Aus der Klinik für Hals, Nasen und Ohrenheilkunde

der Universität zu Lübeck

Direktorin: Frau Prof. Dr. B. Wollenberg

Elektroneurographische Untersuchungen am Nervus hypoglossus des Minischweines durch Ableitung von Summenaktionspotentialen mittels Cuffelektrode

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck

- Aus der medizinischen Fakultät -

vorgelegt von
Simon Steffan Kuepper
aus Nairobi (Kenia)

Lübeck 2010

1. Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. Eckard Gehrking

2. Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. Jan Gliemroth

Tag der mündlichen Prüfung: 03.06.2010

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 03.06.2010

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung und Fragestellung 3

1.1 Tumore des oberen Aerodigestivtrakts und ihre Behandlung 3

1.1.1 Geschichtliche Entwicklung der Defektrekonstruktion nach Tumorresektion in der Mundhöhle und im Oropharynx 4

1.1.2 Der infrahyoidale Muskelfaszienlappen (IHM) und die myofasziokutane Zungenplastik 5

1.2 Funktionelle Elektrostimulation und funktionelle neuromuskuläre Stimulation als Verfahren zur Stimulation transponierter Muskellappen . 8

1.3 Fragestellung und Zielsetzung 11

2 Material und Methoden 14

2.1 Material 14

2.1.1 Versuchstiere 14

2.1.2 Elektroden 15

2.1.3 Verstärker und Aufzeichnungsgeräte 19

2.1.4 Software 22

2.2 Methoden 23

2.2.1 Anästhesie und Medikamente 23

2.2.2 Halspräparation und operative Elektrodenimplantation 24

2.2.3 Datenakquisition 29

2.2.4 Versuchsgruppen 32

2.2.5 Versuchstiere und Prozeduren 33

2.2.6 Datenanalyse 35

3 Ergebnisse 38

3.1 Maximalamplituden und relative maximale Amplitude (rmA) der Summenaktionspotentiale (SAP) des Nervus hypoglossus am Minischwein 39

3.1.1 Verlauf der SAP-Maximalamplituden nach Elektrodenimplantation 39

3.1.2 Verlauf der relativen maximalen Amplituden im Frequenzspektrum des Summenaktionspotentials nach Elektrodenimplantation 51

3.2 Frequenzspektrum 60

3.3 Elektroneurogramm und Schluckakt 65

4 Diskussion 71

4.1 Periphere Reaktionen nach Elektrodenimplantation und Neurotomie . 71
4.2 Zentralnervöse Reaktionen nach Elektrodenimplantation und Neurotomie 80
4.3 Eigene Untersuchungen 84
4.3.1 Schlussfolgerungen aus den Amplitudenveränderungen der Summenaktionspotentiale 84
4.3.2 Interpretation der Veränderungen des Frequenzspektrums . . . 92

5 Zusammenfassung **94**

6 Anhang **112**
6.1 **Diagramme der SAP Maximalamplitude in der Einzeldarstellung:** . . . 112
6.2 **Diagramme der relativen maximalen Amplitude und das Frequenzspektrum in der Einzeldarstellung:** 119

7 Danksagung **128**

8 Lebenslauf **130**

1 Einleitung und Fragestellung

1.1 Tumore des oberen Aerodigestivtrakts und ihre Behandlung

Die Behandlung von Tumoren, ganz unabhängig vom jeweiligen Fachgebiet, stellt immer eine besondere Herausforderung dar. Im oberen Luft- und Speiseweg finden sich in den meisten Fällen epitheliale Karzinome (Plattenepithelkarzinome), die in aller Regel chirurgisch entfernt werden müssen. Trotz der kompromisslosen und radikalen Tumorchirurgie der früheren Jahrzehnte haben und hatten fortgeschrittene Tumore im allgemeinen noch eine ungünstige Prognose. Für Zungenkarzinome beispielsweise, die 1/5 aller Mundhöhlenmalignome darstellen, liegt die mittlere 5 Jahresüberlebensrate zwischen 12 und 63% [13, 96]. Daher ist in der Regel ein multimodales, funktionserhaltendes bzw. funktionswiederherstellendes Therapiekonzept erforderlich, um ein bestmögliches Ergebnis für die betroffenen Patienten zu erreichen. Im Falle ausgedehnter Zungen- und Mundbodenkarzinome ist eine Kombination aus Tumorresektion mit Sicherheitsabstand und die ein- oder beidseitige Ausräumung der zervikalen Lymphknotengruppen (Neck dissection) nach Möglichkeit mit Erhalt der nicht-lymphatischen Strukturen (Nerven, Muskeln, Gefässe) notwendig und stellt zusammen mit einer postoperativen Bestrahlung des Tumorgebietes das derzeit onkologisch sicherste Therapiekonzept dar [50, 51, 78, 110].

Inevitable Folgen der Tumorresektion im Bereich der Zunge und des Mundbodens sind die Zerstörung der lokalen Anatomie mit ausgeprägtem Verlust an Schleimhaut, Muskelgewebe, nervalen und ggf. ossären Strukturen. Konsekutiv resultiert eine vom Ausmaß der Resektion abhängige Beeinträchtigung der durch diese Strukturen ermöglichten physiologischen Funktionsabläufe. Die Zunge spielt sowohl bei der Artikulation, dem Transport des Speisebreis und den verschiedenen Phasen des

Schluckaktes eine zentrale Rolle [68]. An dem äußerst komplexen Zusammenspiel der 26 einzelnen Muskelgruppen der Zunge sind 5 Hirnnerven beteiligt und machen sie zu einem einzigartigen und sehr schwer zu ersetzenden Organ [22].

1.1.1 Geschichtliche Entwicklung der Defektrekonstruktion nach Tumorresektion in der Mundhöhle und im Oropharynx

Durch moderne Rekonstruktionsverfahren wird versucht die Funktion der entweder total oder subtotal entfernten Zunge wiederherzustellen. Oft beschränkt sich die Resektion nicht allein auf die Zunge, sondern betrifft entsprechend der Tumor--ausdehnung auch den Mundboden oder auch den harten und weichen Gaumen bis hin zu Strukturen des Hypopharynx. Hieraus resultieren entsprechend der notwendigen Resektionsradikalität Störungen der oralen und pharyngealen Schluckphase [24, 41, 44]. Oft werden diese von mangelnder Mundhygiene [104], rezidivierenden Aspirationen [24, 30, 41] und/oder nasaler Regurgitation [64, 65] begleitet . Neben den protektiven Aufgaben sind aber auch die funktionellen Aufgaben wie Bolustransport und Artikulation gestört oder gar gänzlich aufgehoben.

Seit Mitte der 60er Jahre bemühen sich Kopf-Hals-Chirurgen die durch die Tumorresektionen entstehenden Substanzdefekte mit ihren Funktionseinbußen und die dadurch entstehenden Komplikationen und Nachwirkungen durch regionale Lappenplastiken zu beheben. Die Pioniere unter ihnen waren V. Bakamijan und M. Littlewood 1964 mit dem Deltopektorallappen. Die Entwicklung ging dann über gefäßgestielte myokutane Insellappen in den 70er Jahren hin zu den schon durch Seidenberg und Mitarbeiter 1959 entwickelten mikrovaskulären Transplantaten, die gänzlich neue Möglichkeiten der Wiederherstellung eröffneten. Hiermit waren Rekonstruktionen mit freien Transplantaten aus verschiedenen Spenderregionen möglich.

Diese können je nach Hebeverfahren und Gefäßversorgung aus unterschiedlichen Gewebekomponenten bestehen (Nerv/Knochen/Muskel), wodurch sich ein deutlicher Fortschritt in der rekonstruktiven Chirurgie ergeben hat, sei es bei der Wiederherstellung der Oberflächenkontinuität als auch der physiologischen Funktion. Für die Zungenteil- oder Totalrekonstruktion werden häufig die axial gestielten Lappen verwendet. Hier kommen beispielsweise seit 1979 der Pectoralis-major-Lappen (Conley 1982, Sultan 1989, Weber 1991, Gehanno und Shindo 1992, Tiwari 1993), der Masseter-Lappen (Tiwari 1987, Marhino und Maier 1991), der Latissimus-dorsi-Lappen (Quillen 1979, Rodriquez 1987, Keyserlink 1989), der Trapezius-Lappen (Gehonna 1992) und der infrahyoidale Myokutanlappen (Wang 1980/86, Rojananin 1991) in verschiedenen Modifikationen zur Anwendung. Allerdings besteht bei o.g. Verfahren das Problem, dass es durch die obligatorische Durchtrennung der motorischen Nervenversorgung zu einer postoperativen Atrophie der transferierten Muskulatur kommt, was wiederum zu einer Volumenminderung der Zungenrekonstruktion (Zungenplastik) führt.

1.1.2 Der infrahyoidale Muskelfaszienlappen (IHM) und die myofasziokutane Zungenplastik

Der IHM[1] wurde Anfang der 90er Jahre an der Lübecker HNO-Klinik durch Remmert und Mitarbeiter entwickelt [73, 74, 75, 76]. Bei dieser Methode wird die infrahyoidale Muskulatur mit ihrer Faszie an ihrem Ansatz und Ursprung am Zungenbein und Schlüsselbein desinseriert und mit dem neurovaskulärem Bündel, der A. thyroidea superior und Ansa cervicalis superficialis et profunda, als neurovaskulär gestielter Muskelfaszienlappen zum Ersatz der Zungenmuskulatur in die Mundhöhle verlagert.

[1] Infrahyoidaler Muskelfaszienlappen

Bei einer Hemiglossektomie wird ein einseitiger Muskelfaszienlappen verwendet, bei kompletter oder subtotaler Glossektomie werden beidseitige, aber getrennt verlagerte Muskellappen genutzt. Die Rekonstruktion des Epitheldefektes der Zunge und des angrenzenden Mundbodens erfolgte zu Anfang durch ein mikrovaskuläres Jejunumtransplantat, später wurde hierfür das freie Radialistransplantat eingesetzt (myofasziokutane Zungenplastik). Das Radialistransplantat bietet neben der im Vergleich zum Jejunumtransplantat geringeren Hebemorbidität zusätzlich die Möglichkeit einer Resensibilisierung durch die Anastomosierung des Transplantathautnervs (N. cutaneus antebrachii lateralis) mit dem verbliebenen sensiblen Zungennerv (N. lingualis). Dies ermöglicht ein taktiles Empfindungsvermögen der Zungenplastik [77]. Dem wird nach Urken [107] sowie Aviv und Mitarbeitern [3] eine entscheidende Bedeutung für die Artikulation und den Speisetransport beigemessen. Nach Zungenrekonstruktionen ist vor allem der Bolustransport in der Mundhöhle, das rekonstruierte Zungenvolumen und die Zungengrundmotilität als Protektionsfunktion für den Kehlkopf, im Sinne eines Aspirationsschutzes, von entscheidender Bedeutung [77]. Der infrahyoidale Muskelfaszienlappen hat den entscheidenden Vorteil, dass bei seiner Hebung und Verlagerung der versorgende Nerv nicht durchtrennt werden muss. Dadurch kann die postoperative Muskelatrophie prinzipiell verhindert werden und die Zungenplastik kann ihr Gewebe- und Muskelvolumen im zeitlichen Verlauf beibehalten. Patienten mit myofasziokutaner Zungenplastik konnten postoperativ zum Teil breiige und sogar feste Kost zu sich nehmen [77]. Die Boluslateralisation bleibt nach kompletten Glossektomien dagegen, unabhängig vom Operationsverfahren, vollständig aufgehoben. Trotz des Nervenerhalts bei gestieltem Transfer der infrahyoidalen Muskelfaszienlappen mussten Nervenschädigungen festgestellt werden. Bei vielen der so rekonstruieren Patienten zeigten sich elektromyographisch deutliche neurogene Schädigungen, die aus Sicht des Autors am ehesten auf die präparatori-

sche Manipulation der Ansa cervicalis bei der Skelettierung zurückzuführen waren [77]. Die postoperative Bestrahlung darf, trotz fehlender Daten, als mitbeeinflussender Faktor angesehen werden. Weitere funktionelle Nachuntersuchungen (Elektromyographie [EMG], elektronen-/lichtmikroskopische Histologie, Druckmanometrie) zeigten einen mehr oder minder steten Verlust an Volumen, Kontraktilität und Innervation der transponierten Infrahyoidalmuskulatur (IHM) in den ersten Monaten nach der Operation [31, 90].

Für die Funktion einer Zungenplastik ist das Volumen und die Kontraktionsfähigkeit ihrer einzelnen Muskelzellen von entscheidender Bedeutung. Beide Faktoren werden hauptsächlich durch die Anzahl und die Größe der Muskelzellen bestimmt und sind vom Funktionszustand der transponierten Muskulatur abhängig. Dieser wiederum wird in erster Linie von einer intakten Innervation bestimmt. Das Zellvolumen spiegelt dabei den metabolischen Umsatz wider und ist ein Indikator für die Vitalität der Zellen. Laut Mastaglia und Pshenisnov kommt es im transponiertem Muskel in den ersten 2-3 Wochen nach Verlagerung durch die Störung oder Unterbrechung der Nerv-Muskel-Einheit zu einer genetisch gesteuerten Degeneration mit typischen morphologischen und metabolischen Veränderungen [67, 72]. Untersuchungen 3-9 Monate nach der Operation zeigten eine Regeneration und Adaptation des Muskels an die neue funktionelle Aufgabe im Sinne einer Akklimatisation. Hatte der verlagerte Muskel jedoch seine neurogene Stimulation verloren, wie zum Beispiel bei frei transplantierten Muskeln mit Nervendurchtrennung, so schloss sich keine Regeneration an und es kam zu einer progredienten Atrophie und letztlich zum Ersatz der Muskulatur durch Bindegewebe (Involution). Dies bedingt einen deutlichen Rückgang des Zungenvolumens, was eine höhere Anzahl an Schluckakten nötig macht um die Mundhöhle zu entleeren und zeigt, dass dem Erhalt der Innervation der transponierten Muskeln eine zentrale Bedeutung für das Rekonstruktionsergebnis zukommt.

1.2 Funktionelle Elektrostimulation und funktionelle neuromuskuläre Stimulation als Verfahren zur Stimulation transponierter Muskellappen

In den letzten Jahrzehnten hat sich die funktionelle Elektrostimulation (FES) und die funktionelle neuromuskuläre Stimulation (FNS) zum Erhalt und zur Verbesserung der Neurotisation, der Stoffwechsellage und der Kontraktilität transponierter oder denervierter Muskeln bewährt [72]. Hervorgegangen sind beide Therapieformen aus der Beobachtung von Luigi Galvani, dass sich Muskel- oder Nervengewebe elektrisch reizen lässt. Erstmals 1791 in *De viribus electricitatis in motu musculari* [29] niedergeschrieben.

Unter FES verstehen wir den elektrisch ausgelösten Teilersatz oder die Unterstützung einer ganz oder teilweise verlorenen Organfunktion [52]. Das bekannteste Beispiel hierfür ist der von Chardak und Greatbatch erstmals 1960 implantierte Herzschrittmacher zur Kompensation des geschädigten Reizleitungssystems des Herzens. Komplexere Stimulationsverfahren existieren für verschiedene Organsysteme, wie z.B. die gezielte Elektrostimulation der Hüft- und Oberschenkelmuskulatur bei Patienten mit hoher Querschnittslähmung, wodurch ein aktives Aufstehen und Gehen über kurze Strecken an Gehstützen möglich geworden ist [52], bei der Zwerchfell- und Harnblasenstimulation, bei der Kardiomyoplastik, Plexusparese, Hemi- und Tetraplegie, Graziloplastik und beim Cochleaimplantat [10, 12, 16, 20, 33, 111]. Die FES gehört in vielen Neurorehabilitationzentren bereits zum Therapiestandard und ermöglicht eine deutliche Verbesserung der Rekonvaleszenz bei Verletzungen des ZNS und beugt sogar sekundären Läsionen vor [21].

FES und FNS unterscheiden sich nur gering und werden in der Literatur teilweise synonym verwandt. Bei der FES erfolgt die Reizung direkt am Effektororgan

(Muskel), z.B. durch Oberflächenelektroden, wohingegen bei der FNS der afferente und/oder der efferente Schenkel des Zielnervens stimuliert wird, um das gewünschte Ereignis auszulösen [81].

Ein aktuelles Beispiel für die FNS im deutschsprachigen Raum ist die erstmals 1999 implantierte Freehandneuroprothese [27, 80]. Einem C 5/6 Tetraplegiker wurde durch dieses Verfahren ermöglicht, die Muskulatur seiner rechten Hand selektiv durch einen Schulterjoystick zu steuern. Die Öffnung und Schließung der Hand war im so wieder möglich. Aus den anfänglichen "open loop"-Systemen mit empirisch evaluierten unidirektionalen Stimulationsparametern haben sich im Laufe der Zeit Systeme mit Rückkopplungsfunktion entwickelt. Durch physiologische oder künstliche Sensorsignale (z.B. EMG-Monitoring) werden mittlerweile die Stimulationsströme mitjustiert [5, 32]. Bei einer solchen Anordnung spricht man dann von "closed loop"-Systemen. Neueste Forschungen bedienen sich mittlerweile auch sogenannter Triggersignale, um Stromimpulse auf einen genau definierten Reiz hin zu applizieren. Zur Anwendung kommen hierbei künstliche oder natürliche Sensoren. Haugland beschrieb 1994 ein "closed loop" System mit physiologischem Sensor, bei dem ENG-Signale des N. suralis (afferent) zur Triggerung eines FNS-Systems bei Peroneusläsion eingesetzt wurden. Gleichzeitig wurde über das Signal auch eine Feedbacksteuerung ermöglicht [42, 48]. Der Hautkontakt am lateroplantaren Fuß während des normalen Abrollens bewirkt die Generierung eines afferenten Nervensignals. Dieses wird von den physiologischen Hautsensoren generiert und wird durch eine am Nervus suralis implantierte Cuffelektrode abgeleitet und initiiert nach elektronischer Verarbeitung die elektrische Stimulation des Musc. tibialis anterior und der Peroneusgruppe über Oberflächenelektroden. Der Stimulationszeitpunkt wird dabei an die Stand- und Schwungphase des betroffenen Beines angepasst und ermöglicht so ein schnelleres und sicheres Gehen. Die Signalverarbeitung von afferenten Nerven ist

mittlerweile so sensitiv geworden, dass sogar ein rutschendes Glas in der Hand eines Tetraplegikers über die Signale der Hautnerven erfasst werden kann und zu einem festeren Griff der FNS-stimulierten Hand führt [43]. Moderne Signalanalyseverfahren bedienen sich mittlerweile verschiedenster Algorithmen zur feineren Diskreminierung der Biosignale und machen eine Filterung und Signalanalyse sogar bei gemischten bzw. stimulierten Nerven oder Muskeln möglich und bereiten so den Weg für neue Applikationsformen[106].

Hoffer proklamierte 1996, dass die FNS in naher Zukunft alleinig über das ZNS gesteuert werden könnte. Dies wird durch die letzten Ergebnisse von Donoghue et al. [23, 46, 54, 70, 105] in der "BrainGate"-Forschung unterstützt. Das "BrainGate" besteht aus einem vier Millimeter im Quadrat großen elektronischen Chip, der 100 haarfeine Elektroden enthält und im Motorkortex implantiert wird. Die Elektroden des Chips registrieren die elektrische Aktivität der Kortexzellen, etwa bei der Absicht, die rechte Hand zu öffnen, ein für diesen Wunsch charakteristisches Aktivitätsmuster der Neuronen. Dieses Muster wird dekodiert und von einer Signalverarbeitungseinheit über Leitungen an eine rechtsseitige Armprothese weitergegeben. Das Ergebnis war, daß der Patient, obwohl völlig gelähmt, die Hand dieses künstlichen Arms öffnen konnte.

Das System wurde erstmals im Sommer 2006 an einem 25-jährigen Patienten erprobt, der seit fünf Jahren vom Hals an gelähmt war. Ihm gelang es mit dem System die für bestimmte Bewegungen relevanten Aktionen zu erlernen und beispielsweise den Cursor über den Bildschirm eines Computers zu lenken und damit etwa E-Mails abzurufen oder den Fernseher einschalten und die Programme auszuwählen. Diese spektakulären Ergebnisse einer Übertragung willensabhängiger Handlungen vom Menschen auf Maschinen eröffnen Raum für weitere Forschungen und Spekulationen im Feld der rehabilitativen und rekonstruktiven Medizin.

1.3 Fragestellung und Zielsetzung

Die Lübecker Methode der myofasziokutanen Zungenplastik unter Verwendung des neurovaskulär gestielten infrahyoidalen Muskelfaszienlappens hat deutliche funktionelle Verbesserungen in der rekonstruktiven Versorgung von Patienten mit Zungenkarzinomen erreicht. Doch trotz erhaltener Integrität der transponierten Nerv-/Muskeleinheit und damit der physiologischen Stimulation sind neurogene Schädigungen in den Kontrolluntersuchungen festzustellen, die im variablen Ausmaß zu einer Atrophie der Muskulatur und damit auch zur Atrophie der Zungenplastik führen. Es stellt sich somit die Frage, ob durch eine funktionelle neuromuskuläre Stimulation der Zungenplastik ein Erhalt der Muskelmasse, Kontraktilität und Motilität erreicht werden kann. Im Falle einer totalen Glossektomie muss der motorische Zungennerv (N. hypoglossus) am Übergang zur Zunge durchtrennt werden, der proximale Anteil bleibt aber erhalten. Hier stellt sich die Frage, ob von diesem Nervenstumpf ein stabiles ENG abzuleiten ist und ob dieses als Triggersignal für eine funktionelle Stimulation der Zungenplastik verwendet werden kann.

Ziel der vorliegenden Arbeit war als Grundlage aller weiteren Studien eine verlässliche Technik zur der Elektrodenimplantation am Tiermodell zu erarbeiten. Als Fernziel sollte eine FNS einer Neozunge am Tiermodell erarbeitet werden. Zentrales Thema der Arbeit in diesem ersten Stadium war es eine Methode zur konstanten und stabilen Ableitung von Summenaktionspotentialen des Nervus hypoglossus am Schwein zu etablieren. Die wesentlichen Punkte und Ziele lauten wie folgt:

- Tiermodell
  - Entwicklung und Standardisierung einer geeigneten operativen Implantationstechnik für Nerven- und Muskelelektroden am Minischwein.

  - Erarbeiten einer praktikablen Lösung für die perkutane Ausleitung der Elektrodenkabel.
  - Stabile Langzeitableitung der SAP[2] und des Zungen-EMG[3] am intakten und neurotomierten Nervus hypoglossus.

- Signalanalyse
  - Auswertung der Daten bezüglich der Veränderungen der Amplitudengröße und des Frequenzverhalten im Langzeitversuch.
  - Korrelation des SAP mit dem Schluckakt.

Nach erfolgreicher Basisarbeit könnte als Fernziel die Forschung mit der Entwicklung einer FNS zur Stimulation der Neozunge fortgesetzt werden. Der Aufbau einer hypoglossus-getriggerten FNS könnte dann wie folgt aussehen (siehe Abb. 1):

1. Ableitung von Summenaktionspotentialen auf Höhe des extrakraniellen Hypoglossusstumpfes durch Nervenelektroden (A).
2. Analyse, Filterung und Verarbeitung des Nervensignals durch implantierbare Soft- und Hardware (Verstärker).
3. Die Stimulation erfolgt über die Ansa cervicalis oder direkt über Muskelelektroden in die Infrahyoidalmuskulatur (B).

Bei erfolgreicher Umsetzung des theoretischen Modells wäre kurze Zeit nach Abklingen des akuten Wundschmerzes eine Konditionierung der transponierten IHM möglich. Mit dem Erhalt der Muskelmasse und den positiven Effekten für den Stoffwechsel und die Neurotisation sowie der Förderung der Nervenregeneration könnte die postoperative Rehabilitation deutlich verkürzt werden. Da die Stimulation

[2] Summenaktionspotentiale
[3] Elektromyogramm

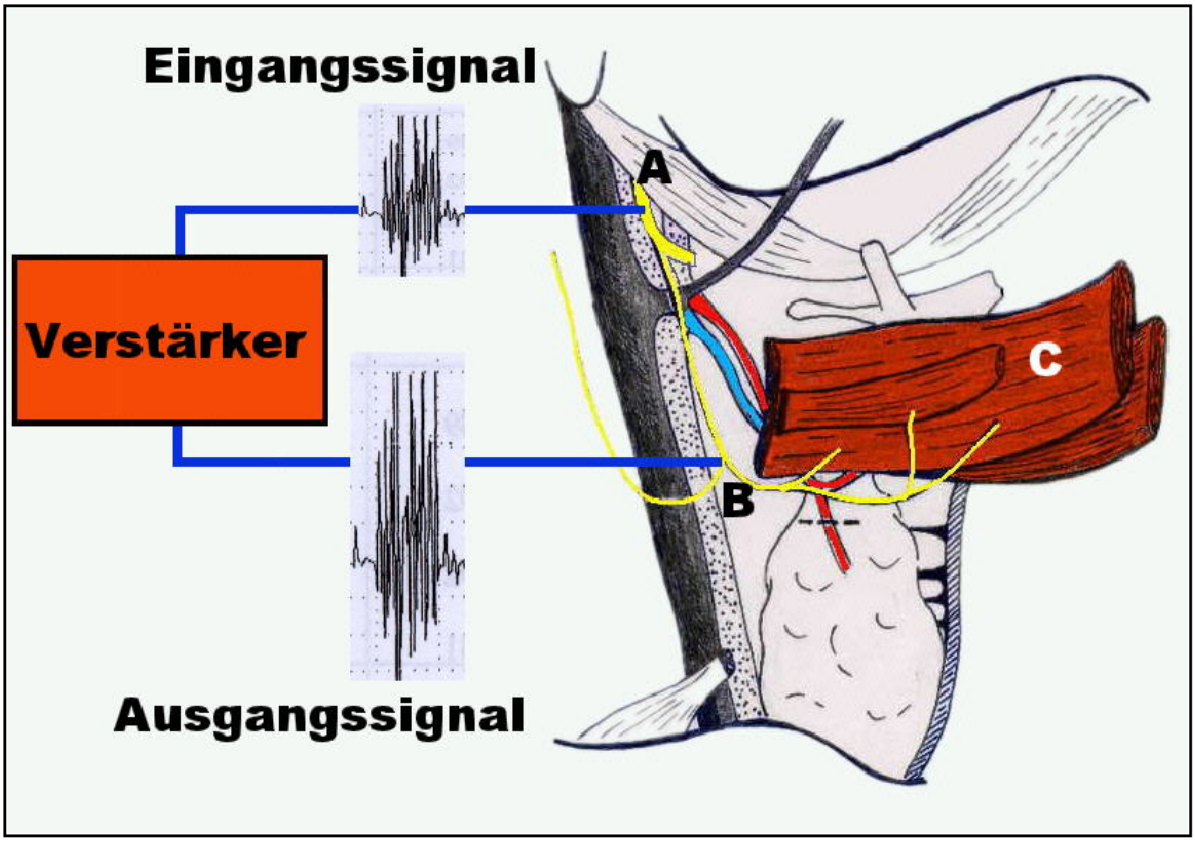

Abbildung 1: Theoretisches FNS Modell am Menschen mit Signalaufnahme am Nervus hypoglossus (A) und Stimulation des infrahyoidalen Muskelfaszienlappens (C) über die Ansa cervicalis (B). Erläuterung im Text.

und der Gebrauch der Zungenplastik über physiologische kortikale Bahnen erfolgen würde, ist eine schnelle Lernkurve zu erwarten. Für die Boluskontrolle, für den Schluckakt, für die Protektion der oberen Luftwege und auch für die Artikulation sind hierdurch deutliche Vorteile für den Patienten zu erwarten. Zudem ist aufgrund des FNS-Aufbaus auch nach totaler Glossektomie durch getrennte bilaterale Stimulation eine Lateralisation der Zungenplastik theoretisch möglich. Dies konnte bisher durch keine der anderen Rekonstruktionsverfahren realisiert werden.

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Versuchstiere

Im Rahmen dieser Doktorarbeit wurden insgesamt 12 weibliche, ausgewachsene Göttinger Minischweine operiert. Die Tiere hatten zum Zeitpunkt ihrer ersten Operation ein Durchschnittsgewicht von 34,4 kg (26-48 kg). Die Durchführung der Tierversuche mit der Tierversuchsnummer X 330a-7224.121-11 wurde am 11.9.1996 bzw. am 01.03.2002 mit der Tierversuchsnummer V 252-7224.121-11(18-2/02) seitens des Ministeriums für Umwelt, Natur und Forsten von Schleswig-Holstein genehmigt. Auf die Bestimmungen des §8 Abs. 1 des Tierschutzgesetzes in der Fassung der Bekanntmachung vom 25.05. 1998 (BGBI. I. Seite 1105) wurde geachtet.
Die Versuchstiere wurde veterinärmedizinisch in der gemeinsamen Tierhaltung der Medizinischen Universität Lübeck durch Dr. med. vet. R. Noël und Mitarbeiter betreut und regelmäßig durch einen Tierschutzbeauftragten des Regierungspräsidiums in Kiel begutachtet.
Am Ende der Versuche wurde in Anästhesie durch intravenöse Gabe von T61® der exzitationslose Herztod herbeigeführt (siehe auch Kapitel 2.2.1). Die Kadaver der Versuchstiere waren aufgrund der Bestimmungen des „Tierische Nebenprodukte-Beseitigungsgesetzes“ (TierNebG) andienungspflichtig und wurden zuletzt einer Tierkörperbeseitigungsanlage zugeführt.

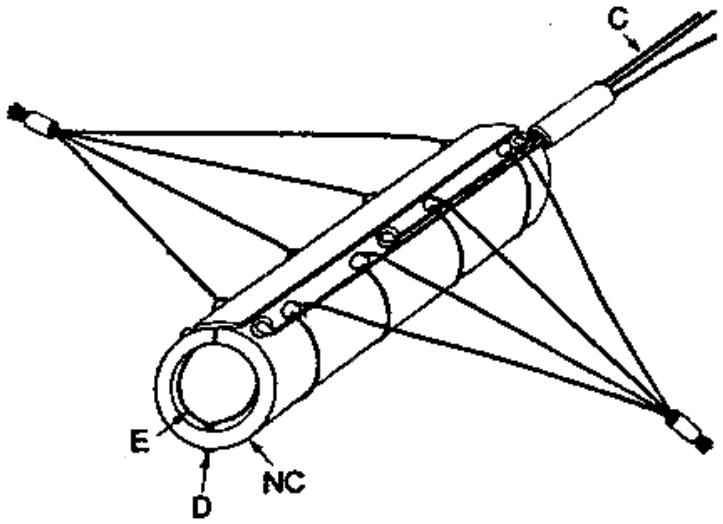

Abbildung 2: Cuff Elektrode: e) Platinfolie d) Silikonmanschette, NC) Referenzelektrode, c) Elektrodenkabel

2.1.2 Elektroden

Nervenelektroden:

Die Registrierung der Summenaktionspotentiale (SAP) wurde mit so genannten Cuff-Nervenelektroden (Manschettennervenelektroden) durchgeführt. Die Maßanfertigung erfolgte durch Ph.D. M. Haugland (Associate Professor, Center for Sensory-Motor Interaction, Aalborg University, Denmark). Die Innendurchmesser variierten dabei von 2,5 bis 5 mm. Da nach der Präparation und dem Aufbringen der Cuffelektrode unweigerlich eine Schwellung des Axons auftritt, wurden Cuffelektroden mit um jeweils 1/3 größeren Durchmesser implantiert als die jeweiligen Nervus hypoglossus-Diameter. Dies sollte dem Risiko einer Autokompression/-strangulation in der Elektrodenmanschette verhindern. Die einzelnen Platinfolien wurden mit teflonummantelten Kabeln (AS 634, Cooner Wire Cooporation) verlötet (siehe Abb.2). An deren Ende wurde eine Miniaturbuchse gelötet, um den extrakorporalen An-

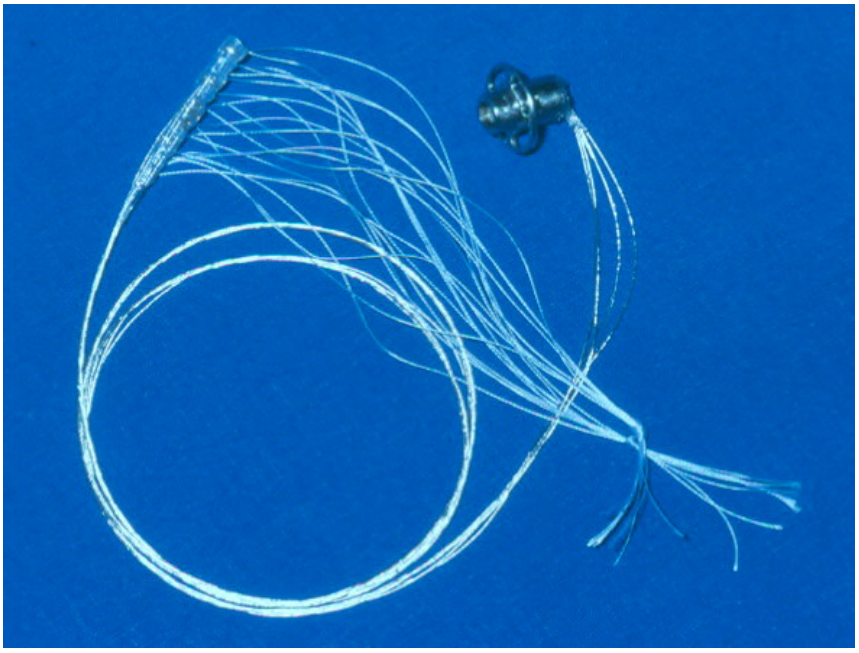

Abbildung 3: Pentapolare Elektrode mit Kabeln und Ableitungsbuchse.

schluss an die Verstärkerkabel zu ermöglichen. Zu Anfang wurden pentapolare Cuffelektroden mit 30 mm Manschettenlänge benutzt (Abb. 3). Da diese im Verhältnis zum präparierbaren Hypoglossusnerven zu lang waren, ergaben sich Probleme bei der Implantation. In der Folgezeit wurden deswegen ausschließlich tripolare Cuffelektroden mit 20 mm Länge verwendet (Abb. 4). Zur Vermeidung mechanischer Schäden und einer eventuellen Fremdkörperreaktion am NH durch die Cuffelektrode wurde in einer der späteren Versuchsreihen die Cuffelektrode mit einem Perichondriumtransplantat ausgefüttert. Das autologe Transplantat wurde jeweils von der Ohrmuschelrückseite des Schweines entnommen. In diesen Fällen wurden entsprechend größere Cuffdurchmesser verwendet (4,0 bis 5,0 mm).

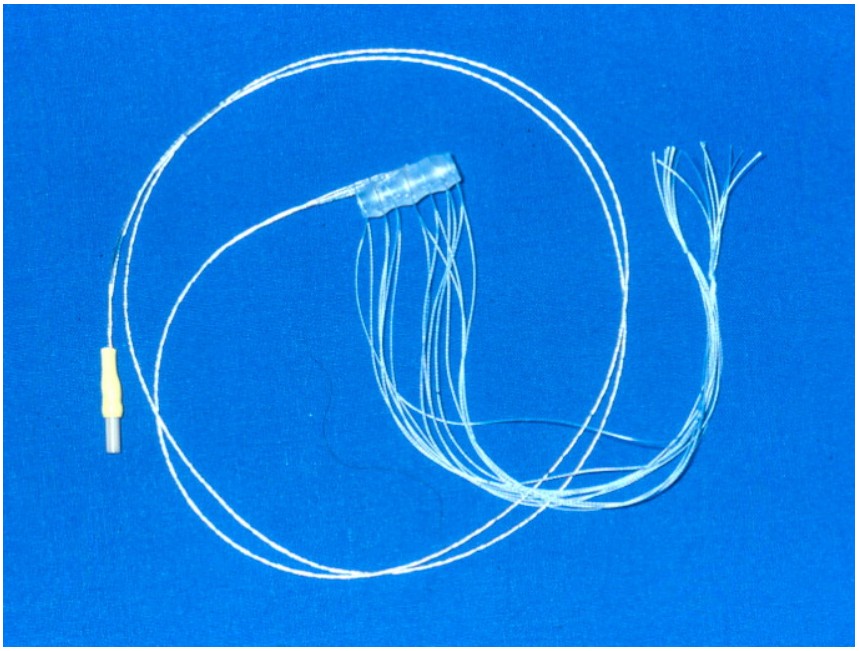

Abbildung 4: Tripolare Elektrode mit Kabeln und Miniaturstecker in der Gesamtansicht.

Muskelelektroden:

Die Aktionspotentiale der Zungengrundmuskulatur wurde über temporäre Herzschrittmacherelektroden (Firma Medipoint, Hamburg / Deutschland) abgeleitet. Die monopolaren Elektroden waren mit Nähten armiert, um sie sicher in der Muskulatur zu fixieren (Abb. 6). Zur Verbindung mit dem Verstärker wurden die zuvor genannten Kabel und Buchsen verwendet.

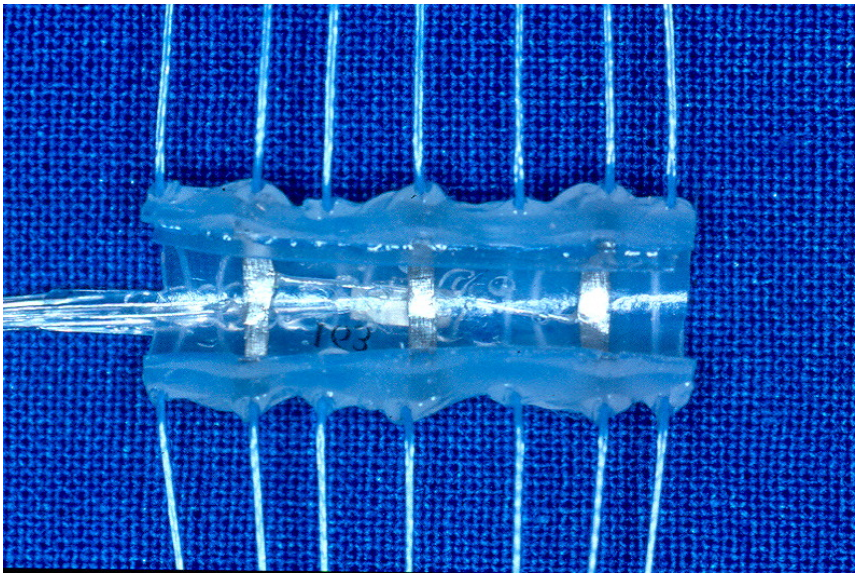

Abbildung 5: Aufgespannte tripolare Elektrode in der Nahansicht der Cuffinnenseite mit Platinfolienelektroden.

