(3), 134-144

Klenzner, T., Stecker, M., Marangos, N. und Laszig, R. "Extended indications for cochlear implantation. The Freiburg results in patients with residual hearing." *HNO*, 1999, 47(2), 95-100

Klingmann, C. und Plinkert, P. K. "New developments in cochlear implantation." *HNO*, 2009, 57(7), 633-634

Klinke, R., Silbernagl, S. "Hören und Sprechen: Kommunikation des Menschen." Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 4. korrigierte Auflage, 2003

Kong, Y. Y., Stickney, G. S. und Zeng, F. G. "Speech and melody recognition in binaurally combined acoustic and electric hearing." *J Acoust Soc Am*, 2005, 117(3 Pt 1), 1351-1361

Kopke, R. D., Liu, W., Gabaizadeh, R., Jacono, A., Feghali, J., Spray, D., Garcia, P., Steinman, H., Malgrange, B., Ruben, R. J., Rybak, L. und Van de Water, T. R. "Use of organotypic cultures of Corti's organ to study the protective effects of antioxidant molecules on cisplatin-induced damage of auditory hair cells." *Am J Otol*, 1997, 18(5), 559-571

La Manna, A., Capodanno, D., Cera, M., Di Salvo, M. E., Sacchetta, G., Corcos, T., Prati, F. und Tamburino, C. "Optical coherence tomographic results at six-month follow-up evaluation of the CATANIA coronary stent system with nanothin Polyzeze-F surface modification (from the Assessment of The Latest Non-Thrombogenic Angioplasty Stent [ATLANTA] trial)." *Am J Cardiol*, 2009, 103(11), 1551-1555

Laszig, R., Aschendorff, A., Beck, R., Schild, C., Kroger, S., Wesarg, T. und Arndt, S. "Long-term functional outcomes of cochlear implants in children." *HNO*, 2009, 57(7), 657-662

Laszig, R., Aschendorff, A., Schipper, J. und Klenzner, T. "Current developments in cochlear implantation." *HNO*, 2004, 52(4), 357-362

Laszig, R., Ridder, G. J. und Fradis, M. "Intracochlear insertion of electrodes using hyaluronic acid in cochlear implant surgery." *J Laryngol Otol*, 2002, 116(5), 371-372

Leake, P. A., Snyder, R. L., Hradek, G. T. und Rebscher, S. J. "Chronic intracochlear electrical stimulation in neonatally deafened cats: effects of intensity and stimulating electrode location." *Hear Res*, 1992, 64(1), 99-117

Lefebvre, P. P., Malgrange, B., Lallemand, F., Staecker, H., Moonen, G. und Van De Water, T. R. "Mechanisms of cell death in the injured auditory system: otoprotective strategies." *Audiol Neurootol*, 2002, 7(3), 165-170

Lenarz, T. und Boenninghaus, H. G. "Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde." Springer-Verlag, Heidelberg, 13. Auflage, 2007

Li, P. M., Somdas, M. A., Eddington, D. K. und Nadol, J. B., Jr. "Analysis of intracochlear new bone and fibrous tissue formation in human subjects with cochlear implants." *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 2007, 116(10), 731-738

Limberger, A. und Zenner, H. P. "Hearing disorders." *Internist (Berl)*, 1999, 40(10), 1077-1088

Linthicum, F. H., Jr., Fayad, J., Otto, S. R., Galey, F. R. und House, W. F. "Cochlear implant histopathology." *Am J Otol*, 1991, 12(4), 245-311

Maini, S., Lisnichuk, H., Eastwood, H., Pinder, D., James, D., Richardson, R. T., Chang, A., Connolly, T., Sly, D., Kel, G. und O'Leary, S. J. "Targeted therapy of the inner ear." *Audiol Neurootol*, 2009, 14(6), 402-410

Manoussaki, D., Chadwick, R. S., Ketten, D. R., Arruda, J., Dimitriadis, E. K. und O'Malley, J. T. "The influence of cochlear shape on low-frequency hearing." *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(16), 6162-6166

Mühler, R. und Ziese, M. "Technischer Leitfaden Cochlea Implantat." Universitätsklinikum HNO-Klinik Magdeburg, Magdeburg, 2010

Müller-Deile, J. "Verfahren zur Anpassung und Evaluation von Cochlear Implant Sprachprozessoren." Median Verlag von Killisch-Horn GmbH, Heidelberg, 2009

Müller-Deile, J., Rudert, H., Brademann, G. und Frese, K. "Cochlear implant for non-deaf patients?", *Laryngorhinootologie*, 1998, 77(3), 136-143

Nadol, J. B., Jr. und Eddington, D. K. "Histopathology of the inner ear relevant to cochlear implantation." *Adv Otorhinolaryngol*, 2006, 64, 31-49

Nadol, J. B., Jr., Eddington, D. K. und Burgess, B. J. "Foreign body or hypersensitivity granuloma of the inner ear after cochlear implantation: one possible cause of a soft failure?", *Otol Neurotol*, 2008, 29(8), 1076-1084

Nadol, J. B., Jr. und Hsu, W. C. "Histopathologic correlation of spiral ganglion cell count and new bone formation in the cochlea following meningogenic labyrinthitis and deafness." *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1991, 100(9 Pt 1), 712-716

Nadol, J. B., Jr. und Shiao, J. Y. "Histopathology of cochlear implants." *Adv Otorhinolaryngol*, 2000, 57, 1-6

Neuburger, J., Lenarz, T., Lesinski-Schiedat, A. und Buchner, A. "Spontaneous increases in impedance following cochlear implantation: suspected causes and management." *Int J Audiol*, 2009, 48(5), 233-239

Newbold, C., Mergen, S., Richardson, R., Seligman, P., Millard, R., Cowan, R. und Shepherd, R. "Impedance changes in chronically implanted and stimulated cochlear implant electrodes." *Cochlear Implants Int*, 2014, 15(4), 191-199

Newbold, C., Richardson, R., Huang, C. Q., Milojevic, D., Cowan, R. und Shepherd, R. "An

in vitro model for investigating impedance changes with cell growth and electrical stimulation: implications for cochlear implants." *J Neural Eng*, 2004, 1(4), 218-227

Newbold, C., Richardson, R., Millard, R., Seligman, P., Cowan, R. und Shepherd, R. "Electrical stimulation causes rapid changes in electrode impedance of cell-covered electrodes." *J Neural Eng*, 2011, 8(3), 036029

Ni, D., Shepherd, R. K., Seldon, H. L., Xu, S. A., Clark, G. M. und Millard, R. E. "Cochlear pathology following chronic electrical stimulation of the auditory nerve. I: Normal hearing kittens." *Hear Res*, 1992, 62(1), 63-81

O'Leary, S. J., Monksfield, P., Kel, G., Connolly, T., Souter, M. A., Chang, A., Marovic, P., O'Leary, J. S., Richardson, R. und Eastwood, H. "Relations between cochlear histopathology and hearing loss in experimental cochlear implantation." *Hear Res*, 2013, 298, 27-35

Oliver, D. und Fakler, B. "Auditorisches System." In: Deetjen, P., Speckmann, E.-J. und Hescheler, J.: "Physiologie." Elsevier GmbH, Urban & Fischer, München, 4. vollständig überarbeitete Auflage, 2005

Oshima, K., Suchert, S., Blevins, N. H. und Heller, S. "Curing hearing loss: Patient expectations, health care practitioners, and basic science." *Journal of Communication Disorders*, 2010

Paasche, G., Bockel, F., Tasche, C., Lesinski-Schiedat, A. und Lenarz, T. "Changes of postoperative impedances in cochlear implant patients: the short-term effects of modified electrode surfaces and intracochlear corticosteroids." *Otol Neurotol*, 2006, 27(5), 639-647

Paasche, G., Tasche, C., Stover, T., Lesinski-Schiedat, A. und Lenarz, T. "The long-term effects of modified electrode surfaces and intracochlear corticosteroids on postoperative impedances in cochlear implant patients." *Otol Neurotol*, 2009, 30(5), 592-598

Pau, H. W., Just, T., Bornitz, M., Lasurashvilli, N. und Zahnert, T. "Noise exposure of the inner ear during drilling a cochleostomy for cochlear implantation." *Laryngoscope*, 2007, 117(3), 535-540

Postelmans, J. T., van Spronsen, E., Grolman, W., Stokroos, R. J., Tange, R. A., Mare, M. J. und Dreschler, W. A. "An evaluation of preservation of residual hearing using the suprameatal approach for cochlear implantation: can this implantation technique be used for preservation of residual hearing?"; *Laryngoscope*, 2011, 121(8), 1794-1799

Probst, R., Grevers, G. und Iro, H. "Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde." Thieme Verlag, Stuttgart, 2008

Punte, A. K., Vermeire, K. und Van de Heyning, P. "Bilateral electric acoustic stimulation: a

comparison of partial and deep cochlear electrode insertion. A longitudinal case study." *Adv Otorhinolaryngol*, 2010, 67, 144-152

Radeleff, B., Thierjung, H., Stampfl, U., Stampfl, S., Lopez-Benitez, R., Sommer, C., Berger, I. und Richter, G. M. "Restenosis of the CYPHER-Select, TAXUS-Express, and Polyzene-F nanocoated cobalt-chromium stents in the minipig coronary artery model." *Cardiovasc Intervent Radiol*, 2008, 31(5), 971-980

Radeloff, A., Unkelbach, M. H., Tillein, J., Braun, S., Helbig, S., Gstottner, W. und Adunka, O. F. "Impact of intrascalar blood on hearing." *Laryngoscope*, 2007, 117(1), 58-62

Richardson, R. T., Wise, A. K., Andrew, J. K. und O'Leary, S. J. "Novel drug delivery systems for inner ear protection and regeneration after hearing loss." *Expert Opin Drug Deliv*, 2008, 5(10), 1059-1076

Richter, B., Aschendorff, A., Nagursky, H., Schipper, J., Laszig, R. und Klenzner, T. "Methods for evaluation of perimodiolar ci electrode arrays in human temporal bones." *Laryngo-Rhino-Otologie*, 2005, 84(1), 42-50

Richter, G. M., Stampfl, U., Stampfl, S., Rehnitz, C., Holler, S., Schnabel, P. und Grunze, M. "A new polymer concept for coating of vascular stents using PTFEP (poly(bis(trifluoroethoxy)phosphazene) to reduce thrombogenicity and late in-stent stenosis." *Invest Radiol*, 2005, 40(4), 210-218

Rogowski, M., Reiss, G. und Lehnhardt, E. "Morphologic study of the guinea pig cochlea after insertion of cochlear prosthesis electrode materials." *Laryngorhinootologie*, 1995, 74(3), 155-159

Saha, S. und Slepecky, N. B. "Age-related changes in microtubules in the guinea pig organ of Corti. Tubulin isoform shifts with increasing age suggest changes in micromechanical properties of the sensory epithelium." *Cell Tissue Res*, 2000, 300(1), 29-46

Santa Maria, P. L., Domville-Lewis, C., Sucher, C. M., Chester-Browne, R. und Atlas, M. D. "Hearing preservation surgery for cochlear implantation--hearing and quality of life after 2 years." *Otol Neurotol*, 2013, 34(3), 526-531

Satzl, S., Henn, C., Christoph, P., Kurz, P., Stampfl, U., Stampfl, S., Thomas, F., Radeleff, B., Berger, I., Grunze, M. und Richter, G. M. "The efficacy of nanoscale poly[bis(trifluoroethoxy) phosphazene] (PTFEP) coatings in reducing thrombogenicity and late in-stent stenosis in a porcine coronary artery model." *Invest Radiol*, 2007, 42(5), 303-311

Saunders, E., Cohen, L., Aschendorff, A., Shapiro, W., Knight, M., Stecker, M., Richter, B., Waltzman, S., Tykocinski, M., Roland, T., Laszig, R. und Cowan, R. "Threshold, comfortable level and impedance changes as a function of electrode-modiolar distance." *Ear Hear*, 2002, 23(1 Suppl), 28s-40s

Scarpidis, U., Madnani, D., Shoemaker, C., Fletcher, C. H., Kojima, K., Eshraghi, A. A., Staecker, H., Lefebvre, P., Malgrange, B., Balkany, T. J. und Van De Water, T. R. "Arrest of apoptosis in auditory neurons: implications for sensorineural preservation in cochlear implantation." *Otol Neurotol*, 2003, 24(3), 409-417

Schindler, R. A. "The cochlear histopathology of chronic intracochlear implantation." *J Laryngol Otol*, 1976, 90(5), 445-457

Schindler, R. A. und Bjorkroth, B. "Traumatic intracochlear electrode implantation." *Laryngoscope*, 1979, 89(5 Pt 1), 752-758

Schindler, R. A. und Merzenich, M. M. "Chronic intracochlear electrode implantation: cochlear pathology and acoustic nerve survival." *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1974, 83(2), 202-215

Shannon, R. V. "A model of safe levels for electrical stimulation." *IEEE Trans Biomed Eng*, 1992, 39(4), 424-426

Shepherd, R. K., Matsushima, J., Martin, R. L. und Clark, G. M. "Cochlear pathology following chronic electrical stimulation of the auditory nerve: II. Deafened kittens." *Hear Res*, 1994, 81(1-2), 150-166

Shepherd, R. K., Webb, R. L., Clark, G. M., Pyman, B. C., Hirshorn, M. S., Murray, M. T. und Houghton, M. E. "Implanted material tolerance studies for a multiple-channel cochlear prosthesis." *Acta Otolaryngol Suppl*, 1984, 411, 71-81

Silbernagl, S. und Despopoulos, A. "Taschenatlas Physiologie." Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart, 8. überarbeitete und erweiterte Auflage, 2012

Skinner, M. W., Ketten, D. R., Holden, L. K., Harding, G. W., Smith, P. G., Gates, G. A., Neely, J. G., Kletzker, G. R., Brunsdan, B. und Blocker, B. "CT-derived estimation of cochlear morphology and electrode array position in relation to word recognition in Nucleus-22 recipients." *J Assoc Res Otolaryngol*, 2002, 3(3), 332-350

Somdas, M. A., Li, P. M., Whiten, D. M., Eddington, D. K. und Nadol, J. B., Jr. "Quantitative evaluation of new bone and fibrous tissue in the cochlea following cochlear implantation in the human." *Audiol Neurotol*, 2007, 12(5), 277-284