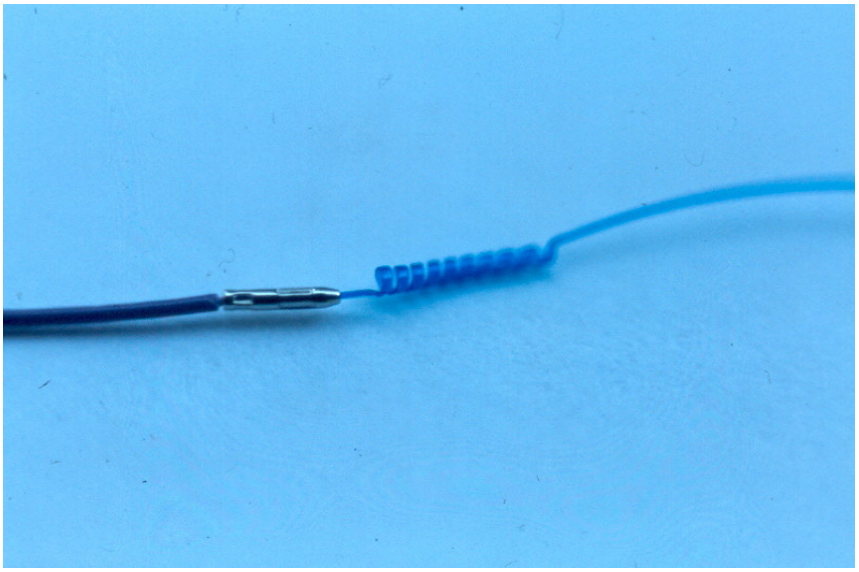

Abbildung 6: Monopolare EMG-Elektrode mit Armierung.

2.1.3 Verstärker und Aufzeichnungsgeräte

Verstärker V1:

Um die sehr kleinen ENG-Signale messen zu können musste ein 2-Kanal-Verstärker entwickelt werden, da die auf dem Markt erhältlichen Verstärker den spezifischen Anforderungen nicht genügten. Die Realisierung erfolgte durch das Ingenieurbüro MZI, Lübeck / Deutschland. Die Verstärker wurden als potentialfreie, galvanisch voneinander isolierte Stufen gebaut. Zur Stromversorgung dienten Akkumulatoren,

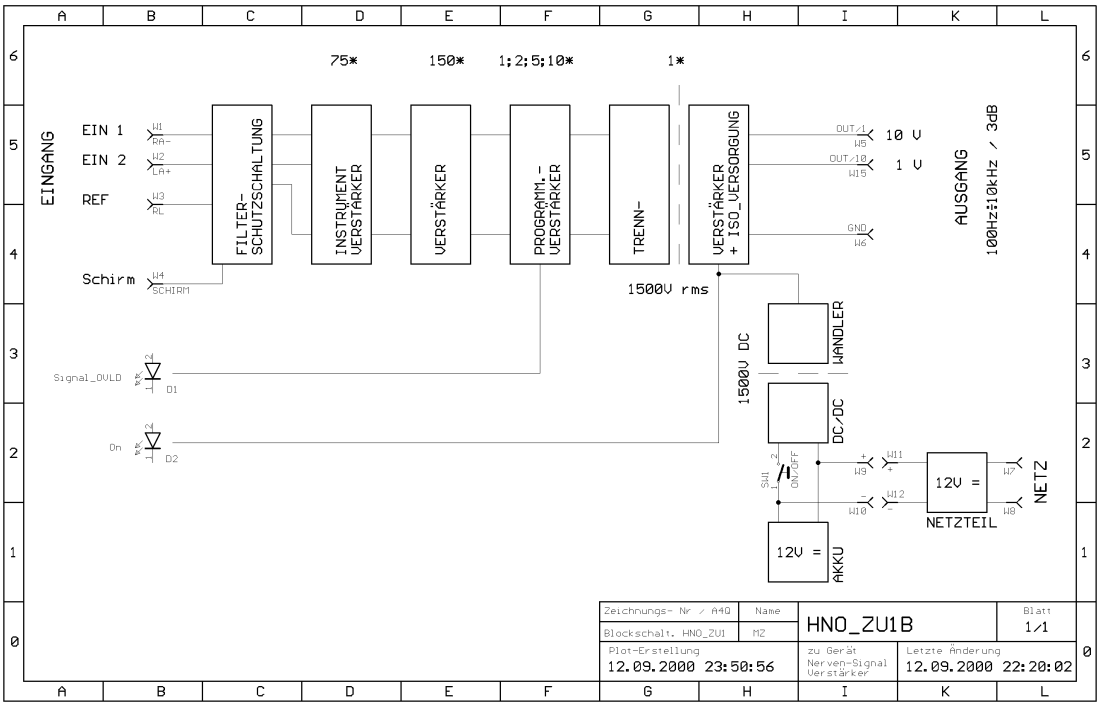

Abbildung 7: Schema des Verstärkers

welche eine möglichst störungsfreie Verstärkung der Signale ermöglichten. Die Verstärkung war in Stufen regelbar wobei ein Verstärkungsfaktor von 1125 bis 112500 in Zehnerpotenzen wählbar war. Die Verstärkung erfolgte mit einem Differentialein-

gang wodurch die Signalquelle (Nerv / Muskel) bei Messungen nur minimal belastet wurde mit einer Bandbreite von 100 Hz-10 kHz / -3 dB. Der Eingangswiderstand betrug 20 MOhm, am Ausgang 1 kOhm (±10Vpp/± 1Vpp) (Abb. 7 und 8). Die ENG-Signale durchliefen vor der Verstärkung einen 1-kHz / 20dB-Hochpassfilter um eine Überlagerung durch amplitudenstärkere EMG-Signale zu verhindern.

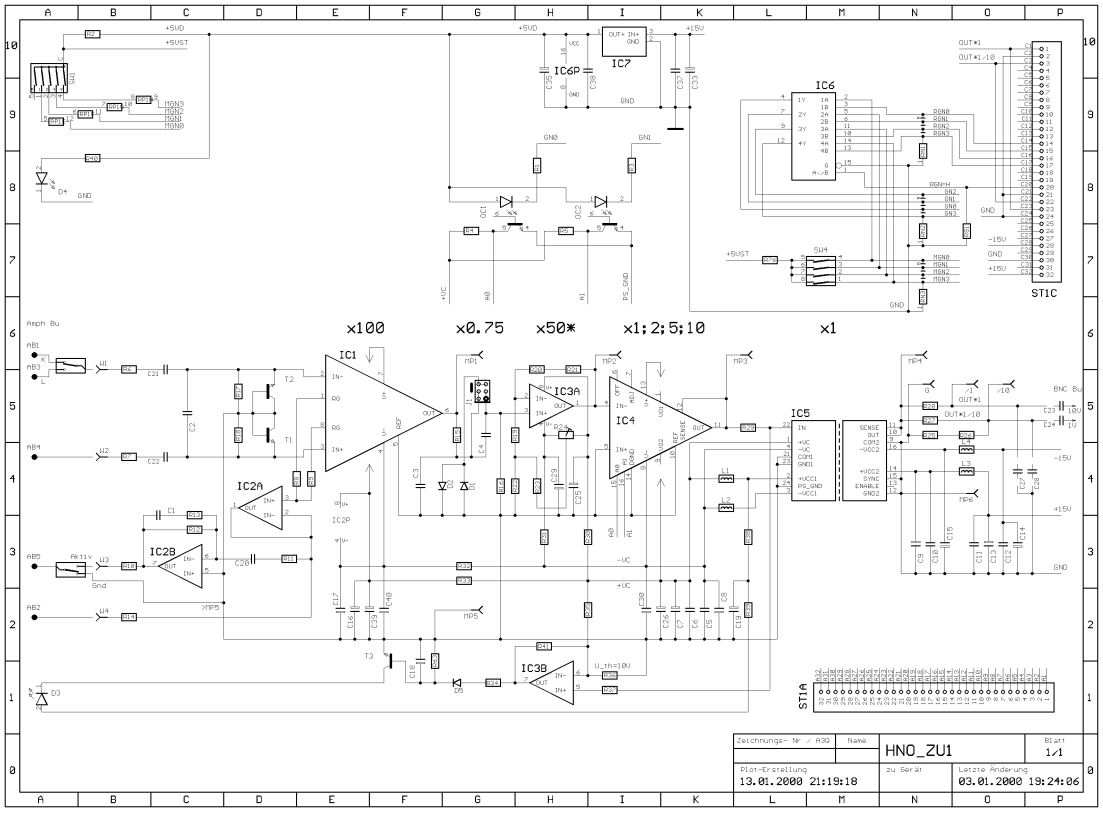

Abbildung 8: Schaltplan des Verstärkers

Analoges Magnetbandgerät "Bell & Howell CR 3000":

Für die Aufnahme und Wiedergabe der SAP des Nervus hypoglossus und der Ansa

cervicalis sowie der EMG-Signale wurde ein tragbares analoges Magnetbandgerät der Firma Bell und Howell verwendet (CR 3000). Hierdurch wurde eine preiswerte, aber qualitativ sehr hochwertige Speicherung der sehr großen Datenmengen auf Audiokassetten möglich. Über das Gerät wurden die beiden Signalkanäle parallel gespeichert. Zusätzlich wurde noch ein Kommentarkanal zur zeitlichen Zuordnung besonderer Ereignisse genutzt.

Digitalisierungskarten GageScope® und Terratec® 24/96:

Zur Digitalisierung der NH-Signale in das Format ASCII[4] wurde die Digitalisierungskarte der Firma "Gagescope®" verwendet. Sämtlichen Analysen der Summenaktionspotentiale wurden über dieses Dateiformat vollzogen. Zusätzlich wurde mittels kommerzieller Audiokarte (Terratec® 24/96) in das Format "WAV"[5] digitalisiert. Digitalisiert wurde jeweils mit einer Samplingrate von 22 kHz pro Kanal. Auf diese Weise wurde ein Datensatz erstellt, der ein Frequenzspektrum von 0 bis 11 kHz umfasste. Dies war zur Erfassung der Nervensummenaktionspotentiale bei tripolarer Ableitung notwendig, welche sich zwischen 1 und 6 kHz ausprägen. Für jeden Aufzeichnungstag wurden spezifische Abschnitte der analogen Rohdaten ausgewählt. Um möglichst reine Datensätze der ENG-Signale digitalisieren zu können wurde das Signal vor der Digitalisierung hochpassgefiltert. Hierzu wurde ein 1 kHz-Hochpassfilter (40 dB pro Dekade) angeschlossen. Für EMG-Signale wurde zunächst ein 1 kHz-Tiefpassfilter 4.Ordnung, später ein 400 Hz TP-Filter 8.Ordnung verwendet.

[4] American Standard Code for Information Interchange
[5] Containerformat zur digitalen Speicherung von Audiodaten

2.1.4 Software

Origin® 07

Die digitalisierten SAP in Form von ASCII-Dateien wurden mit dem Origin® 7 Datenanalyseprogrammm bearbeitet (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA). Nach graphischer Darstellung der ENG- bzw. EMG-Signalamplituden wurde eine statistische Berechnung der ermitteltenTabellenwerte durchgeführt. Die grafische Darstellung der Ergebnisse erfolgte ebenfalls über Origin®.

Spectrogram® 08

Spectrogram® stellt mittels mathematischem Algorithmus (Fast-Fourier-Transformation (FFT)) ein Signal entsprechend seiner Einzelsignalstärken im Frequenzspektrum als Funktion in Abhängigkeit von der Zeit als fortlaufenden Graphen dar. Spectrogram® (Visualization Software LLC by Richard Horne) diente der direkten Begutachtung und Kontrolle der SAP in vivo. Es erlaubte auch die visuelle Betrachtung der aufgezeichneten Analogdaten (Kassette) bei der Suche nach für die Analyse geeigneten Abschnitten und die Darstellung der digitalisierten Wave-Dateien bei der Korrelation von ENG- und EMG-Signalen durch eine wählbare 2 Kanal-Darstellung.

WaveLab® 4

WaveLab® (Steinberg Media Technologies GmbH, Hamburg, Deutschland) ist ein kommerzielles, professionelles Audioeditingprogramm aus dem Studiomusikbereich. Es diente der möglichst verlustfreien Bearbeitung der Wave-Signale. Dies beinhaltete das digitale Filtern und Schneiden der Dateien. Auch bot das Programm eine FFT-Funktion, bei der eine Darstellung des Spektrums und der Amplitudenhöhe im zeitlichem Verlauf als 3D-Graph möglich war, welche zur Korrelation von ENG und EMG genutzt wurde.

2.2 Methoden

2.2.1 Anästhesie und Medikamente

Im Rahmen der Narkosevorbereitung wurden bei allen Tiere eine präoperative Nüchternheitsgrenze von 6 h eingehalten. 30 Minuten präoperativ wurde ein gewichtsadaptiertes Gemisch aus 50-100 mg Ketamin, 0,5 mg Atropin, 5-10 mg Midazolam und 1-3 ml Rompun® 2% injiziert. Das Gemisch wurde intramuskulär in die Regio retroauricularis am Nacken appliziert, da hier die Haut für eine komplikationslose Punktion am dünnsten war. Nachdem die Tiere vollständig narkotisiert waren, wurde ein venöser Zugang geschaffen, in der Regel an der Ohrrückseite. Zur Fortführung der Narkose wurde einem Gemisch aus 250 mg Ketamin, 5 mg Midazolam und 1-3 ml Rompun® 2% auf 50 ml NaCl 0,9% Trägerlösung verwendet. Die Narkose wurde über einen Perfusor (mit 50-120ml/h i.v.) gesteuert. Somit war eine intubationsfreie Narkose in Spontanatmung möglich, die von allen Tieren ohne Zwischenfall toleriert wurde.

Die Tiere wurden in Rückenlage operiert und dabei auf Schaumstoffkissen gelagert.

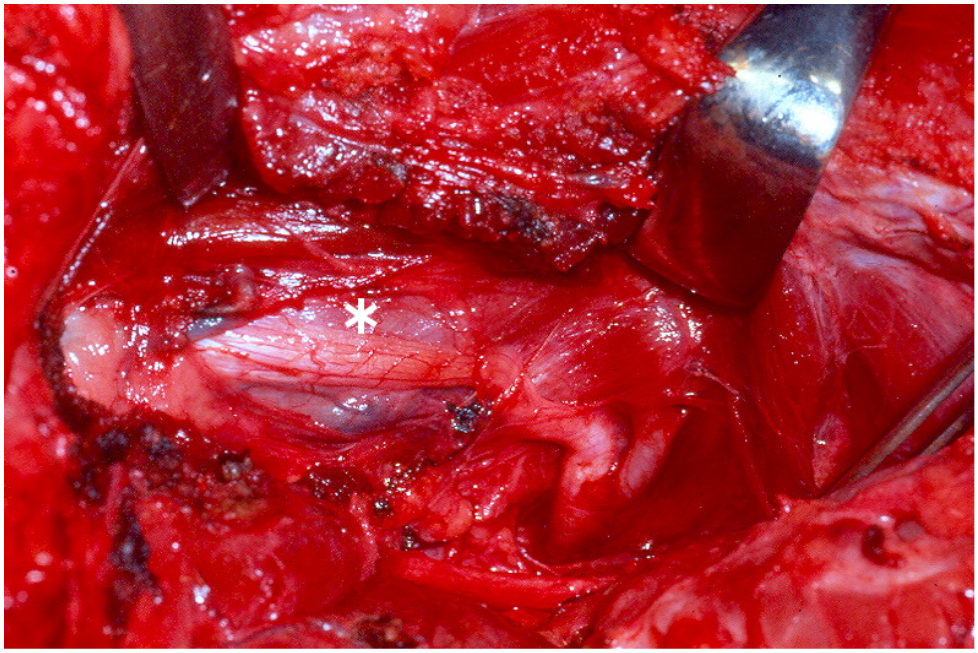

Abbildung 9: Operative Darstellung des rechten Nervus hypoglossus (Sternchen).

Die Extremitäten wurden über Gurte fixiert. Wegen der Op-Dauer von 1,5 - 3 h wurden die Tiere mit einem Heizkissen vor einer Hypothermie bewahrt. Zur Antibiose wurden neben einer „single shot“-Antibiose mit 1 mg Ceftriaxon / 25 Kg KG, ab dem ersten postoperativen Tag eine systemische Infektionsprophylaxe mit monatlicher i.m. Injektion von 1,2 Mio I.E. Tardocillin durchgeführt. Zur postoperativen Analgesie erhielten die Tiere initial 3-2 x 50-100mg Tramadol p.o. bzw. 1-2 g Novaminsulfon i.v. für 2-4 Tage.

2.2.2 Halspräparation und operative Elektrodenimplantation

Die Operation wurde mit einem bogenförmigen Schnitt zwischen den Kieferwinkeln begonnen. Anschliessend wurden der Musculus styloauricularis, die Infrahyoidalmuskulatur (Musculus sternohyoideus) und der Musculus mylohyoideus im kranialen An-

teil freigelegt. Die Glandula parotis und die Glandula mandibularis wurden dann von der seitlichen Infrahyoidalmuskulatur getrennt. In diesem Faszienraum wurde in der Tiefe der Processus paracondylaris und der Musculus digastricus dargestellt. Dieser ist der Leitmuskel für den Nervus hypoglossus, welcher dann bis in die Mundbodenmuskulatur weiterverfolgt wurde (Abb. 9). In dieser Region war die Unterkreuzung der Vena linguofacialis zu beachten. Proximal wurde der Nerv von der Arteria carotis interna und der Vena jugularis interna begleitet. Nach langstreckiger Isolierung des Zungennervens wurde die Cuffelektrode eingebracht und vollständig um den Nerven herum verschlossen (Abb. 10).

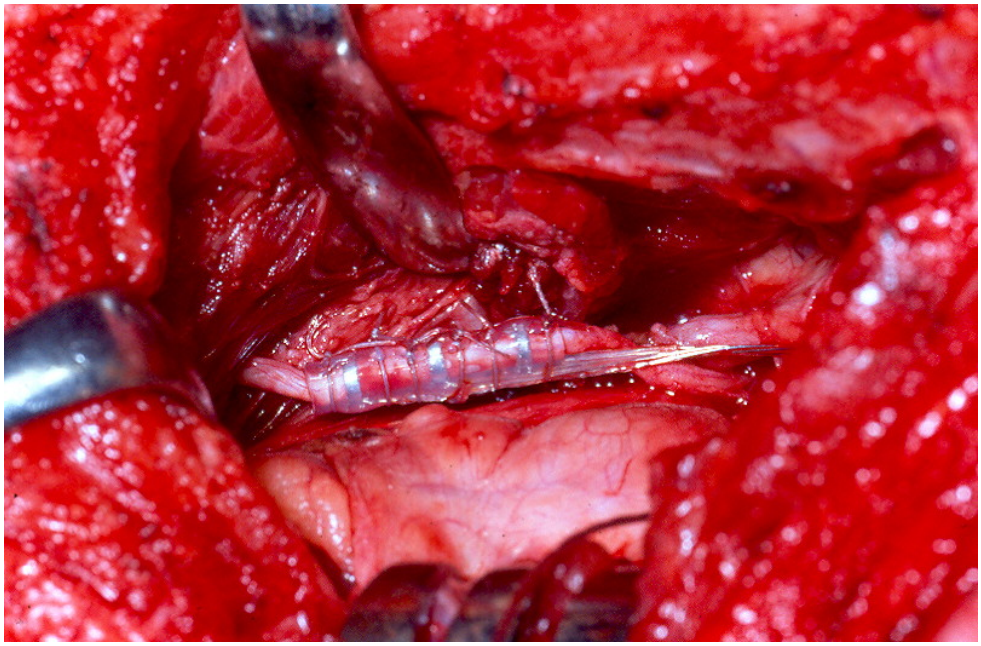

Abbildung 10: Abgeschlossene Cuffimplantation am rechten Nervus hypoglossus.

In der Gruppe II wurde in gleicher Weise vorgegangen. Zusätzlich wurde ein Perichondriumtransplantat zum Schutz des Nervens vor mechanischen Einflüssen zwischen Nerv und Elektrodeninnenseite platziert. Das Perichondrium wurde von der

Ohrmuschelrückseite des jeweiligen Schweins, als autologes Transplantat, entnommen. Damit wurde versucht, die bei den Nerven der Gruppe I beobachteten mechanischen Schäden, sei es durch axiale Gleitbewegungen oder Zug, zu verringern oder gar zu vermeiden. Zu diesem Zweck wurde das Transplantat rechteckig zurechtgeschnitten und als schützende Manschette in die Elektrode eingepasst. Das Transplantat war etwas länger als die longitudinale Innenseite und stand ca. 1-1,5 mm an den Rändern über (Abb. 11). Die so ausgekleidete Nervenelektrode wurde dann

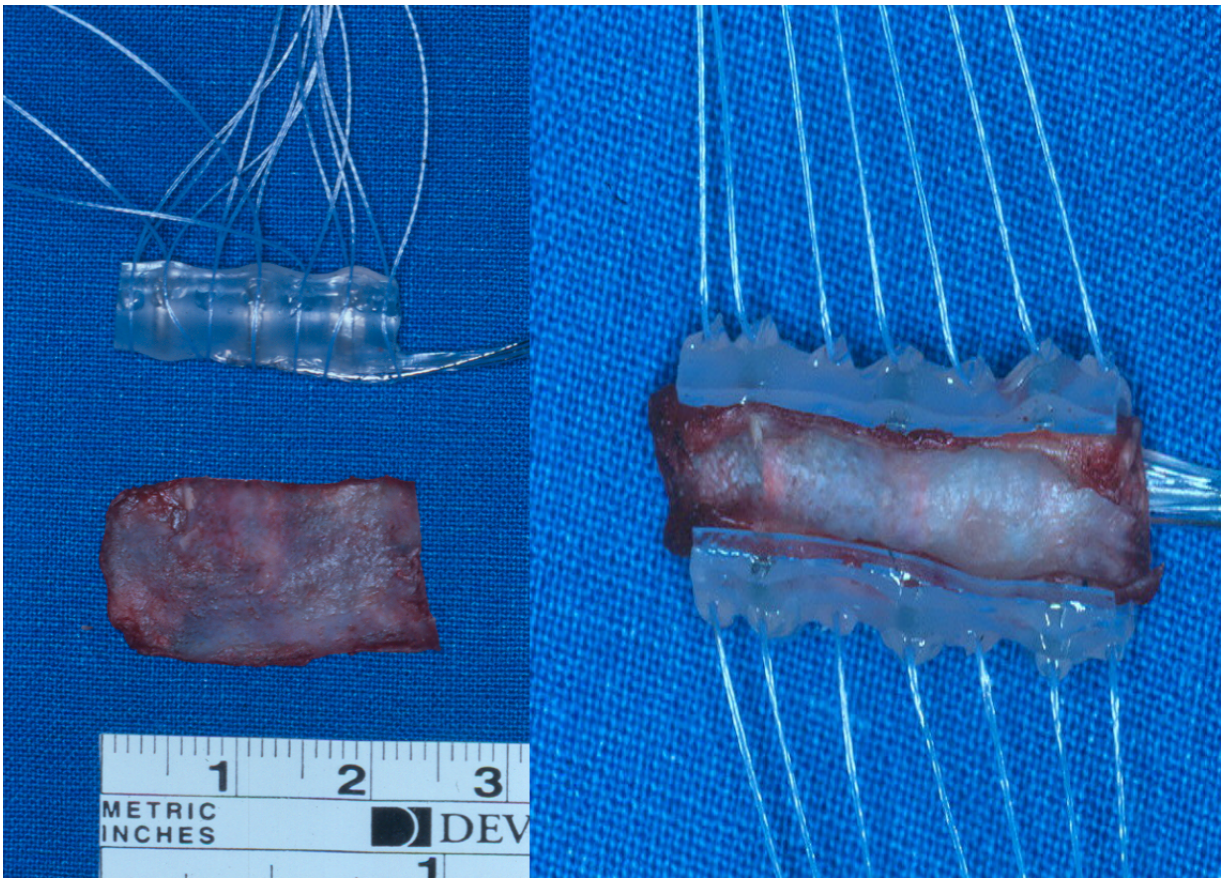

Abbildung 11: Links: Perichondriumtransplantat und Elektrode. Rechts: Perichondriumauskleidung des Cuffs mit dezentem Überstand des Transplantates proximal und distal.

an den NH[6] angelegt und mit umgreifenden Einzelknopfnähten verschlossen. Auf die geringst mögliche Kompression des Nervens wurde geachtet. In den Versuchsgruppen Ib und IIb wurde in gleicher Sitzung nach Elektrodenimplantation eine Neurotomie durchgeführt. Der NH wurde unilateral auf Höhe der Mundbodenmuskulatur durchtrennt und der proximale Nervenstumpf in die Infrahyoidalmuskultur eingenäht (6-0 PDS-Epineuralnähte, siehe Abbildung 12). In der Versuchsreihe Ic und IIc wurde im

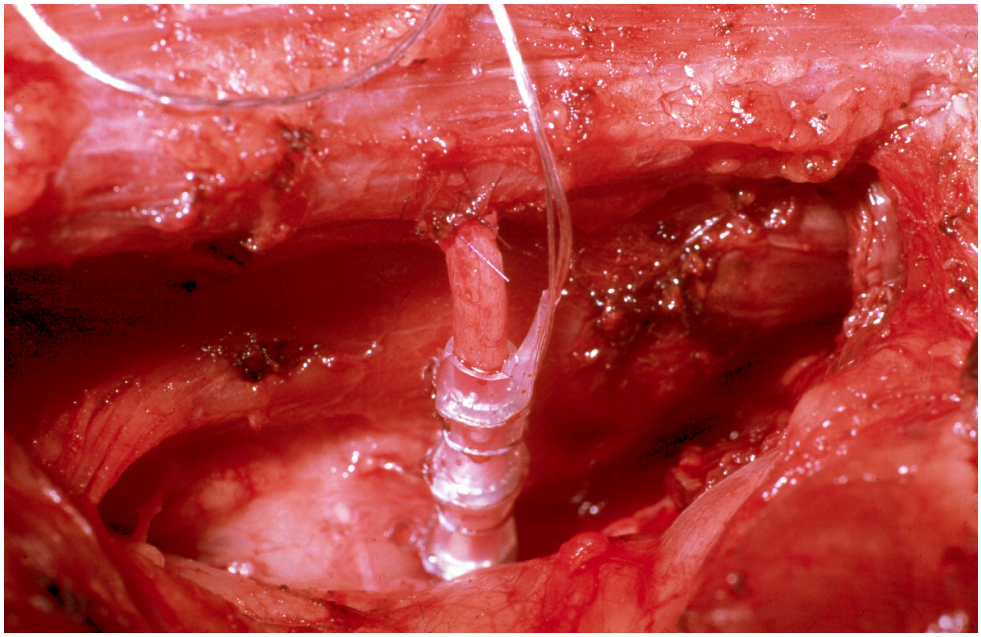

Abbildung 12: Abgeschlossene Cuffimplantation am neurotomierten Nervus hypoglossus und epimuskuläre Einnaht des Nervenstumpfes.

Intervall in einer zweiten Operation neurotomiert.

Die Elektrodenkabel wurde initial über eine am ventralen Hals intrakutan fixierter Steckerbuchse ausgeleitet (Abb. 13).

Diese Methode erwies sich jedoch als ungeeignet. Das Fremdkörpergefühl, respektive das Jucken beim Heilungsprozess, animierte die Tiere an den Buchsen zu scheuern

[6]Nervus hypoglossus

Abbildung 13: Oben: Steckerbuchse (alt) mit Verschlusskappe. Unten: Konnektiertes System bei der Datenerfassung.

und zu reiben, was zu Elektroden-, Kabeldefekten oder Infektionen führte. Diese Technik wurde daher verlassen. Um das Infektionsrisiko zu verringern, wurde auf größere Hautdefekte und auf die Steckerbuchsen verzichtet. Stattdessen wurde unilateral rechts, ein subkutaner Tunnel zwischen ventralem Hals und Nacken geschaffen. Über diesen wurden alle Ableitkabel subkutan um den Hals herumgeführt und dorsal transkutan über einen kleinen Hautschnitt ausgeleitet und mit einer Annaht an der Haut fixiert. Mittels Dermabond® wurde der Kanal auf Hautniveau versiegelt. Die hier geschaffene Austrittsstelle blieb den Schweinen für Manipulationen weitestge-

hend unerreichbar. Das Infektionsrisiko, die Schäden an den Kabeln und das störende Fremdkörpergefühl für die Schweine konnten so auf ein Minimum reduziert werden. Zur Aufnahme der Kabel und zum Schutz vor Verunreinigung der Buchsenöffnungen wurde ein kleines, flaches, selbst hergestelltes Stofftäschchen mit transkutanen Nähten vor Ort platziert (Abb.14). Zur bipolaren Ableitung der Zungengrund- bzw.

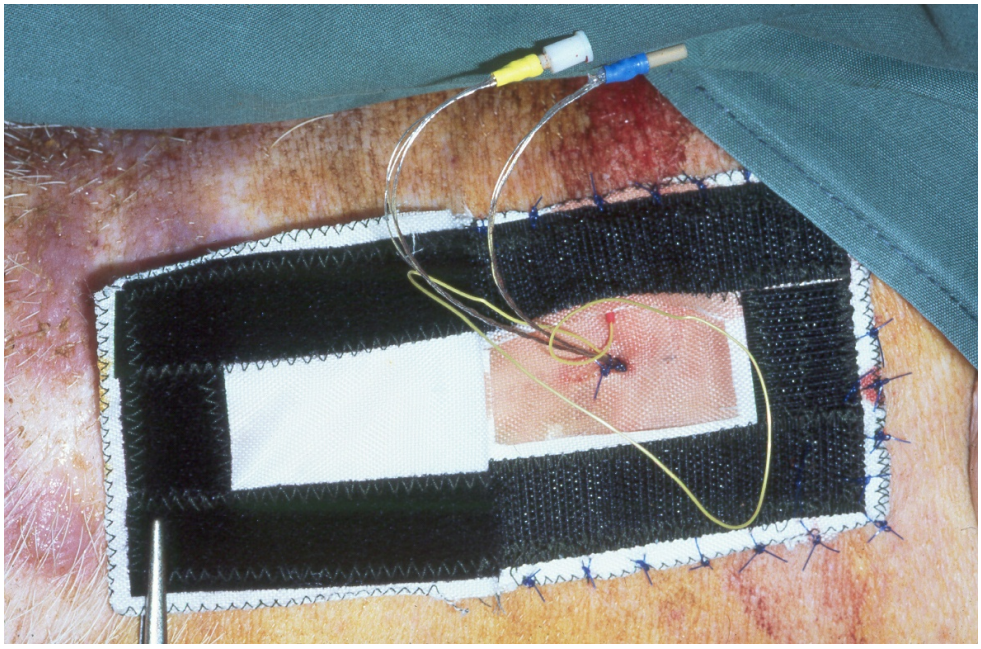

Abbildung 14: Veränderte Ausleitung der Elektrodenkabel am dorsalen Hals mit Mikrostecker und mit Tasche zur Aufnahme der Kabel.

Infrahyoidalmuskulatur wurden jeweils zwei EMG-Elektroden in der Muskulatur fixiert. Zusätzlich wurden ösenförmige Masseelektroden in das umgebende Gewebe eingenäht (siehe auch Abb. 6).

2.2.3 Datenakquisition

Bereits in den ersten postoperativen Tagen wurde mit der Datenerfassung begonnen. Es wurde Sorge getragen, daß die Daten in möglichst physiologischen Bedingungen

(schmerz- und stressfrei) registriert wurden. Zu diesem Zweck wurden die Tiere in eine von oben zugängliche Box gestellt. Die Elektroden wurden mit dem Verstärker verbunden und die entsprechende Verstärkung gewählt. Parallel erfolgte das Monitoring der Signale über einen Laptop (Abb. 15). Die minimierte Bewegungsfreiheit in der Box ließ keine größeren Bewegungsradien zu. Verletzungen an der Austrittsstelle der Elektrodenkabel und Zugbewegungen an den Elektroden konnte somit vorgebeugt werden. Die Tiere erhielten abwechselnd Trockenpellets und Wasser, um Kau-, Trink- und Schluckbewegungen der Zunge bei Willkürinnervation ableiten zu können. Nach Kontrolle der einzelnen Signale mittels Laptop wurde die Aufzeichnung begonnen und über den Kommentarkanal des Aufzeichnungsgerätes wurden Tag, Verstärkungsmodi und Besonderheiten (visuell wahrnehmbare Schluckakte, sichtbare Zungenbewegungen, Zustand der Tiere, der Hautwunden, Gewicht, auffälliges Verhalten etc.) festgehalten. Da der Verstärker nur zwei Eingänge besaß, wurde während der Ableitsitzung jede Elektrode (NH, Zungengrund) wechselweise angeschlossen um eine spätere Korrelation von NH-ENG und Zungen-EMG zu ermöglichen und verschiedene Elektrodensignale im zeitlichen Kontext vergleichen zu können. Danach wurden 1x wöchentlich Signale aufgezeichnet.

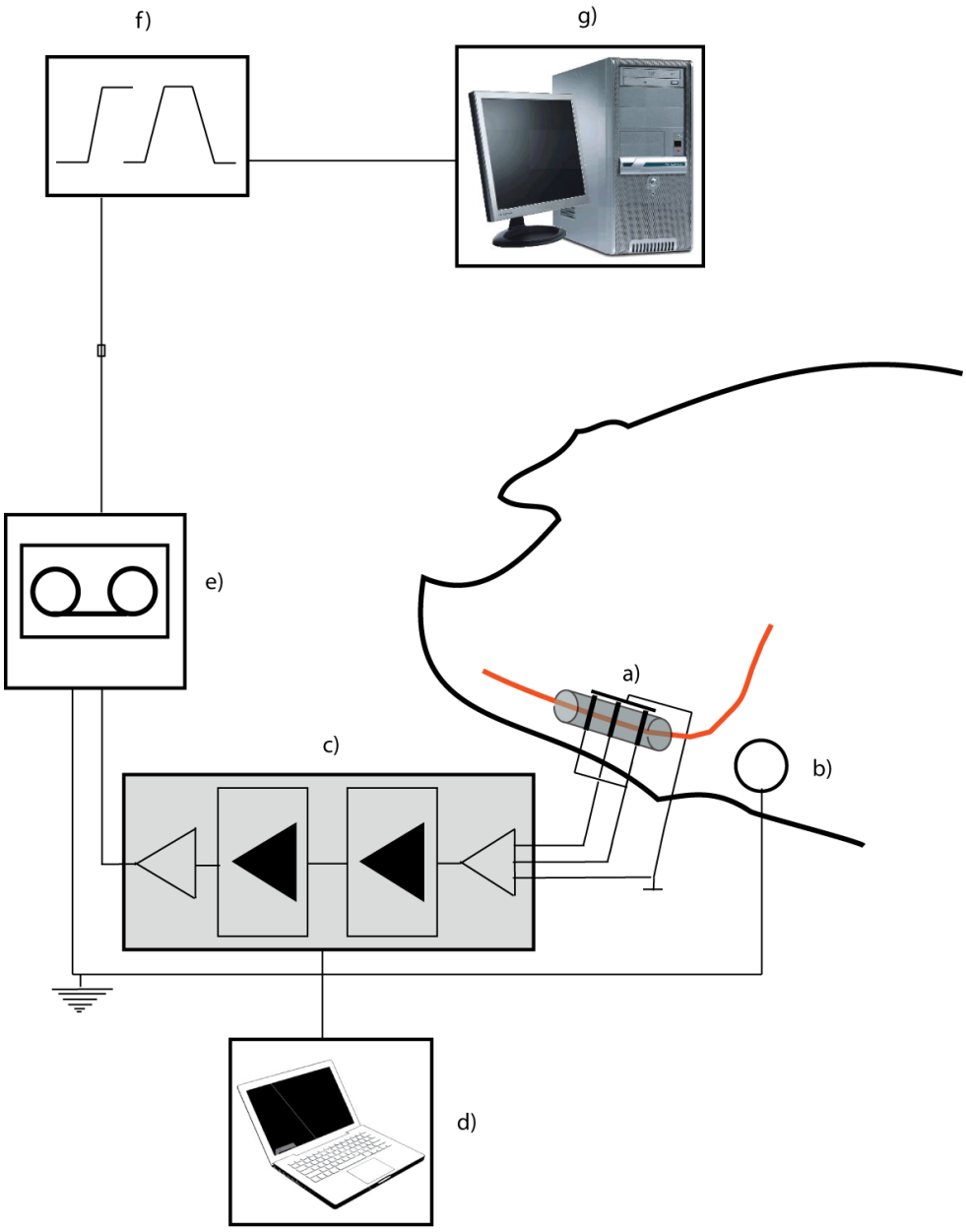

Abbildung 15: a) Cuffelektrode mit Referenzelektrode b) Masseelektrode c) Verstärker d) Laptop zur Online-Betrachtung e) Aufzeichnungsgerät „Bell & Howell CR 3000“ f) Hochpassfilter g) Digitalisierung der Daten und Offline-Analyse am PC

2.2.4 Versuchsgruppen

Insgesamt wurden 22 Nervi hypoglossi mit Cuffelektroden versorgt. Bei 4 Versuchstieren wurden zudem EMG-Elektroden in die Zungengrundmuskulatur implantiert, um Zusammenhänge zwischen SAP und Muskelereignis herstellen zu können.
Der Versuchsaufbau wurde in 2 Obergruppen (I + II) mit jeweils drei Untergruppen (a-c) gegliedert.
Gruppe I beinhaltete alle Tiere bei denen eine Implantation einer "normalen" Cuffelektrode (n=18) durchgeführt wurde. Bei der *Gruppe I a* wurde bei den Tieren jeweils eine Elektrodenimplantation am intakten NH durchgeführt, ohne spätere Durchtrennung. Dieser Gruppe wurde zusätzlich die Daten der Nerven aus der Gruppe I c, siehe weiter unten, vor der Neurotomie als weiterer Datensatz hinzugefügt um eine profunde statistische Auswertung machen zu können (n= 10 + 2) und es sich technisch um die gleiche Prozedur gehandelt hat. Bei sechs Tieren erfolgte bei der Implantation der Elektrode auch eine Neurotomie (*Gruppe I b*). Bei den Tieren der *Gruppe I c* wurde durchschnittlich 62 Tagen nach der Elektrodenimplantation der Zungennerv in einer weiteren Operation im Sinne einer sekundären Neurotomie durchtrennt (n=2).

Gruppe II umfasste alle Implantationen einer Cuffelektrode jedoch mit einem Perichondriumtransplantat zwischen Nerv und Elektrode (n=4), siehe auch Kapitel 2.2.2. Die Aufteilung der Untergruppen war analog zur *Gruppe I*. In die *Gruppe II a* wurden drei Tiere eingeschlossen. In die *Gruppe II a* wurde ein Tier mit primär transplantiertem und neurotomierten Nerven eingeschlossen (n=1). Die Neurotomie im Intervall (sekundär) fand bei konsolidiertem SAP bei einem Tier statt (Gruppe II c; n=1).

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8	Tier 9	Tier 10	Tier 11	Tier 12
NH re	2,5 mm	2,5 mm	2,5 mm	2,5 mm	2,5 mm	3,4 mm	3,4 mm	4,0 mm	4,0 mm	4,0 mm	3,4 mm	4,0 mm
NH li	2,5 mm	2,5 mm	2,5 mm	2,5 mm	2,5 mm	3,4 mm	3,4 mm	3,4 mm	3,4 mm	3,4 mm		
Zunge r						EMG	EMG	EMG	EMG			
Zunge l												

Tabelle 1: Tabellarische Übersicht der verschiedenen Prozeduren und der verwendeten Elektrodendurchmesser

2.2.5 Versuchstiere und Prozeduren

Versuchstier Nr.1 (Nr.80639): Beidseitige Implantation einer pentapolaren Cuffelektrode mit 2,5 mm Durchmesser. Das Tier hatte beide Elektrodenkabel am 8.Tag nach Implantation zerstört und die dazugehörigen Ableitbuchsen verloren, sodass keine weiteren Ableitungen mehr möglich waren.