Stampfl, S., Stampfl, U., Bellemann, N., Sommer, C. M., Thierjung, H., Radeleff, B., Lopez-Benitez, R., Berger, I., Kauffmann, G. W. und Richter, G. M. "Biocompatibility and recanalization characteristics of hydrogel microspheres with polyzene-F as polymer coating." *Cardiovasc Intervent Radiol*, 2008, 31(4), 799-806

Stampfl, U., Sommer, C. M., Bellemann, N., Holzschuh, M., Kueller, A., Bluemmel, J., Gehrig,

T., Shevchenko, M., Kennigott, H., Kauczor, H. U. und Radeleff, B. "Multimodal visibility of a modified polyzene-F-coated spherical embolic agent for liver embolization: feasibility study in a porcine model." *J Vasc Interv Radiol*, 2012, 23(9), 1225-1231 e1222

Stark, T. und Helbig, S. "Cochlear implantation: a changing indication." *HNO*, 2011, 59(6), 605-614

Stathopoulos, D., Chambers, S., Enke, Y. L., Timbol, G., Risi, F., Miller, C., Cowan, R. und Newbold, C. "Development of a safe dexamethasone-eluting electrode array for cochlear implantation." *Cochlear Implants Int*, 2014, 15(5), 254-263

Stöver, T. und Lenarz, T. "Biomaterials in cochlear implants." *GMS Curr Top Otorhinolaryngol Head Neck Surg*, 2009, 8, Doc10

Stumpner, A. "Gehörsinn." In: Penzlin, H.: "Lehrbuch der Tierphysiologie." Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 7. Auflage, unveränderter Nachdruck 2009, 2005

Suzuki, M. und Harris, J. P. "Expression of intercellular adhesion molecule-1 during inner ear inflammation." *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1995, 104(1), 69-75

Tamburino, C., Capodanno, D., Di Salvo, M.-E., Sanfilippo, A., Cascone, I., Incardona, V., Longo, G., Giacoppo, D., Capranzano, P., Sgroi, C., Ussia, G. P., Monaco, A. und La Manna, A. "Safety and effectiveness of the Catania Polyzene-F coated stent in real world clinical practice: 12-month results from the ATLANTA 2 registry." *EuroIntervention*, 2012, 7(9), 1062-1068

Tanaka, C., Nguyen-Huynh, A., Loera, K., Stark, G. und Reiss, L. "Factors associated with hearing loss in a normal-hearing guinea pig model of Hybrid cochlear implants." *Hear Res*, 2014, 316, 82-93

Tang, L. und Eaton, J. W. "Natural responses to unnatural materials: A molecular mechanism for foreign body reactions." *Mol Med*, 1999, 5(6), 351-358

Tykocinski, M., Cohen, L. T. und Cowan, R. S. "Measurement and analysis of access resistance and polarization impedance in cochlear implant recipients." *Otol Neurotol*, 2005, 26(5), 948-956

Tyler, R. S., Gantz, B. J., Rubinstein, J. T., Wilson, B. S., Parkinson, A. J., Wolaver, A., Preece, J. P., Witt, S. und Lowder, M. W. "Three-month results with bilateral cochlear implants." *Ear Hear*, 2002, 23(1 Suppl), 80S-89S

Van De Water, T. R., Abi Hachem, R. N., Dinh, C. T., Bas, E., Haake, S. M., Hoosien, G., Vivero, R., Chan, S., He, J., Eshraghi, A. A., Angeli, S. I., Telischi, F. F. und Balkany, T. J. "Conservation of hearing and protection of auditory hair cells against trauma-induced losses

by local dexamethasone therapy: molecular and genetic mechanisms." *Cochlear Implants Int*, 2010, 11 Suppl 1, 42-55

Van Hoesel, R., Ramsden, R. und Odriscoll, M. "Sound-direction identification, interaural time delay discrimination, and speech intelligibility advantages in noise for a bilateral cochlear implant user." *Ear Hear*, 2002, 23(2), 137-149

Vivero, R. J., Joseph, D. E., Angeli, S., He, J., Chen, S., Eshraghi, A. A., Balkany, T. J. und Van de Water, T. R. "Dexamethasone base conserves hearing from electrode trauma-induced hearing loss." *Laryngoscope*, 2008, 118(11), 2028-2035

von Engelhardt, W., Aurich, C. und Breves, G. "Physiologie der Haustiere." Enke Verlag, Stuttgart, 3. Auflage, 2010

von Ilberg, C., Kiefer, J., Tillein, J., Pfenningdorff, T., Hartmann, R., Sturzebecher, E. und Klinke, R. "Electric-acoustic stimulation of the auditory system. New technology for severe hearing loss." *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*, 1999, 61(6), 334-340

von Ilberg, C. A., Baumann, U., Kiefer, J., Tillein, J. und Adunka, O. F. "Electric-acoustic stimulation of the auditory system: a review of the first decade." *Audiol Neurootol*, 2011, 16 Suppl 2, 1-30

Welle, A., Grunze, M. und Tur, D. "Plasma Protein Adsorption and Platelet Adhesion on Poly." *J Colloid Interface Sci*, 1998, 197(2), 263-274

Wesarg, T., Arndt, S., Aschendorff, A., Laszig, R. und Zirn, S. "Intraoperative audiological-technical diagnostics during cochlear implant surgery." *HNO*, 2014, 62(10), 725-734

William Luria, L. "The role of medical grade silicones in surgery and its topical applications." *Operative Techniques in Plastic and Reconstructive Surgery*, 2002, 9(2), 67-74

Wright, A., Davis, A., Bredberg, G., Ulehlova, L. und Spencer, H. "Hair cell distributions in the normal human cochlea." *Acta Otolaryngol Suppl*, 1987, 444, 1-48

Wright, C. G. und Roland, P. S. "Vascular trauma during cochlear implantation: a contributor to residual hearing loss?", *Otol Neurotol*, 2013, 34(3), 402-407

Wrzeszcz, A., Dittrich, B., Haamann, D., Aliuos, P., Klee, D., Nolte, I., Lenarz, T. und Reuter, G. "Dexamethasone released from cochlear implant coatings combined with a protein repellent hydrogel layer inhibits fibroblast proliferation." *J Biomed Mater Res A*, 2013

Wysocki, J. "Topographical anatomy of the guinea pig temporal bone." *Hear Res*, 2005, 199(1-2), 103-110

Xu, J., Shepherd, R. K., Millard, R. E. und Clark, G. M. "Chronic electrical stimulation of the auditory nerve at high stimulus rates: a physiological and histopathological study." *Hear Res*, 1997, 105(1-2), 1-29

Ye, Q., Tillein, J., Hartmann, R., Gstoettner, W. und Kiefer, J. "Application of a corticosteroid (Triamcinolon) protects inner ear function after surgical intervention." *Ear Hear*, 2007, 28(3), 361-369

Zdolsek, J., Eaton, J. W. und Tang, L. "Histamine release and fibrinogen adsorption mediate acute inflammatory responses to biomaterial implants in humans." *J Transl Med*, 2007, 5, 31

Zeifang, F., Grunze, M., Delling, G., Lorenz, H., Heisel, C., Tosounidis, G., Sabo, D., Simank, H. G. und Holstein, J. H. "Improved osseointegration of PTFEP-coated titanium implants." *Med Sci Monit*, 2008, 14(2), BR35-40

Zenner, H. P. "Neuro- und Sinnesphysiologie." In: Birbaumer, N., Schmidt, R. F., Braitenberg, V. et al.: Springer Verlag, 2006

IX ANHANG

Tab. 13: Überwachung der Versuchstiere und Abbruchkriterien

1. Körpergewicht <i>Über 5 Tage nach der Implantation</i>	Punkte
gleichbleibend oder Gewichtszunahme	0
Gewichtsreduktion von bis zu 10 %	2
Gewichtsreduktion von 11-19 %	5
Gewichtsreduktion ab 20 %	10
2. Körperhaltung	
Physiologisch <i>Tier sitzt in physiologischer Körperhaltung, die Rückenlinie ist gerade (Rücken nicht aufgekrümmt), Kopf wird in natürlicher Haltung getragen, Gliedmaßen werden gleichmäßig belastet, Tier liegt entspannt</i>	0
Schonhaltung <i>Tier sitzt mit aufgekrümmtem Rücken oder liegt in Schonhaltung, Konsultation eines Tierarztes und Abdeckung des Tieres mit potenten Schmerzmitteln</i>	5
Seitenlage <i>Tier liegt in Seitenlage und hat kein Stehvermögen mehr</i>	10
3. (Explorations-)Verhalten	
aufmerksam, neugierig <i>Tier zeigt bei Umsetzen in fremde Umgebung (in diesem Fall ein ausgestalteter Käfig) bereits kurze Zeit nach dem Einsetzen Explorationsverhalten (Auskundschaften eines unbekanntes Gebietes), ist neugierig und aufmerksam</i>	0
reduziert <i>Tier zeigt bei Umsetzen in fremde Umgebung Reaktion auf seine Umwelt, jedoch kein aktives Explorationsverhalten, es nimmt durchaus aktiv an der Umwelt teil und reagiert auf die neue Situation, erkundet die neue Umgebung aber nicht aktiv</i>	5
lethargisch <i>Tier zeigt bei Umsetzen in fremde Umgebung und auf äußere Reize keine bzw. stark reduzierte Reaktion, nimmt nicht aktiv an der Umwelt teil</i>	10
4. Kopfhaltung	
Physiologisch <i>Tier trägt den Kopf selbstständig und kann den Kopf in alle Richtungen bewegen</i>	0
Kopfschiefhaltung <i>Tier zeigt Kopfschiefhaltung</i>	5
abnorme Kopfhaltung <i>Tier stützt Kopf auf den Boden auf und kann diesen nicht mehr tragen bzw. heben oder zeigt Opisthotonus</i>	10
5. Bewegungsablauf	
physiologisch <i>Tier zeigt physiologisches Gangbild, sowohl spontan als auch auf Berührung der Hintergliedmaße</i>	0
abnorm <i>Tier zeigt Kreisbewegung (welche Richtung?, spontan oder auf Reiz von außen) oder Gleichgewichtsstörungen, kippt zu einer Seite (wenn ja, welche?), Unsicherheit beim Laufen, Gangbild mit Hinweisen auf Gleichgewichtsstörungen</i>	5
6. Stellreflex	
erhalten	0

<i>Tier setzt sich bei Verbringen in Seitenlage bzw. Rückenlage reflexartig auf</i>	
vermindert <i>Tier zeigt verminderte Versuche sich aufzusetzen</i>	5
ausgefallen <i>Tier zeigt keine Reaktion bei Verbringen in Seitenlage, bzw. kann sich trotz des Versuchs nicht aus der Seitenlage aufsetzen</i>	10
7. Rektaltemperatur	
im Normalbereich <i>Physiologische Werte: 37,7 °C – 39,5 °C</i>	0
leicht erhöhte Temperatur <i>Werte: 39,5 °C – 40 °C</i>	1
T > 40 °C	3
T > 41 °C <i>Anstieg der Körpertemperatur auf > 41 °C bei beeinträchtigtem Allgemeinbefinden oder kein Absinken des Fiebers in den Normalbereich trotz adäquater Behandlung</i>	10
8. ZNS-Symptomatik nach Implantation und Anbringen des Steckers	
keine <i>Tier zeigt keine zentralnervöse Symptome</i>	0
Vestibularsyndrom <i>Tier zeigt Gleichgewichtsstörungen und weitere Symptome eines Vestibularsyndroms (Nystagmus, Kopfschiefhaltung)</i>	5
Zentralnervöse Symptome <i>Tier zeigt zentralnervöse Symptome wie Kleinhirnsymptomatik, Tremor, Opisthotonus, Ataxie, Konvulsionen, Ruderbewegungen</i>	10
9. Stecker	
keine Auffälligkeiten <i>Stecker sitzt fest verankert und ist nicht locker, die Schrauben stecken stabil im Paladur®-Zahnprothesen-Kunststoff, die Ansatzstelle weist den entsprechenden Heilungszustand auf, es können keine entzündlichen Veränderungen oder Auffälligkeiten beobachtet werden, die Befestigung der Leitungsdrähte an den Steckerpolen ist erhalten</i>	0
geringgradige Entzündung des Steckeransatzes <i>Antibiotische Behandlung; sollte die Entzündung innerhalb von 5 Behandlungstagen nicht abklingen, wird ein Tierarzt konsultiert</i>	5
hochgradige Entzündung des Steckeransatzes	10
Verlust oder Lösen des Steckers <i>Stecker hat sich vom Schädeldach gelöst oder ist verloren gegangen</i>	10
Zentralnervöse Störungen <i>siehe: „ZNS-Symptomatik nach Implantation und Anbringung des Steckers“</i>	10

Tab. 14: Tabellarische Übersicht über die Ergebnisse der ABR-Hörmessungen; alle Angaben in [dB]

Messzeitpunkt	Frequenzbereich	Gruppe	Median	25%- & 75%- Perzentil	Minimum	Maximum	Mittelwert ± Standard- abweichung
Woche 1	Click	PTFEP	35,00	22,50 40,00	10,00	45,00	31,67 ± 11,55
		NO-PTFEP	32,50	25,00 40,00	10,00	50,00	32,50 ± 12,15
	Tiefe Frequenzen (1-3 kHz)	PTFEP	31,88	19,38 41,88	17,50	61,25	33,44 ± 14,23
		NO-PTFEP	31,25	22,50 48,75	12,50	72,50	35,63 ± 18,74
	Mittlere Frequenzen (4-12 kHz)	PTFEP	40,63	30,63 46,88	15,00	58,75	38,65 ± 12,77
		NO-PTFEP	42,50	37,50 49,38	21,25	53,75	41,69 ± 9,32
Hohe Frequenzen (16-32 kHz)	PTFEP	50,00	37,50 59,17	28,33	61,67	48,06 ± 12,69	
	NO-PTFEP	60,00	51,67 60,84	40,00	63,33	55,97 ± 7,54	
Woche 2	Click	PTFEP	30,00	12,50 30,00	5,00	45,00	24,58 ± 12,52
		NO-PTFEP	30,00	22,50 40,00	10,00	55,00	30,42 ± 13,05
	Tiefe Frequenzen (1-3 kHz)	PTFEP	32,50	15,00 38,75	10,00	57,50	29,90 ± 14,40
		NO-PTFEP	31,25	19,38 43,13	-2,50	62,50	31,25 ± 17,38
	Mittlere Frequenzen (4-12 kHz)	PTFEP	36,25	28,13 42,50	8,75	63,25	35,27 ± 16,04
		NO-PTFEP	45,00	33,75 50,63	11,25	55,00	40,94 ± 12,61
Hohe Frequenzen (16-32 kHz)	PTFEP	50,00	34,17 58,33	25,00	61,67	46,11 ± 13,30	
	NO-PTFEP	58,33	56,67 62,50	8,33	63,33	54,17 ± 15,76	
Woche 5	Click	PTFEP	25,00	7,50 35,00	-10,00	55,00	23,33 ± 20,71
		NO-PTFEP	27,50	12,50 40,00	5,00	50,00	27,08 ± 15,14
	Tiefe Frequenzen (1-3 kHz)	PTFEP	34,38	14,38 45,00	2,50	61,25	30,83 ± 19,25
		NO-PTFEP	31,25	16,88 44,38	7,50	55,00	30,52 ± 16,09
	Mittlere Frequenzen (4-12 kHz)	PTFEP	40,00	30,00 43,13	2,50	56,25	35,21 ± 14,33
		NO-PTFEP	45,63	33,75 52,50	18,75	58,75	43,44 ± 12,44
Hohe Frequenzen (16-32 kHz)	PTFEP	54,17	41,67 58,33	6,67	63,33	46,53 ± 18,30	
	NO-PTFEP	60,84	59,17 63,34	26,67	66,67	58,75 ± 10,45	
Woche 9	Click	PTFEP	25,00	12,50 47,50	-15,00	60,00	27,50 ± 23,31
		NO-PTFEP	30,00	22,50 42,50	10,00	50,00	31,20 ± 13,34
	Tiefe Frequenzen (1-3 kHz)	PTFEP	30,00	16,88 56,88	0	66,25	34,48 ± 23,55
		NO-PTFEP	36,88	28,13	10,00	60,00	38,30 ± 15,64