Versuchstier Nr.2 (Nr.60141): Beidseitige Implantation einer tripolaren Cuffelektrode mit 2,5 mm Durchmesser. Am 69.Tag wurde in einem erneutem Eingriff der rechte NH durchtrennt. Wegen einer Infektion musste das Tier im weiteren Verlauf am 78. Versuchstag frühzeitig getötet werden.

Versuchstier Nr.3 (Nr.81350): Beidseitige Implantation einer tripolaren Cuffelektrode mit 2,5 mm Durchmesser. Aufgrund eines Elektrodenkabelbruches musste am 69.Tag revidiert und eine neue Elektrode implantiert werden. In gleicher Sitzung wurde der NH rechts durchtrennt und in die Muskulatur eingenäht. Das Tier musste sechs Tage später wegen einer ausgedehnten Infektion der Halsweichteile getötet werden.

Versuchstier Nr.4 (Nr.60151): Beidseitige Implantation einer tripolaren Cuffelektroden mit 2,5 mm Durchmesser. Der linke NH wurde primär durchtrennt und der proximale Stumpf in die benachbarte Muskulatur eingenäht.

Versuchstier Nr.5 (Nr.62037): Gleicher Versuchsaufbau wie bei Tier Nr.4.

Versuchstier Nr.6 (Nr.61804): Beidseitige Implantation einer tripolaren Cuffelektroden mit 3,4 mm Durchmesser. Der linke NH wurde primär durchtrennt. Der proximale Stumpf des NH wurde in die benachbarte Muskulatur eingenäht. Zur EMG-Ableitung der Zunge unter Willkürinnervation wurde in den rechten und linken Musculus genioglossus jeweils eine EMG-Elektrode eingebracht.

Versuchstier Nr.7 (Nr.81835): Gleicher Versuchsaufbau wie bei Tier Nr.6.

Versuchstier Nr.8 (Nr.62490): Implantation einer tripolaren Cuffelektrode mit 4,0 mm Durchmesser auf den rechten NH. Implantation einer 3,4 mm großen Elektrode auf den linken NH . Die Cuffmanschette der größeren Elektrode wurde mit einem Perichondriumtransplantat ausgekleidet. In den rechten Musculus genioglossus wurden zwei EMG-Elektroden eingebracht. Am 55.Tag wurde der linke NH durchtrennt und der proximale Stumpf des NH wurde in die benachbarte Muskulatur eingenäht.

Versuchstier Nr.9 (Nr.62629): Gleicher Versuchsaufbau wie bei Tier Nr. 8 mit dem Unterschied, dass am 84. Tag der rechte NH durchtrennt und in die benachbarte Muskulatur eingenäht wurde.

Versuchstier Nr.10 (Nr.1021): Es wurde eine tripolare Cuffelektrode mit 4,0 mm Durchmesser und Perichondriumauskleidung auf den rechten NH implantiert. An den linken NH wurde eine Elektrode mit 3,4 mm Durchmesser angebracht. Der linke NH wurde primär durchtrennt und in die benachbarte Muskulatur eingenäht.

Versuchstier Nr.11 (Nr.1003): Implantation einer tripolare Cuff-Elektrode mit 3,4 mm Durchmesser an den NH rechts. Der NH wurde primär durchtrennt und in die benachbarte Muskulatur eingenäht.

Versuchstier Nr.12 (Nr.84657): An den rechten NH wurde eine tripolare Cuff-Elektrode (4,0 mm Durchmesser mit Perichondriumauskleidung) implantiert. Der NH wurde primär durchtrennt und in die benachbarte Muskulatur eingenäht.

2.2.6 Datenanalyse

1.Die Suche nach charakteristischen Signalmerkmalen für den Schluckakt im ENG.

Hierzu wurden Dateiabschnitte identifiziert, denen im EMG und auch im Kommentarkanal ein eindeutiger Schluckakt zugeordnet werden konnte. Die so isolierten ENG[7]-Abschnitte wurden hinsichtlich des Frequenzspektrums, der Amplitudenhöhe und der Innervationsdauer untersucht. Für die Darstellung des Frequenzspektrums wurde die schnelle Fourier Transformation[8] genutzt. Aus den einzelnen Dateien wurden so genannte Spektrogramme[9] erstellt.

2. Die Bestimmung der Maximalamplitude und der Rauschschwelle am jeweiligen Aufzeichnungstag.

Hierfür wurden ausschließlich ASCII-Dateien verwendet. Die Analyse erfolgte mit Origin 7®. Der jeweilige Datensatz wurde zunächst einer Berechnung mit Absolutfunktion unterzogen. Jedem Potential (t = x) wurde über die mathematische Absolutfunktion ein positives Vorzeichen zugeordnet (Abb. 16 b). Es wurde jeweils der maximale „ base to peak“-Wert ermittelt. In gleicher Weise wurde die Rauschschwelle definiert. Hierfür wurden Abschnitte ohne ENG-Aktivität herangezogen. Beide Werte wurden entsprechend der gewählten Verstärkung korrigiert und später zusammen mit dem Dateimittelwert als Referenzwert graphisch dargestellt.

3. Analyse der Nervenaktivität anhand der Veränderungen im Frequenzspektrum über die Versuchszeit.

Besonderes Interesse galt den Veränderungen des Frequenzspektrums im zeit-

[7] Elektroneurogramm
[8] „fast Fourier transform“ (FFT)
[9] Ein Spektrogramm stellt die Zusammensetzung eines SAP-Signals aus einzelnen Frequenzen im zeitlichen Verlauf dar.

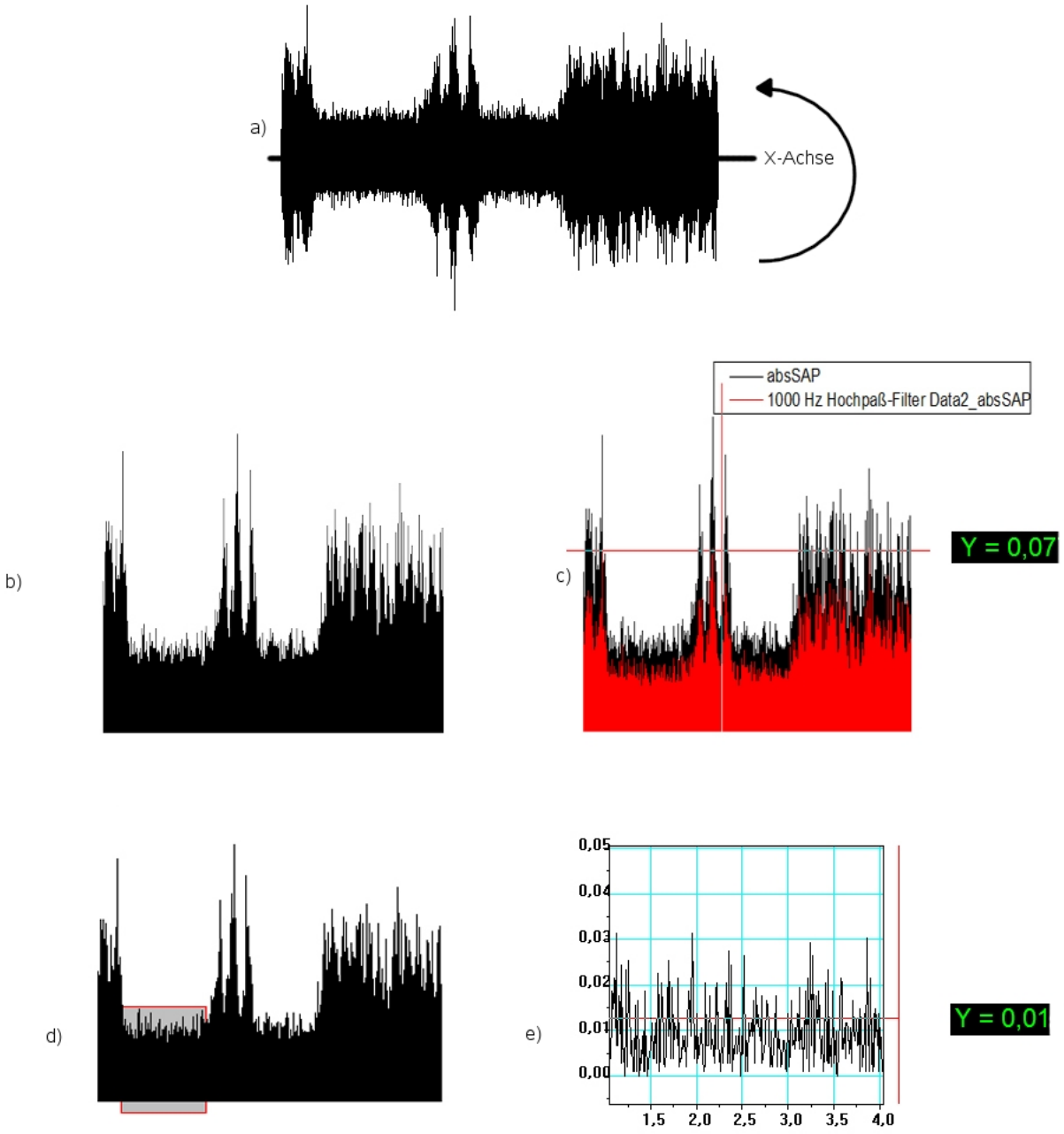

Abbildung 16: a) ASCII-Datei der Rohdaten graphisch dargestellt über die Zeit b) nach Absolutwertberichtigung c) erneut gefilterte Datei ohne EMG-Verunreinigung(rot) und Ermittlung des Base to Peak-Wertes d) Abschnitte zur Ermittlung der Rauschschwelle e) Berechnung der Rauschschwelle. X-Achse = ?V, Y-Achse = Zeit in Sekunden.

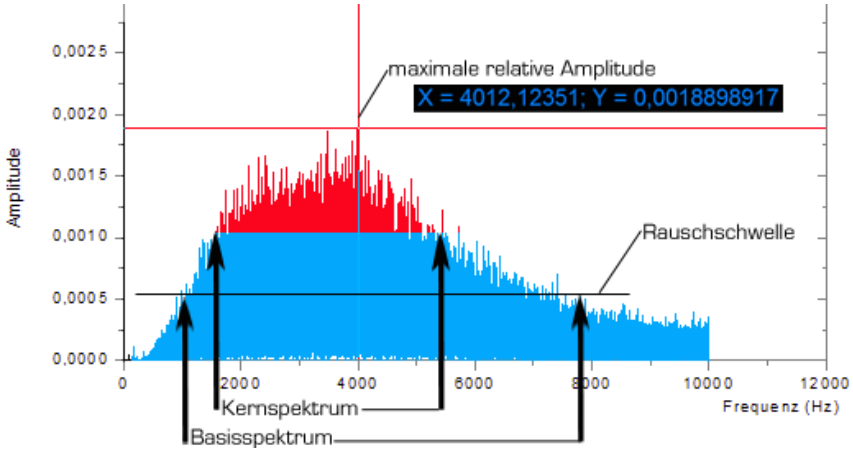

Abbildung 17: Ermittlung der relativen maximalen Amplitude, des Kern- (rot) und des Basisspektrums (blau). Amplitude in nV.

lichem Verlauf. Die ausgewählten "ASCII"-Dateien wurden einer FFT[10] (Origin) unterzogen. Das maximale Einzelpotential im Gesamtspektrum wurde als "relative maximale Amplitude (rmA)" definiert. Zudem wurde ein Kernspektrum definiert. Kernspektrum wurde der Bereich im gesamten Frequenzspektrums genannt, der die größten relativen Amplituden beinhaltete und somit die Größe des Summenaktionspotentials maßgeblich festlegte (Abb. 17). Wir legten einen Schwellenwert fest, der bei 2/3 der relativen maximalen Amplitude lag. Durch den Schwellenwert ließ sich ein Bereich mit Frequenzminimum und Frequenzmaximum definieren. Dies sollte eine bessere Beurteilung der rmA[11] in Korrelation zum Nervenzustand ermöglichen. Anhand der zuvor bestimmten Rauschschwelle wurde darüber hinaus das Basisspektrum ermittelt.

[10] Fast Fourier Transformation
[11] relative maximale Amplitude

3 Ergebnisse

Bei allen Versuchstieren ließen sich intra- und vor allem postoperativ SAP[12] des NH[13] ableiten und für die Offline-Betrachtung und Datenanalyse aufzeichnen. Die Signaldaten von insgesamt 22 Nervi hypoglossii wurden ausgewertet. Bei vier Nerven waren nur über einen sehr kurzen Zeitraum von vier bzw. acht Tagen Daten ableitbar. Sie waren nur begrenzt aussagefähig, wurden aber zur vollständigen Darstellung der Daten mitaufgeführt. Bei zehn Tieren wurden die Cuffelektroden beidseitig an den NH implantiert. Bei zwei Tieren wurde nur einseitig implantiert. Acht Nerven wurden primär bei der Elektrodenimplantation neurotomiert. Dreimal wurde eine sekundäre Neurotomie durchgeführt.

Die Versuchsdauer variierte von minimal 4 bis maximal 311 Tage (Median 92 Tage; Mittelwert 93,5 Tage).

Der Durchschnittswert der Maximalamplituden aller Versuchsreihen in der ersten postoperativen Messung (1.-3. postoperativer Tag) lag bei 12,23 μV. Dabei zeigte sich eine Varianz von minimal 6,13 μV bis maximal 25,65 μV mit einer Spannbreite (Range) von 19,52 μV). Der Mittelwert der NH betrug auf der linken Seite 13,46 μV. Auf der rechten Seite wurden im Durchschnitt 11,21 μV gemessen. Bei der Differenzierung der initialen Spannungswerte von linkem (n = 10) und rechtem Nervus hypoglossus (n = 12) bestand kein signifikanter Unterschied (p›0,05).

[12] Summenaktionspotentiale
[13] Nervus hypoglossus

3.1 Maximalamplituden und relative maximale Amplitude (rmA) der Summenaktionspotentiale (SAP) des Nervus hypoglossus am Minischwein

3.1.1 Verlauf der SAP-Maximalamplituden nach Elektrodenimplantation

Gruppe Ia:

In diese Gruppe wurden alle Nerven (n=12) eingeschlossen, bei denen zunächst ausschließlich eine Elektrodenimplantation ohne Neurotomie vorgenommen wurde. Bei der ersten postoperativen Ableitung wurden im Durchschnitt Amplitudenwerte von 12,76 μV gemessen. Die Standardabweichung betrug hierbei 3,24 μV. Der kleinste gemessene Wert war 8,92 μV. Der größte gemessene Wert war mit 19,61 μV annähernd 2,2 mal so groß (Range[14] 10,69 μV). In den ersten 10 postoperativen Tagen fiel der Amplitudenverlauf recht individuell aus. Bei vier der zehn Nerven stiegen die Amplituden in der unmittelbaren postoperativen Phase an (Tag 3-10). Zur genaueren Betrachtung sei auf die Einzelgraphen im Anhang verwiesen. Im weiteren zeigte der Verlauf der SAP-Maximalamplituden ein insgesamt einheitliches Bild. Speziell vom 10.-20. postoperativen Tag sah man einen teils konstanten, vereinzelt auch progredienten Verlust der Amplitudenwerte. In diesem Zeitraum fand der größte Verlust der Maximalamplitudenwerte statt (Abb. 18).
Betrachtet man die Durchschnittswerte der Gruppe, so ergab sich ein Amplitudenwertverlust bis zum Tag 20 nach Elektrodenimplantation von initial 12,76 auf 6,02 μV (6,74 μV). Dies entspricht einer Reduktion auf 52,83 %. Die Standardabweichung betrug hierbei 2,23 μV (Range 6,87 μV). Insgesamt war immer ein Verlust

[14] Bereich zwischen kleinster gemessener SAP-Amplitude und grösster gemessener SAP-Amplitude (Spannbreite oder Variationsbreite)

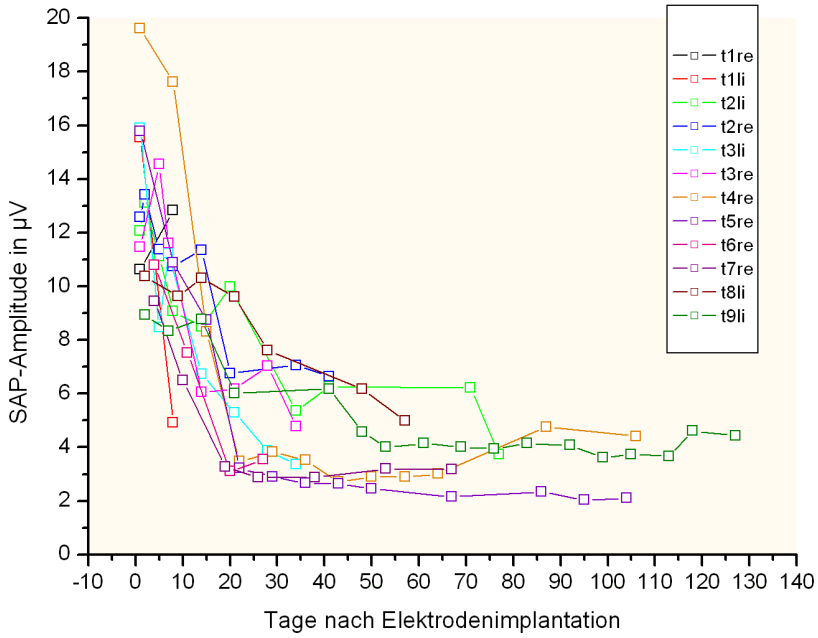

Abbildung 18: Verlauf der SAP-Amplituden in der Gruppe Ia (Elektrodenimplantation ohne weitere Maßnahme).

gegenüber den initialen SAP-Amplituden zu verzeichnen. Der individuelle Verlust war in dieser Phase unterschiedlich stark ausgeprägt. Beispielsweise ergab sich ein maximaler Verlust von 68,5 % (linker Nervus hypoglossus des Versuchstieres Nr. 1) in der unmittelbaren postoperativen Phase gegenüber einem minimalen Verlust von 17,4 % (linker Nervus hypoglossus des 2. Versuchstieres). Zwischen dem 20. und 40. Tag setzte eine Phase der moderaten Konsolidierung ein. Bis zum 40. postoperativen Tag verringerten sich die Amplitudenwerte mit durchschnittlich 1,092 μV um weitere 18,14 % auf 4,93 μV mit einer Standardabweichung von 1,91 μV (Range 1,91 μV). Am Tag 60 nach Elektrodenimplantation war mit 4,2 μV im Durchschnitt ein weiterer Verlust um 0,731 μV (4,83 %) festzustellen. Die Standardabweichung betrug nun 1,488 μV (Range 3,9 μV). Nach 80 Versuchstagen waren mit 3,51 μV noch

27,5% des initialen Durchschnittswertes abzuleiten. Dies entsprach einem erneuten Verlust von 0,687 μV (16,23 %) zum vorrangegangenen Messpunkt mit einer Standardabweichung von 0,86 μV (Range 1,92 μV). Am Tag 100 waren noch 3,42 μV als Potentialdifferenz auszuwerten, entsprechend eines Verlustes um 0,09 μV (2,57 %). Verglichen mit dem ersten Ableitungstag waren nun 26,8 % des Ausgangsamplitudenwertes messbar. Die Standardabweichung maß 1,002 μV (Range 2,42 μV).
In Abbildung 19 ist der standardisierte Verlauf an den Tagen 0, 20, 40, 60, 80 und 100 dargestellt. .

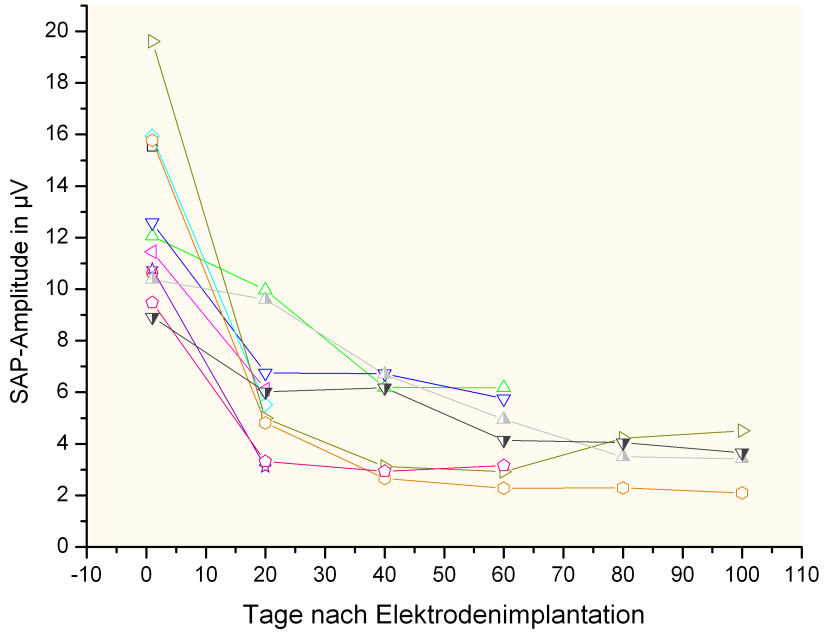

Abbildung 19: Standardisierter Verlauf der SAP-Amplituden in der Gruppe Ia (Elektrodenimplantation ohne weitere Maßnahme).

Insgesamt bleibt der kontinuierliche Verlust bis zum 60. Tag nach Elektrodenimplantation festzustellen. Eine Kurve zeigte im weiteren Verlauf einen Wiederanstieg der SAP-Amplitude, zwei Nerven verhielten sich konstant, und ein weiterer Nerv zeigte

eine weitere Reduktion der Potentialdifferenz bis zum 80. Tag. In den letzten 20 Tagen setzt sich diese Entwicklung fort. Zur besseren Darstellung und Beurteilbarkeit wurde der Durchschnitt der Einzeltageswerte der Nerven mit einem polynominellen Kurvenfit der 4. Ordnung belegt (Abb. 20). Der Kurvenverlauf zeigt nochmals den

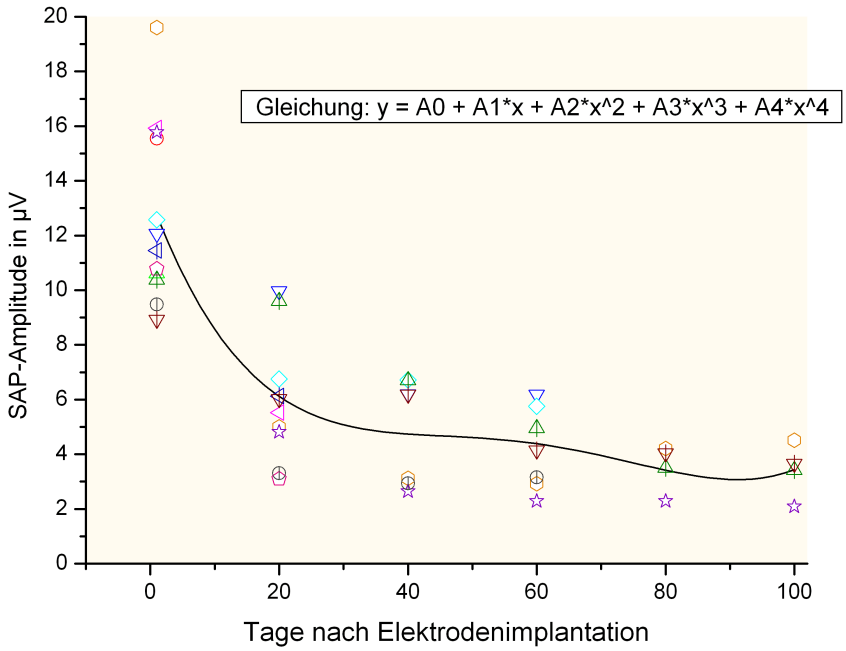

Abbildung 20: Durchschnittlicher Verlauf der SAP in der Gruppe Ia (polynominell 4.Ordnung approximiert).

bereits weiter oben besprochenen, schnellen initialen Verlust bis zum 20.Tag. Im Anschluss daran sieht man die Konsolidierung bis zum 60.Tag. Hieran schließt sich mit erneutem, diesmal kleinerem Verlust der SAP-Amplitude bis zum 80. Tag, eine erneute Regression an, welche von einem Wiederanstieg bis zum 100. Tag gefolgt wurde. Mit 4,51 μV wurde hier ein um 0,3 μV höherer Maximalamplitudendurchschnitt im Vergleich zum 80. Tag (4,21 μV) gemessen.

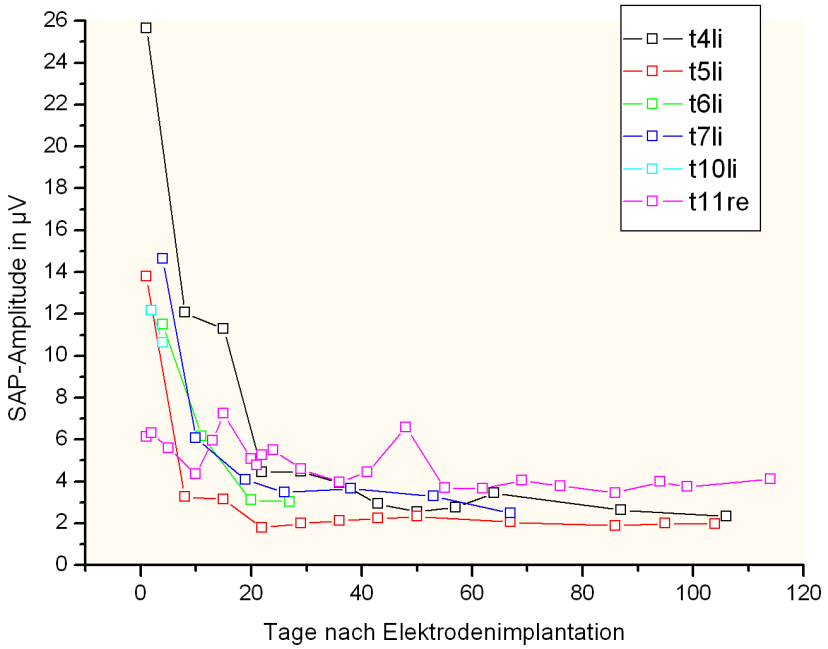

Abbildung 21: Verlauf der SAP-Amplituden in der Gruppe Ib (Elektrodenimplantation und primäre Neurotomie).

Gruppe Ib:

Diese Gruppe beinhaltete alle Nerven, die am Op-Tag unmittelbar nach der Elektrodenimplantation auch neurotomiert wurden (n=6). Der Durchschnitt der SAP-Amplituden des ersten Ableitungstages war mit 13,803 μV nicht signifikant höher als in der Gruppe Ia (12,7 μV)(p›0,05). Die Standardabweichung betrug 6,5 μV. Der Range war jedoch mit 19,5 μV ungewöhnlich groß. Betrachtet man die einzelnen SAP-Amplitudenwerte, fällt die größte SAP-Amplitude am ersten Ableitungstag nach Op auf. Es war die größte gemessene SAP-Amplitude aller Versuchsreihen und betrug 25,65 μV. Zudem beinhaltete diese Gruppe die kleinste SAP-Amplitude, welche 6,13 μV betrug. Der weitere Verlauf war von einem rapiden Verlust der SAP-Amplitudenwerte gekennzeichnet. Lediglich der rechte Nervus hypoglossus des 11.

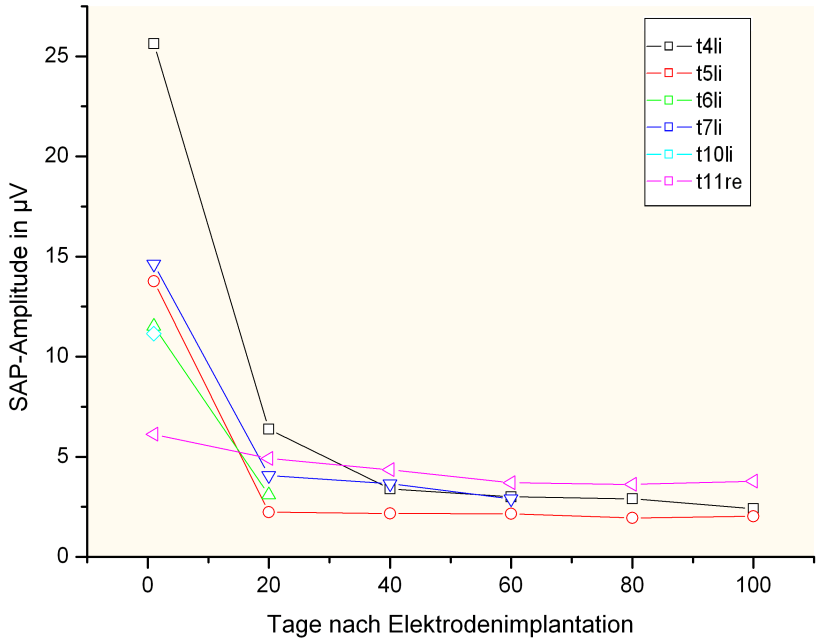

Abbildung 22: Standardisierter Verlauf der SAP-Amplituden in der Gruppe Ib (Elektrodenimplantation und primäre Neurotomie).

Versuchstieres zeigte einen annähernd konstanten Kurvenverlauf auch über den 20. Tag hinaus. Die übrigen Nerven zeigten ab dem 20. Tag einen nur minimal undulierenden Verlauf parallel zur Abszisse (siehe Abb. 21). Der Verlust in den ersten 20 Tagen war sehr stark ausgeprägt. Dieser betrug 4,14 μV und bedeutet einen Verlust von 70%. Die Standardabweichung betrug 1,6 μV. Der weitere Verlauf war von da an von einem konstanten, minimalen Verlust zu den nächsten Messpunkten gekennzeichnet. Es zeigte sich am 40.ten Tag nach Elektrodenimplantation eine durchschnittliche SAP-Amplitude von 3,39 μV. Die Standardabweichung war mit 0,63 μV minimal. Die Varianzbreite maß 2,18 μV. Der Rückgang zum 20.ten Tag betrug 8,12 %.

Wie in Abbildung 22 beobachtet werden kann, verlaufen die Graphen vom 40.ten bis

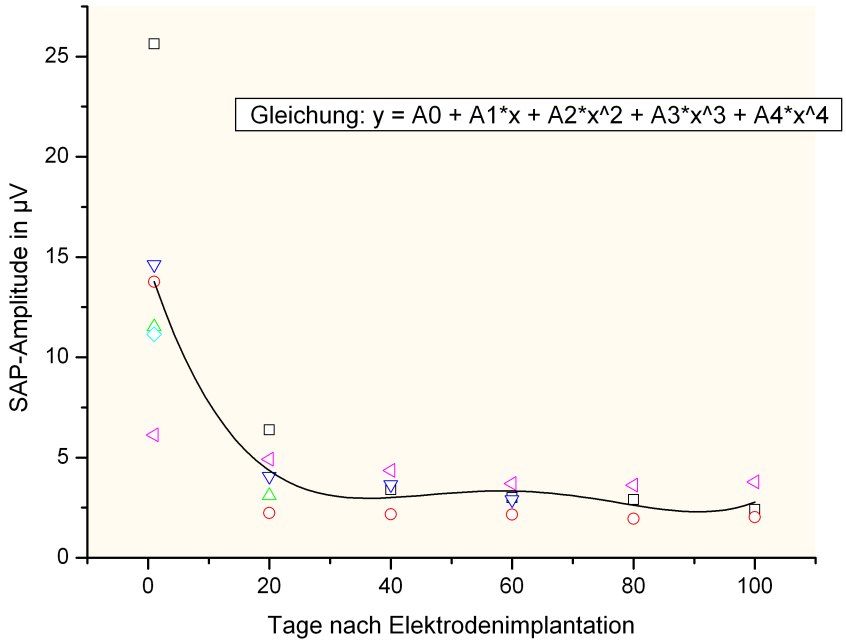

Abbildung 23: Durchschnittlicher Verlauf der SAP in der Gruppe Ib (mathematische Glättung, polynominell 4.Ordnung).

zum 100.ten Tag annähernd parallel zur Abszisse. Am 80.ten Tag wurde die kleinste individuelle SAP-Maximalamplitude dieser Versuchsreihe gemessen. Sie betrug 1,94 μV. Am 100.Tag wurde eine deutlich angestiegene SAP-Maximalamplitude registriert. Diese war mit 3,78 μV sogar größer als der größte SAP-Maximalamplitudenwert am 60.Tag. Insgesamt betrachtet verblieb am 100.Tag eine durchschnittliche SAP-Maximalamplitude von 2,73 μV. Dies entspricht 19 % des Initialwertes. Gegenüber der Gruppe Ia mit 3,42 μV und einem Verlust auf 26,8 % im Vergleich zum ersten Ableitungstag war doch ein deutlicher Unterschied festzustellen.

Betrachtet man Abbildung 23, mit mathematischer Kurvenglättung 4. Ordnung, so zeigte sich ein schneller Verlust der SAP-Amplitude bis zum 20.Tag. Nach minimalem Anstieg um den 60.ten Tag ergab sich erst zum Ende hin ein erneuter Zuwachs.

Vergleicht man die Verläufe der Gruppe Ia und Ib miteinander (siehe Abb. 24), so

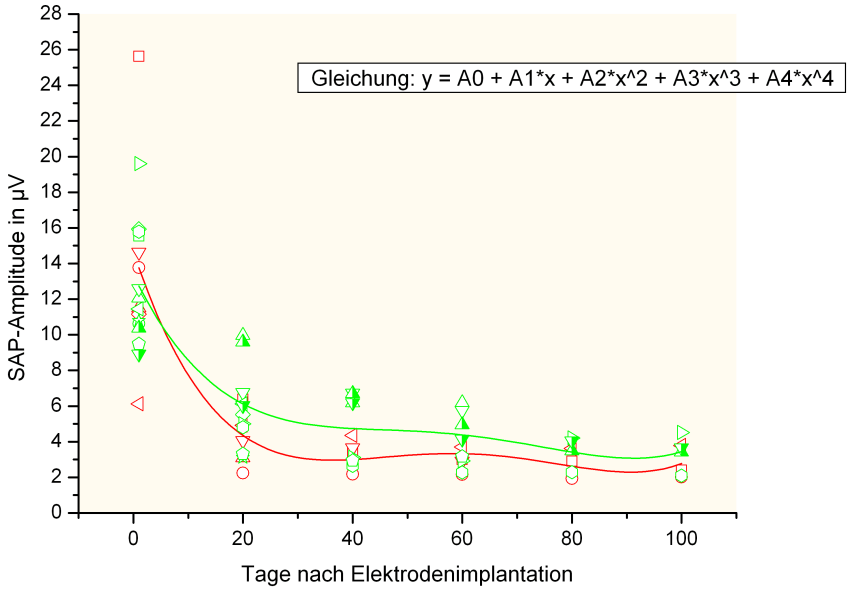

Abbildung 24: Vergleich des Verlaufs der SAP der Gruppe Ia (grün) und Ib (rot).

ist der schnellere und nachhaltigere Verlust in der Versuchsgruppe Ib festzustellen.

Gruppe Ic:

Nach standardisierter Implantation wurden die Nerven der Versuchstiere dieser Gruppe bei konsolidierten SAP sekundär neurotomiert (n=2). Eine valide statistische Auswertung war aufgrund der geringen Fallzahl nicht möglich. Die Ergebnisse werden daher im Einzelnen besprochen. Der Kurvenverlauf ist in Abbildung 25 nachzuvollziehen. Bei Versuchstier Nr. 2 erfolgte am 69. Tag die sekundäre Neurotomie bei 46,3% des initialen SAP-Wertes. Da das Tier eine Wundinfektion mit Übergang in die tiefen Halsweichteile erlitt, konnten Aufzeichnungen nur bis zum 77.Tag durchgeführt werden. Unmittelbar nach der Neurotomie vollzog sich ein Verlust von 26,8 %. Bei Tier 8 wurde am 55. Tag nach Cuffimplantation die sekundäre Neurotomie durchgeführt. Der Wert der SAP-Maximalamplitude hatte sich bis dahin um 40,5 %

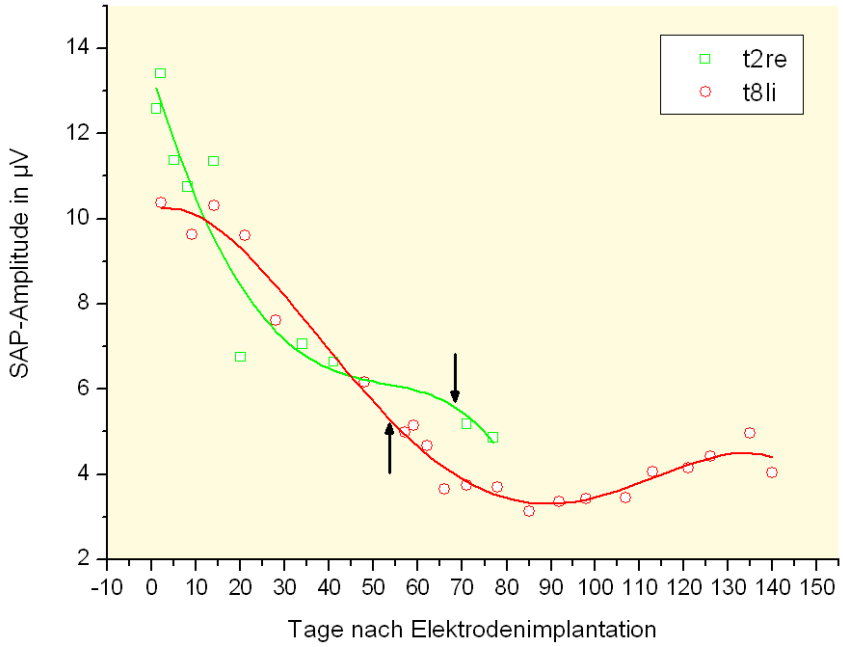

Abbildung 25: Durschnittlicher Verlauf der SAP in der Gruppe Ic, die Pfeile markieren die Tage der sekundären Neurotomie.

verringert. Nach der zweiten Prozedur zeigte sich ein neuer Spannungsverlust. Um den 85.Tag, 30 Tage nach Neurotomie, war mit 3,13 μV die Talsohle erreicht. Eine um 37,27 % geringere Maximalamplitude als am ersten Tag nach Neurotomie. Im Verlauf kam es zum Wiederanstieg der SAP-Maximalamplitude. Am Tag 135 nach Cuffimplantation, 80 Tage nach dem zweiten Eingriff, hatte sich mit 4,97 μV das gleiche Spannungsniveau wie zur Neurotomie eingestellt (4,99 μV).

Gruppe IIa:

Die Gruppe IIa beinhaltete die NH, bei denen neben der Cuffelektrode auch eine Perichondriummanschette eingebracht wurde (n=3). Ein Versuchstier entwickelte eine beidseitige Hypoglossusparese und musste wegen gestörter Nahrungsaufnahme und drohender Kachexie vorzeitig getötet werden. Die Entwicklung der übrigen beiden

Nerven dieser Gruppe konnte über 84 und 140 Tage verfolgt werden(Abb.26). Wie aus den vorangegangenen Gruppen bereits bekannt und für diese Gruppe auch zu erwarten war, zeigte sich ein Niedergang der Spannungswerte in der unmittelbaren postoperativen Phase. Dieser war jedoch im zeitlichen Verlauf deutlich geringer ausgeprägt. Er vollzog sich verzögert bis zum 60.Tag. Danach war ein konsolidierter Kur-

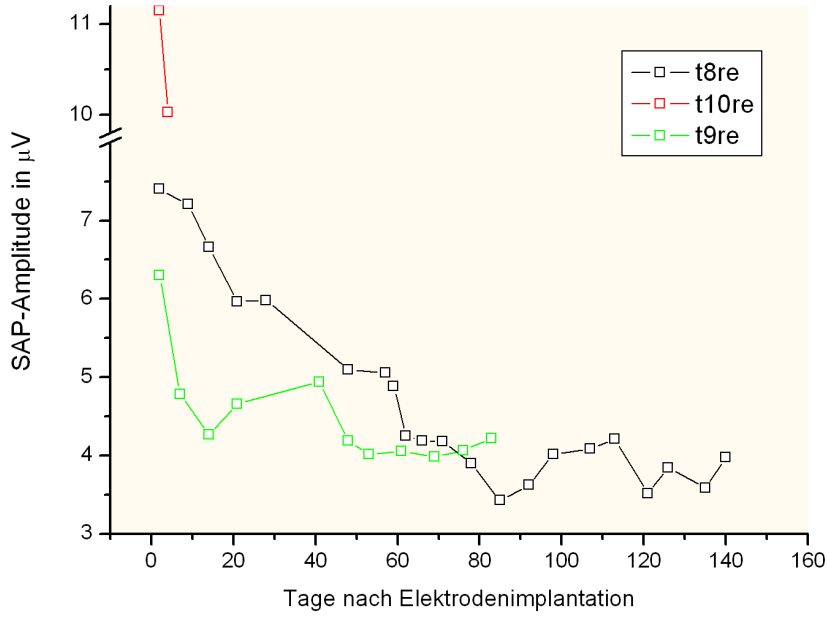

Abbildung 26: Verlauf der SAP in der Gruppe IIa (Implantation einer Cuffelektrode mit zusätzlicher Perichondriummanschette).

venverlauf zu registrieren. Nach 20 Tagen betrug der SAP-Maximalamplitudenwert bei Tier 8 noch 80,7 % des Ausgangswertes, bei Tier 9 war es 73,8 %. Der kleinste gemessene Wert mit 68,9% des Initialwertes zeigte sich für Tier 8 am 48.Tag. Bei Tier 9 waren am 83.Tag 77 % des Ausgangswertes vorhanden, was der niedrigste Wert im Versuchszeitraum war. Für die Gruppe ließ sich ein Durchschnittswert für den ersten postoperativen Ableitungstag von 6,845 μV festhalten. Nach 80. Tagen waren im Durchschnitt mit 3,97 μV noch 57,9 % des ursprünglichen Maximalamplitudenwerts

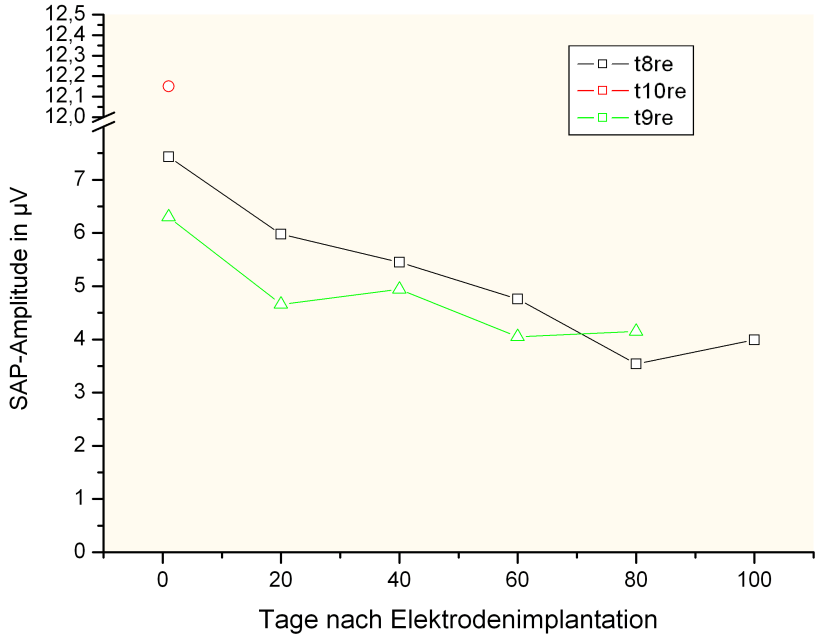

Abbildung 27: Verlauf der SAP in der Gruppe IIa (Implantation einer Cuffelektrode mit zusätzlicher Perichondriummanschette), standardisiert dargestellt.

messbar (Abb.27). Die SAP-Kurven verliefen in einem moderaten Abwärtswinkel und zeigten eine späte Konsolidierung des Amplitudenverlustes. Dieser setzte zwischen dem 60. und 80.Tag ein. Danach kam es wieder zum Anstieg der SAP-Werte

Gruppe IIb:

In diese Gruppe wurde nur ein Nerv eingeschlossen. Nach Anstieg des SAP-Amplitudenverlaufs bis zum 60.Tag nach Implantation der Cuffmanschette kam es zum Abfall der Werte. Dies vollzog sich bis ca. zum 200. postoperativen Tag. Danach nivellierte sich die Kurve mit konsolidierten Spannungswerten. Insgesamt blieb festzuhalten, dass im Anstieg mit 7,33 μV 155,8 % der initialen Amplitudenwerte erreicht wurden. Danach zeigte sich am 118.Tag postoperativ ein mit 109,1 % nur noch geringgra-

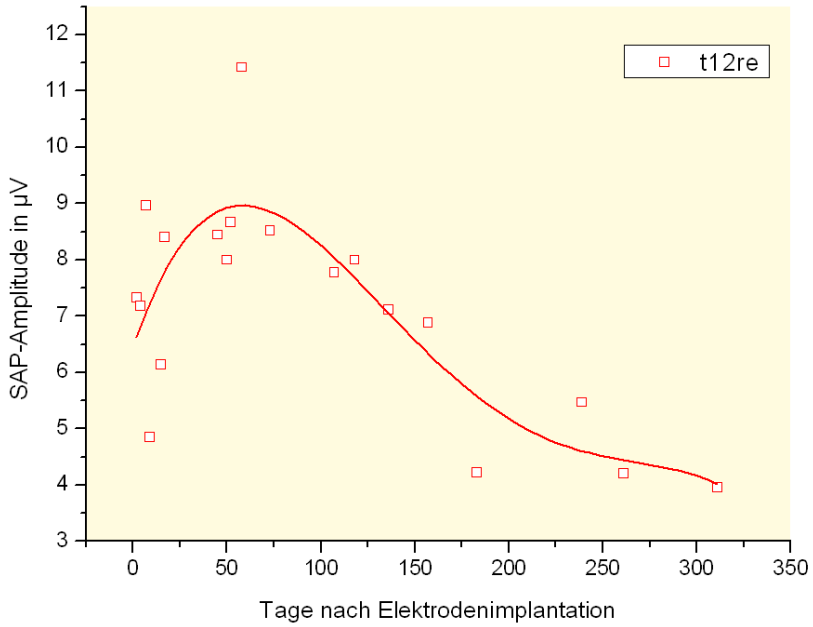

Abbildung 28: Verlauf des SAP in der Gruppe IIb (Implantation einer Cuffelektrode mit zusätzlicher Perichondriummanschette und primäre Neurotomie).

dig erhöhter Amplitudenwert. In den nächsten 60 Tagen fiel der Wert weiter auf 57,6 % am 183.Tag nach Op. Hier waren 4,22 μV zu registrieren. Der kleinste Amplitudenwert wurde am Tag 311 mit 3,95 μV registriert, entsprechend 53,9 % der ursprünglich vorhandenen Spannung.

Gruppe IIc:

In diese Gruppe wurde nur ein Nerv eingeschlossen (Abbildung 29). Die Neurotomie erfolgte am 84.Tag nach Cuffimplantation bei stabilem Verlauf der SAP. Als Referenz / Ausgangswert diente der Maximalamplitudenwert des 83.ten Tages. In den ersten sieben Tagen zeigte sich nur ein geringer Rückgang der Spannungswerte auf 4,12 μV. Dies entsprach 97,6 % des Ausgangswertes. Die maximale Ausprägung der Reaktion auf die sekundäre Neurotomie erfolgte um den 20. postoperativen Tag. Hier wurden

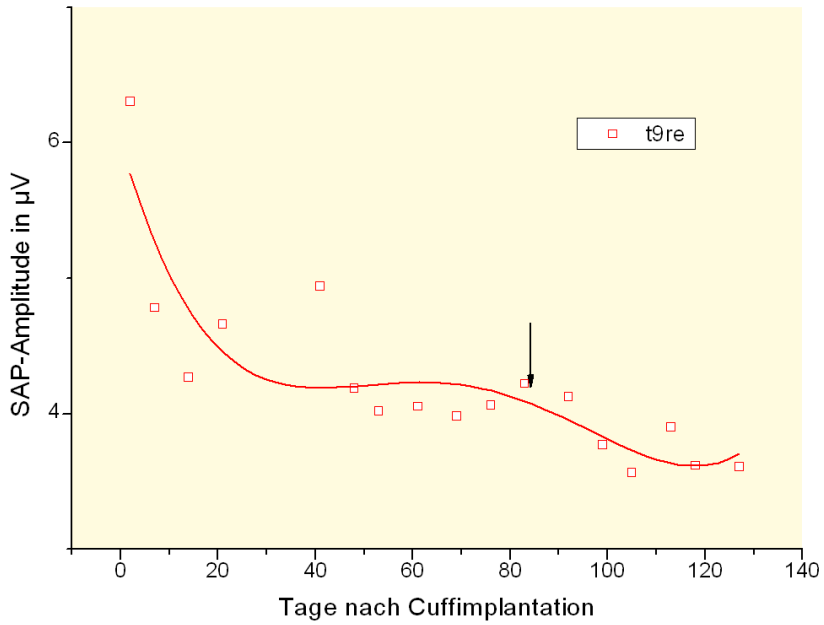

Abbildung 29: Verlauf des SAP in der Gruppe IIc (Implantation einer Cuffelektrode mit zusätzlicher Perichondriummanschette und sekundärer Neurotomie).

3,56 μV aufgezeichnet. Dies entsprach 84,36 % des Ausgangswertes. Zwischenzeitlich kam es zum minimalen Anstieg um den 30.Tag. 45 Tage nach Neurotomie waren mit 3,604 μV, 85,3 % des Referenzwertes zu erfassen. Hier endete die Versuchszeit mit insgesamt 130 Tagen Cuffelektrodenimplantation.

3.1.2 Verlauf der relativen maximalen Amplituden im Frequenzspektrum des Summenaktionspotentials nach Elektrodenimplantation

Die Verteilung der spannungsreichen relativen maximalen Amplitude im Spektrum des SAP ist von großem Interesse um die Folgen einer Cuffimplantation besser verstehen zu können. Die spezifischen Unterschiede sind in Bezug zu den einzelnen Gruppen dargestellt. Die Einzelgraphen sind im Anhang zu finden. Eingeschlossen

wurden nur Nerven mit einer minimalen Versuchslaufzeit von 30 Tagen.

Gruppe Ia:

Es wurden 11 Nerven, respektive deren Messdaten, dargestellt. Sechs der Nerven zeigten auch bei den relativen maximalen Amplituden einen schnellen initialen Verlust. Die Nerven mit einer geringeren Anfangsspannung (n=4) boten einen eher moderaten Verlust. Ein Nerv zeigte einen Anstieg des Messwertes zum 20.Tag. Ab Tag 40 war ein einheitlicher Verlauf zu erkennen (Abbildung 30). Im Durchschnitt

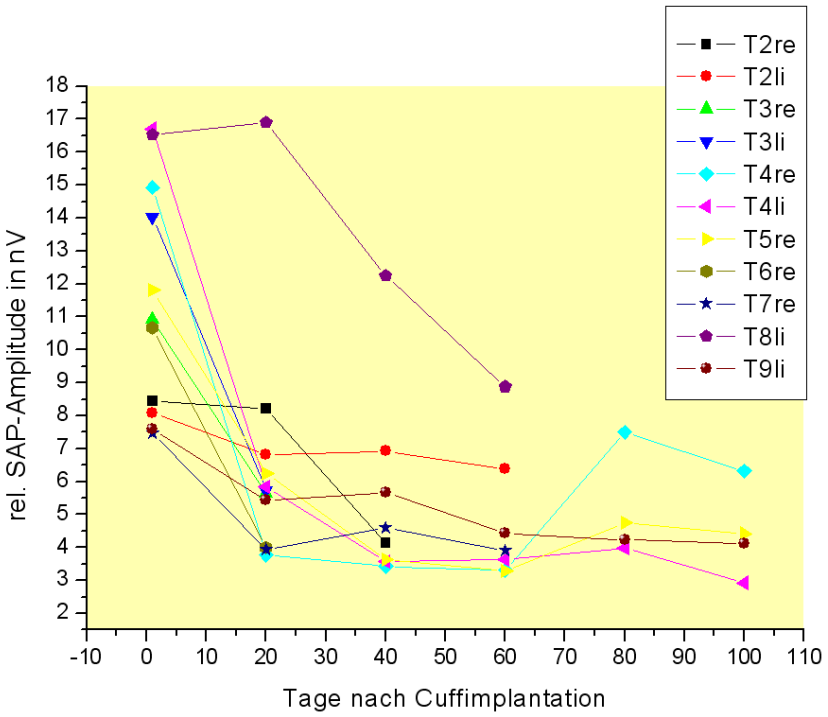

Abbildung 30: Standardisierter Verlauf der relativen maximalen Amplitude in der Gruppe Ia (Implantation einer Cuffelektrode ohne Neurotomie).

ergaben sich für die rmA[15] im Frequenzspektrum des SAP am ersten Ableitungstag

[15]relative maximale Amplitude

ein Wert von 11,56 nV. Die Range[16] betrug 9,24 nV und die Standardabweichung 3,52 nV. Nach 20 Tagen waren mit 6,53 nV noch 57 % vorhanden. Danach zeigte sich nur noch ein minimaler Verlust im konsolidierten Kurvenverlauf der Durchschnittswerte. Es wurde zur mathematischen Glättung der Durchschnittswerte erneut eine polynominelle Funktion 4er Ordnung benutzt (Abbildung 31). Die Konsolidierung

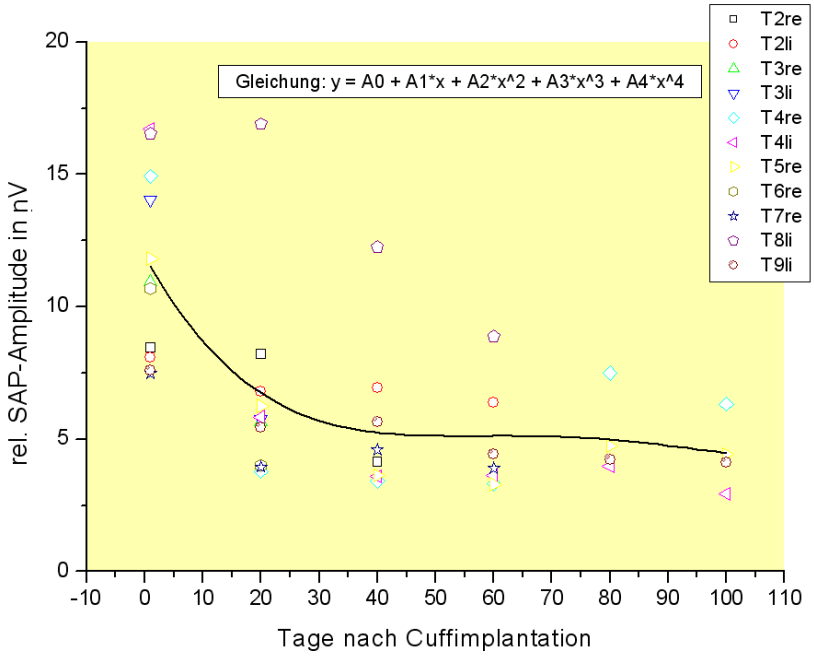

Abbildung 31: Verlauf der relativen maximalen Amplitude in der Gruppe Ia (Implantation einer Cuffelektrode ohne Neurotomie). Polynomineller Kurvenfit 4er Ordnung.

zeigte sich deutlich zwischen dem 40. und 60.Tag. Danach fand keine eindeutige Veränderung mehr statt. Die Spannungswerte am 100.Tag betrugen mit 4,44 nV noch 38,4 % der Initialwerte (SD[17]1,41 nV/Range 3,39 nV).

[16]Variationsbreite
[17]Standardabweichung

Gruppe Ib:

Der Durchschnittswert für die relative maximale Amplitude am ersten Ableitungstag (n=5) war 11,406 nV (Range 8,48 nV / SD 3,73 nV). Wie in Abbildung 32 zu sehen, vollzog sich ein schneller Verlust der rmA bis zum 20. postoperativen Tag. Der

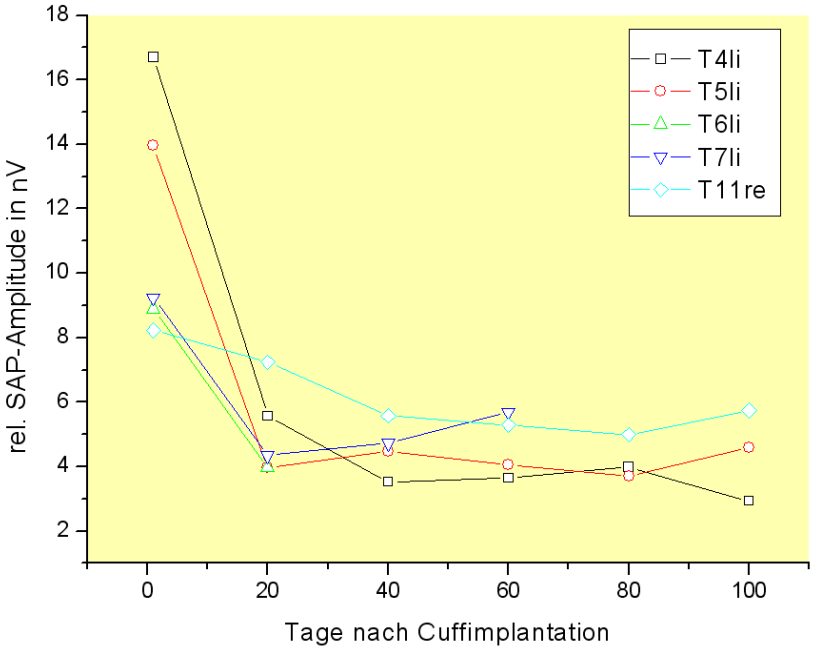

Abbildung 32: Standardisierter Verlauf der relativen maximalen Amplitude in der Gruppe Ib (Implantation einer Cuffelektrode und primäre Neurotomie).

Durchschnittswert an diesem Tag betrug nur noch 43,98 %, respektive 5,016 nV (R[18] 3,28 nV / SD 1,40 nV) der Ausgangspannung. Der weitere Verlauf war annähernd unverändert. Mit 4,42 nV ließen sich nach 100 Tagen noch 38,75 % des durchschnittlichen Ausgangswertes registrieren. In Abbildung 33 ist zuvor beschriebener Verlauf nochmals als geglätteter Graph zu sehen. Der schnelle Verlust der rmA vollzog sich fast gänzlich in den ersten zwanzig Tagen. Danach schloss sich ein steady state an.

[18] Range

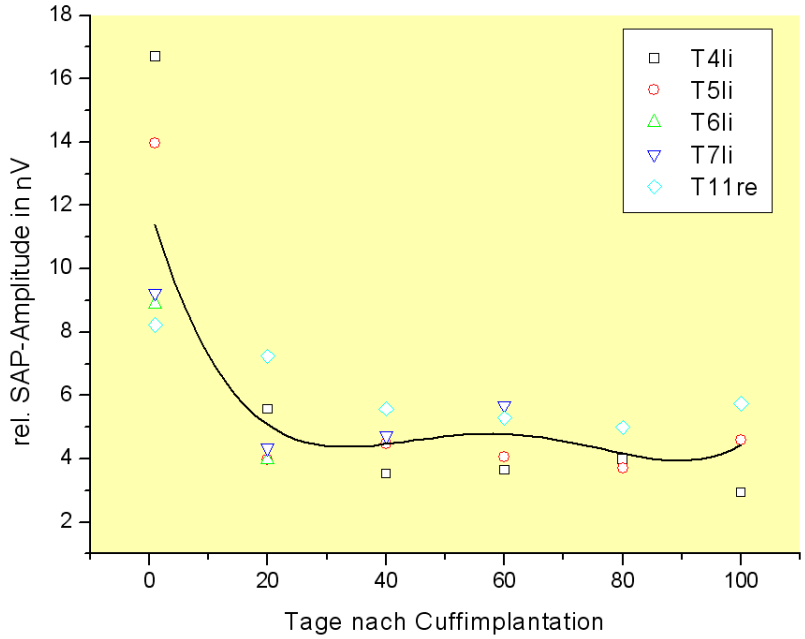

Abbildung 33: Verlauf der relativen maximalen Amplitude in der Gruppe Ib (Implantation einer Cuffelektrode und primäre Neurotomie). Polynomineller Kurvenfit 4er Ordnung.

Gruppe Ic:

Der zweite Nerv dieser Gruppe wird, obwohl er nur über einen sehr kurzen Zeitraum ausgewertet werden konnte, im dazugehörigen Diagramm mitaufgeführt. Nach sekundärer Neurotomie zeigte der Nerv von Tier 8 zunächst einen noch gleichmäßigen Verlauf seiner rmA über die ersten sieben Tage. Danach setzte der Verlust der Amplituden ein. Dieser war ca. 25 Tage post operationem abgeschlossen. Über die anschließenden 35 Tage zeigte sich ein gleichförmiger Verlauf. Hier waren noch annähernd 40 % des Referenzwertes zu registrieren. Ab Tag 114 nach Cuffelektrodenimplantation (60.Tage nach sekundärer Neurotomie) sah man die Regeneration der Spannungswerte. Diese vollzogen sich mit einem schnellen Anstieg über die fol-

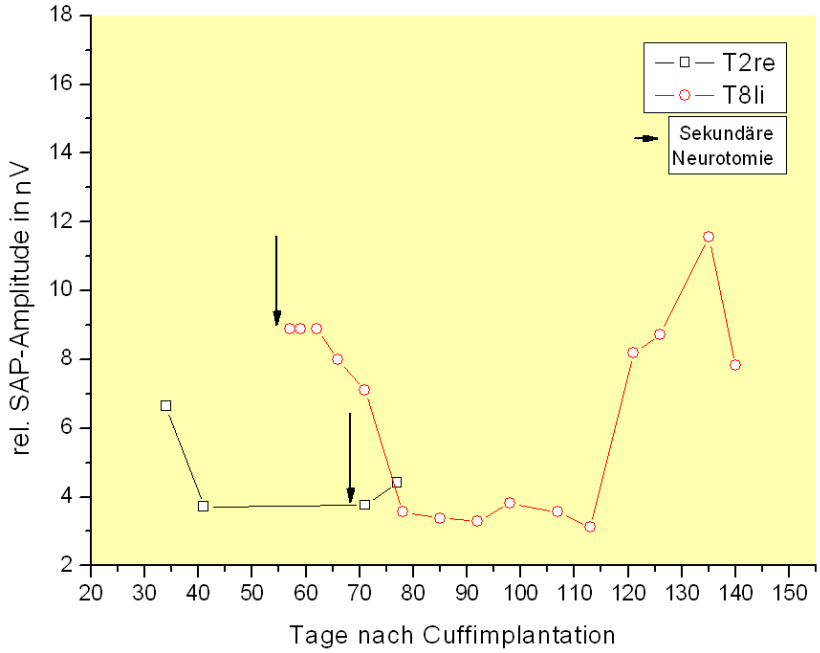

Abbildung 34: Verlauf der relativen maximalen Amplitude in der Gruppe Ic (Implantation einer Cuffelektrode und sekundäre Neurotomie).

genden fünfundzwanzig Tage. Hierbei ergab sich sogar der Höchstwert mit einem Spannungswert von 11,56 nV (130 % des Referenzwertes) nach Neurotomie.

Gruppe IIa:

Zwei Nerven wurden eingeschlossen. Der jeweilige Kurvenverlauf war sehr unterschiedlich. Bei Tier 8 zeigte sich nach kleiner anfänglicher Erhöhung der rmA ein deutlicher Abfall nach ca. 60 Tagen. Zwischen Tag 66 und 92 sah man den niedrigsten Wert. Dieser entsprach 3,38 nV. Daran schloss sich eine deutliche und schnelle Regeneration an. Diese zeigte am 135.Tag eine maximale rmA von 11,56 nV. Bei Tier 9 zeigte sich nach initialem geringen Verlust der rmA-Werte ein dezent undulierender Verlauf bis Tag 83. Der Verlust auf 3,84 nV am Tag 61 stieg wieder auf 4,29

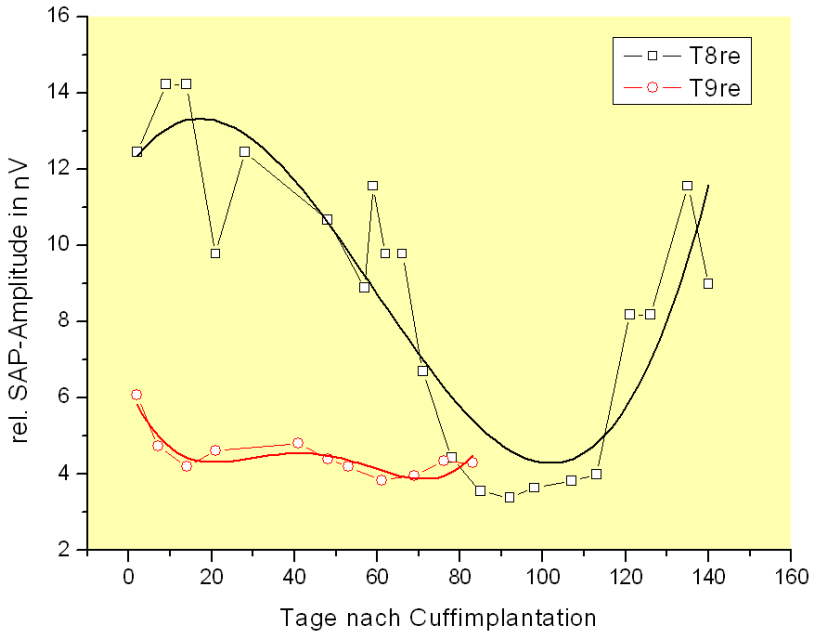

Abbildung 35: Verlauf der relativen maximalen Amplitude in der Gruppe IIa (Implantation einer Cuffelektrode + Perichondriummanschette ohne Neurotomie).

nV nach 83 Tagen an. Dies entsprach 70,67 % des Ausgangswertes.

Gruppe IIb:

Der rechte Nerv von Versuchstier 12 wurde nach Implantation des perichondriumummantelten Cuffs primär neurotomiert. Der Kurvenverlauf ist in den ersten 40 Tagen sehr uneinheitlich. Betrachet man den Graphen (Abbildung 36) so sieht man einen steten Rückgang der rmA-Werte bis zu ihrem Tiefpunkt (4,76 nV / 75,55 %) um den 180.Tag. Danach setzte die Regeneration ein. Bis zum 311 Tag sieht man den Wiederanstieg. Gegen Ende der Versuchslaufzeit lag mit 5,96 nV ca. 95 % des initialen Wertes vor.

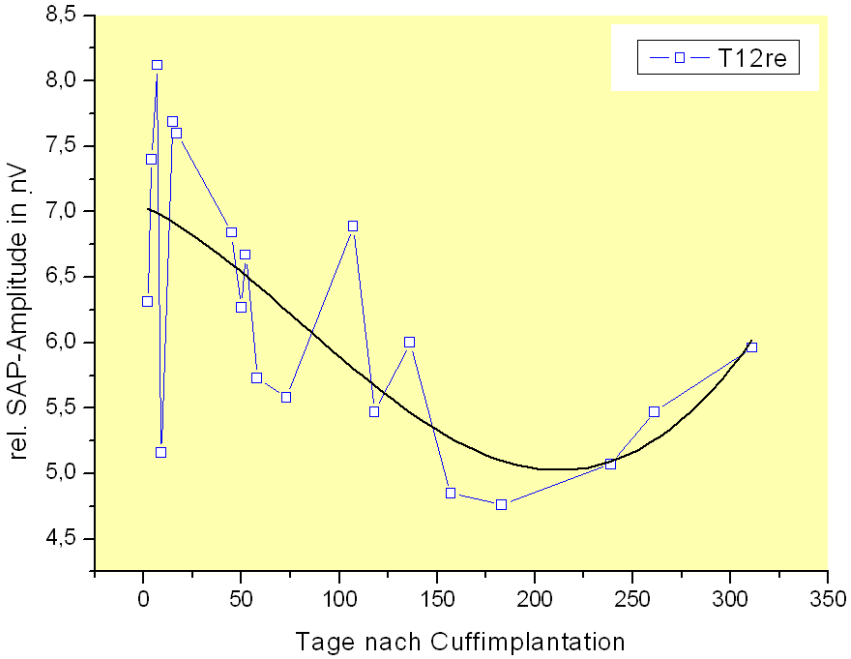

Abbildung 36: Verlauf der relativen maximalen Amplitude in der Gruppe IIb (Implantation einer Cuffelektrode + Perichondriummanschette und Neurotomie).

Gruppe IIc:

Die sekundäre Neurotomie des mit Cuff und Perichondriummanschette versorgten Nervens erfolgte am 84.Tag. Nach einem kleinen Anstieg der Kurve zeigte sich nach zwanzig Tagen der kleinste Wert (3,75 nV / 87,41 %). Dieser wird von einem Anstieg gefolgt. Hier wird am Tag 118 mit 5,26 nV 122,6 % der Ausgangslage erreicht. Insgesamt ist der Kurvenverlauf jedoch recht einheitlich ohne größere Ausschläge. In der Abbildung 37 sind zum Vergleich nochmals die Kurvenverläufe der Gruppe Ic inkludiert.

Gruppen unabhängige Feststellungen:

Betrachtet man die Nervensignale ohne Gruppenzugehörigkeit, bleibt festzuhalten,

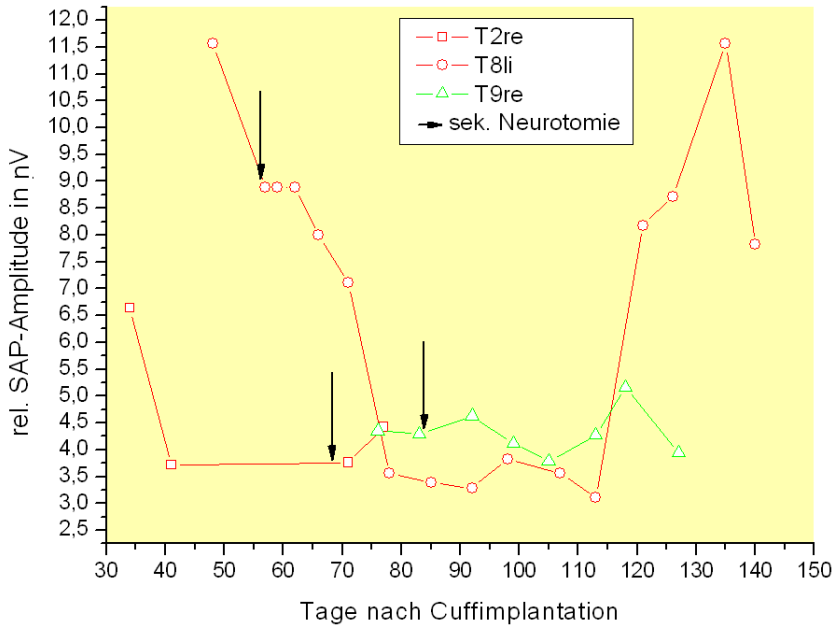

Abbildung 37: Verlauf der relativen maximalen Amplitude in der Gruppe IIc (Implantation einer Cuffelektrode + Perichondriummanschette und sekundäre Neurotomie) in grün. Zum Vergleich sind die Nerven der Gruppe Ic rot dargestellt.

dass bei 6 Nerven eine deutliche Regeneration der Signalstärke auf annähernd ursprüngliche Werte eingesetzt hatte. Der Wiederanstieg der rmA-Werte auf annähernd ursprüngliche Werte vollzog sich dabei durchschnittlich 50,8 $\pm$ 10,2 Tage nach schädigendem Ereignis. Es gab hierbei keine Unterschiede zwischen Implantation ohne Neurotomie, mit Neurotomie oder mit sekundärer Neurotomie. Lediglich zwei Nerven zeigten nach dem Zeitpunkt einer möglichen Regeneration keinen Wiederanstieg der relativen maximalen Amplitude. Bei 4 Nerven war ein einheitlicher Verlauf ohne größere Veränderungen festzustellen.

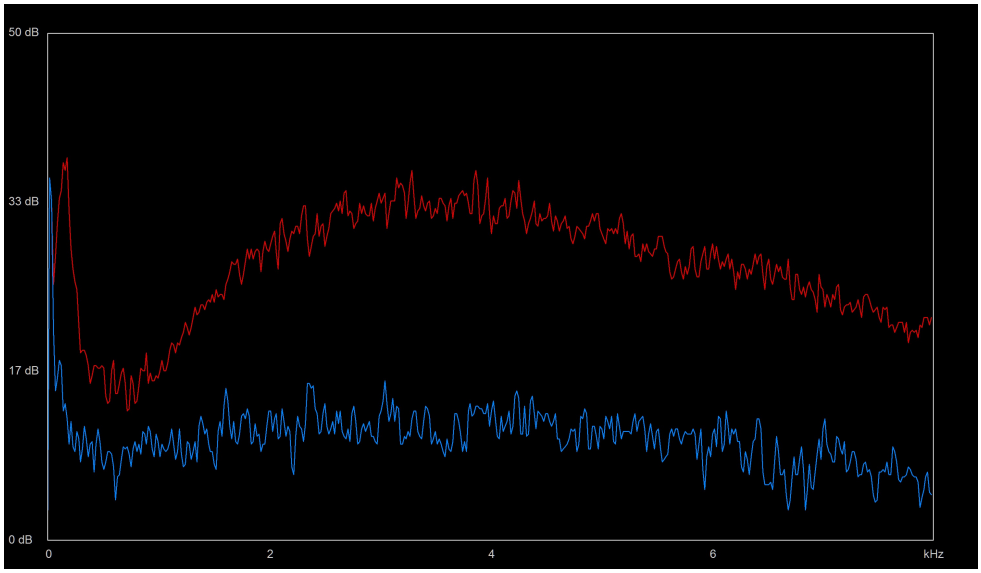

Abbildung 38: FFT-Spektrum eines Nervus hypoglossus in Ruhe (blau) und bei Willkürinnervation (rot). Am linken Rand unterhalb von 800 Hz sind mitregistrierte Myopotentiale zu sehen (keine Hochpassfilterung). (Darstellung mit spectrogram®)

3.2 Frequenzspektrum

Jedes aufgezeichnete SAP wurde einer Spektrumanalyse mittels FFT[19] unterzogen. Der Nervus hypoglossus zeigte dabei das typische Bild eines multifaszikulären motorischen Nerven. Das Frequenzspektrum des intakten NH reichte von 0,8 bis annähernd 8 kHz, wobei ab 7-7,5 kHz der Übergang in die Rauschschwelle fließend war. In Abbildung 38 wurde das FS[20] in Ruhe (blau) und bei Innervation (rot) abgebildet. Zu sehen ist der deutliche Anstieg der relativen Amplituden im gesamten Spektrum während der Innervation. Im Frequenzbereich zwischen 2,2-5 kHz war der Anstieg am deutlichsten. Hier waren auch die größten relativen Amplituden unter der Willkürinnervation zu erkennen. Im Verlauf der Untersuchungen veränderte sich

[19] Fast Fourier Transformation
[20] Frequenzspektrum

das Spektrum jeden Nervens. Dies ging mit dem Verlust der relativen Amplitudenhöhe einher. Gerade der zuvor erwähnte Bereich mit den größten relativen Amplituden war als erstes und auch immer am stärksten betroffen. Der initiale Verlust, welcher sich bereits zwischen dem 1. und 7.Tag postoperativ ausprägte, betraf vornehmlich die Frequenzen zwischen 3000 und 5000 Hz.

Als Mittelwert für das Kernspektrum des ersten Ableitungstages ergab sich für die 18 Nerven ein Wert von 3122 $\pm$ 430 Hz. Dabei unterschieden sich die linke und rechte Seite nicht. Vom linken NH waren 3109 $\pm$ 465 Hz (n = 8), vom rechten NH 3134 $\pm$ 426 Hz (n = 10) als Mittelwert für das Kernspektrum zu erheben. Kleine Unterschiede ergaben sich jedoch in den jeweiligen Gruppen.
In der Gruppe Ia (n = 11) ergab sich ein Durchschnittswert von 3295 $\pm$ 150 Hz. Dies sind 173 Hz über dem Gesamtgruppendurchschnitt, statistisch jedoch nicht signifikant ($p>0,05$). Der Verlust betraf in den ersten sieben Tagen den Frequenzbereich von 3500-5000 Hz und war bei fünf der elf Nerven deutlich bis zum 14. Tag hin ausgeprägt (45%). Die Veränderung manifestierte sich im Sinne einer Linksverschiebung des Spektrummittelwertes im Gesamtspektrum des Nerven. Das Kernspektrum lag nach 14 Tagen im Durchschnitt bei 2570 $\pm$ 422 Hz. Dies entspricht einer Verschiebung um 725 Hz gegenüber dem Spektrummittelwertes der ersten Tage. Die relativen Amplituden in den Frequenzen von 3500 bis 5000 Hz waren in aller Regel bereits deutlich gemindert. Die SAP-bildenden relativen Amplituden waren ab dem 21.Tag im Bereich von 1600 bis 3500 Hz zu finden. Die zweite Phase der Amplitudendepression betraf nun diesen Bereich. Das Maximum des Amplitudenschwundes war zwischen dem 9. und 21. Tag erreicht und ging danach in eine Phase der Konsolidierung über. Dies erfolgte im Durchschnitt zum 40.Tag nach Implantation der Elektrode. Abbildung 39 zeigt den Verlauf anhand der gemittelten Tagesdurchschnittswerte.