				52,50			
	Mittlere Frequenzen (4-12 kHz)	PTFEP	35,63	25,63 51,88	15,00	61,25	38,33 ± 15,58
		NO-PTFEP	46,25	40,63 54,38	20,00	57,50	44,60 ± 11,76
	Hohe Frequenzen (16-32 kHz)	PTFEP	54,17	31,67 60,00	16,67	63,33	46,25 ± 16,91
		NO-PTFEP	56,67	53,33 60,84	31,67	61,67	55,20 ± 8,25
Woche 12	Click	PTFEP	30,00	17,50 52,50	-5,00	65,00	31,67 ± 23,39
		NO-PTFEP	37,50	22,50 50,00	5,00	60,00	36,20 ± 17,85
	Tiefe Frequenzen (1-3 kHz)	PTFEP	41,25	20,63 58,75	-3,75	70,00	37,92 ± 24,76
		NO-PTFEP	40,00	27,50 57,50	3,75	62,50	39,00 ± 19,06
	Mittlere Frequenzen (4-12 kHz)	PTFEP	41,25	28,75 51,88	3,75	63,75	40,52 ± 17,03
		NO-PTFEP	46,88	35,00 54,38	16,25	61,25	43,20 ± 13,95
	Hohe Frequenzen (16-32 kHz)	PTFEP	55,84	33,34 60,84	15,00	63,33	47,08 ± 17,32
		NO-PTFEP	60,00	57,50 62,50	11,67	63,33	56,20 ± 14,29
Woche 16	Click	PTFEP	37,50	25,00 55,00	5,00	65,00	38,75 ± 18,84
		NO-PTFEP	47,50	30,00 55,00	5,00	65,00	43,00 ± 18,26
	Tiefe Frequenzen (1-3 kHz)	PTFEP	44,38	36,25 58,75	12,50	72,50	44,27 ± 19,39
		NO-PTFEP	52,50	28,75 63,75	1,25	72,50	45,50 ± 22,02
	Mittlere Frequenzen (4-12 kHz)	PTFEP	42,50	37,50 52,50	25,00	65,00	44,58 ± 12,61
		NO-PTFEP	47,50	36,25 56,88	27,50	61,25	45,80 ± 11,69
	Hohe Frequenzen (16-32 kHz)	PTFEP	56,67	39,17 60,00	23,33	63,33	50,00 ± 12,87
		NO-PTFEP	60,00	58,34 63,33	50,00	68,33	60,14 ± 4,79

Tab. 15: Tabellarische Übersicht über die Ergebnisse der Impedanzmessungen am apikalen Kontakt; alle Angaben in [k Ω]

Messzeitpunkt	Gruppe	Median	25%- & 75%- Perzentil	Minimum	Maximum	Mittelwert \pm Standard- abweichung
Tag 0	PTFEP	3,23	2,58 3,54	1,46	6,65	3,30 \pm 1,28
	NO-PTFEP	4,31	3,58 4,87	1,89	7,03	4,27 \pm 1,26
Woche 1	PTFEP	6,91	5,07 9,23	4,37	12,85	7,41 \pm 2,80
	NO-PTFEP	5,29	4,34 6,59	3,35	7,94	5,42 \pm 1,40
Woche 2	PTFEP	8,38	5,61 9,86	5,00	13,00	7,73 \pm 2,55
	NO-PTFEP	5,57	4,05 6,44	3,67	8,10	5,41 \pm 1,43
Woche 5	PTFEP	7,92	5,57 11,56	4,81	12,52	8,43 \pm 2,79
	NO-PTFEP	5,76	5,26 6,71	3,92	10,46	6,08 \pm 1,74
Woche 9	PTFEP	8,48	7,38 10,26	4,49	13,43	8,83 \pm 2,67
	NO-PTFEP	5,25	4,94 6,19	3,81	7,54	5,54 \pm 1,17
Woche 12	PTFEP	8,07	7,03 9,86	4,87	13,06	8,55 \pm 2,62
	NO-PTFEP	5,44	3,99 7,85	3,35	8,80	5,88 \pm 1,96
Woche 16	PTFEP	8,38	6,71 9,56	4,68	13,41	8,55 \pm 2,65
	NO-PTFEP	7,53	5,63 9,98	3,86	15,50	8,21 \pm 3,72

Tab. 16: Tabellarische Übersicht über die Ergebnisse der Impedanzmessungen am basalen Kontakt; alle Angaben in [kΩ]

Messzeitpunkt	Gruppe	Median	25%- & 75%- Perzentil	Minimum	Maximum	Mittelwert ± Standard- abweichung
Tag 0	PTFEP	3,10	2,83 3,48	2,47	4,81	3,25 ± 0,65
	NO-PTFEP	3,99	3,50 4,53	2,71	10,33	4,42 ± 1,96
Woche 1	PTFEP	7,46	6,02 9,54	5,06	12,37	8,02 ± 2,51
	NO-PTFEP	5,06	3,96 5,82	2,99	6,40	4,91 ± 1,17
Woche 2	PTFEP	9,81	7,73 12,68	4,87	14,44	9,92 ± 3,02
	NO-PTFEP	5,13	4,18 6,01	2,27	8,10	5,15 ± 1,70
Woche 5	PTFEP	11,10	7,53 12,62	5,38	15,60	10,35 ± 3,41
	NO-PTFEP	5,73	5,06 9,56	3,54	11,16	6,76 ± 2,62
Woche 9	PTFEP	9,70	5,82 13,73	4,17	16,80	10,38 ± 4,79
	NO-PTFEP	5,80	5,51 6,71	3,92	8,81	6,09 ± 1,61
Woche 12	PTFEP	10,71	9,19 14,69	5,19	16,20	11,28 ± 4,17
	NO-PTFEP	6,08	5,38 11,69	3,80	12,04	7,74 ± 3,31
Woche 16	PTFEP	9,65	7,15 13,54	4,37	15,50	10,23 ± 3,98
	NO-PTFEP	5,89	5,44 9,44	3,56	9,56	6,47 ± 2,22

Tab. 17: Tabellarische Übersicht über die Ergebnisse der histologischen Auswertung

Histologischer Parameter	Graduierungsschema	PTFEP	NO-PTFEP	Mittelwert ± Standard- abweichung	Mittelwert ± Standard- abweichung	p- Wert
				PTFEP	NO-PTFEP	
Chronisch-lymphoplasmatische Entzündung in basaler Windung der Cochlea (Diffuse mononukleäre Infiltration mit Lymphozyten, Plasmazellen und Makrophagen)	nicht vorhanden	3	0	1,17 ± 0,937	2,25 ± 0.866	0,012
	wenig (1 – 25)	5	3			
	mäßig (26 – 50)	3	3			
	zahlreich (> 50)	1	6			
Konzentrische Ansammlung von Fremdkörperriesenzellen um Implantat	nicht vorhanden	2	0	1,33 ± 0,778	1,50 ± 0.674	0,800
	wenig (1 – 5)	4	7			
	mäßig (6 – 10)	6	4			
	zahlreich (> 10)	0	1			
Knochenneubildung (Osteoneogenese)	nicht vorhanden	0	4	2,58 ± 0,515	1,75 ± 1.422	0,239
	nur im Bereich der Cochleostomie	0	1			
	solitäre Knochenstücke unter OSL und Basilarmembran	5	1			
	zirkuläre Knochenhülle um Implantat	7	6			
Lockeres Bindegewebe in S. tympani	nicht vorhanden	1	1	2,00 ± 1,044	2,33 ± 0.985	0,382
	minimal	3	1			
	< 1 Quadrant	3	3			
	> 1 Quadrant	5	7			
Lamelläre Gewebemanschette um Implantat	nicht vorhanden	0	1	1,83 ± 0.389	1,58 ± 0.669	0,329
	nur im Bereich der Cochleostomie	2	3			
	entlang des gesamten Implantats	10	8			
Blutgefäßneubildung (Angiogenese)	ja	9	7	-	-	0,397
	nein	3	5			

Tab. 18: Messreihe ohmscher Widerstände mit GP_Imp und MED-EL MAESTRO

Ohmscher Widerstand [kΩ]	GP_Imp [kΩ]	Relative Abweichung [%]	MED-EL MAESTRO [kΩ]	Relative Abweichung [%]
1,5	1,5	0,0	1,38	8,0
2,0	2,1	5,0	1,84	8,0
2,2	2,1	4,55	1,94	11,82
3,0	3,1	3,33	2,98	0,67
4,0	4,0	0,0	3,49	12,75
4,7	4,8	4,26	4,05	13,83
5,7	5,8	1,75	4,87	14,56
6,9	6,9	0,0	5,76	16,52
7,9	8,0	1,27	6,52	17,47
9,4	9,3	1,06	7,66	18,51
10,0	10,1	1,0	8,16	18,40
11,0	11,25	2,27	8,85	19,55
12,2	12,26	0,49	9,61	21,23
13,2	13,4	1,52	10,44	20,91
14,2	14,5	2,11	11,13	21,62
15,2	15,52	2,11	11,82	22,24
16,2	16,24	0,25	12,31	24,01
17,2	17,8	3,49	13,01	24,36
18,2	18,61	2,25	13,62	25,16
20,0	20,47	2,35	14,93	25,35
21,0	21,18	0,86	> 15,5	-
22,0	22,35	1,59	> 15,9	-
27,0	27,3	1,11	> 16,8	-
47,0	47,42	0,89	> 17,0	-
Durchschnittliche Abweichung in dieser Messreihe [%]	-	1,81	-	17,25

Tab. 19: Verbrauchs- und Materialliste

A. NARKOSE UND PERIOPERATIVES MANAGEMENT	
1. Medikamente	
Narkose	
Fentanyl	Fentadon®, 50 µg/ml, Eurovet Animal Health B.V., NL- 5530, Bladel
Medetomidin	Sedator® 1 mg/ml Injektionslösung, Eurovet Animal Health B.V., NL- 5530, Bladel
Midazolam	Midazolam 5 mg/5 ml Injektionslösung, Hexal AG, D-83607, Holzkirchen
Antagonisierung	
Flumazenil	Flumazenil 0,1 mg/ml Injektionslösung, Hexal AG, D-83607, Holzkirchen
Atipamezol	Antisedan® 5mg/ml Injektionslösung, Elanco Animal Health, D-61352, Bad Homburg
Naloxon	Naloxon 0,4mg/ml® Injektionslösung, B. Braun Melsungen AG, D-34212, Melsungen
Bepanthen® Augen- und Nasensalbe	Bepanthen® Augen- und Nasensalbe, Bayer Vital GmbH, D-51366, Leverkusen
Enrofloxacin	Baytril® 2,5 % ad us. vet. orale Lösung, Bayer Vital GmbH, D-51366, Leverkusen
Enrofloxacin	Baytril® - Das Original 2,5 % - Injektionslösung, Bayer Vital GmbH, D-51366, Leverkusen
Meloxicam	Metacam® 1,5 mg/ml Suspension zum Eingeben, Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, D-55216, Ingelheim am Rhein
Metamizol -Natrium	Metapyrin® 500 mg/ml Tropfen, Medistar Arzneimittelvertrieb GmbH, D-59387, Ascheberg
Pentobarbital	Narcoren® 16g/100ml Injektionslösung, Merial GmbH, D-85399, Halbergmoos
Ringer-Lactat-Lösung	Infusionslösung zur intravenösen Anwendung, AlleMan Pharma GmbH, D-64668, Rimbach
Ultracain	Ultracain® 1 % Suprarenin® 5 ml, Injektionslösung, Sanofi Aventis Deutschland GmbH, D-65926, Frankfurt am Main
B. IMPLANTATION	
1. Verbrauchsmaterial	
Abdecktücher	Raucodrape®, Abdecktuch, 2-lagig, Lohmann & Rauscher GmbH & Co. KG, D-56567, Neuwied
Braunol zur Desinfektion des OP-Felds	Braunol® Alkoholfreies Antiseptikum zum Auftragen auf Haut, Wunden und Schleimhaut, B. Braun Melsungen AG Melsungen AG, D-34212, Melsungen
Einmalspritze 1 ml	Omnifix®-F Tuberkulin, 0,01ml-1ml Luer Solo, B. Braun Melsungen AG Melsungen AG, D-34212, Melsungen
Einmalspritze 5 ml	Injekt®, 5ml Luer Solo, B. Braun Melsungen AG Melsungen AG, D-34212, Melsungen
Einmalkanüle 20 G	Sterican® Einmal-Injektions-Kanüle, 0,90 x 40 mm, 20G x 1 ^{1/2''} , B. Braun Melsungen AG Melsungen AG, D-34212, Melsungen
Einmalkanüle 27 G	Sterican® Einmal-Injektions-Kanüle, 0,40 x 20 mm, 27G x 1 ^{3/4''} , B. Braun Melsungen AG Melsungen AG, D-34212, Melsungen
Einmalkanüle 25 G	BD Eclipse™ Needle with SmartSlip™ Technology, 23G x 1 (0,6mm x 25mm), BD, USA-NJ 07417, Franklin Lakes
Einmalhandschuhe	Senseo Skin Untersuchungshandschuhe