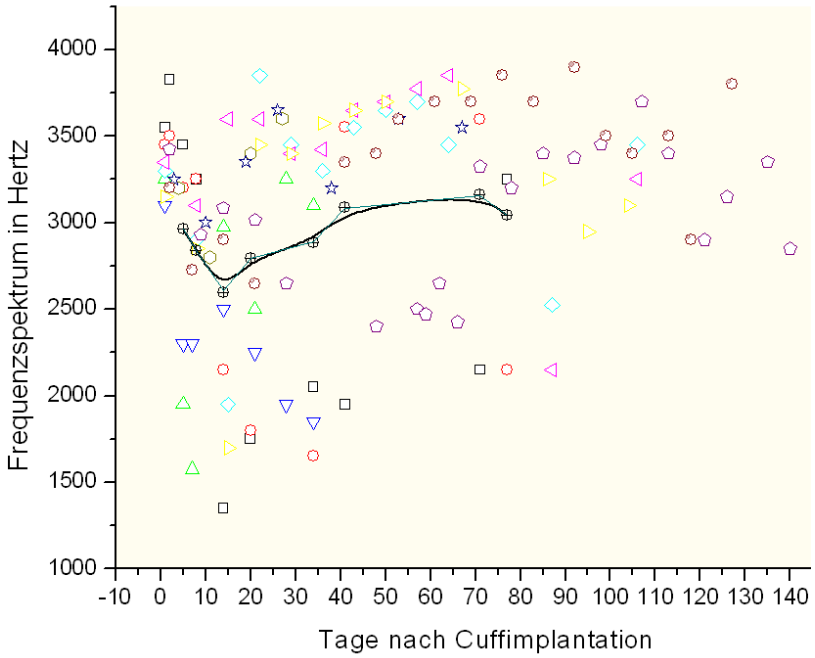

Abbildung 39: Verschiebung des Kernspektrummittelwertes in der Anfangsphase für die Gruppe Ia. Der erneute Anstieg ergibt sich aus dem in der zweiten Phase folgenden Niedergangs der relativen Amplitude im Bereich von 1600 bis 3500Hz.

Bei manchen Nerven war der Verlust so stark ausgeprägt, dass nur noch Messwerte minimal über der Rauschschwelle gemessen worden konnten.

In der Gruppe der primär neurotomierten NH (Gruppe Ib; n = 5) war der Kernspektrummittelwert bereits am ersten Ableitungstag mit 2805 $\pm$ 483 Hz um 317 Hz niedriger als der Gesamtgruppendurchschnittswert.

In der Gruppe Ic boten zwei Nerven nach der sekundären Neurotomie eine erneute deutliche Verschiebung des zuvor konsolidierten Kernspektrums zu niedrigeren Frequenzen. Die maximale Ausprägung ergab sich 14 Tage nach der Neurotomie.

Die Gruppe der mit Perichondrium versorgten Nerven IIa (n = 3) zeigte im Durchschnitt mit 3075 $\pm$ 768 Hz einen nur gering niedrigeren Wert zum Gesamtgruppen-

durchschnitt. Nur einer der drei Nerven mit Perichondriumauskleidung der Elektroden zeigte eine Linksverschiebung des Kernspektrums. Die Verschiebung des Kernspektrums erfolgte auf 2870 Hz in den ersten 21 Tagen.

Bei einigen Nerven kam es nach einer gewissen Latenz zu einer Regeneration des Frequenzspektrums. In Abbildung Nr. 40 ist die Veränderung des Frequenzspek-

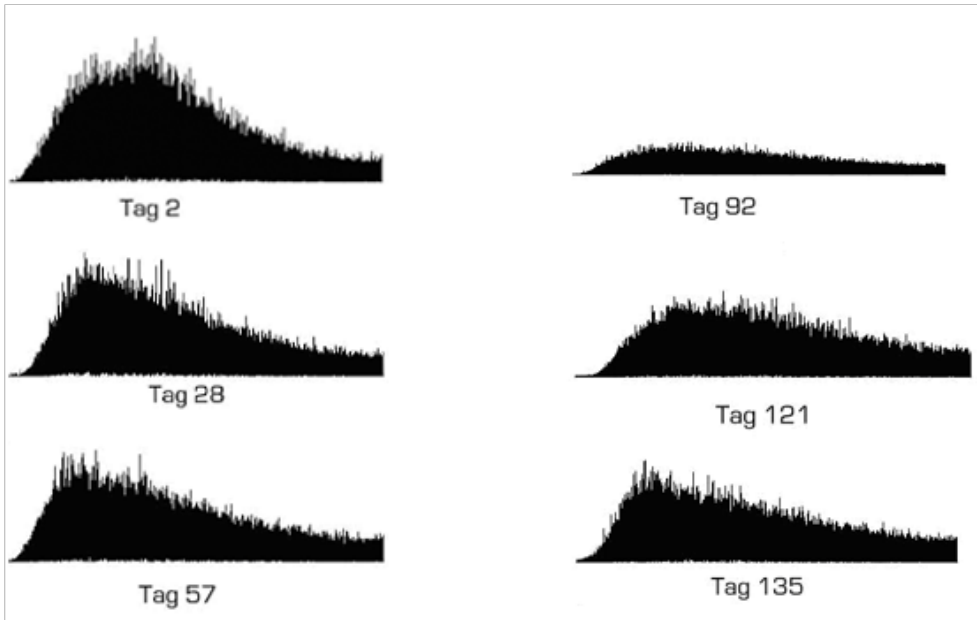

Abbildung 40: Frequenzspektrum eines NH über die Zeit. Zu sehen ist die De- und Regeneration mit Verlust und Wiederaufbau der einzelnen Spektrumbereiche. Erklärung siehe Text. X-Achse = nV, Y-Achse = Hertz

trums über einen Zeitraum von 135 Tagen dargestellt. Dieser ist representativ für alle Gruppen. Allen eigen war zunächst die Degeneration der relativen maximalen Summenaktionspotentiale in den höheren Frequenzen des Kernspektrums. An den ersten Verlust im Bereich von 3500-5000 Hz (Tag 28) schloß sich der Niedergang der Amplituden im Bereich von 1500-3500 Hz an (Tag 57). Nach einer Konsolidierung der der Amplituden (Tag 92) zeigte sich ein gleichmässig niedriges Frequenzspek-

trum mit minimalen Strömen. Die Regeneration erfolgte in umgekehrter Reihenfolge zur Degeneration. So zeigte sich zunächst ein Anstieg der Amplituden im Frequenz-

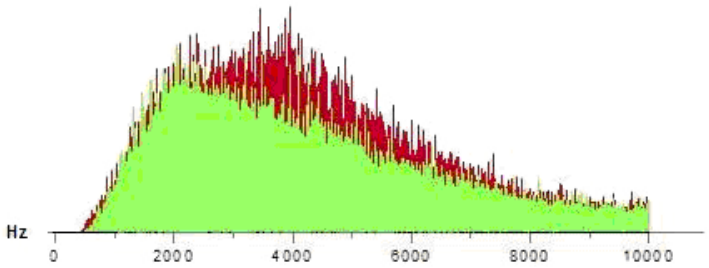

Abbildung 41: Frequenzspektrum eines NH zu Beginn (rot) und nach erfolgter Regeneration (Grün). Der Frequenzbereich von 2500 bis 5000 Hz erfährt keine vollständige Regeneration mehr. X-Achse = nV, Y-Achse = Hertz

bereich zwischen 1000 und 2500 Hz (Abb. 40, Tag 121). Später zeigte sich auch das Spektrum zwischen 2500 und 3500 Hz zum Teil regeneriert (Tag 135).

Sieben Nerven zeigten eine vollständige Regeneration ihres Kernspektrums. Davon waren zwei Nerven in der Gruppe Ic und Ib und jeweils 1 Nerv in der Gruppe Ic, IIa und IIc. Eine Regeneration über den Bereich von 2500 und 5000 Hz hinaus wurde in keiner Gruppe beobachtet ($p < 0{,}03$). In Abbildung 41 ist dies nochmals grafisch nachzuvollziehen.

3.3 Elektroneurogramm und Schluckakt

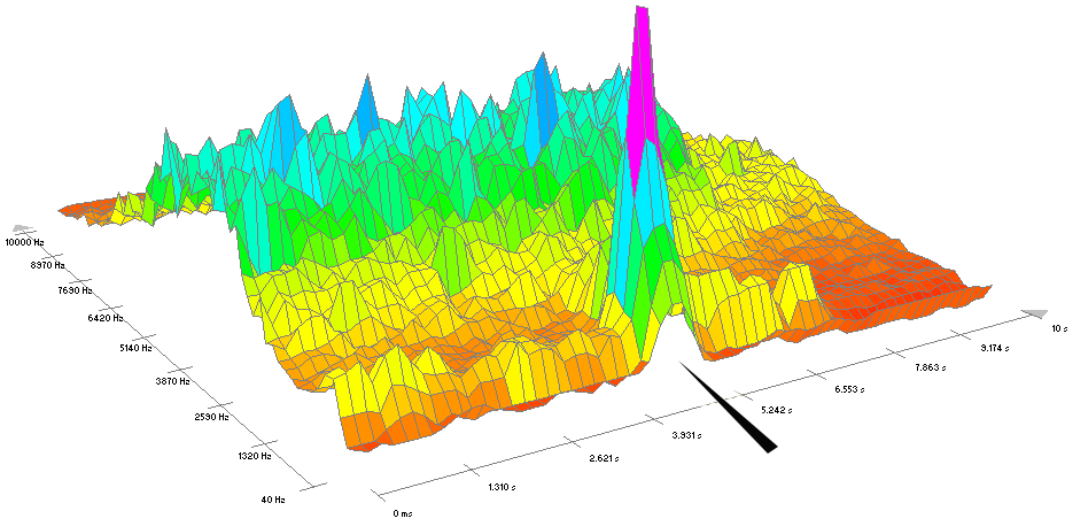

Abbildung 42: FFT Darstellung eines SAP bei der Willkürinnervation mit Schlucktakt (Pfeil).

Die zeitsynchrone Aufzeichnung von EMG-Signalen sollte Rückschlüsse bezüglich der elektroneurographischen Abläufe beim Kauen, Trinken und nachfolgendem Schlucken ermöglichen. Nachfolgend sind die Darstellungen der SAP-Signale unter Wavelab® und spectrogram® zu sehen. Abbildung 42 zeigt einen Innervationsabschnitt bei dem das Versuchstier gekaut hatte. Zu sehen sind für einen motorischen Nerven typische Frequenzbanden von 1-8 kHz. Der Pfeil markiert einen Schluckakt. Dieser ist im Bereich von 20 - 800 Hz unterhalb des ENG-Signals zu sehen (EMG-Spektrum). Die Abbildung 43 und 44 zeigen eine längere Sequenz beim Kauen von Nahrungspellets. Selbst in diesen sehr langen Perioden der Innervation mit unterschiedlichen Zungenbewegungen, wie z.B. Lateralisation, Bolustransport oder Leckbewegungen beim Aufnehmen der Pellets wird immer das gesamte Spektrum genutzt. Die Lage der größeren Amplitudenpeaks variiert leicht in der Höhe des

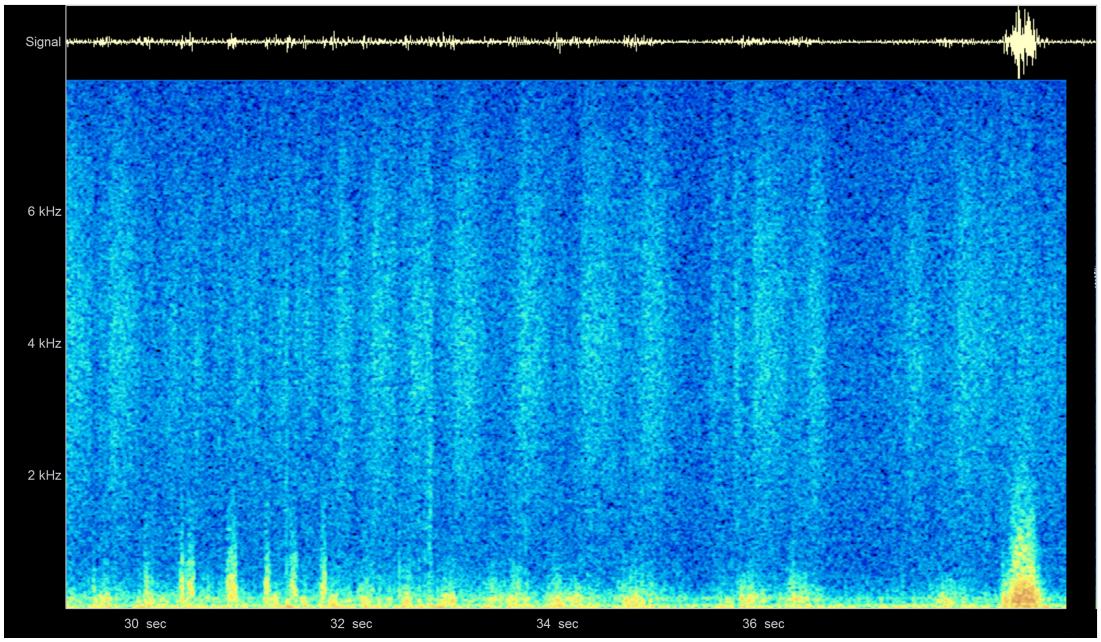

Abbildung 43: Frequenzspektrum des NH beim Kauen und Schlucken. FFT und Darstellung über spectrogram™. Die Banden zeigen unterschiedliche Breiten und Abstände.

Gesamtspektrum. Sie sind aber immer auf das Kernspektrum begrenzt. Auch bei eindeutigem Schluckakt, wie am Ende der Abbildung 43, war keine signifikante Veränderung in Form einer spezifischen Anhebung von Einzelamplitude in einem besonderen Spektrum zu ermitteln. Abschnitte, denen über den Sprachkanal eindeutige Zungenbewegungen zugeordnet wurden, sind nachfolgend dargestellt. Abbildung 45 zeigt den Beginn der Innervation beim Kauen.

Es ist ein kontinuierlicher Anstieg der Einzelamplituden[21] zu sehen. Der Anstieg mündet in einem Plateau, welches nach ca. 1,45 Sekunden ausgebildet ist. Das Niveau wird danach annähernd exakt beibehalten. In der Abbildung 46 ist das ENG des NH beim Trinken zu sehen. Die erste Innervationssalve dauert 2,94 Sekunden an.

[21] Relativamplituden

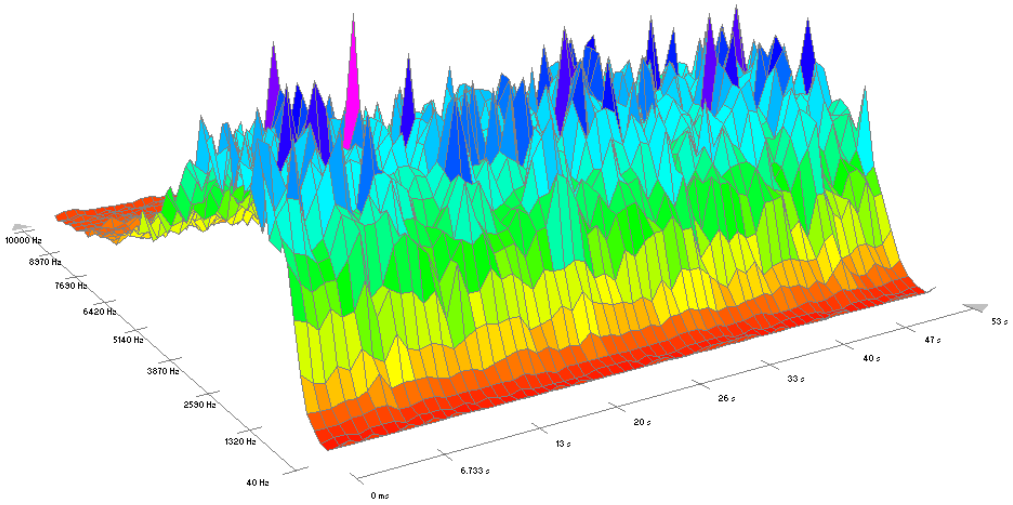

Abbildung 44: Innervationssequenz über 50 Sekunden. Erklärung siehe Text. Darstellung mit WaveLab^{TM}.

Nach 3,4 Sekunden zeigt sich die zweite Innervationssalve. Das EMG-Signal des Zungengrundes folgt somit 480 Millisekunden auf das ENG-Signal. In der ersten Innervationssalve ist kurz vor Ende ein rosafarbener Peak zu erkennen, der einer erneuten Maximierung der Innervation entspricht.

Die Abbildung 47 zeigt die Ausprägung des Zungengrund-EMG und das dazugehörige ENG. Das EMG-Maximum ist nach ca. 500 ms[22], 54,5 Sekunden im rechten Fenster der Grafik zu sehen. Die Unterbrechungen entsprechen Aufzeichnungsartefakten aufgrund einer Übersteuerung des Verstärkers. Das EMG ist als zusammenhängend anzusehen. Betrachtet man das zeitlich davor gelegene ENG, so fällt eine erste Bande nach Innervationsbeginn auf, die von einer etwas breiteren Bande gefolgt wird. Diese ist, der zeitlichen Abfolge nach, dem Maximum des EMG's zuzuordnen.

[22] Millisekunden

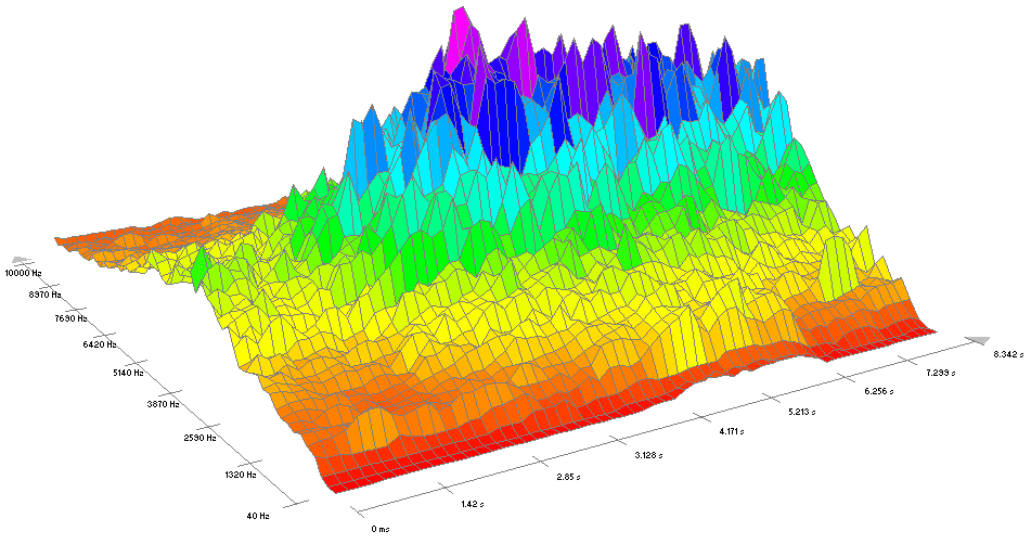

Abbildung 45: Anstieg der Relativamplituden zu Beginn der Innervation.

Die nachfolgenden zwei Banden entsprechen aller Wahrscheinlichkeit nach Signalen für die Zungenspitze zur Retraktion nach Schluckakt. Man kann also von einem Rekruitmentphänomen ausgehen, welches dann im Schluckakt endet.

Die Neurobanden sind kompakt ausgebildet. Die Abfolge der Salve ist der Willkür unterworfen. Der kleinste Abstand entspricht dabei der relativen Refraktärzeit des NH (Abbildung 48). Dies läßt zahlreiche Möglichkeiten zur Signaltriggerung über Softwarealgorithmen zu. Insgesamt muss jedoch festgehalten werden, dass sich zwischen NH-ENG und Zungengrund-EMG keine bewegungsspezifischen Signalmuster nachweisen ließen. Die Ergebnisse der Korrelationsanalysen der schluckaktspezifischen ENG-Signale in Origin® zeigten keine statistische Signifikanz bezüglich Amplitudenhöhe oder spezifischen Veränderungen im Frequenzspektrum im Sinne einer Veschiebung zu höheren oder niedrigeren Frequenzen. Auch konnten für die Einleitung des Schluckaktes keine spezifischen Muster bei der Amplitudenhöhe oder dem

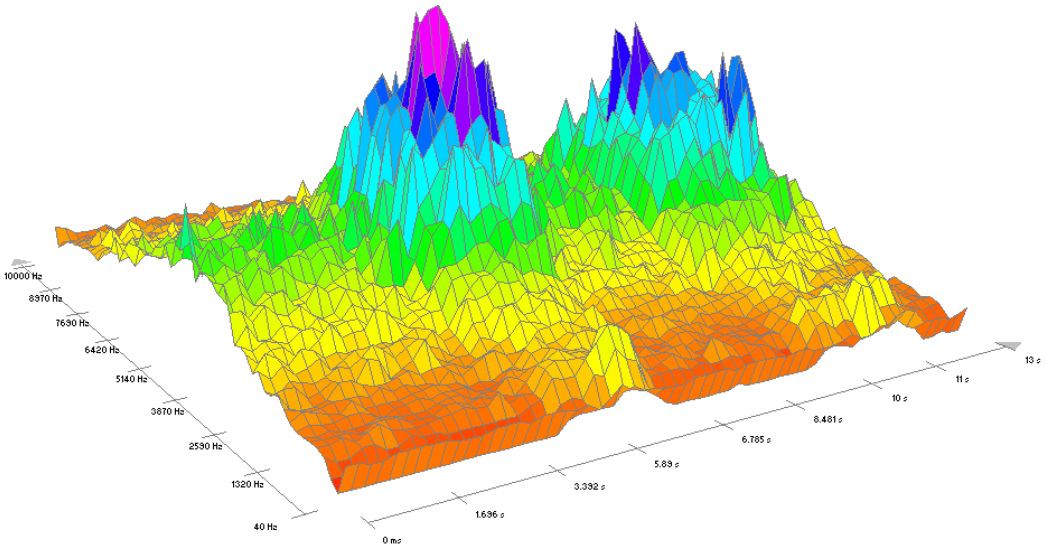

Abbildung 46: FFT Darstellung eines SAP mit Schlucktakten beim Trinken. Maximierung der Innervation kurz vor Ende (Erste Innervationssalve) mit rosafarbenen Peak.

Frequenzspektrum erkannt werden. Das heißt, daß wie zuvor erwähnt eine Triggerung für ein “closed loop”-System über den zeitlichen Abstand der Innervationssalven (-banden) erfolgen muß.

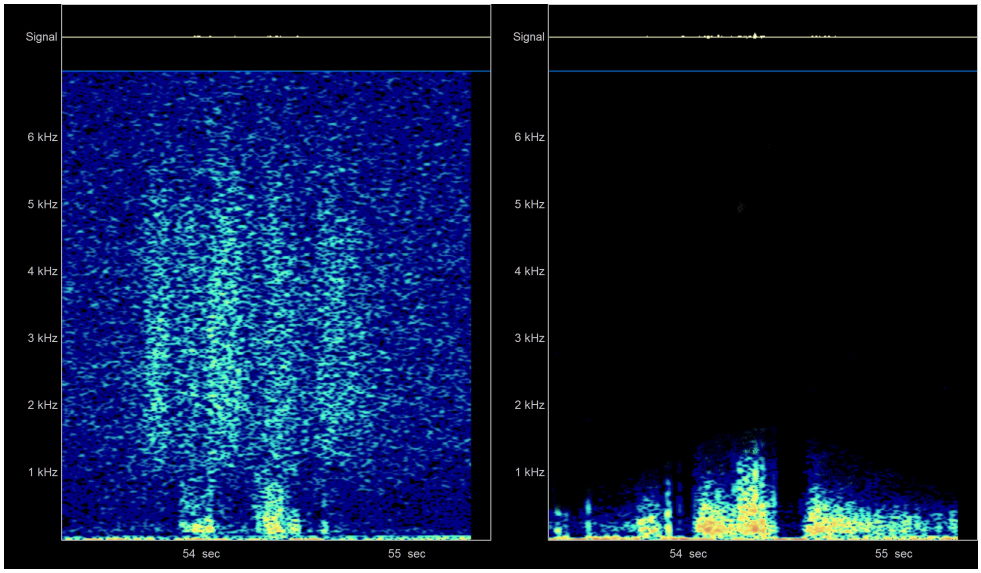

Abbildung 47: Zeitsynchrone Aufzeichnung von ENG (links) und EMG (rechts). Erklärung siehe Text.

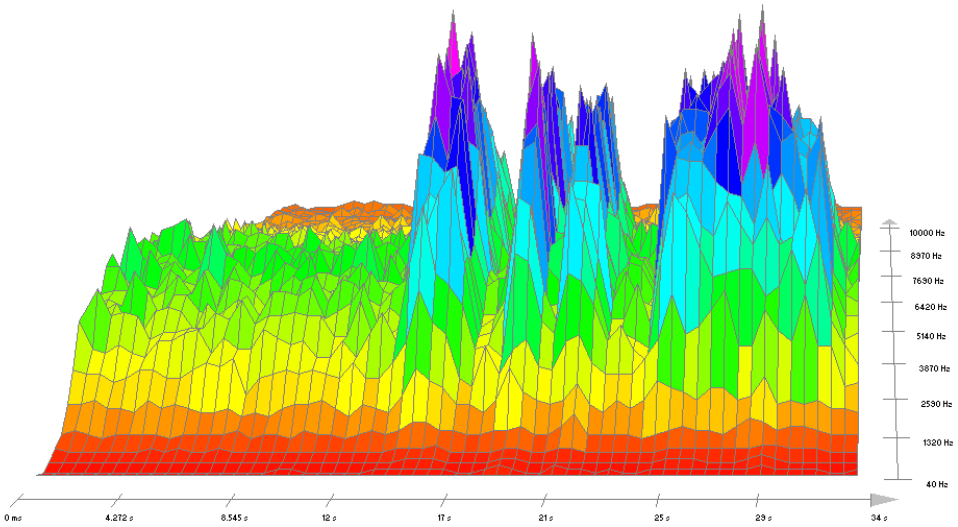

Abbildung 48: FFT Darstellung des SAP. Die Abstände zwischen den Sequenzen der Willkürinnervation sind unterschiedlich groß. Der kleinste Abstand ist zwischen der zweiten und dritten Bande zu sehen.

4 Diskussion

Tripolare Cuffelektroden, wie sie in der vorliegenden Arbeit verwendet wurden, wurden 1975 durch Stein et al. [92] zur Langzeitableitung von SAP am peripheren Nerven eingeführt. Seitdem sind diese Elektroden Gegenstand und Hilfsmittel zahlreicher Forschungsarbeiten und Untersuchungen geworden [47, 92, 94, 95] und haben sich hinsichtlich wichtiger Kriterien, wie Durchmesser, Länge, Schluss, Isolation, Langlebigkeit, Reproduzierbarkeit der Ergebnisse und Biokompabilität gegenüber anderen Elektrodendesigns bewährt [2]. Zur Interpretation der Ergebnisse ist das Verständnis der Interaktion von Elektrode und Nerv notwendig. Die spezifischen lokalen histologischen und physiologischen Reaktionen, welche sich häufig auch gegenseitig bedingen, aber auch die zentralnervösen Vorgänge sind zum Teil sehr komplex und sollen nachfolgend näher erläutert werden.

4.1 Periphere Reaktionen nach Elektrodenimplantation und Neurotomie

Für die Implantation einer Nervenelektrode ist die Dissektion eines Zielnervens erforderlich. Die Vorteile des besseren Signal/Rauschverhältnisses und längerer Verweildauer werden zum Teil mit der unumgänglichen Schädigung des neuralen und perineuralen Gewebes erkauft. Postoperativ kommt es in aller Regel zu einem Ödem in den traumatisierten Geweben (neural/perineural). Die Permeabilität endoneuraler Gefässe ist nach Trauma und während der Regeneration erhöht, ähnlich wie bei der Blut/Hirnschranke, da im gesunden Nerven der Übertritt von Proteinen oder anderer intraluminaler Komponenten unterbunden ist [91]. Endothel, „tight junctions“ des Perineuriums und mangelnder transzytoplasmatischer Transport schließen üblicher-

weise den Extrazellularraum des Endoneuriums ab. Nach Traumatisierung können endoluminale Substanzen, vor allem Proteine wie Albumin zur Zellschwellung und erhöhter extrazellulärer Flüssigkeitsansammlung und Druck führen. Neben dem direkten Trauma des peri- und endoneuralen Gefäßbettes verstärken Zytokine in der frühen Phase der Fremdkörperreaktion über die entsprechenden inflammatorischen Kaskaden diesen Prozess. Aufgrund der Cuffmanschette ist eine Ausdehnung des betroffenen Gewebes nur begrenzt möglich, woraus ein lokales Kompartmentsyndrom resultiert. Die Durchmesser der Axone können sich unter der Schwellung um 1/3 vergrößern [61]. Die verminderte arterielle Perfusion und der gestörte venöse Abfluss sind der Beginn eines Circulus vitiosus, der je nach Ausprägung das Ausmaß der Axonschädigung und die Größe des Verlustes an Schwann'schen Zellen bzw. die Demyelinisierung bestimmt. Untersuchungen von Cuoco und Durand zeigen in vitro einen passiven Druck von < 8 mmHg durch Split-Ring-Cuffelektroden. Für Cuffelektroden liegen bedauerlicherweise keine derartigen Ergebnisse vor. In vivo muss durch die biologische Komponente (Gewebeschwellung/Ödem) unter Einbeziehung des Laplace'schen Gesetzes (konstanter Radius und mittlerer Krümmungsradius) ein Druck weit über 8 mmHg als wahrscheinlich angenommen werden, da im Vergleich zu den Split-Ring-Elektroden keine Vergrößerung des Radius für Cuffelektroden möglich ist. Laut Powell et al. treten Demyelinisierungen an peripheren Nerven bereits ab einem externen Druck von weniger als 10 mmHg auf [71]. Dahlin et al. fanden heraus, dass der axonale Transport von Proteinen bereits ab einer Kompression von 30 mmHg, über einen Zeitraum von mindestens zwei Stunden unterbunden wird [18]. Steigen die Druckwerte über 80 mmHg tritt sogar ein direkter signifikanter struktureller Schaden am Axon mit nachfolgender Degeneration ein. Rydevik et al. [82] haben in ihren Untersuchungen gezeigt, dass bei 20-30 mmHg der venöse Blutfluss sistiert. Für den arteriellen Schenkel wurden Druckwerte von 40-50 mmHg als okkludierend

angesehen. Die Folgen einer unter dem Cuff entstandenen Ischämie wurden zuvor angedeutet und liegen auf der Hand.

Sichtet man die Literatur hinsichtlich der histologischen Veränderungen nach Cuffelektrodenimplantation, so stößt man auf folgende Forschungsergebnisse: Gupta und Steward [39] zeigten 2003 in vivo, dass eine chronische Nervenkompression ein mitogener Stimulus für Schwann'sche Zellen ist. Einen Monat nach Versuchsbeginn zeigte sich die sechsfache Zellzahl an Schwann'schen Zellen am Ort der Kompression, obwohl bereits nach 2 Wochen auch eine gesteigerte Apoptose eingesetzt hatte. Diese Proliferation war zum Teil unabhängig von einer begleitenden Axondegeneration bzw. Änderungen in der Nervenleitgeschwindigkeit. Waller machte bereits 1850 in Tierexperimenten die Entdeckung, dass Axone distal einer Schädigungsstelle ebenfalls eine Degeneration durchlaufen, die nach ihm benannte "Waller'sche Degeneration". Lichtmikroskopische Untersuchungen am kompressionsgeschädigten menschlichen Nervus facialis geben Hinweise auf den zeitlichen Prozess nach Schädigung. Bei entsprechendem Trauma können die distalen Axonanteile innerhalb einer Woche degenerieren. Trotz intakter Myelinscheiden sind viele der Nervenfasern nicht mehr nachweisbar [114]. Zeitversetzt kommt es zum Abbau der Myelinscheide. Hierzu entdifferenzieren sich die Schwann'schen Zellen und proliferieren [98]. Sie übernehmen hierbei das Segmentieren des Myelin und phagozytieren die Fragmente. Das Lecithin dient hierbei als Mediator [45]. Kooperativ gesellen sich hämatogene Makrophagen hinzu, deren Myelinaufnahme dagegen opsoninabhängig verläuft. Hypertrophieren die Schwann'schen Zellen im Anschluss, um das Aussprossen der Axonspitzen in proximodistaler Richtung bei der Regeneration zu unterstützen, bilden sich die sogenannten Büngner'schen Bänder als Leitbahn aus. Dies kann jedoch auch ohne die Präsenz von Schwann'schen Zellen erfolgen.

Der Prozess der Nervendegeneration- und -regeneration wird lokal durch Zytoki-

ne mitgesteuert. Die Produktion erfolgt durch örtliche Makrophagen, Lymphozyten, Mastzellen, Schwann'schen Zellen und auch durch die Neurone selbst. Creange et al. induzierten beispielsweise nach Injektion von TNF-alpha[23] in eine periphere Nervenbahn eine Waller'sche Degeneration, distal der Injektionsstelle. IL-1[24] fördert das weitere Einwandern von Makrophagen und induziert die Synthese weiterer neurotropher Substanzen, worauf eine Überexpression von IL-6[25], NGF[26], LIF[27] und TGF-beta 1[28] im Nerven erfolgt. Über TNF-alpha, VEGF[29] und VPF[30] vermittelt, wandern Leukozyten über eine transzelluräre Migration ins Innere der Nervenscheiden ein. IFN-gamma[31] wirkt unter den beteiligten Zytokinen proinflammatorisch auf die Makrophagenaktivität. TNF-alpha und beta waren in den Versuchen hingegen direkt myelinotoxisch. Die „Downregulation" der Immunkaskade erfolgte über TGF-beta 1 und IL-8 [15]. Die genauen Regulationsmechanismen in vivo sind noch nicht gänzlich verstanden und werden zudem von den zentralnervösen Vorgängen mitbegleitet und sind hiervon abhängig. Hierauf wird im Verlauf noch eingegangen. Die Aalborger Arbeitsgruppe des ""Center for Sensory-Motor Interaction"" untersuchte Axonabschnitte des Nervus ischiadicus proximal, auf Höhe und distal der Cuffelektrode am Tiermodell des Hasen [58]. Zwei Wochen und 16 Wochen nach der Implantation wurde der Zustand der Myelinisierung anhand von Gewebeproben untersucht. Die Ergebnisse zeigten den Verlust von 27% der myelinisierten Axone zwei Wochen nach Cuffimplantation in den Abschnitten unter der Elektrode und distal davon. Der Ver-

[23] Tumor necrosis factor alpha
[24] interleukin 1
[25] interleukin 6
[26] nerve growth factor
[27] leukemia inhibitory factor
[28] transforming growth factor beta 1
[29] vascular endothelial growth factor
[30] vascular permeability factor
[31] Interferon gamma

lust betraf fast alle Axone (Durchmesser), nur kleine Axone ($\leq$3 μm) waren nicht betroffen. Die Demyelinisierung war dabei ungleichmäßig über den Faszikelquerschnitt verteilt, betraff also nicht nur die Randbereiche. Nach 16 Wochen zeigen sich die gleichen Daten für die Myelinisierung wie in der Kontrollgruppe in allen Abschnitten. Lediglich 20 % der großen Axone hatte ihre ursprüngliche Grösse nicht mehr erreicht. Stein hingegen hatte ebenso wie Sunderland einen Verlust des Myelins ausschließlich der großen Axone beobachtet [95, 100]. Auch Thomsen nimmt nach Versuchen mit Cuffelektroden an, dass große Axone am sensitivsten auf externen Druck reagieren [103]. Eine externe Schädigung hat auch Auswirkungen auf die Diameter der Axone und auf die Distanz der Ranvier'schen Schnürringen. Beide sind entscheidende Einflussfaktoren für die Nervenleitgeschwindigkeit und der zu messenden Ströme. Diese nehmen bei kleineren Durchmessern und Abstandszunahme der Schnürringe ab. Die Literaturangaben sind hier einheitlich [4, 14, 17, 53, 55, 58, 62, 99]. Die Frage ob die Ischämie oder die Nervenkompression bei der Schädigung die entscheidende Rolle spielt ist hingegen noch nicht hinlänglich geklärt [25]. Verschiedene Autoren nehmen auch eine dritte schädigende Komponente durch die Cuffelektrode selbst an [37, 53, 103]. Als ursächlich für die Axonalterationen werden Scherkräfte, vor allem am Ein- und Ausgang der Cuffmanschette bei relativer Gleitbewegung des den Nerven umgebenden Gewebes, beispielsweise Muskel, angeschuldigt [37]. Zum einen über den direkten Kabelzug selbst, zum anderen durch die Nervengleitbewegung („slipping"), wenn die Elektroden an gelenknahe Nervenabschnitte implantiert wurden [37, 79, 103]. Romero machte diesbezüglich 2001 eine sehr aufschlussreiche Untersuchung am NI[32] der Katze [79]. Dazu bildete er vier Gruppen. Eine Kontrollgruppe (CO), eine „sham"-Gruppe (SH) bei der die Elektrode implantiert und unmittelbar wieder entfernt wurde, ein Gruppe mit Elektrode ohne abgehende Ka-

[32] Nervus ischiadicus

bel (BC) und eine Gruppe mit Elektrode samt Kabel (FC). Die Auswertung erfolgte nach 4 monatiger Implantationsdauer, da hier zu erwarten war, dass alle reaktiven zelluläre Vorgängen abgeschlossen waren. Untersucht wurden die histomorphologischen Veränderungen der epifaszikulären, der inter- und intrafaszikulären Zone. Es zeigte sich eine moderate Verbreiterung der epifaszikulären Zone in den Gruppen SH und BC. In der Gruppe FC war die Verbreiterung hingegen stark ausgeprägt. Die einzelnen Kompartimente wurden auch hinsichtlich des Anteils an Kollagen ausgewertet. Hier zeigten nur die Gruppen BC und FC eine signifikant erhöhte Kollagenisierung. Insgesamt ließt sich daraus schlussfolgern, dass die operative Prozedur mit Traumatisierung des Gewebes bei der Implantation langfristig nur geringe Folgen für die Nerven hat. Der Unterschied bezüglich der Verbreiterung des epifaszialen Raumes zwischen der Gruppe FC und BC legt die Vermutung nahe, dass die durch mechanische Alteration unter Bewegung entstandenen Schäden am Nerven durch bindegewebige Adhärenzen des elektronischen Materials im umliegenden Gewebe verursacht wurden, was in der Gruppe FC noch stärker ausgeprägt war als in der Gruppe BC. Es ist zu vermuten, dass eine kontinuierliche Schädigung der Nerven durch die Manschette erfolgt und durch die Kabel noch potentiert wird. Aber nur wenn die Elektroden an Nerven einer Körperregion implantiert werden, die größere Bewegungsradien zulässt, wie in unserem Fall die zervikale Region (Abb. 49). Agnew implantierte Stimulationselektroden für insgesamt zwei Jahre an die sakralen Nervenwurzeln des Hundes [1]. Die histologische Evaluation zeigte nur minimale Schädigungen am Nerven. Bei Kim et al. [53] zeigten nur 2 von insgesamt 53 Nervi phrenici bei Hunden fokale Demyelinisierung nach 4-374 Tagen Cuffelektrodenimplantation. Zu ähnlichen Ergebnissen kam Sahin 2000 bei der sechsmonatigen Stimulation der Nervi hypoglossi am Hund in einem „closed loop“-System [83].

Die Impedanz beschreibt die elektrische Eigenschaft von Gewebe und ist zen-

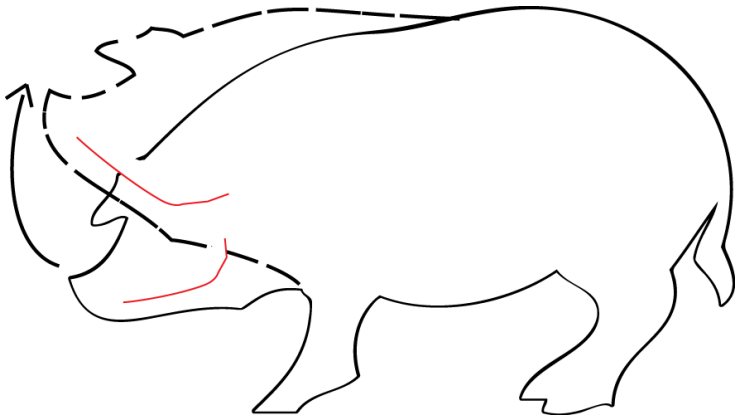

Abbildung 49: Durch die porcine Anatomie bedingter vergrößerter Bewegungsradius bei der Reklination. Die dabei entstehende Elongation des Nervus hypoglossus unterhält die Schädigung des Nerven durch die sich mitverschiebende Elektrode.

trales Thema zahlreicher Arbeiten. Die bindegewebige Verbreiterung des peri- und epineuralen Raumes erhöht die Impedanz und verändert die elektrische Leitfähigkeit des Nervengewebes in der Elektrode und nimmt dadurch Einfluss auf die zu messenden SAP. Stein et al. untersuchten bereits 1978 als erste den Zusammenhang zwischen SAP-Änderungen und der Impedanz [93]. Bei ihren Versuchen sahen sie einen leichten Impedanzanstieg innerhalb der ersten Wochen nach Elektrodenimplantation, wofür in die Elektrodenmanschette einwachsendes Bindegewebe als ursächlich angesehen wurde. Malek und Mark hingegen beobachten einen initialen Abfall der Impedanz welcher von einer Zunahme derselben gefolgt wurde [66]. Grill und Mortimer haben sich sehr dezidiert mit dieser Fragestellung beschäftigt und differenzierten auch verschiedene Materialien in einem in-vivo-Modell mit Katzen [36, 37]. Untersucht wurden zum einen Silikon, aus dem auch die von uns verwendeten Elektroden gefertigt wurden, und zum anderen Epoxid. Bei der Silikonelektrode war bis zum vierten Tag eine Abnahme der Impedanz festzustellen. Die Autoren

führen dies auf die Flüssigkeitsakkumulation bei erhöhter postoperativer vaskulärer Permeabilität und früher Fremdkörperreaktion (Host) auf das Implantat zurück. Bei Epoxid dauerte diese Phase 15 Tage. Histologisch konnten erste Fibroblasten bereits in den ersten 24 Stunden um das Silikon gesehen werden. Deren Zahl nahm in den ersten zehn Tagen deutlich zu und persistierte, bis der Fremdkörper erfolgreich eingekapselt wurde. Ab dem vierten Tag war Kollagen um das Implantat nachzuweisen. Die Dicke des Kapselgewebes betrug nach 80 Tagen 446 $\pm$ 147 μm. Es bestand aus enggepackten, gut organisierten Lagen von länglichen, dünnen, parallelen Fibroblasten und Kollagen. Die Kapsel um das Epoxidimplantat war mit 808 $\pm$ 179 μm deutlich größer und war hauptsächlich von Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen umgeben. Zudem waren unorganisierte Fibroblasten und Kollagen und eine reiche Vaskularisation zu sehen. Dies erklärt auch die verschiedenen elektrophysiologischen Eigenschaften der beiden Kapselgewebe. Wegen des Zellreichtums und der guten Vaskularisation bot das Gewebe um das Epoxid nach 80 Tagen einen Widerstand von 298 Ω/cm. Für das Gewebe um die Silikonelektrode ergaben sich 666 Ω/cm. Interessanterweise differierten die Gewebe auch bezüglich ihres Widerstandes in unterschiedlichen Frequenzbereichen. Für das Gewebe um die Silikonelektrode ergaben sich lineare Werte zwischen 10 und 1000Hz, wohingegen das Gewebe um die Epoxidelektrode zwischen 10 und 1000Hz doppelt so viel Widerstand bot wie darüber. Gleiche Beobachtungen für Silikonelektroden machten Brindley and Lewin am zentralen Nervensystem bei Implantationen in den visuellen Kortex von Pavianen [9].

Nach einer distalen Neurotomie zeigen sich zum Teil gravierende Veränderungen im SAP des proximalen Segmentes. Davis et al. untersuchten den Nervus ischiadicus der Katze nach Durchtrennung distal der Cuffelektrode [19]. Sie bildeten vier Gruppen mit ligiertem (Gruppe 1), bekappetem (silastic cap, Gruppe 2), mit reanastomosier-

tem (Gruppe 3) und in denervierte Muskulatur eingenähtem Nerven (Gruppe 4). Die evozierten SAP der Gruppe 1+2 fielen nach Neurotomie auf annähernd 1/4 der Ausgangswerte und zeigten einen konstanten Verlust über die folgenden 200 Tage. Bei den reanastomosierten Nerven zeigte sich zunächst der gleiche Trend. Nach 50-60 Tagen wurde ein Wiederanstieg der SAP gesehen. Zeitgleich wurde eine Reinnervierung der Zielmuskulatur im EMG beobachtet. Nach 150 Tagen wurde ein „steady state“ mit annähernd 50-60 % der SAP-Kontrollwerte erreicht. Die Gruppe 4 war genauso effektiv und unterlag der gleichen Zeitfolge. Demzufolge profitieren Nervenfasern substanziell von der Reinnervation des Zielorgans (Muskel) hinsichtlich der SAP-Größe. Dies spiegelte sich auch in den histologischen Vitalitätskriterien der Axone, wie Durchmesser und Myelinisierung, wider. Erstaunlich war in diesem Zusammenhang, dass auch Nerven ohne Effektororgan auf niedrigen Aktivitätsleveln persistierten. Gordon et al. untersuchten 1980 die Langzeiteffekte der Neurotomie, Ligatur und Anastomosierung und evaluierten neben den evozierten Potentialen auch die Motorneuronenaktivität anhand der willkürlichen SAP am gleichen Tiermodell [34]. Die Regeneration der SAP fand bei Nervennaht nach 30-40 Tagen und bei der Nerv-Muskelnaht nach 40-50 Tagen statt. Die SAP der Nerven mit primärer Koaptation erreichten annähernd 80% der ursprünglichen Werte. Bei der Nerven-Muskelnaht wurden 52% des Initialwertes erreicht. Die ligierten Nerven zeigten wieder einen konstanten Verlust ohne Erholung bis 200 Tage nach Prozedur. Fugleholm untersuchte die Nervenregeneration am Nervus peronaeus communis der Katzen elektrophysiologisch und elektronenmikroskopisch nach Quetschung, Neurotomie mit anschließender Reanastomosierung und nach Kryoschädigung durch direktes Vereisen. Die einzelnen Schädigungsmethoden wurden auch kombiniert angewandt. Die Reinnervation des Muskulus plantaris dauerte bei den gequetschten Nerven 42-54 Tage und nach Neurotomie mit anschliessender Reanastomosierung 42-84 Tage. Die Wachstumsrate

der axonalen Aussprossung betrugt 3-4 mm/d für die Nerven mit Quetschung und Quetschung + Kryoschädigung. Nach Neurotomie betrug das Wachstum 2,5 mm/d und nach Neurotomie und Vereisung wuchsen die Nerven nur 1,2 mm/d [28]. Elektronenmikroskopisch ergab sich, dass die Funktion der Schwann'schen Zellen bei der Regeneration der Nerven mit zerstörter Basallamina eine zentrale Rolle spielt, vermutlich vorrangig in Bezug auf die Reifung (Myelinisierung und Axondurchmesser). Auch das Laminin der Basallamina scheint als Leitlinie, um ein gerichtetes Wachstum für die aussprossenden Axone zu gewährleisten zu können, eine entscheidende Rolle zu spielen, wie Wang et al. in ihren Versuchen beweisen konnten [109].

4.2 Zentralnervöse Reaktionen nach Elektrodenimplantation und Neurotomie

Die peripheren physiologischen und morphologischen Veränderungen auf eine externe oder interne Schädigung des Axons legen nahe, dass auch zentralnervöse Vorgänge folgen bzw. zeitgleich vonstatten gehen. Der retrograde axoplasmatische Transport ist in die Initiation der metabolischen und morphologischen reaktiven Prozesse involviert [26, 88]. Bereits vier bis acht Stunden nach Neurotomie ist lichtmikroskopisch die Schwellung des Perikardiums mit Verteilung der Nisslsubstanz und die Exzentralisation des Nukleus zu erkennen. Die Auflösung der Granula im endoplasmatischen Retikulum kennzeichnet die ultrastrukturellen Ereignisse der Chromatolyse [35]. Die gesteigerte mRNS-Expression für zytoskelettale Komponenten setzt vier Stunden nach Schädigung ein [102]. Nach einem Maximum der Expression um den 56-70 Tag dauert es 250-280 Tage bis die Alterationen des Proteinmetabolismus wieder Normalwerte erreichen. Guntinas-Lichius et al. untersuchten den Nucleus hypoglossus der Ratte nach Neurotomie und anschließender Nervennaht. Sie beobachteten da-

bei auch eine leichte Koreaktion der kontralateralen Nervenkerne und eine deutlich stärker und länger währende Reaktion, wenn die Reinnervation verhindert blieb [38].

Hamberger et al. berichten neben einer verminderten synaptischen Aktivität auch von einem Verlust der synaptischen Kontakte der Neurone im Nucleus hypoglossus, welche peripher neurotomiert wurden [40]. Die verminderte suprasegmentale Stimulation der verletzten Neurone und die verminderte Erregbarkeit im postsynaptischen Segment neurotomierter Nerven sind seit den 70er Jahren bekannt [57]. Brannstrom untersuchte die Neurotomiefolgen an spinalen Alpha-Motoneuronen der Katze anhand der elektronenmikroskopischen Veränderungen 3, 6 und 12 Wochen nach Trauma. So zeigte sich in der 3. und 6. Woche nach Neurotomie eine transiente Erhöhung der synaptischen Kontakte, vorrangig des Typs F. Nach 12 Wochen war eine Reduktion der synaptischen Kontakte um 83 % am Soma und von 57 % im Bereich der proximalen Dendriten festzustellen. Die distalen Segmente waren unverändert. Obwohl die Verluste zentrifugal in Prozentzahl abnahmen, war die absolute Zahl der Verluste in der Peripherie deutlich größer als am Zellsoma selbst [7]. Lange Zeit wurde vermutet, dass auch die Mikroglia eine Rolle bei diesen Deprivationsprozessen spielt. Dies konnte durch Svensson et al. widerlegt werden. Sie konnten durch eine kontinuierliche Zytosin-Arabinosid-Infusion (ARA-C) in das Ventrikelsystem der adulten Ratte die Mikrogliaproliferation nach Neurotomie des Nervus hypoglossus erfolgreich unterdrücken [101]. Es kam in dieser, wie auch in der Kontrollgruppe zu einer signifikanten Reduktion der synaptischen Kontakte 4 und 7 Tage nach der Nervendurchtrennung. Das immunozytochemische Labeling mit Synaptophysin-AK[33] zeigte eine Reduktion der Immunoreaktivität für beide Gruppen. Die Ergebnisse legen nahe, dass die Mikroglia nicht für die Isolation der verletzten Neurone verantwortlich ist. Chen et al. zeigten, dass nach Neurotomie des NH der adulten Ratte das Motorneuron spezifi-

[33] Antikörper

sche Epitop MO-1 an der Zelloberfläche der ipsilateralen Neurone verschwindet. 80 % der Neurone exprimierten nach 4 Wochen wieder MO-1. Dies geschah, als die Axone nach dem Aussprossen wieder ihre Zielmuskulatur erreicht hatten. Die Koreaktion der ipsilateralen Hirnnervenkerne findet also vermutlich ex aequo statt. Auch scheint es eine Spezifität der Neurone zu einer bestimmten Muskulatur zu geben. Wurde der proximale Stumpf in den Musculus sternocleidomastoideus eingenäht, wurde kein MO-1 exprimiert, es sei denn der Muskel wurde zuvor denerviert und die Nerven konnten motorische Endplatten ausformen [11]. Dies unterstützt auch die These, dass die funktionelle Integrität der Neurone nur beim intaktem Zusammenspiel mit dem Effektororgan besteht.

Ungeklärt scheint jedoch noch der Signalweg nach Schädigung von peripher nach zentral zu sein. Derzeit wird von zwei Hypothesen ausgegangen. 1. Unterbrochener Transport trophischer Faktoren vom Effektororgan zum Zellkern (Hypothese der gestörten Trophik) und 2. Störung der elektrophysiologischen Kontinuität. Mader et al. kommen nach sehr differentierten Versuchen zu dem Schluss, dass eine bimodale Übertragung stattfindet [63]. Die schnelle und frühe Phase der Reaktion nach Neurotomie wird durch die gestörte Elektrophysiologie initiert, bei der späten Phase und dem möglichen Zelltod scheinen die trophischen Faktoren entscheidend zu sein. Beobachtungen von Lin et al. lassen vermuten, dass nach axonaler Schädigung die Aktivierung der Elk1-Kinase durch retrograde Aktionspotentiale erfolgt. Diese schnelle elektrische Induktion konnte auch durch Baden von Neuronen in höher konzentriertem K^+ Medien erzeugt werden. Gleiches gelang mit 5-HT (Serotonin). 5-HT wird auch bei anderen Noxen in der Zelle freigesetzt. Die Elk1-Kinase ist auch ein Konvergenzpunkt bei Lernsignalen [60]. Dies könnte erklären warum Neurone, die mit Silikonröhrchen (depletiver Reiz) vorkonditioniert wurden, einen nachfolgenden Insult mit einem erhöhten Regenerationspotential kompensieren können [17]. Der

Stearyl-Co-A-Desaturase (SCD-1) wurde durch Breuer und Kollegen ebenfalls eine wichtige Rolle bei der Regeneration des peripheren und zentralen Nervensystems zugeordnet [8]. Das Hauptsyntheseprodukt Oleat ist ein Phospholipid und stellt ca. 30% des Fettsäurenanteils der Zellmembran dar. Neben dem axonalen Wachstum ist es in Differentierungsprozesse und in die Signaltransmission in den terminalen Membranen involviert.

Die jüngeren Forschungen beschäftigen sich zunehmend mit den biochemischen, molekularbiologischen und genetischen Prozessen nach Nervenverletzung. Axonale Schädigungen führen, wie oben bereits erwähnt, zu einer Vielzahl pathologischer Ereignisse. Diese können auch im Zelltod kumulieren. Snider führte Neurotomien am NH der postnatalen und adulten Ratte durch. Ungefähr 60% der juvenilen Hypoglossus-Motoneurone und 30% der adulten Neurone überlebten diese Prozedur nicht. Das Maximum des Zelltodes war 3-6 Monate nach Prozedur zu beobachten [89]. Kristensson et al. sahen nach Neurotomie des Nervus vagus und des Nervus hypoglossus der Ratte differierende Ergebnisse. So starb der Großteil der Vagusneurone, wohingegen der Großteil der Hypoglossusneurone auch 23 Wochen nach Prozedur überlebte. Die Auswertung erfolgte sowohl über die Messung der IFN-gamma- und Stickstoffoxidsynthetase I-Induktion als auch über die NADPH[34]-Histochemie 2-4 Tage, 2-4 Wochen und 23 Wochen nach Neurotomie. Die immuno- und histochemischen Level der zuvor erwähnten Parameter der Vagusmotoneurone waren über die gesamte Zeit deutlich gegenüber denen der Hypoglossusnerven erhöht. Daraus ist zu schließen, dass die hohe und persistente Koexpression von IFN-gamma und Stickoxidsynthetase I nach Neurotomie oder Nervenschädigung ein negativer prädiktiver Parameter bei der Pathogenese der neuronalen Degeneration ist [56]. Wicher et al. konnten gleiche Zusammenhänge für Clusterin-negative Mäuse zeigen. Hier wurde

[34] Nicotinamidadenindinukleotidphosphat

ein deutlicher neuroprotektiver Effekt des Glykoproteins nach Neurotomie gesehen [112]. Gleiches sahen Sendter et al. und Yan et al. für BDNF[35] am Nervus facialis und ischiadicus der neonatalen Ratte [87, 113]. Stella et al. zeigten dass auch MSP[36] die NO[37]-Produktion im Neurolemm der Hypoglossusnerven supprimiert und als protektiver Faktor nach Nervenzellschädigung angesehen werden kann [97]. Zu einem beeindruckenden Ergebnis kommt eine Studie von Itoh et al. [49]. Hier konnte gezeigt werden, dass mit Hilfe von bovinen Hirngangliosiden der Zelltod von neurotomierten Hypoglossus-Nerven der Ratte signifikant verhindert werden kann. Nach einer Injektion von 2 μg BBG[38] in den proximalen Nervenstumpf nach Prozedur konnte ein nahezu 100%iges Überleben der Nervenzellen nachgewiesen werden. Hier wurde nicht nur neurotomiert, sondern es wurden auch 5 mm des Nerven reseziert im Sinne einer vollständige Deprivation über einen „critical size defect“. Der Analysezeitraum erstreckte sich postoperativ über 10 Wochen. Der genaue Wirkmechanismus ist nicht geklärt. Insgesamt ist damit aber ein vielversprechender therapeutischer Ansatz geschaffen worden, um Nervenzellverluste nach unumgänglicher Neurotomie zu minimieren oder gar vorzubeugen.

4.3 Eigene Untersuchungen

4.3.1 Schlussfolgerungen aus den Amplitudenveränderungen der Summenaktionspotentiale

Zahlreiche Studien belegen, dass Cuffelektroden Langzeitableitungen von SAP an peripheren Nerven ermöglichen [19, 34, 48, 84, 92, 93, 94, 95]. Die Methode gilt

[35] brainderived neurotrophic factor
[36] macrophage stimulating Protein
[37] Stickstoffmonoxid
[38] bovine brain ganglioside

als etabliertes Verfahren für elektrophysiologische Untersuchungen an peripheren Nerven. Der längste Untersuchungszeitraum unserer Studie betrug 311 Tage und zeigt, dass dieses Verfahren langfristig auch am Minischwein anwendbar ist (Mittelwert 93,5 Tage). Bisher bestehen in der Literatur (Pubmed/Cochrane/Medline) keine Untersuchungsergebnisse am Nervus hypoglossus des Minischweines mit Cuff- oder anderen Elektroden, die einen Vergleich der Daten möglich machen würde. Der durchschnittliche Wert der SAP mit 12,23 μV korrelierte mit den Werten anderer großer Säugetiere wie Hund oder Schaf [84, 93]. Die Ergebnisse der SAP im Zeitverlauf müssen auf Ebene der einzelnen Gruppen diskutiert werden. Gruppe Ia (intakter NH) zeigte deutliche SAP-Amplitudenverluste gerade in den ersten 30-40 Tagen nach Implantation. Der Verlust von 52,83% in den ersten 20 Tagen korrelierte mit den Ergebnissen von Stein [92], Hoffer [48] und Davis [19], die über Verluste von 40-60% berichten. Durch die Cuffelektrode wird der elektrische Fluss zwischen den Ranvier'schen Schnürringen über der myelinisierten Nervenfaser gemessen. Bei der tripolaren Cuffelektrode wird typischerweise ein triphasisches Nervensignal registriert (positiv, negativ, positiv). Hierbei kommt der Anzahl der intakten Natriumkanäle, der Anzahl der Ranvier'schen Schnürringe und deren Abstand, welcher die Anzahl der Ranvier'schen Einschnürrungen unter der Cuffmanschette bestimmt, gerade in der Cuffmitte die wichtigste Rolle für die Signalgröße zu [48]. Das registrierte SAP wird dabei hauptsächlich durch die Aktivität bzw. den Beitrag der großen myelinisierten Axone bestimmt [48, 92]. Für die Größe des Einzelpotentials sind erneut Durchmesser, die Anzahl an intakten Natriumkanälen und die Myelinisierung die entscheidenden Einflussgrößen [85]. Wie zuvor erwähnt, zeigt das Axon nach Cuffelektrodenimplantation bezüglich dieser Parameter deutliche Reaktionen. Die Myelinisierung nimmt erheblich ab, der Axondurchmesser verringert sich, die Abstände zwischen den Ranvier'schen Einschnürrungen nehmen zu und ein Verlust an Natri-

umkanälen setzt ein [4, 14, 17, 53, 55, 58, 62, 99]. Dies betrifft vor allem die großen Axone, die den größten Beitrag zum SAP leisten [58, 103]. Hinzu kommt eine Isolierung des geschädigten Neurons in der segmentalen Innervationskette [6, 7, 57, 101]. Als Folge sind weniger Axone am SAP beteiligt und somit wird auch weniger Spannung registriert. Die veränderte Leitfähigkeit (Impedanz) des biologischen Gewebes unter der Elektrode stellt laut Schoonhoven und Stegeman ebenfalls die wichtigste Determinate der Signalgröße dar [86]. Durch zelluläre und extrazelluläre Modifikation des Gewebes als Folge des Stimulus durch die Cuffelektrode (Fremdkörperreiz), durch Ischämie und Kompression wächst vermehrt Bindegewebe zwischen die Nervenfaszikel selbst, aber auch zwischen Faszikel und Cuffelektrode ein [4, 36, 37, 79]. Nach anfänglichem Abfall des Gewebewiderstandes, zeigt dieser laut Grill und Mortimer gerade für Silikonfremdkörper einen progredienten Verlauf nach dem 4.-5. Tag post implantationem. Das Maximum wird zwischen dem 60. und 80. Tag nach Implantation mit 666 $\pm$77 Ω/cm erreicht. Die Proliferation der Schwann'schen Zellen als Reaktion auf die Kompression kommt hier noch hinzu [39].

Unsere Beobachtung, dass manche SAP-Signale unmittelbar nach Implantation ansteigen, steht hierzu im Widerspruch. Fünf der zwölf Nerven in Gruppe Ia, ein Nerv von sechs in Gruppe Ib und beide Nerven der Gruppe Ic zeigten diesen Anstieg. Gleiche Beobachtungen machten auch Stein[93], Malek und Mark [66] und Thomsen [103]. Eine mögliche Ursache könnte die erhöhte postoperative extrazelluläre Flüssigkeitsansammlung nach operativem Trauma sein, welche das ionische Verhältniss zugunsten des extrazellulären Natriums verändert und damit die Leitfähigkeit zwischen Nerv und Elektrode erheblich steigert [36, 66, 93]. Die doch sehr großen Unterschiede in der Amplitudengröße in Gruppe Ia am ersten Ableitungstag können durch Feststellung von Andreasen et al. erklärt werden. Bei der Messung der Leistungsmerkmale von Cuffelektroden war aufgefallen, dass ein nicht vollstän-

diger Schluss der Cuffmanschette in einem Signalverlust von bis zu 55% resultieren kann [2]. Dies erklärt die kleineren Signale. Bei der Präparation waren deutliche Unterschiede im Durchmesser der NH aufgefallen. So wurden Cuffdurchmesser von 2,5 bis 4 mm verwendet. Laut Hoffer verhält sich der Durchmesser D bezüglich der Spannung V, dem longitudinalem Widerstand ρ_1 und Stromgröße i wie folgt:

$$V_{max} = \frac{1}{3}\, i_{max}\, \frac{\rho_1 L}{\pi D^2} \tag{1}$$

Der Durchmesser verhält sich im Quadrat umgekehrt proportional zur Spannung, sodass an kleinen Nerven höhere Spannungen gemessen werden. Dies stellt eine mögliche Erklärung für die gemessenen großen SAP dar.

Für den Verlauf spielt dies keine Rolle. Insgesamt bleibt der kontinuierliche Verlust der Amplitudenhöhe für alle Einzelsignale (SAP und rmA) festzuhalten. Die Kumulation aus Demyelinisierung, kleineren Axondurchmessern, vergrößerten Abständen der Ranvier'schen Schnürringe, die verminderte segmentale Innervation, die kleineren postsynaptischen AP geschädigter Nerven und die zunehmende Impedanz gelten für den schnellen Verlust als evident und erklären die Reduzierung der SAP in der initialen Phase hinreichend. Eine Differenzierung, welcher der zuletzt genannten Faktoren die größere Rolle spielt, ist nicht zu machen. Betrachtet man die individuellen Signale, dann ist deren zeitlicher Verlauf zum Teil inhomogen ausgeprägt (Abbildung 18). Hier muss jeweils eine unterschiedlich starke Schädigung und Reaktion der Nerven angenommen werden. Die standardisierte Implantationsmethode dürfte als Ursache hierfür ausscheiden. Vielmehr muss auch eine kontinuierliche Schädigung des Nervens und der einzelnen Faszikel angenommen werden. Gleiches postulierten auch Grill und Mortimer, Naples, Kim und Romero in ihren Arbeiten [37, 53, 69]. Die starke Aktivität unserer Versuchstiere mit den physiologisch ausgeprägten Kopf-

bewegungsradien (besonders in der Reklination) legt die Vermutung nahe, dass auch hier mechanische Irritationen durch die nach bindegewebigen Veränderungen an der Umgebung adhärenten Elektrode am Nerven selbst zu unterschiedlichen Zeitpunkten entstehen, sei es durch Gleiten der Nerven unter der Elektrode bei Elongationen (Kopfreklination) oder Zug der umgebenden Muskulatur bei Kontraktionen an der Elektrode/Kabel (Inklination, Rotation und Flexion). Hier sei noch einmal auf die Studie von Romero et al. verwiesen, in der die eindeutige Beteiligung der Cuffmanschette, aber vor allem auch der Ableitkabel bei der Schädigung der Axone gezeigt wurde [79]. Für unsere Ergebnisse bedeutet dies, dass auch von einer stärkeren Fibrosierung des Peri- und Epineuriums auszugehen ist, als das für stationäre Fremdkörper anzunehmen ist, wie in den Versuchen von Grill und Mortimer. Dies ist schon aufgrund der Physiologie der Versuchstiere zu erwarten, die auch bei anderen Verletzungen der Weichteile einen starken bindegewebigen Umbau zeigten. Weiterhin ist anzunehmen, dass kein „steady state“ im nervalen System der Hypoglossusnerven nach Abschluss der primären Prozesse erreicht wird, sondern vielmehr eine kontinuierliche Schädigung stattfindet („constant hit“). Thomsen konnte für die taktilen Nervensignale des Nervus tibialis der Katze einen nahezu konstanten Verlauf der SAP zeigen. Hierfür wurden die Signale um die Impedanz korrigiert. Selbst nach 16 Monaten Implantation waren nahezu die initialen Werte zu messen [103]. Grund hierfür könnten die physiologischen Unterschiede und die unterschiedliche Lage der Elektroden sein. Wenn wir in unseren Versuchen von einer starken und konstanten Traumatisierung der Nerven ausgehen, so ist es erstaunlich, dass zu allen Zeitpunkten SAP gemessen werden konnten. Auch muss der reale Wert der Amplituden als größer als gemessen angenommen werden, bezieht man die überproportionale Fibrosierung und damit die Impedanzänderung mit ein.

Auch die Nerven der Gruppen Ib und IIb, welche zudem primär neurotomiert

wurden, also einem Maximum an Traumatisierung ausgesetzt waren, konnten über die Versuchszeit hinweg elektrophysiologisch evaluiert werden. Der Abfall der Amplitude geht jedoch ungleich schneller von statten (Abb. 24). Wie bereits weiter oben ausgeführt, muss von einer kumulierten Traumatisierung von Hypoglossusnervenzellen zentral und deren Axone peripher in dieser Gruppe ausgegangen werden. Sollte die Kumulation der einzelnen Schädigungen im Zelltod enden, wie in anderen Versuchen mit neurotomierten Nerven durch Liebermann [59], Grafenstein [35] und Vorwerk [108] beobachtet, so erklärt dies den schnelleren Verfall des SAP in der initialen Phase und deren Verbleib unterhalb der Werte der Gruppen Ia und IIa im zeitlichen Verlauf, da die absolute Zahl der Hypoglossuskernneurone reduziert bleibt. Aufgrund onkologischer Kriterien wird eine primäre Neurotomie nicht immer zu umgehen sein. Dennoch legen die Daten ein zweizeitiges Vorgehen nahe. Die in Kapitel 4.2 erwähnten Versuche mit BNDF zur Protektion der Nervenzelle vor einer Apoptose könnten für weitere Studien sinnvoll erscheinen.

Bei den Nerven der Gruppen Ic und IIc wurde erst später neurotomiert. Die einzelnen Reaktionen zeigen einen SAP-Amplitudenrückgang nach der Prozedur. Im direkten Vergleich der Nerven mit deren ipsilateralen Nerven zeigt sich nur ein minimal größerer Verlust, der Unterschied betrug 3,5% nach 40 Tagen. Diese Tatsache lässt sich durch die Beobachtungen von Dahlin und Kanje [17] erklären, dass axonal traumatisierte und somit vorkonditionierte Neurone ein deutlich größeres und schnelleres Regenerationspotential haben und weniger stark auf erneute Schädigungen reagieren als die Nerven der Kontrollgruppe. Auch ist die These von Davis [19] und Gordon [34] zu unterstützen, dass der negative Effekt einer Neurotomie auf die proximal der Läsion gelegenen SAP des Axons geringer ist als zu erwarten. Vielmehr ist bereits die Reaktion auf nicht strukturelle Schädigungen des Axons im Vergleich hierzu als deutlich anzusehen. Auch ist anzunehmen, dass die elektrophysiologische

Antwort auf eine Schädigung (Neurotomie oder Kompression) trotz unterschiedlicher Art der Schädigung nur wenig differiert. Insgesamt ist die Reaktion der Nerven in dieser Gruppe also als konditionierte Antwort zu verstehen und zeigt, dass eine spätere Neurotomie ihre Vorteile gegenüber einer primären Neurotomie haben kann.

Um die Regeneration eines Nerven zu initiieren, ist es immanent, dem Axon den Wiederanschluss an das ursprüngliche bzw. an ein neues peripheres Effektororgan zu ermöglichen. Dies haben zahlreiche Studien bereits hinlänglich geklärt [11, 28, 34]. Für eine geplante FES oder FNS ist dies zudem von zentraler Bedeutung, um die efferenten Signalwege zu erhalten. Bezogen auf unsere Versuche ist zu sagen, dass, wenn eindeutige Regenerationen des SAP zu sehen waren, fanden diese 50,8 $\pm$ 10,2 Tage nach Implantation und/oder Neurotomie statt. Dies ist deckungsgleich mit den Ergebnissen von Davies und Gordon bezüglich der Zeitkonstanten nach Neurotomie und Nerv/Nervennaht bzw. Nerven/Muskelnaht [19, 34]. Das Modell einer FES scheint somit zumindest in Bezug auf die Efferenz (Triggersignal) zu verwirklichen zu sein.

Anhand der Gruppe II sollte untersucht werden, ob eine schützende Bindegewebsmanschette einen protektiven Effekt auf die Axone hat. Dieses wurde in unserer Studie durch das Auskleiden der Cuffmanschette durch ein Ohrmuschelperichondriumtransplantat realisiert. Es muss zunächst festgehalten werden, dass der Durchschnitt der am ersten Tag nach Implantation gemessenen SAP-Amplituden mit 6,845 μV um 53,56 % geringer war als bei den Nerven ohne Perichondrium. Dies ist sicherlich auf das zusätzliche Gewebe zwischen Nerv und Elektrode, hauptsächlich Kollagen, zurückzuführen. Bisher bestehen in den Online-Datenbanken keine entsprechenden Studien, die Rückschlüsse auf die Leitungseigenschaften von Perichondrium zulassen. Es kann nur auf die Studien von Grill und Mortimer verwiesen werden. Für die elektrophysiologische Nervenreaktion bleibt festzuhalten, dass der anfängliche

Verlust der Amplitude deutlich geringer ausgeprägt ist als in den Gruppen ohne Perichondriummanschette. So weisen die Nerven mit Perichondriummanschette nach 20 Tagen noch 80,7 % ihres jeweiligen Ausgangswertes auf. Der Verlauf der SAP-Amplitude gestaltete sich auch deutlich moderater und gleichmäßiger. Der Vergleich mit Gruppe Ia, bei der nach 20 Tagen nur 52,83 % der initialen SAP-Werte vorhanden waren, belegt dies nochmal. Auch 80 Tage nach Implantation sind in Gruppe IIa mit 57,9 % im Vergleich zu Gruppe Ia mit 27,5 % des Initialwertes, die Spannungswerte mehr als doppelt so groß, und dies trotz der zusätzlichen Gewebeschicht. Es muss eine durch die stärkere Traumatisierung erfolgte Fibrosierung des perineuralen Raumes und damit deutlich gestiegene und größere Impedanz in Gruppe Ia angenommen werden. Diese sollte sich bis dato jedoch auch zu einem geringeren Teil in Gruppe IIa entwickelt haben. Es könnte, unter Einbeziehung der zuvor erwähnten Veränderungen des elektrophysiologischen Zusammenspiels von Nerv und Elektrode auch resumiert werden, dass mehr vitale Axone mit intakten Natriumkanälen, physiologischem Abstand der Ranvierńschen Internodien unter der Elektrode bestehen geblieben sind. Waren es zu Beginn im Vergleich mit Gruppe Ia noch 53,56% weniger Spannung, so sind es im Vergleich nach 80 Tagen 113,1%. Dies lässt sich nur über einen stärkeren Verlust an Neuronen, respektive deren Axone, in der Gruppe Ia als in der Gruppe IIa und einer stärkeren Störung der physiologischen Balance an den Axonen selbst erklären. Bedauerlicherweise muss gesagt werden, dass nicht genug Nerven für eine valide statistische Auswertung zur Verfügung stehen. Die vorliegenden Ergebnisse lassen jedoch die starke Vermutung zu, dass das Perichondriumtransplantat protektive Eigenschaften für den Nerven aufweist. Dies gilt es durch weitere Studien mit entsprechendem statistischem Gewicht zu erhärten.

4.3.2 Interpretation der Veränderungen des Frequenzspektrums

Das Frequenzspektrum zeigt die Verteilung der einzelnen Aktionspotentiale entsprechend ihrer Leitungsgeschwindigkeit im Spektrum des SAP. Der gesunde motorische Nerv zeigt einen mittleren Faserdurchmesser von 15μm und eine mittlere Leitungsgeschwindigkeit von 100 (70-120) m/s (Fasertyp Aα nach Erlanger/Gasser). Die Veränderung im Nervenfrequenzspektrum mit der Linksverschiebung der durchschnittlichen Kernspektrumfrequenz ist Ausdruck der strukturellen Schäden am Axon auf Höhe der Cuffelektrode oder unmittelbar davor. Larsen et al. untersuchten die degenerativen Veränderungen nach Cuffelektrodenimplantation und sahen mit 27 % einen signifikanten quantitativen Verlust an myelinisierten Axonen aller Größen unterhalb und distal der Elektrode zwei Wochen nach der Implantation. Lediglich die Zahl der Axone mit einem Durchmesser von < 3 μm war unverändert. Interessanterweise war das Verhältnis Myelindicke zu Axondurchmesser zu allen Zeiten gleich [58]. Diese Erkenntnis der nicht selektiven Schädigung erklärt somit nicht die gesehene Verlagerung des Mittelwertes zu niedrigeren Frequenzen. Auch haben Grill und Mortimer gezeigt, dass das Bindegewebe zwischen Cuffmanschette und Nerv keinen Einfluss auf das Frequenzspektrum von elektrischen Signalen nimmt, da es konstante Leitungseigenschaften in allen Frequenzen aufweist. Unsere Beobachtungen zeigen hingegen signifikante Veränderungen bereits zum 21. Tag. Thomsen et al. machten diese Beobachtung in einem Zeitraum von 60-180 Tage nach Implantation [103]. Die zeitlichen Unterschiede dieses Ereignisses dürften in den verschiedenen Versuchstierphysiologien (Schwein$\Leftrightarrow$Katze) und der Lokalisation der Cuffelektrode begründet liegen.

Ähnlich wie die Spannung des SAP hängt auch die Leitungsgeschwindigkeit vom Axondurchmesser, den Abständen der Ranvier'schen Schnürringe und von der An-

zahl an Natriumkanälen in den Internodien ab. Die Membranfläche des Nerven ist dem Durchmesser proportional, während der Querschnitt mit dem Quadrat des Durchmessers zunimmt. Bei einer Verkleinerung des Faserdurchmessers steigt also relativ zum Membranwiderstand der durch den Faserquerschnitt bestimmte Längswiderstand des Faserinneren an und bewirkt eine Verlangsamung der Fortleitung [85]. Dass Axone mit großen Durchmessern durch Kompression und Irritationen im größeren Maße betroffen sind, wurde von Sunderland bereits [100] beschrieben. Dies und passt auch zu den Beobachtungen anderer Autoren, dass nach einer Axonschädigung eine Verlagerung der Axondiameter zu kleineren Durchmessern stattfindet [4, 14, 17, 53, 55, 58, 62, 99]. Dies könnte die Linksverschiebung des Kernspektrummittels gut erklären. Auch sahen wir eine Korrelation zwischen den Veränderungen im SAP und dem Frequenzspektrum. Die Linksverschiebungen vollzogen sich 7,6$\pm$ 2,1 Tage vor den SAP-Amplitudenverlusten. Dies könnte eine stärkere Sensitivität bezüglich axonaler Schädigungen implizieren und strukturelle Störungen bereits im frühen Stadium anzeigen. Somit kommt der Frequenzspektrumanalyse, aus unserer Sicht ein höherer prädiktiver Wert als der SAP-Messung zu. Dass sich das Frequenzspektrum nicht mehr im vollen Masse regeneriert, sondern der Frequenzbereich von 3200 bis 4800 Hz nur im geringen Umfang wiederhergestellt wird, legt nahe, dass die ursprünglich Zusammensetzung der Faszikel mit unterschiedlich großen Axonen nicht wieder hergestellt werden kann. Gerade die Axondurchmesser, welche Signale im Spektrum von 3200 bis 4800 Hz transportieren werden nicht regeneriert.

5 Zusammenfassung

Einleitung: Die Rekonstruktion von onkochirurgischen Defekten im Kopf/ Halsbereich erfolgt oft mit myofaszialen Lappenplastiken. Ein etabliertes Verfahren nach Glossektomie ist die Verwendung von infrahyoidaler Muskulatur. Trotz nerval gestieltem Transfer kommt es zur Inaktivitätsatrophie. Ersatzverfahren wie die FES oder FNS bieten eine Lösung. Die Vorstellung, originäre Nervensignale des Hypoglossusstumpfes für die Stimulation zu nutzen, ist angesichts der aktuellen Forschungsergebnisse auf dem Gebiet der elektrostimulativen Rehabilitation ein erreichbares Ziel. Inhalt dieser Arbeit war es, die elektrophysiologischen Grundlagen am Nervus hypoglossus(NH) des Minischweines mit Cuffelektroden zu untersuchen. Auch sollte nach spezifischen SAP-Merkmalen für eine Triggerung gesucht werden, um die FES/FNS beim Schluckakt auszulösen.

Material und Methoden: Es wurden Tierversuche an 12 Minischweinen durchgeführt. An den NH (n=22) wurden ein- bzw. beidseitig tripolare Cuffelektroden implantiert. Es wurden sechs Versuchsgruppen gebildet. Messgrößen waren das SAP-Signal, die relative Maximalamplitude und das Frequenzspektrum.

Ergebnisse: Die Implantationsdauer variierte von 4 bis 311 Tagen. Die SAP-Maximalamplitude erreichte im Durchschnitt 12,23 μV. Das Frequenzspektrum des NH erstreckte sich von 0,8 bis 8 kHz. Die Reaktion auf die Implantation war in allen Gruppen deutlich ausgeprägt. Es kam zu einem Verlust der Amplitudengröße und zu spezifischen Veränderungen des Frequenzspektrums. Eine initiale Neurotomie wirkte sich dabei negativer auf die Signalstärke aus, als Eine die im Intervall durchgeführt wurde. Aufgrund unserer Ergebnisse ist anzunehmen, dass ein Perichondriumtransplantat zur Axonprotektion beiträgt. Dies war nicht nur bei den Signalstärken sondern auch bei Veränderung des Frequenzspektrums zu sehen. Regenerationen fanden

in allen Gruppen 40-60 Tage nach Trauma statt. Schluckaktspezifische ENG-Muster konnten nicht nachgewiesen werden. Eine Triggerung kann jedoch alternativ über den Abstand der Innervationssalven erfolgen.