	Naturkautschuk-Latex X-SMALL 5-5,5; medika Medizintechnik GmbH, D-95032, Hof
Hautdesinfektion	Sterilium® classic pure, HänD-Desinfektionsmittel, BODE CHEMIE HAMBURG, D-22525, Hamburg
Histoacryl®-Gewebekleber	B.Braun, AESCULAP AG, D-34212, Melsungen
Instrumentendesinfektion	Sekusept® PLUS, Für die Instrumentendesinfektion, Ecolab Deutschland GmbH, D-40789, Monheim am Rhein
Kasak	Klinikum rechts der Isar der TU München
Lochtuch	Raucodrape®, Lochtuch, 2-lagig, Lohmann & Rauscher GmbH & Co. KG, D-56567, Neuwied
Mullkompressen	Gazin® Mullkompressen 10X10cm, Lohmann & Rauscher GmbH & Co. KG, D-56567, Neuwied
Mundschutz	Sentinex® Lite, OP-Maske mit Ohrschleife, Lohmann & Rauscher GmbH & Co. KG, D-56567, Neuwied
Nahtmaterial	ETHICON VICRYL® Polyglactin 910, violett geflochten, chirurgisches Nahtmaterial resorbierbar, 4-0, RB-1 plus, 70cm, Johnson & Johnson MEDICAL GmbH, D-22851, Norderstedt
Präpariertupfer	Setpack® Präpariertupfer RK, Gr. 2, Lohmann & Rauscher GmbH & Co. KG, D-56567, Neuwied
Paladur®-Prothesenkunststoff	Paladur® für Prothesen-Reperaturen, Heraeus Kulzer GmbH & Co. KG, D-63450, Hanau
Raumdesinfektionsmittel	Bacillol®AF Gebrauchsfertige Lösung zur Desinfektion alkoholbeständiger Oberflächen (gem. BPD), BODE Chemie GmbH, D-22525, Hamburg
Silberdraht	Silber (Ag) Draht, Durchmesser: 0,25mm, Reinheit: 99,99 %, gegläht, Goodfellow GmbH, D-61213, Bad Nauheim
Stahlschrauben	Strahlschrauben, Material V2A, Maße: DIN 84, M 1,2 x 4, Hummer & Rieß, D-90409, Nürnberg
sterile Handschuhe	sempermed® supreme Operationshandschuhe-Latex-puderfrei, Gr. 6, Semperit Technische Produkte Ges.m.b.H, AT-1031, Wien
Stieltupfer	Pro-ophta® Lanzett-Stieltupfer aus Polyvinylalkohol, Lohmann & Rauscher GmbH & Co. KG, D-56567, Neuwied
Tupfer groß	Gazin® Tupfer aus Verbandmull, Gr. 3, Lohmann & Rauscher GmbH & Co. KG, D-56567, Neuwied
Venenverweilkatheter	Vasofix® Safety, 16G x 2" (1,7 x 50mm), 196 ml/min, B. Braun Melsungen AG Melsungen AG, D-34212, Melsungen
2. OP-Besteck	
Backhaus Tuchklemme	Fine Science Tools GmbH, D-69115, Heidelberg
Diamantrosenbohrkopf 0,7 mm und 1,5 mm	Aesculap AG, D-78532, Tuttlingen
Einmalskalpell	DISPOSABLE SCALPEL, STAINLESS STEEL BLADE WITH PLASTIC HANDLE, Skalpell zum Einmalgebrauch NO. 15, FEATHER, Produkte für Medizin AG, D-50996, Köln
Fadenschere	Aesculap AG, D-78532, Tuttlingen
Handbohrer	KARL STORZ GmbH und Co. KG, D-78532, Tuttlingen
Metzenbaum Schere	Fine Science Tools GmbH, D-69115, Heidelberg
Moskito-Arterienklemme	Fine Science Tools GmbH, D-69115, Heidelberg
Nadelhalter nach Hegar-Olsen	Aesculap AG, D-78532, Tuttlingen
Pinzetten chirurgisch	Aesculap AG, D-78532, Tuttlingen
Pinzetten anatomisch	Aesculap AG, D-78532, Tuttlingen

Raspatorium nach Partsch	Aesculap AG, D-78532, Tuttlingen
Scharfer Löffel	Aesculap AG, D-78532, Tuttlingen
Schraubenzieher	MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH, AT-6020, Innsbruck
Spitze Präparierschere	Chirurgische Schere, gerade, spitz/spitz Aesculap AG, D-78532, Tuttlingen
Wundspreizer nach Alm	Aesculap AG, D-78532, Tuttlingen
3. Sonstiges	
Besteckwanne	
Dokumentation (Protokolle OP-/postOP)	
Dosierungstabelle Narkose Meerschweinchen	
Heizkissen	Heizkissen HK 35, 40 x 30 cm, Beurer GmbH, D-89077, Ulm
Implantat mit 2 Elektrodenkontakten	MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH, AT-6020, Innsbruck
Isolierzange	
Isolierter Silberdraht	Silber (Ag) Draht, Durchmesser: 0,25mm, Reinheit: 99,99 %, gegläht, Goodfellow GmbH, D-61213, Bad Nauheim
Mikroskop	intralux® mr2, Volpi AG, CH-8952, Schlieren
Schermaschine	Moser AnimalLine ARCO, Typ 1854-0081, Wahl GmbH, D-78089, Unterkirnach
Sandsack	
Stethoskop	Littmann Stethoskop Classic II, 3M™ Littmann Stethoscopes, USA-MN 55128, Oakdale
Thermometer	Thermometer Domotherm®, Digital TH 1 UEBE Medical GmbH, D-97877, Wertheim
Transportbox	
Waage CS-2000	OHAUS Corp., USA-NJ , Pine Brook
C. MATERIAL TIERSTALL	
Altromin Standarddiät Meerschweinchen	Altromin Spezialfutter GmbH und Co. KG, D-32791, Lage
Einstreu	
Häuschen	
Futternäpfe	
Heu	
Nagestäbe aus Holz	
Trinkwasser	
D. MESSEINRICHTUNG	
ABR-Software: ABR by H.-J. Steinhoff 2013, Version 1.1	
Biosignalverstärker g.BSamp	g.tec, Graz, AT-8020, Graz
CI-Diagnostiksystem MED-EL MAESTRO mit MAESTRO-Software Version 4.4.1	MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH, AT-6020, Innsbruck
Diagnostic Interfacebox dib II	Universität Innsbruck, Otto Peter
Elektro-akustischen Wandler MF1	TDT, USA-FL 32615, Alachua
Impedanz-Software: GP_Imp by H.-J. Steinhoff, 2012/2013	
„Implant-in-the-box“ (Pulsar I ¹⁰⁰ - Implantat ohne Elektrodenarray)	MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH, AT-6020, Innsbruck
Industrie-PC	