Diskussion: Die physiologischen Vorgänge und lokalen strukturellen Veränderungen führen zu einem Signalverlust. Die kumulative Schädigung am Axon führt zum Zelltod und trägt zum SAP-Amplitudenverlust, speziell bei primärer Neurotomie, bei. Dennoch konnten stabile SAP-Signale über die Zeit gemessen werden. Eine Perichondriummanschette scheint der kontinuierlichen Schädigung entgegen zu wirken. Das Frequenzspektrum von 1 bis 3,5 kHz hat sich als besonders stabil erwiesen und wird den Anforderungen für eine FES/FNS gerecht. Eine Triggerung des avisierten Systems auf den Schluckakt ist nicht möglich.

Schlussfolgerung: Cuffelektroden stellen auch am NH des Minischweines ein verlässliches System zur Ableitung willkürlicher SAP dar. Zusätzliche Protektion der Axone ist laut der Studienergebnisse durch die Perichondriumauskleidung der Cuffmanschette zu erreichen. Die Triggerung der FES über das NH-SAP ist nicht möglich. Dies scheint aber Aufgrund der Plastizität des Gehirnes und der kognitiven Adaptationsmöglichkeiten nicht zwingend notwendig zu sein wie aktuelle Versuche mit neuralem Interface zeigen.

Literatur

[1] Agnew, W. ; Creery, D. M. ; Yuen, T. ; Bullara, L.: Histological und physiological evaluation of electrically stimulated peripheral nerve: considerations for the selection of parameters. In: *Ann Biomed Eng* 17 (1989), S. 39–60

[2] Andreasen, L. ; Struijk, J. J. ; Lawrence, S.: Measurement of the performance of nerve cuff electrodes for recording. In: *Med Biol Eng Comput* 38 (2000), S. 447–453

[3] Aviv, J. ; Keen, M. ; Rodriguez, H. ; Stewart, C. ; Gund, E. ; Blitzer, A.: Bilobed radial forearm free flap for functional reconstruction of near total glossectomy defects. In: *Laryngoscope* 104 (1994), S. 893–900

[4] Aziz, W. ; Firrell, J. ; Ogden, L. ; Breidenbach, W.: Blood flow in a chronic entrapment neuropathy model in the rabbit sciatic nerve. In: *J Reconstr Microsurg* 15 (1999), Nr. 1, S. 47–53

[5] Bijak, M. ; Girsch, W. ; Rafolt, D. ; Mayr, W. ; Lanmüller, H.: EMG-Monitoring bei funktioneller Elektrostimulation. In: *Biomedizinische Technik* 45 (2000), S. 93–97

[6] Borke, R.C. ; Bridwell, R. ; Nau, M.: The progression of deafferentation as a retrograde reaction to hypoglossal nerve injury. In: *J Neurocytol* 24 (1995)

[7] Brannstom, T. ; Kellerth, J.O.: Changes in synaptology of adult cat spinal alpha-motoneurons after axotomy. In: *Exp Brain Res* 11 (1998), Nr. 8, S. 1–13

[8] Breuer, S. ; Pech, K. ; Buss, A. ; Spitzer, C. ; Ozols, J. ; Hol, E. ; Heussen, N. ; Noth, J. ; Schwaiger, F.W. ; Schmitt, A.: Regulation of stearyl-CoA desaturase-1 after central and peripheral nerve lesion. In: *BMC Neurosci* 5 (2004), Nr. 15, S. 147–158

[9] Brindley, G.S. ; Lewin, W.S.: The sensations produced by electrical stimulation of the visual cortex. In: *J Physiol* (1968), Nr. 196, S. 479–493

[10] Chachques, J. C. ; Marino, J. P. ; Lajos, P. ; Zegdi, R. ; D'Attelis, N. ; Fornes, P. ; other: Dynamic cardiomyoplasty: clinical follow up at 12 years. In: *Eur J Cardio Thorac* 12 (1997), Nr. 4, S. 560–567

[11] Chen, E.W. ; Loera, S. ; Chiu, A.Y.: Target regulation of a neuron specific epitop. In: *J Neurosci* 15 (1995), Nr. 2, S. 1556–1566

[12] Chiu, R.: Dynamic cardiomyan overview. In: *Pace* 14 (1991), S. 577–584

[13] Conley, J. ; Sachs, E.: The new tongue. In: *Otolaryngol Head Neck Surg* 90 (1982), S. 58–68

[14] Cornefjord, M. ; Sato, K. ; Olmarker, K. ; Rydevik, B. ; Nordborg, C.: A model of chronic root nerve compression studies. Presentation of a porcine model for controlled, slow onset compression with analyses of anatomic aspects, compression onset rate and morphologic and neurophysiologic effects. In: *Spine* (1997), Nr. 22, S. 946–957

[15] Creange, A. ; Barlovatz-Meimon, G. ; Gherardi, R.K.: Cytokines and peripheral nerve disorders. In: *Eur Cytokine Netw* 8 (1997), Nr. 2, S. 145–151

[16] Creasey, G. ; Elefteriades, J. ; Dimarco, A. ; Talonen, P.: Electrical stimulation to restore respiration. In: *J of rehabilitation research and development* 33 (1996), Nr. 2, S. 123–132

[17] Dahlin, L.B. ; Kanje, M.: Conditioning effect induced by chronic nerve compression. An experimental study of the sciatic and tibial nerves of rats. In: *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* (1992), Nr. 26, S. 37–41

[18] Dahlin, L.B. ; Rydevik, B. ; McLean, W.G. ; Sjostrand, J.C.: Changes in fast axonal transport during experimental nerve compression at low pressures. In: *Neurosurgery* 17 (1985), Nr. 6, S. 974–984

[19] Davis, L.A. ; Gordon, Tessa ; Hoffer, J.A. ; Jhamandas, J. ; Stein, R.B.: compoud action potentials recorded from mammalian peripheral nerves followind ligation or resuturing. In: *J Physiol* 285 (1978), S. 543–559

[20] Dengg, K. ; Bart, G. ; Girsch, W. ; Mayr, W. ; Guggenbichler, J. P.: Atemhilfe duch Zwerchfellschrittmacher bei hoher Querschnittslähmung. In: *Paediatrie und Paedologie* 25 (1990), S. 11–17

[21] Dimitrijewic, Meta ; Dimitrijewic, Milan: Functional Electrical Stimulation Protocols in the Practice of Neurorehabilitation. In: *The International Journal of Artificial Organs* 26 (2002), Nr. 3, S. 256–259

[22] Dodds, W.J. ; Hogan, W. J. ; Lynden, S. B. ; Stewart, E. T. ; Stef, J. J. ; Arndorfer, R. C.: Quantitation of pharyngeal motor function in normal human subjects. In: *J Appl Physiol* 39 (1975), S. 692–696

[23] Donoghue, John P.: Braingate. In: *Neuron* (November 6, 2008)

[24] Effron, M. ; Johnson, J. ; Myers, E. ; Curtin, H. ; Beery, Q. ; Siegler, B.: Advanced carcinoma of the tongue. In: *Arch Otolaryngol* 107 (1981), S. 694–697

[25] Fern, R. ; Harrison, P.: The contribution of ischaemia and deformation to the conduction block generated by compression of the cat sciatic nerve. In: *Exp Physiol* 4 (1994), Nr. 79, S. 583–592

[26] Fernandez, H.L. ; Singer, P.A. ; Mehler, S.: Rterograde axonal transport mediates the onset of regenerativ changes in the hypoglossal nucleus. In: *Neurosci Lett* 7 (1981), Nr. 25, S. 7–11

[27] Fromm, B. ; Rupp, R. ; Gerner, H. J.: Das Freehand-System: Eine implantierbare Neuroprothese zur funktionellen Elektrostimulation der oberen Extremität. In: *Handchir Mikrochir Plast Chir* 33 (2001), S. 149–152

[28] Fugleholm, K. ; Schmalbruch, H. ; Krarup, C.: Early Peripheral Nerve Regeneration after Crushing, Sectioning and Freeze Studied by Implanted Electrodes in the Cat. In: *Journal of Neuroscience* 14 (1994), Nr. 5, S. 2659–2673

[29] Galvani, Luigi ; Aldini, Giovanni: Aloysii Galvani de viribus electricitatis in motu musculari commentarius. In: *Veröffentlicht von der Apud Societatem Typographicam, Originale von der Universität Lausanne* (1792)

[30] Garth, R: ; Rae, P. M. ; Evans, P. R.: Tracheo-esophageal puncture: A review of Problems and complications. In: *J Laryng Otol* (1991), Nr. 105, S. 750–754

[31] Gehrking, E. ; Klostermann, W. ; Wessel, K. ; Remmert, S.: Elektromyographie der Infrahyoidalmuskulatur - Teil 3: Befunde nach Transposition des Muskelfaszienlappens zur Zungenrekonstruktion. In: *Laryngol Rhino Otol* 80 (2001), S. 670–673

[32] Girsch, W. ; Bijak, M. ; Heger, G. ; Koller, R. ; Lanmüller, H.: Monitoring of FES-induced muscle activity by continous EMG-recording. In: *The International Journal of Artificial Organs* 18 (1995), Nr. 6, S. 340–344

[33] Glenn, W. ; Elefteriades, M. Phand J. A.: Twenty years of experience in phrenic nerve stimulation to pace the diaphragm. In: *Pace* 9 (1986), Nr. 6, S. 780–784

[34] Gordon, Tessa ; Hoffer, J.A. ; Jhamandas, J. ; Stein, R.B.: Long-term Effects of Axotomy on neural Activity during cat Locomotion. In: *J Physiol* 303 (1980), S. 243–263

[35] Grafstein, B.: Chromatolysis reconsidered: a new view of the reaction of nerve cell body to axon injury F.J. Seil „Nerve, organ and tissue regeneration:research perspectives“. In: *Academic press New York* (1983), S. 37–50

[36] Grill, Warren M. ; Mortimer, J. T.: Electrical Properties of Implant Encapsulation Tissue. In: *Ann Biomed Eng* 20 (1994), S. 22–33

[37] Grill, W.M. ; Mortimer, J.T.: Neural and connective tissue response to long-term implantation of multiple contact nerve cuff electrodes. In: *J Biomed Mater Res* 50 (2000), Nr. 2, S. 215–226

[38] Guntinas-Lichius, Orlando ; Neiss, W. ; Schulte, E. ; Stennert, E.: Quantitative image analysis of the chromatolysis in rat facial and hypoglossal motoneurons following axotomy with and without reinnervation. In: *Cell Tissue Res* 286 (1996), S. 537–541

[39] Gupta, R ; O., Steward: Chronic nerve compression induces concurrent apoptosis and proliferation of Schwann cells. In: *J Comp Neurol* 461 (2003 June 23), Nr. 2, S. 174–186

[40] Hamberger, A. ; Hanson, H. ; Sjöstrand, J.: Surfance structure of isolated nerve cell bodies. Detachment of nerve terminals during axon regeneration. In: *j cell biol* 47 (1971), S. 319–331

[41] Haughey, B.: Tongue reconstruction: Concepts and practice. In: *Laryngoscope* 103 (1993), S. 1132–1141

[42] Haugland, M.K.: Natural Sensory Feedback for Closed-loop of Paralysed Muscles. In: *Department of Medical Informatics and Image analysis Aalborg University* (1994)

[43] Haugland, M.K. ; Lickel, A. ; Riso, R. ; Adamczyk, M. ; Keith, M. ; Jensen, I. L. ; Haase, J. ; Sinkjaer, T.: Restoration of lateral Hand Grasp Using Natural Sensors. In: *The International Journal of Artificial Organs* 21 (1997), Nr. 3, S. 250–253

[44] Hirano, M. ; Kuroiwa, Y. ; Tanaka, S. ; Matsuoka, H. ; Sato, K. ; Yoshida, T.: Disphagia following various of surgical resection for oral cancer. In: *Ann Otol Rhinol Laryngol* 101 (1992), S. 138–141

[45] Hirata, Kazuho ; Kawabuchi, Masaru: Myelin phagocytosis by macrophages and nonmacrophages during Wallerian degeneration. In: *Microsc Res Tech* (2002), Nr. 57, S. 541–547

[46] Hochberg, L. ; Serruya, S. ; Friehs, G. ; Mukah, J. ; M., M. S. ; Caplan, A. ; Branner, A. ; Chen, D. ; Penn, R.D. ; Donoghue, J.P.: Neuronal ensemble control of prosthetic devices by a human with tetraplegia. In: *Nature* (2006 Jul 13)

[47] Hoffer, J.A.: Techniques to record spinal cord, peripheral nerve and muscle activityin freely moving animals. In: *Neuromethods* Neurophysiology Tech: Applikation to neurological Systems (1990), S. 65–145

[48] Hoffer, J.A. ; Stein, B. ; Haugland, M. K. ; Sinkjaer, T. ; Schwartz, A. B. ; Loeb, G.: Neural signals for command control and feedback in functional neuromuscular stimulation: A review. In: *Journal of Rehabilitation Research and Development* 33 (1996), Nr. 2, S. 145–157

[49] Itoh, Michi-Ihiro: Prevention of the death of the rat axotomized hypoglossal nerve and pomotion of its regeneration by bovine brain gangliosides. In: *Glycobiology* 9 (1999), Nr. 11, S. 1247–1252

[50] Jahnke, V.: Die Chirurgie der Zungen- und Mundbodentumoren. In: *Arch Otorhinolaryng* 210 (1975), S. 275–288

[51] Jesse, R. ; Sugarbaker, E.: Squamous cell carcinoma of the oropharynx:why we fail. In: *Am J surg* 132 (1976), S. 435–438

[52] Kern, H. ; Frey, M. ; Holle, J.: Funktionelle Elektrostimulation querschnittgelähmter Patienten - 1 Jahr praktischer Erfahrung. In: *Z Orthopädie* 123 (1985), S. 1–12

[53] Kim, J.H. ; Manuelidis, E. ; Glenn, W. ; Fukuda, Y. ; Cole, D.S. ; Hogan, J.F.: Light and electron microscopic studies of phrenic nerves after long-term electrical stimulation. In: *J Neurosurg* (1983), Nr. 58, S. 84–91

[54] Kim, Sung-Phil ; Simeral, J. ; Hochberg, L. ; Donoghue, J. P. ; Black, M.: Neural control of computer cursor velocity by decoding motor cortical spiking activity in humans with tetraplegia. In: *J. Neural Eng.* (2008)

[55] Koller, R. ; Girsch, W. ; Liegl, C. ; Gruber, H. ; Holle, J. ; Losert, U. ; Mayr, W. ; Thoma, H.: Longterm results of nervous tissue alterations caused by epineurial electrode application: an experimental study in rat sciatic nerve. In: *Pacing Clin Electrophysiol* (1992), Nr. 15, S. 108–115

[56] Kristensson, K. ; Aldskogius, M. ; Peng, Z.C. ; Aldskogius, H. ; Bentivoglio, M.: Co-induction of neuronal interferon-gamma and nitric oxide synthase in rat motor neuron after axotomy: a role in nerve repair or death? In: *J Neurocytol* 23 (1994), Nr. 8, S. 453–459

[57] Kuno, M. ; Miyata, Y. ; Munoz-Martinez, E.J.: Differential reaction of fast and slow alpha motoneurons to axotomy. In: *J Physio* (1974), Nr. 240, S. 725–739

[58] Larsen, Jytte O. ; Thomsen, Morten ; Haugland, Morten ; Sinkjaer, Thomas: Degeneration and Regeneration in rabbit peripheral nerve with long-term nerve cuff electrode implant: a stereological sudy of myelinated and unmyelinated axons. In: *Acta Neuropathologica* (1998), Nr. 96, S. 365–378

[59] Lieberman, A.R.: The axon reaction: a review of the principal features of perikaryal responses to axon injury. In: *Int Rev Neurobiol* (1971), Nr. 14, S. 49–124

[60] Lin, H. ; Bao, J. ; Ying, J.S. ; Walters, E.T. ; Ambron, R.T.: Rapid electrical and delayed molecular signals regulate the serum response element after nerve injury: convergence of injury and learning signals. In: *J Neurobiol* 57 (2003)

[61] Lundborg, G. ; Myers, R. ; Powell, H.: Nerve compression injury and increased endoneurial pressure: A miniature compartment syndrome. In: *J Neurolog Neurosurg Psych* 46 (1983), S. 11–19

[62] Mackinnon, S.E. ; Dellon, A.L. ; Hudson, A.R. ; Hunter, D.A.: A primate model for chronic nerve compression. In: *J Reconstr Microsurg* (1985), Nr. 1

[63] Mader, K. ; Andermahr, J. ; Angelov, D.N. ; Neiss, W.F.: Dual mode of signalling of the axotomy reaction:retrograde electric stimulation or block of retrograde transport differently mimic the reaction of motoneurons to nerve transection in the rat brainstem. In: *J Neurotrauma* 21 (2004), Nr. 7, S. 956–968

[64] Maier, H. ; Zöller, J.: Kombination von Velopharyngoplastik und Wangenschleimhauttranspositionslappen zur primären Rekonstruktion des weichen Gaumens. In: *HNO* 40 (1992), S. 306–309

[65] Maier, H. ; Zöller, J. ; Tiwari, R.M.: M. masseter- Lappen und Wangenschleimhauttranspositionslappen zur Rekonstruktion der dorsalen Mundhöhle und des Oropharynx. In: *Laryngol Rhinol Otol* 70 (1991), S. 538–541

[66] Malek, A.M. ; Mark, R.G.: Functional electrical stimulation for the latissimus dorsi muscle for use in cardiac assit. In: *IEEE Trans Biomed Eng* 36 (1989), S. 781–788

[67] Mastaglia, F.L. ; Dawkins, R.L. ; Papadimitriou, J.M.: Morphologica changes in skeletal muscle after transplantation. A light- and electronmicroscopic study of the initial phase of degeneration and regeneration. In: *J Neurol Sci* 25 (1975), S. 227–247

[68] Mc Connel, F.M.: Analysis of pressure generation and bolus transit during pharyngeal swallowing. In: *Laryngoscope* 98 (1988), S. 718–724

[69] Naples, G.G. ; Mortimer, J. ; Scheiner, A. ; Sweeney, J.: A spiral cuff electrode for peripheral nerve stimulation. In: *IEEE Trans Biomed Eng* 35 (1988), S. 905–916

[70] Philip, B.A. ; Wu, Y. ; Donoghue, J.P. ; Sanes, J.N.: Performance differences in visually and internally guided continuous manual tracking movements. In: *Experimental Brain Research* (2008)

[71] Powell, H. ; Myers, R.: Pathology of experimental nerve compression. In: *Lab Invest* (1986), Nr. 1, S. 91–100

[72] Pshenisnov, K. ; Pulin, A.: The use of preoperative muscle denervation and postoperative electrostimulation to maximize functional results in microneurovascular mucle transplantation. In: *journal of reconstructive microsurgery* 10 (1994), March, Nr. 2, S. 65–75

[73] Remmert, S. ; Majocco, A. ; Gehrking, E.: Der neurovasculäre infrahyoidalen Muskelfaszienlappen. Anatomisch-topographische Untersuchung der Innervation und Gefäversorgung. In: *HNO* (1995)

[74] Remmert, S. ; Majocco, A. ; Sommer, K. ; Ahrens, K.H. ; Weerda, H.: Neue Methoden der Zungenrekonstruktion mit neurovasculären infrahyoidalen Muskelfaszienlappen. In: *Laryngo-Rhino-Otol* (1994)

[75] Remmert, S. ; Sommer, K. ; Krappen, S. ; Gehrking, E.: Plastische Rekonstruktionen im Bereich des weichen Gaumens - funktionelle und onkologische Aspekte. In: *Laryngo-Rhino-Otol* (1997)

[76] Remmert, S. ; Sommer, K. ; Majocco, A. ; Weerda, H.: The neurovascular infrahyoidal muscle flap: A new method for tongue reconstruction. In: *Plast Reconstr Surg* (1997)

[77] Remmert, Stephan: Moderne Rekonstruktionsverfahren zur Wiederherstellung der Stimm- und Schluckfunktion nach ausgedehnten Tumorresektionen im oberen Aerodigestivtrakt. In: *Shaker Verlag* (2000)

[78] Rodrigez, R. ; Perry, Ch. ; Soo, K. ; Saw, H.: Total glossectomy. In: *Am J Surg* 154 (1987), S. 415–418

[79] Romero, E. ; Denef, J.F. ; Delbeke, J. ; Robert, A. ; Veraart, C.: Neural morphological effects of long-term implantation of the self-sizing spiral cuff nerve electrode. In: *Med Biol Eng Comput* (2001), Nr. 39, S. 90 –100

[80] Rupp, R. ; Fromm, B. ; Gerner, H. J.: Funktionelle Elektrostimulation der oberen Extremitäten mittels Freehand-Neuroprothese. In: *Biomedizinische Technik* 45 (2000), S. 275–284

[81] Rushton, D. N.: Functional electrical Stimulation. In: *Physiol Meas* (1997), Nr. 18, S. 241–275

[82] Rydevik, B. ; Lundborg, G. ; Bagge, U.: Effects of graded compression on intraneural blood flow. In: *J Hand Surg* 6 (1981), Nr. 1, S. 3–12

[83] Sahin, Mesut ; Durand, D. M. ; Haxhiu, M. A.: Closed-Loop Stimulation of Hypoglossal Nerve in a Dog Model of Upper Airway Obstruction. In: *IEEE Transactions On Biomedical Engineering* 47 (2000), Nr. 7, S. 919–925

[84] Sahin, Mesut ; Haxhiu, M. A. ; Durand, D. M. ; Dreshaj, I. A.: Spiral nerve cuff electrode for recordings of respiratory output. In: *Special Communication of the American Physiological Society* (1997), S. 317–321

[85] Schmitt, Robert ; Thews, Gerhard: Physiologie des Menschen. In: *Lehrbuch* 26. Auflage (1995), S. 38

[86] Schoonhoven, R. ; Stegeman, D.F.: Models of analysis of compound nerve action potentials. In: *Crit Rew in Biomed Eng* 19 (1991), Nr. 1, S. 47–111

[87] Sendtner, M. ; Holtmann, B. ; Kolbeck, R. ; Thoenen, H. ; Barde, Y.A.: Brain derived neurotrophic factor prevents the death of motoneurons in newborn rats after nerve section. In: *Nature* (1992), Nr. 360, S. 757–759

[88] Singer, P.A. ; Mehler, S. ; Fernandez, H.L.: Blockade of retrograde axonal transport delays the onset of metabolic and morphological changes induced by axotomy. In: *J Neurosci* 2 (1982), Nr. 9, S. 1299–1306

[89] Snider, W.D. ; Thanedar, S.: Target dependence of hypoglossal motor neuron during development in maturity. In: *J Comp Neurol* 279 (1989), Nr. 3, S. 489–498

[90] Sommer, K. ; Burk, C. ; Sommer, T. ; Remmert, S.: Die Perfusionsmanometrie zur Beurteilung der postoperativen Schluckstörung nach unterschiedlichen Rekonstruktionsverfahren im oberen Aerodigestivtrakt. In: *Laryngo Rhino Otol* 76 (1997), S. 178–185

[91] Sparrow, Janet R. ; Kiernan, J.A.: Endoneurial Vascular Permeability in Degenerating and Regenerating Peripheral Nerves. In: *Acta Neuropathologica* (1981), Nr. 53, S. 181–188

[92] Stein, R.B. ; Charles, D. ; Davis, L. ; Jhamandas, J. ; Mannard, A. ; Nichols, T.R.: Principles underlying new methods for chronic neural recording. In: *Can J Neurolog Sci* 2 (1975), S. 235–244

[93] Stein, R.B. ; Charles, D. ; Gordon, T. ; Hoffer, J.A. ; Jhamandas, J.: Impedance of metal electrodes for chronic recording from mammalian nerves. In: *IEEE Trans Biomed Eng* (1978), Nr. 25, S. 532–537

[94] Stein, R.B. ; Gordon, T. ; Oguztoreli, M.N. ; Lee, R.G.: Classifying sensory patterns and their effects on locomotion and tremor. In: *Can J Physiol Oharmacol* 59 (1981), S. 645–655

[95] Stein, R.B. ; Nichols, T.R. ; Jhamandas, J. ; Davis, L. ; Charles, D.: Stable longterm recordings from cat peripheral nerves. In: *Brain Res* (1977), Nr. 128, S. 21–38

[96] Steiner, W.: Die Therapie des Hypopharynxkarzinoms, Chirurgie und/oder Radiotherapie. In: *HNO* 42 (1994), S. 4–13

[97] Stella, M.C. ; Vercelli, A. ; Repici, M. ; Follenzi, A. ; Comoglio, P.M.: Macrophage stimulating Protein Is a Novel Neurotrophic Factor. In: *Molecular Biology of the Cell* 12 (2001), S. 1341–1352

[98] Stoll, G. ; Müller, H.W.: Nerve injury, axonal degeneration and neural regeneration: basic insights. In: *Brain Pathol* 9 (1999), Nr. 2, S. 313–325

[99] Strain, R.E. ; Olsen, W.H.: Selective damage of large diameter peripheral nerve fibres by compression: an application of Laplace's law. In: *Exp Neurol* (1975), Nr. 47, S. 68–80

[100] Sunderland, S.: Nerves and Nerve Injuries. In: *Livingstone, London* (1978)

[101] Svensson, M. ; Aldskogius, H.: Synaptic density of axotomized hypoglossal motorneurons following pharmacological blockade of the microglial cell proliferation. In: *Exp Neurol* 120 (1993), Nr. 1, S. 123–131

[102] Tetzlaff, W. ; Bisby, M.A. ; Kreutzberg, G.W.: Changes in cytoskeletal proteins in the rat facial nucleus following axotomy. In: *J of Neurosci* 8 (1988), S. 3181–3189

[103] Thomsen, M.: Characterisation and optimisation of whole nerve recording cuff electrodes. In: *Ph.D Thesis from the Center for Sensory-Motor Interaction* Aalborg University, Denmark (1998), S. 10–23

[104] Tiwari, R. ; Karim, A. ; Snow, G.: Total glossectomy with laryngeal preservation. In: *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 119 (1993), S. 945–949

[105] Truccolo, W. ; Friehs, G. ; Donoghue, J.P. ; Hochberg, L.R.: Primary Motor Cortex Tuning to Intended Movement Kinematics in Humans with Tetraplegia. In: *Journal of Neuroscience* (2008)

[106] Upshaw, B. ; Sinkjaer, T.: Digital Signal Processing Algorithms for the Detection of Afferent Nerve Activity Recorded from Cuff Electrodes. In: *IEEE Transactions on Rehabilitation Engineering* 6 (1998), Nr. 2, S. 172–181

[107] Urken, M. ; Weinberg, H. ; J. Aviv, C. V. a ; Buchbinder, D. ; Biller, W. Lawson H.: The combined sensate radial forearm and iliac free flaps for reconstruction of significant glossektomy- and mandibulectomy defects. In: *Lanrygoscope* 102 (1992), S. 543–558

[108] Vorwerk, C.K. ; Zurakowski, D. ; McDermott, L. ; Mawrin, C. ; Dreyer, E.: Effects of axonal injury on ganglion cell survival and glutamate homeostasis. In: *Brain Res Bull* (2004), Nr. 62, S. 485–490

[109] Wang, G-Y. ; Hirai, K-I. ; Shimada, H. ; Taji, S. ; Zhong, S-Z.: Behavior of axons, Schwann cells and peripheral cells in nerve regeneration within transplanted nerve grafts: effects of anti-laminin and anti-fibronectin antisera. In: *Brain Res* 583 (1992), S. 216–226

[110] Weber, R. ; Ohms, L. ; Bowman, J. ; Jacob, R. ; Goepfert, H.: Functional results after total or near total glossectomy with laryngeal preservation. In: *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 117 (1991), S. 512–515

[111] Weese-Mayer, D. E. ; Silvestri, J. M. ; Hauptman, A. S. ; Lipton, J. W. ; Talonen, P. P. ; Garcia, H. G. ; Watt, J. W. ; Exner, G. ; Baer, G. A. ; other: Diaphragma pacing with a quadriplar phrenic nerve electrode: an international study. In: *Pace* 9 (1996), Nr. 19, S. 1311–1319

[112] Wicher, G.K. ; H.Aldskogius: Adult motor neurons show increased susceptibility to axotomy-induced death in mice lacking clusterin. In: *Eur J Neurosci* 21 (2004), Nr. 7, S. 2024–2028

[113] Yan, Q. ; Elliot, S. ; Snider, W.D.: Brain derived neurotrophic factor recues spinal motor neurons from axotomy induced cell death. In: *Nature* (1992), Nr. 360, S. 753–755

[114] Ylikoski, Jukka ; Hitselberger, William E. ; House, William F. ; Sanna, Mario: Degenerative Changes in the distal Stump of the severed human facial nerve. In: *Acta Otolaryngol* (1981), Nr. 92, S. 239–248

Abbildungsverzeichnis

1 Theoretisches FNS Modell am Menschen mit Signalaufnahme am Nervus hypoglossus (A) und Stimulation des infrahyoidalen Muskelfaszienlappens (C) über die Ansa cervicalis (B). Erläuterung im Text. . . . 13
2 Cuff Elektrode: e) Platinfolie d) Silikonmanschette, NC) Referenzelektrode, c) Elektrodenkabel 15
3 Pentapolare Elektrode mit Kabeln und Ableitungsbuchse. 16

4 Tripolare Elektrode mit Kabeln und Miniaturstecker in der Gesamtansicht. 17
5 Aufgespannte tripolare Elektrode in der Nahansicht der Cuffinnenseite mit Platinfolienelektroden. 18
6 Monopolare EMG-Elektrode mit Armierung. 18
7 Schema des Verstärkers 19
8 Schaltplan des Verstärkers 20
9 Operative Darstellung des rechten Nervus hypoglossus (Sternchen). . 24
10 Abgeschlossene Cuffimplantation am rechten Nervus hypoglossus. . . . 25
11 Links: Perichondriumtransplantat und Elektrode. Rechts: Perichondriumauskleidung des Cuffs mit dezentem Überstand des Transplantates proximal und distal. 26
12 Abgeschlossene Cuffimplantation am neurotomierten Nervus hypoglossus und epimuskuläre Einnaht des Nervenstumpfes. 27
13 Oben: Steckerbuchse (alt) mit Verschlusskappe. Unten: Konnektiertes System bei der Datenerfassung. 28
14 Veränderte Ausleitung der Elektrodenkabel am dorsalen Hals mit Mikrostecker und mit Tasche zur Aufnahme der Kabel. 29
15 a) Cuffelektrode mit Referenzelektrode b) Masseelektrode c) Verstärker d) Laptop zur Online-Betrachtung e) Aufzeichnungsgerät „Bell & Howell CR 3000“ f) Hochpassfilter g) Digitalisierung der Daten und Offline-Analyse am PC 31
16 a) ASCII-Datei der Rohdaten graphisch dargestellt über die Zeit b) nach Absolutwertberichtigung c) erneut gefilterte Datei ohne EMG-Verunreinigung(rot) und Ermittlung des Base to Peak-Wertes d) Abschnitte zur Ermittlung der Rauschschwelle e) Berechnung der Rauschschwelle. X-Achse = ?V, Y-Achse = Zeit in Sekunden. 36
17 Ermittlung der relativen maximalen Amplitude, des Kern- (rot) und des Basisspektrums (blau). Amplitude in nV. 37
18 Verlauf der SAP-Amplituden in der Gruppe Ia (Elektrodenimplantation ohne weitere Maßnahme). 40
19 Standardisierter Verlauf der SAP-Amplituden in der Gruppe Ia (Elektrodenimplantation ohne weitere Maßnahme). 41
20 Durchschnittlicher Verlauf der SAP in der Gruppe Ia (polynominell 4.Ordnung approximiert). 42
21 Verlauf der SAP-Amplituden in der Gruppe Ib (Elektrodenimplantation und primäre Neurotomie). 43

22 Standardisierter Verlauf der SAP-Amplituden in der Gruppe Ib (Elektrodenimplantation und primäre Neurotomie). 44
23 Durchschnittlicher Verlauf der SAP in der Gruppe Ib (mathematische Glättung, polynominell 4.Ordnung). 45
24 Vergleich des Verlaufs der SAP der Gruppe Ia (grün) und Ib (rot). . . 46
25 Durschnittlicher Verlauf der SAP in der Gruppe Ic, die Pfeile markieren die Tage der sekundären Neurotomie. 47
26 Verlauf der SAP in der Gruppe IIa (Implantation einer Cuffelektrode mit zusätzlicher Perichondriummanschette). 48
27 Verlauf der SAP in der Gruppe IIa (Implantation einer Cuffelektrode mit zusätzlicher Perichondriummanschette), standardisiert dargestellt. 49
28 Verlauf des SAP in der Gruppe IIb (Implantation einer Cuffelektrode mit zusätzlicher Perichondriummanschette und primäre Neurotomie). 50
29 Verlauf des SAP in der Gruppe IIc (Implantation einer Cuffelektrode mit zusätzlicher Perichondriummanschette und sekundärer Neurotomie). 51
30 Standardisierter Verlauf der relativen maximalen Amplitude in der Gruppe Ia (Implantation einer Cuffelektrode ohne Neurotomie). . . . 52
31 Verlauf der relativen maximalen Amplitude in der Gruppe Ia (Implantation einer Cuffelektrode ohne Neurotomie). Polynomineller Kurvenfit 4er Ordnung. 53
32 Standardisierter Verlauf der relativen maximalen Amplitude in der Gruppe Ib (Implantation einer Cuffelektrode und primäre Neurotomie). 54
33 Verlauf der relativen maximalen Amplitude in der Gruppe Ib (Implantation einer Cuffelektrode und primäre Neurotomie). Polynomineller Kurvenfit 4er Ordnung. 55
34 Verlauf der relativen maximalen Amplitude in der Gruppe Ic (Implantation einer Cuffelektrode und sekundäre Neurotomie). 56
35 Verlauf der relativen maximalen Amplitude in der Gruppe IIa (Implantation einer Cuffelektrode + Perichondriummanschette ohne Neurotomie). 57
36 Verlauf der relativen maximalen Amplitude in der Gruppe IIb (Implantation einer Cuffelektrode + Perichondriummanschette und Neurotomie). 58
37 Verlauf der relativen maximalen Amplitude in der Gruppe IIc (Implantation einer Cuffelektrode + Perichondriummanschette und sekundäre Neurotomie) in grün. Zum Vergleich sind die Nerven der Gruppe Ic rot dargestellt. 59

38 FFT-Spektrum eines Nervus hypoglossus in Ruhe (blau) und bei Willkürinnervation (rot). Am linken Rand unterhalb von 800 Hz sind mitregistrierte Myopotentiale zu sehen (keine Hochpassfilterung). (Darstellung mit spectrogram®) 60
39 Verschiebung des Kernspektrummittelwertes in der Anfangsphase für die Gruppe Ia. Der erneute Anstieg ergibt sich aus dem in der zweiten Phase folgenden Niedergangs der relativen Amplitude im Bereich von 1600 bis 3500Hz. 62
40 Frequenzspektrum eines NH über die Zeit. Zu sehen ist die De- und Regeneration mit Verlust und Wiederaufbau der einzelnen Spektrumbereiche. Erklärung siehe Text. X-Achse = nV, Y-Achse = Hertz . . . 63
41 Frequenzspektrum eines NH zu Beginn (rot) und nach erfolgter Regeneration (Grün). Der Frequenzbereich von 2500 bis 5000 Hz erfährt keine vollständige Regeneration mehr. X-Achse = nV, Y-Achse = Hertz 64
42 FFT Darstellung eines SAP bei der Willkürinnervation mit Schlucktakt (Pfeil). 65
43 Frequenzspektrum des NH beim Kauen und Schlucken. FFT und Darstellung über spectrogram™. Die Banden zeigen unterschiedliche Breiten und Abstände. 66
44 Innervationssequenz über 50 Sekunden. Erklärung siehe Text. Darstellung mit WaveLab™. 67
45 Anstieg der Relativamplituden zu Beginn der Innervation. 68
46 FFT Darstellung eines SAP mit Schlucktakten beim Trinken. Maximierung der Innervation kurz vor Ende (Erste Innervationssalve) mit rosafarbenen Peak. 69
47 Zeitsynchrone Aufzeichnung von ENG (links) und EMG (rechts). Erklärung siehe Text. 70
48 FFT Darstellung des SAP. Die Abstände zwischen den Sequenzen der Willkürinnervation sind unterschiedlich groß. Der kleinste Abstand ist zwischen der zweiten und dritten Bande zu sehen. 70
49 Durch die porcine Anatomie bedingter vergrößerter Bewegungsradius bei der Reklination. Die dabei entstehende Elongation des Nervus hypoglossus unterhält die Schädigung des Nerven durch die sich mitverschiebende Elektrode. 77
50 Maximalamplitude Tier 1. 112
51 Maximalamplitude Tier 2. Sekundäre Neurotomie des rechten NH am 69.Tag (Pfeil). 113

52 Maximalamplitude Tier 3. Wegen Infektion und Elektrodenbruch waren Ableitungen nur bis 34. Tag möglich. 113
53 Maximalamplitude Tier 4. Primäre Neurotomie linker NH (Pfeil). . . . 114
54 Maximalamplitude Tier 5. Primäre Neurotomie linker NH (Pfeil). . . . 114
55 Maximalamplitude Tier 6. Primäre Neurotomie linker NH (Pfeil). . . . 115
56 Maximalamplitude Tier 7. Primäre Neurotomie linker NH (Pfeil). . . . 115
57 Maximalamplitude Tier 8. Sekundäre Neurotomie linker NH am Tag 54 (Pfeil). 116
58 Maximalamplitude Tier 9. Sekundäre Neurotomie rechter NH am Tag 83 (Pfeil). 116
59 Maximalamplitude Tier 10. Primäre Neurotomie linker NH (Pfeil). . . 117
60 Maximalamplitude Tier 11. Primäre Neurotomie rechter NH (Pfeil). . 117
61 Maximalamplitude Tier 12. Primäre Neurotomie rechter NH (Pfeil). . 118
62 Amplitudenverfall des NH der Tiere 4 - 7. Nichtlinearer Kurven-Fit mit einer einfachen Exponentialfunktion der Abnahme 1. Ordnung (y = A1*exp(-x/t1) + y0). Oben neurotomierte NH, unten intakte NH . 118
63 Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 2 rechts. 119
64 Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 2 links. 120
65 Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 3 rechts. 120
66 Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 3 links. 121
67 Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 4 rechts. 121
68 Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 4 links. 122
69 Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 5 rechts. 122
70 Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 5 links. 123
71 Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 6 rechts. 123
72 Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 6 links. 124
73 Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 7 rechts. 124

74 Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 7 links. 125
75 Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 8 rechts. 125
76 Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 8 links. 126
77 Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 9 links. 126
78 Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 9 rechts. 127

Tabellenverzeichnis

1 Tabellarische Übersicht der verschiedenen Prozeduren und der verwendeten Elektrodendurchmesser 33

6 Anhang

6.1 Diagramme der SAP Maximalamplitude in der Einzeldarstellung:

Verlauf der NH SAPmaximalamplitude, Hintergrundrauschen und des Dateireferenzwertes über die Zeit. Der untere Balken gibt die Präsenz erkennbarer Frequenzbanden an (spectrogram®).