Multi-I/O-Karte ME 4680 PCI	Meilhaus Electronic GmbH, D-82239, Alling
Abschwächer g.PAH	g.tec, Graz, AT-8020, Graz
E. HISTOLOGIE	
1. Chemikalien	
Aqua destillata	Apotheke des Klinikums rechts der Isar der TU München
EDTA-Citronensäure-PBS-Lösung: Titriplex 1000,0 g und Citronensäure-Monohydrat 218,75 g zu 10000 g Phosphatpufferlösung (Natriumchlorid 0,15 m (87,0 g), di-Natriumhydrogenphosphat Dihydrat 0,0028 m (4,37 g)); Lösung eingestellt mit Natronlauge 15 % auf pH 7,2 (ca. 1600 g)	Apotheke des Klinikums rechts der Isar der TU München
Eosinlösung 10 % wässrig: Eosin gelblich 55,0 g in 550,0 g destilliertem Wasser	Apotheke des Klinikums rechts der Isar der TU München
Ethanol ≥ 99.8 %	Carl Roth GmbH & Co. KG, D-76231, Karlsruhe
Formalin 37 %	Carl Roth GmbH & Co. KG, D-76231, Karlsruhe
Hämalaun-Lösung sauer nach Mayer	Carl Roth GmbH & Co. KG, D-76231, Karlsruhe
Isopropanol ≥ 99.8 %: 2- Propanol, Iso- Propanol, Dimethylcarbil, 2- Hydroxypropan	Carl Roth GmbH & Co. KG, D-76231, Karlsruhe
Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS)	gibco®, DPBS (1X) Dulbecco's Phosphate Buffered Saline, Life Technologies GmbH, D-64293, Darmstadt
Xylol ≥ 99.8 %, Dimethylbenzol	Carl Roth GmbH & Co. KG, D-76231, Karlsruhe
2. Verbrauchsmaterial	
Deckgläser 24 x 60 mm	Thermo Scientific, Gerhard Menzel GmbH, D-38116, Braunschweig
Einbettkassetten Makro 41 x 27,5 x 12 mm, Standard 40,5 x 30 x 6 mm	Carl Roth GmbH & Co. KG, D-76231, Karlsruhe
Einschlussmittel Roti®-Histokitt II	Carl Roth GmbH & Co. KG, D-76231, Karlsruhe
Färbegestell mit Drahtbügel	Carl Roth GmbH & Co. KG, D-76231, Karlsruhe
Glaskasten	Carl Roth GmbH & Co. KG, D-76231, Karlsruhe
Konisches Röhrchen, 50 ml, 30 x 115 mm	Falcon®, Becton Dickinson Labware Europe, F-38800, Le Pont De Claix
feather Microtom Klingen N 35	Produkte für Medizin AG, D-50996, Köln
Objektträger Superfrost® Plus 25 x 75 x 1,0 mm	Thermo Scientific, Gerhard Menzel GmbH, D-38116, Braunschweig
Objektträger- Kästen 76 x 26 mm	neoLab Migge Laborbedarf- Vertrieb GmbH, D-69123, Heidelberg
Paraffin 100 % Roti®-Plast	Carl Roth GmbH & Co. KG, D-76231, Karlsruhe
Pinselfarbe 4, Feinhaarmischung	Künstlerpinselfabrik DEFET GmbH, D-90431, Nürnberg
Pinzette SS Dumoxel 13,5 cm	Fine Science Tools, D-69115, Heidelberg
Tafel für Objektträger (20 Stück)	Engelbrecht Medizin- und Labortechnik GmbH, D-34295, Edermünde
3. Immunhistologische Färbung	
Anti-GAP43 antibody [EP890Y], ab75810,	Abcam Ltd, UK-CB4 0FW, Cambridge
Citratpuffer Bond™ Epitope Retrieval Solution 1	Leica Biosystems GmbH, D-69226, Nussloch
Färbeautomat BondMax	Leica Biosystems GmbH, D-69226, Nussloch
Färbekits Bond Polymer Refine Red Detection	Leica Biosystems GmbH, D-69226, Nussloch

X DANKSAGUNG

An erster Stelle danke ich Herrn Univ.-Prof. Dr. med. vet. Kaspar Matiassek für die Übernahme dieser Dissertation an der Tierärztlichen Fakultät München der Ludwig-Maximilians-Universität und für seine umfassende Unterstützung sowie stets bereichernden Anregungen. Bei ihm möchte ich mich für das in mich gesetzte Vertrauen bedanken, erlaubte es mir doch bei aller notwendigen Führung die nötigen Freiräume auszuschöpfen, die zum Gelingen dieser Arbeit beitrugen.

Den Großteil meiner Arbeit habe ich an der Hals-Nasen-Ohrenklinik und Poliklinik am Klinikum rechts der Isar der TU München angefertigt und habe dort von allen Mitarbeitern jegliche nur denkbare Unterstützung erfahren. Besonders bedanken möchte ich mich bei Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Henning Bier für die Möglichkeit, die Doktorarbeit an seiner Klinik verfassen zu dürfen. Seine Mitarbeiter haben mir immer das Gefühl gegeben, in der Klinik mit meinen Anliegen willkommen zu sein und haben mir stets in der alltäglichen Arbeit in allen Belangen gerne und mit großem Engagement zur Seite gestanden.

Ganz besonderen Dank verdienen die beiden Betreuer dieser Dissertation, Frau Dr. med. vet. Katharina Niedermeier und Herr PD Dr. med. Thomas Stark. Von Dr. Stark erfuhr ich in jeder Situation die Unterstützung, die man sich als Doktorand nur wünschen kann. Er verstand es, mit der richtigen Mischung aus fachlicher Kritik und persönlicher Zuwendung eine fruchtbare Arbeitsatmosphäre zu schaffen. Dies gilt in gleicher Weise für Frau Dr. Niedermeier, die mich von Anfang an gefördert hat und der ich unendlich viel an fachlichem Rat, beruflicher und nicht zuletzt persönlicher Entwicklung zu verdanken habe. Sie war über das eigentlich zumutbare Maß hinaus jederzeit für mich ansprechbar und als Bindeglied für MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH, Innsbruck, unersetzlich.

Von der Firma MED-EL erfuhr die Arbeit finanzielle wie auch fachliche Unterstützung. In diesem Zusammenhang möchte ich Herrn Dr. rer. nat. Sören Schilp und ganz besonders Frau Dr. biol. Susanne Braun für ihre hervorragende Hilfe in allen Belangen während der Vorbereitung, Durchführung wie auch bei der Fertigstellung der Dissertation danken.

Geradezu unschätzbar war die Unterstützung durch Herrn Dipl.-Ing. Hans-Joachim Steinhoff, ohne dessen physikalisch-technischen Sachverstand weder die Etablierung noch die Durchführung der Studie vorstellbar gewesen wäre.

Mein Dank geht auch an das histologisch-morphologische Labor mit Herrn Peter Strcelczyk und Frau Dr. rer. nat. Sybille Regn für die Unterstützung bei der Anfertigung der

histologischen Präparate, ferner an das gesamte Team des Zentrums für Präklinische Forschung am Klinikum rechts der Isar für die jederzeit umsichtige und liebevolle Betreuung der Tiere und die kollegiale Zusammenarbeit. Für die umfangreiche fachliche Unterstützung bei statistischen Fragestellungen möchte ich mich bei Frau Ina Rondak und Herrn PD Dr. med. vet. Sven Reese bedanken.

Nicht zuletzt geht mein Dank auch an Daniela, Ruth, Markus und meine Eltern für die großartige mentale Unterstützung während der Erstellung dieser Arbeit.