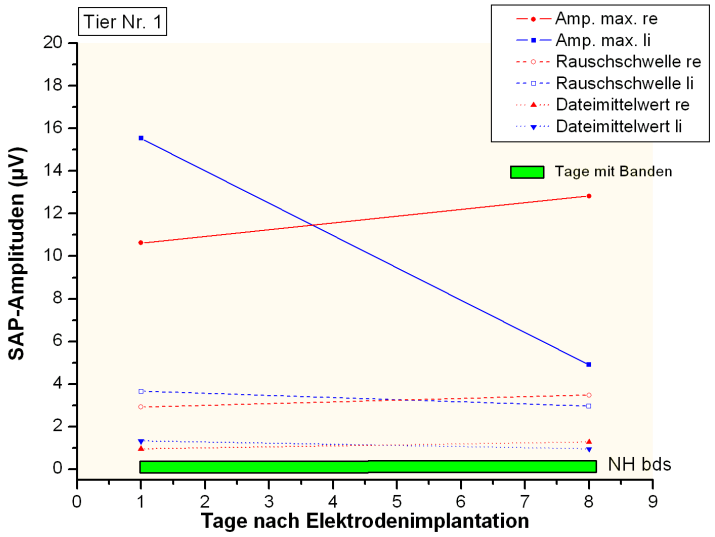

Abbildung 50: Maximalamplitude Tier 1.

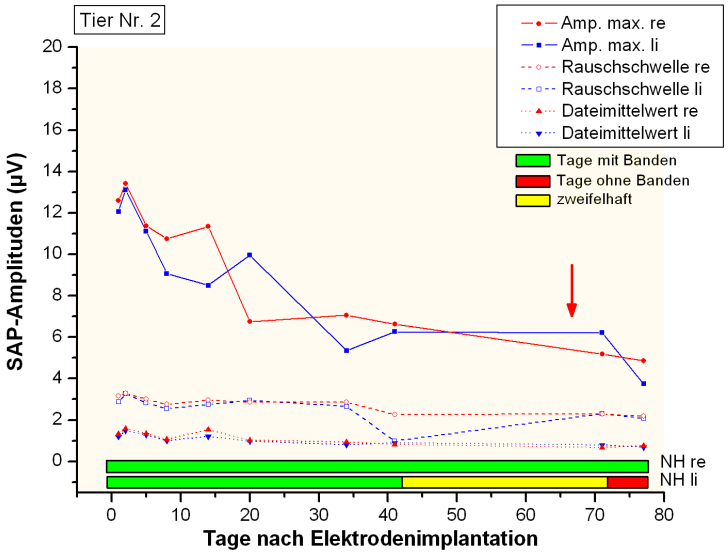

Abbildung 51: Maximalamplitude Tier 2. Sekundäre Neurotomie des rechten NH am 69.Tag (Pfeil).

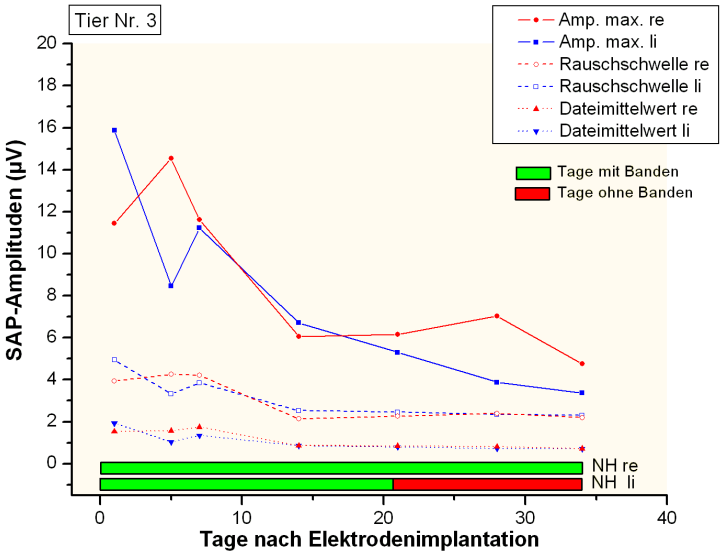

Abbildung 52: Maximalamplitude Tier 3. Wegen Infektion und Elektrodenbruch waren Ableitungen nur bis 34. Tag möglich.

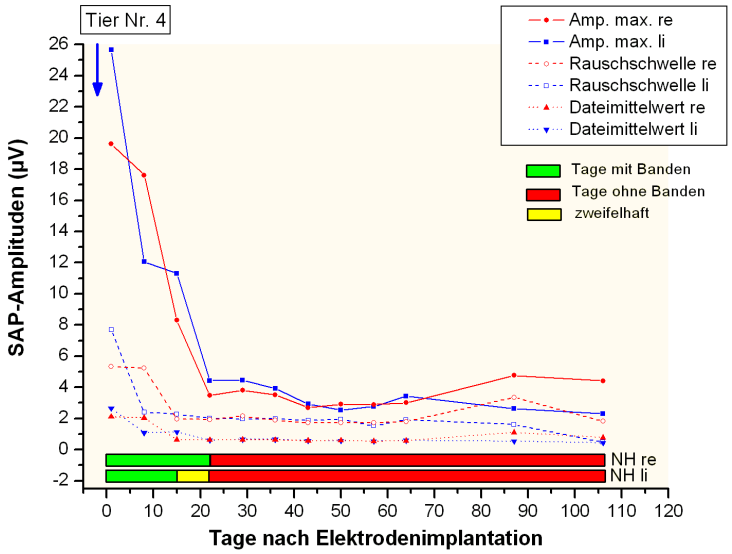

Abbildung 53: Maximalamplitude Tier 4. Primäre Neurotomie linker NH (Pfeil).

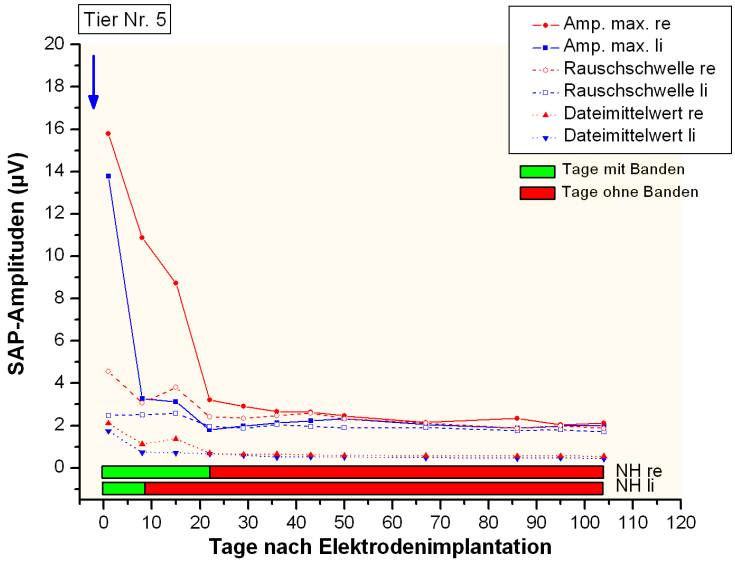

Abbildung 54: Maximalamplitude Tier 5. Primäre Neurotomie linker NH (Pfeil).

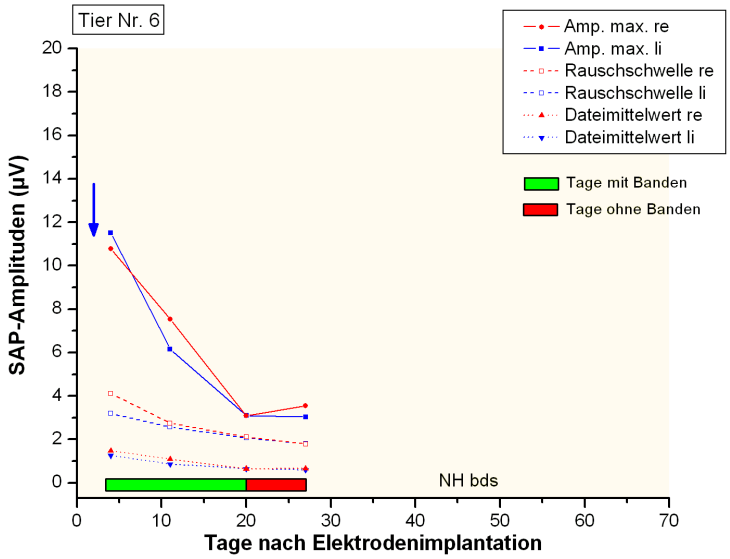

Abbildung 55: Maximalamplitude Tier 6. Primäre Neurotomie linker NH (Pfeil).

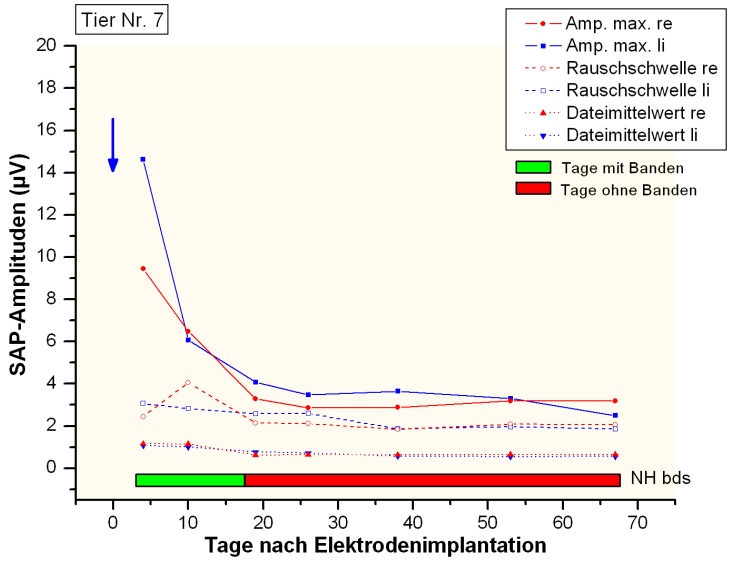

Abbildung 56: Maximalamplitude Tier 7. Primäre Neurotomie linker NH (Pfeil).

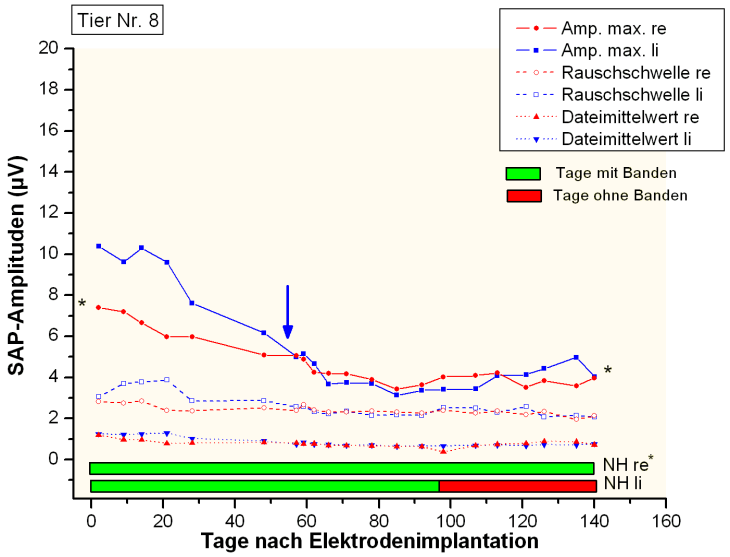

Abbildung 57: Maximalamplitude Tier 8. Sekundäre Neurotomie linker NH am Tag 54 (Pfeil).

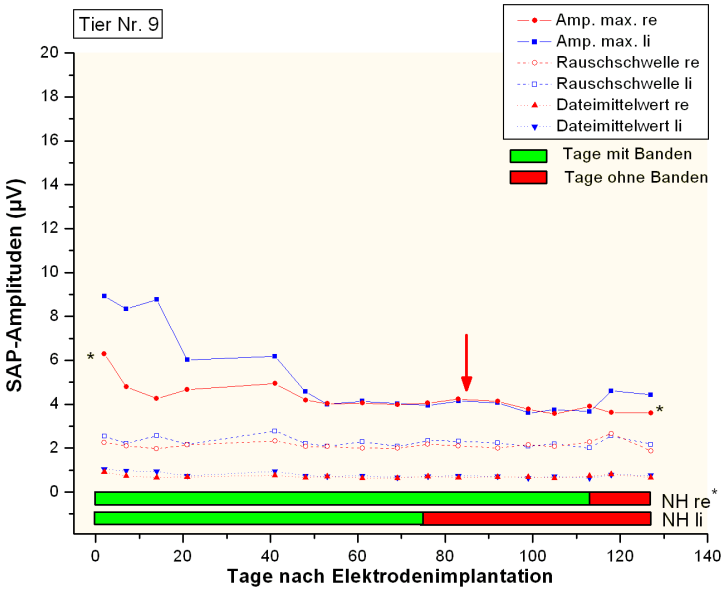

Abbildung 58: Maximalamplitude Tier 9. Sekundäre Neurotomie rechter NH am Tag 83 (Pfeil).

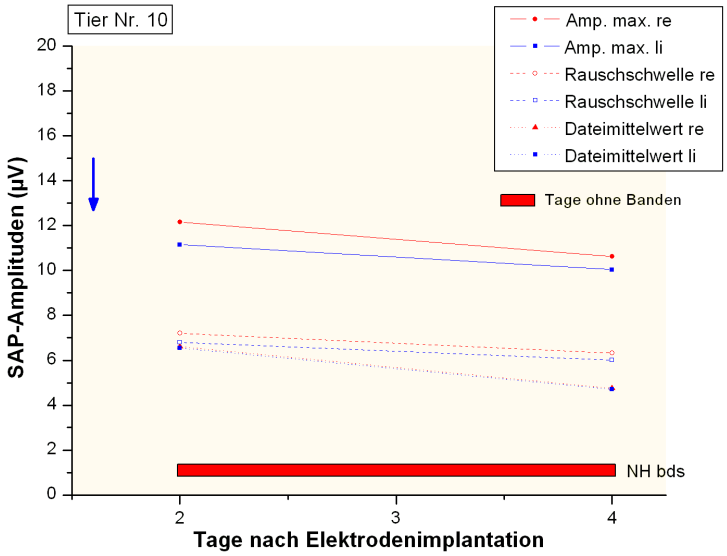

Abbildung 59: Maximalamplitude Tier 10. Primäre Neurotomie linker NH (Pfeil).

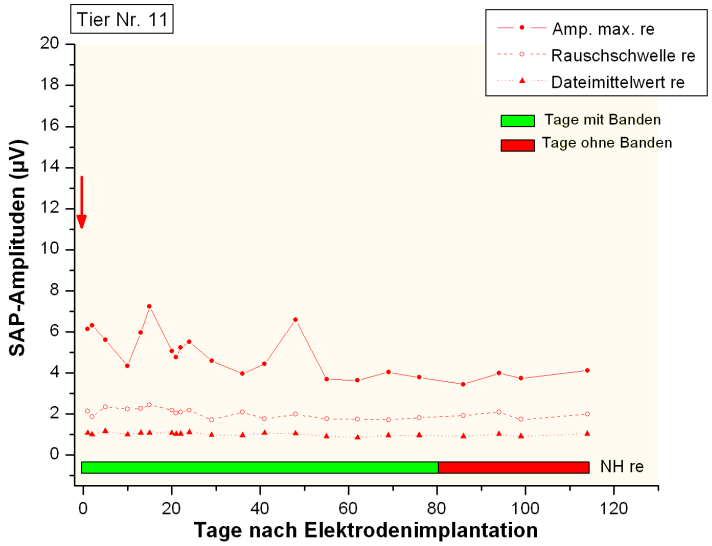

Abbildung 60: Maximalamplitude Tier 11. Primäre Neurotomie rechter NH (Pfeil).

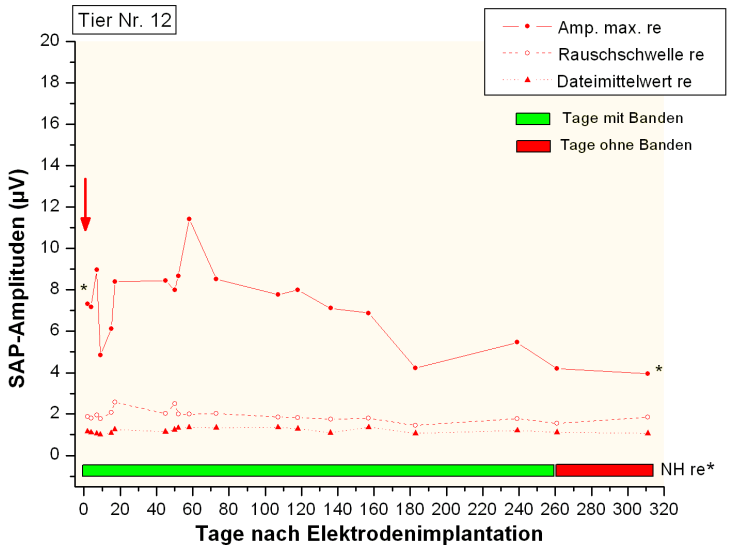

Abbildung 61: Maximalamplitude Tier 12. Primäre Neurotomie rechter NH (Pfeil).

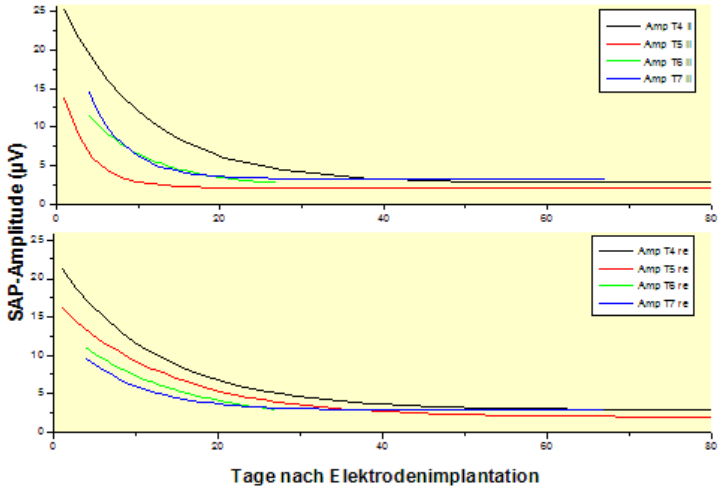

Abbildung 62: Amplitudenverfall des NH der Tiere 4 - 7. Nichtlinearer Kurven-Fit mit einer einfachen Exponentialfunktion der Abnahme 1. Ordnung (y = A1*exp(-x/t1) + y0). Oben neurotomierte NH, unten intakte NH

6.2 Diagramme der relativen maximalen Amplitude und das Frequenzspektrum in der Einzeldarstellung:

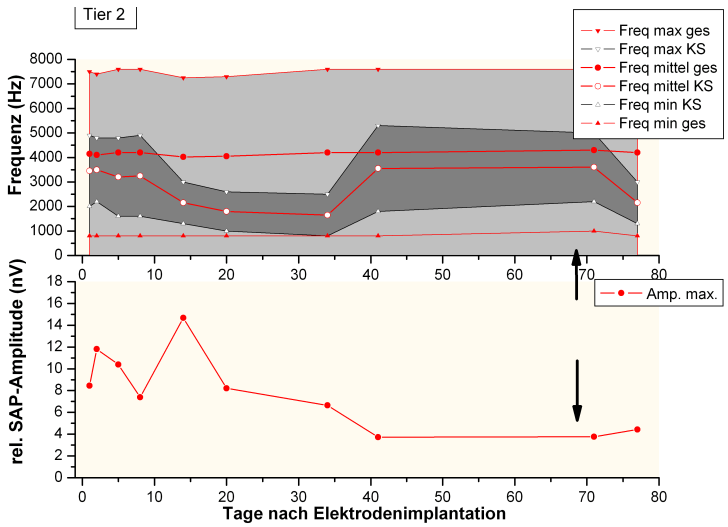

Abbildung 63: Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 2 rechts.

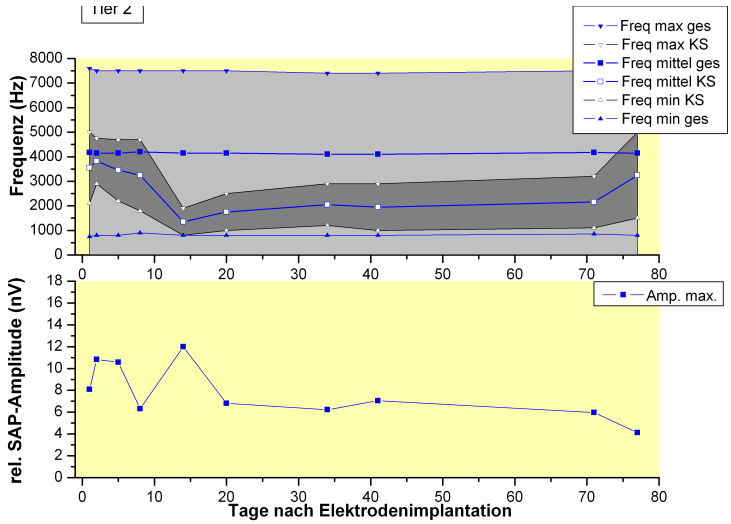

Abbildung 64: Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 2 links.

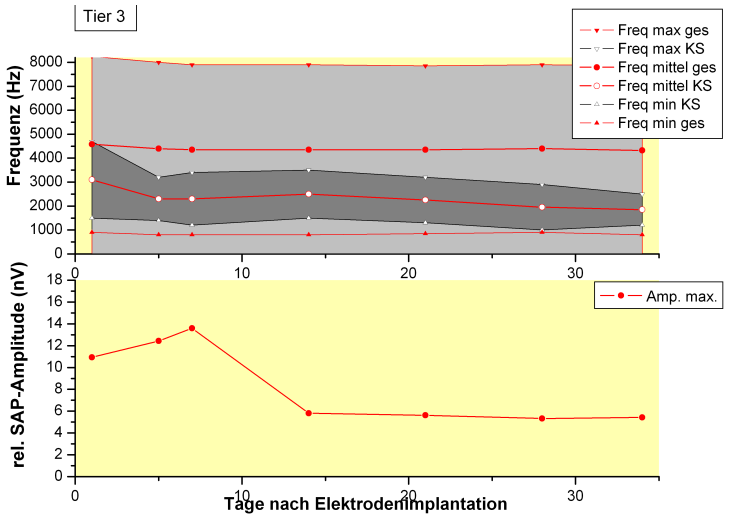

Abbildung 65: Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 3 rechts.

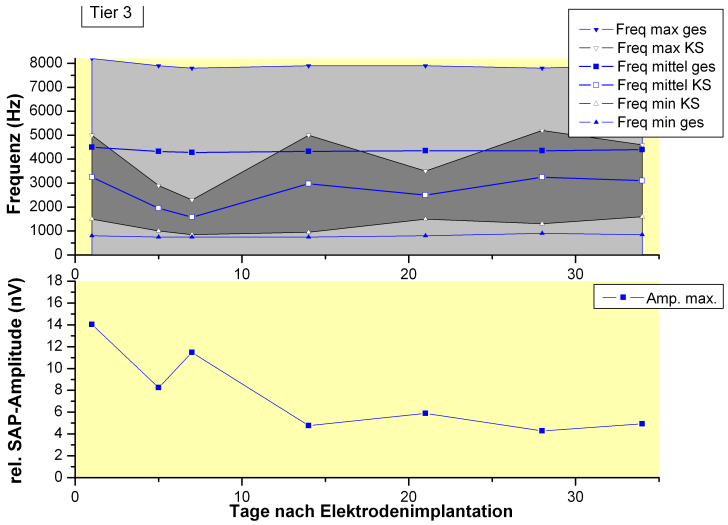

Abbildung 66: Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 3 links.

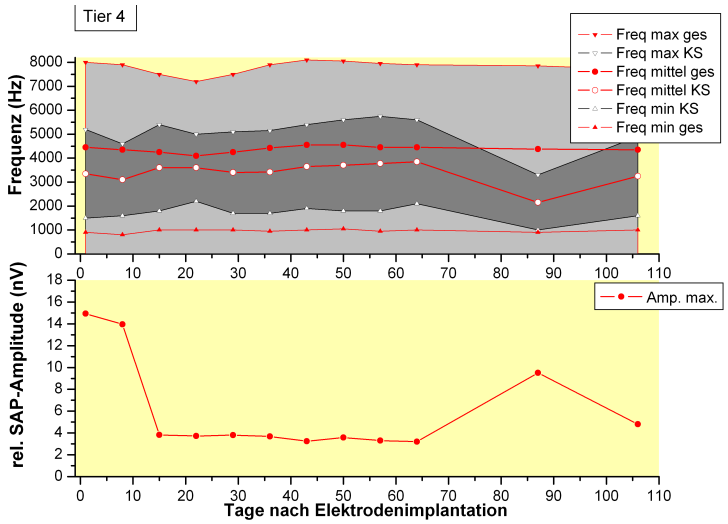

Abbildung 67: Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 4 rechts.

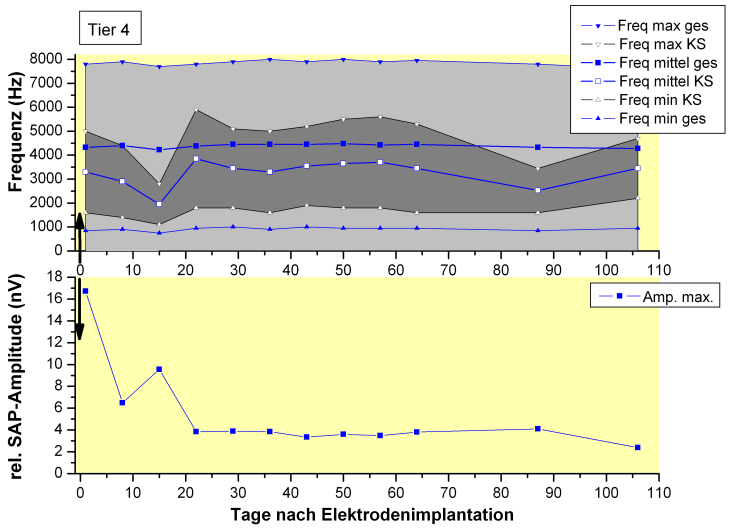

Abbildung 68: Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 4 links.

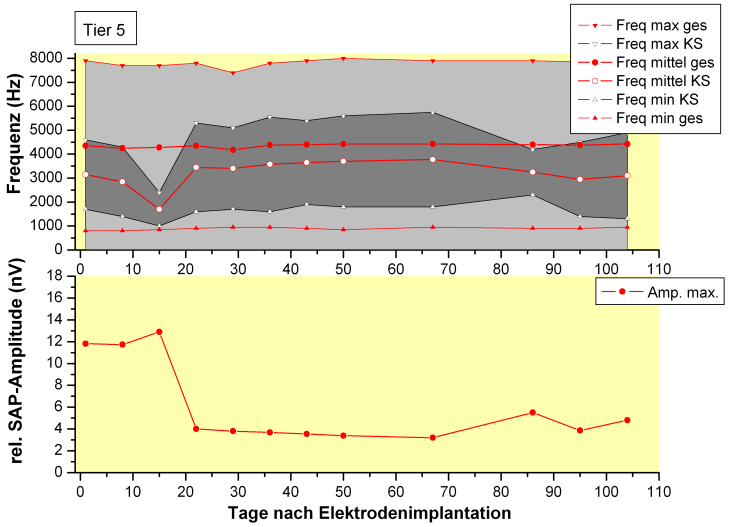

Abbildung 69: Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 5 rechts.

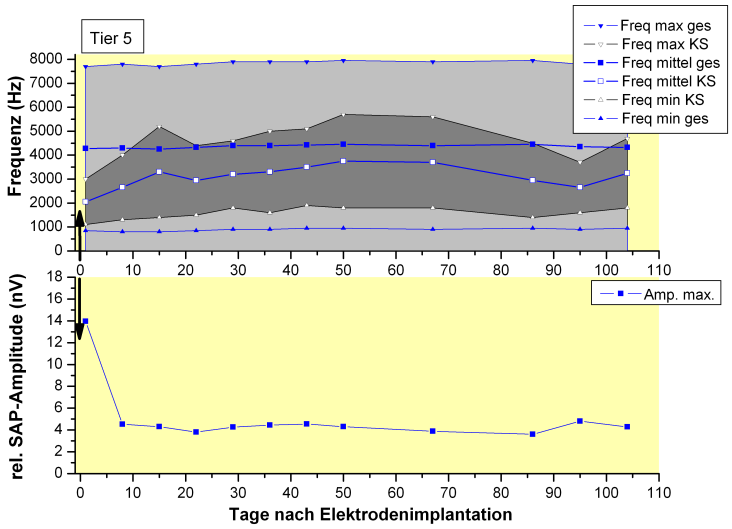

Abbildung 70: Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 5 links.

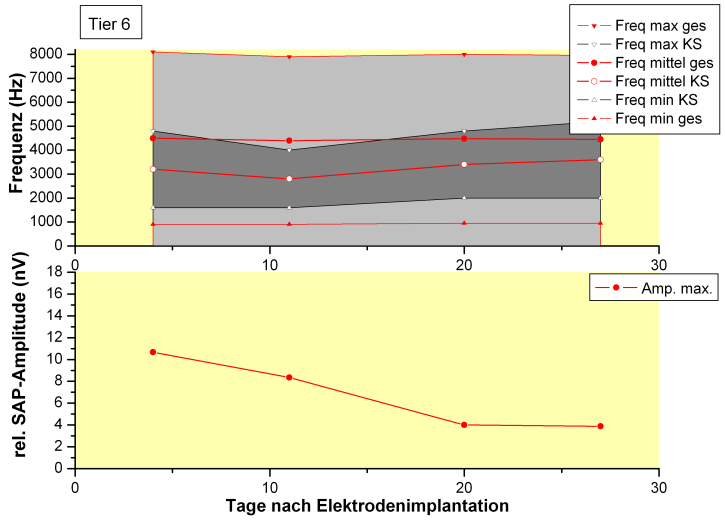

Abbildung 71: Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 6 rechts.

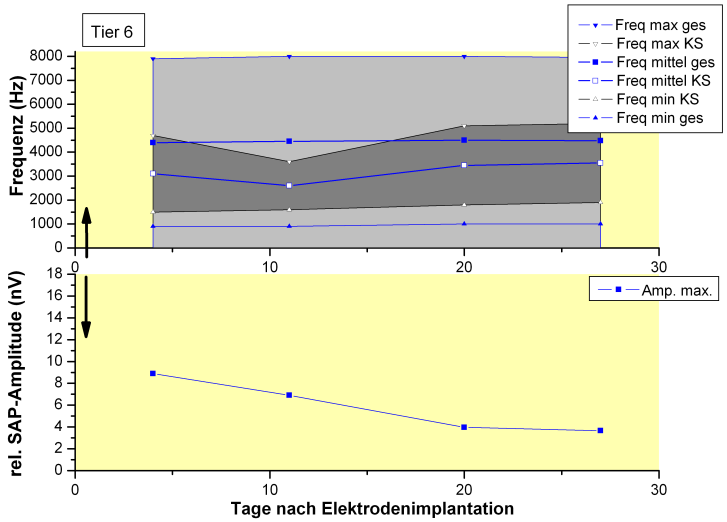

Abbildung 72: Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 6 links.

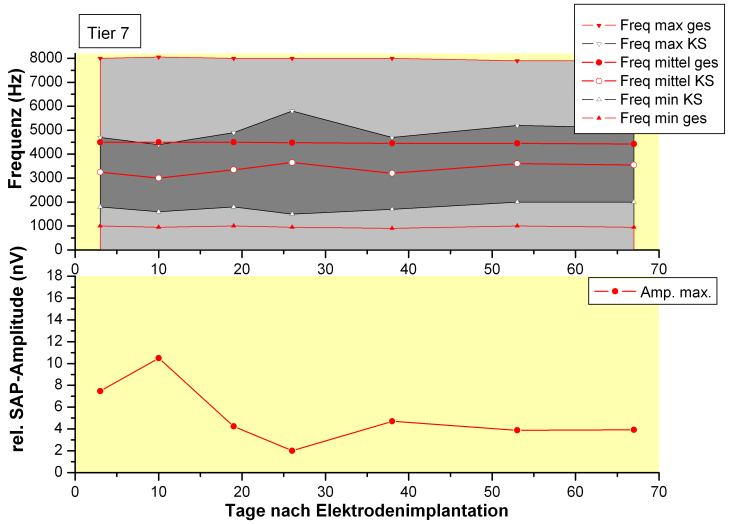

Abbildung 73: Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 7 rechts.

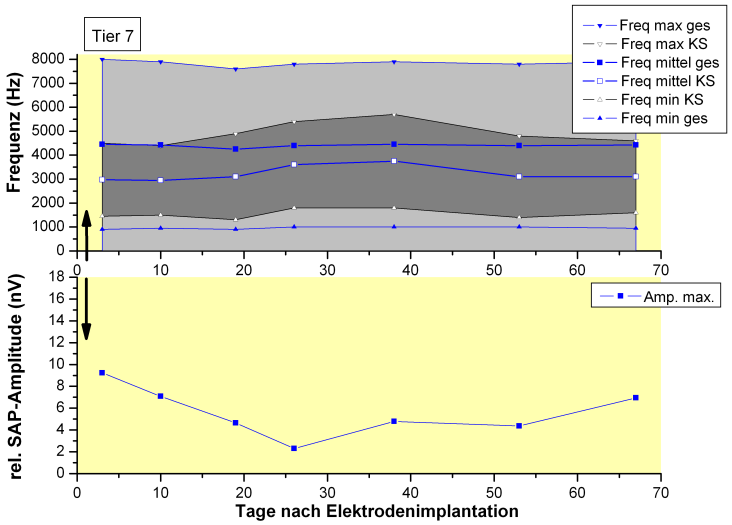

Abbildung 74: Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 7 links.

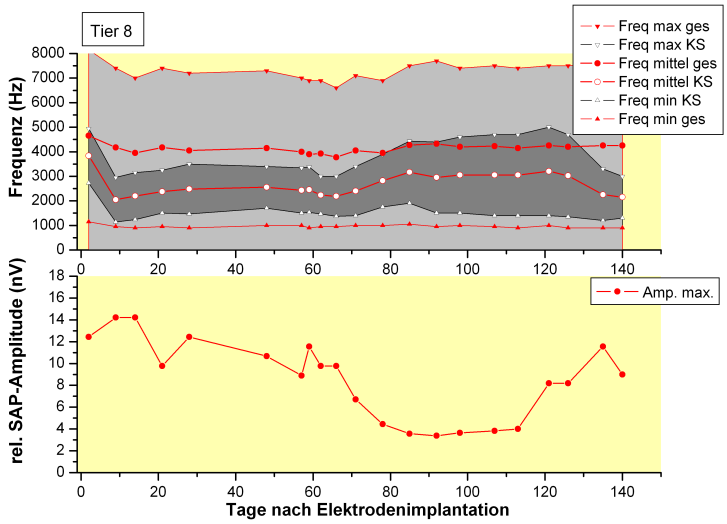

Abbildung 75: Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 8 rechts.

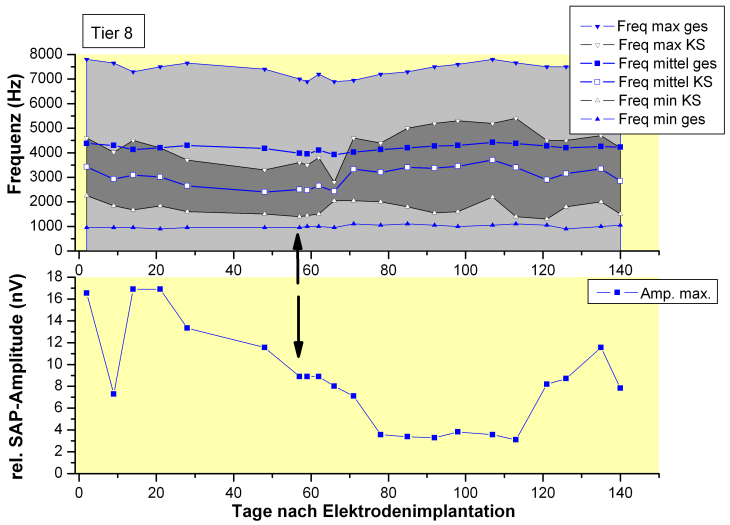

Abbildung 76: Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 8 links.

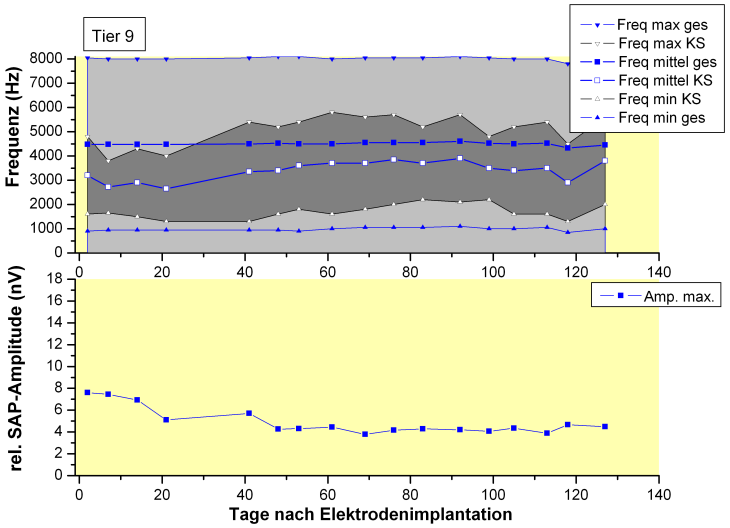

Abbildung 77: Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 9 links.

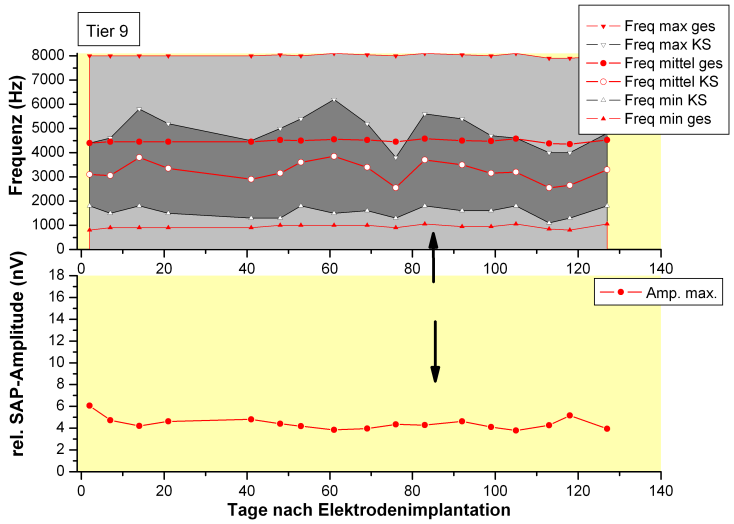

Abbildung 78: Relative maximale Amplitude und Frequenzspektrum im zeitlichen Verlauf bei Tier 9 rechts.

7 Danksagung

Zu allererst möchte ich mich herzlich bei Herrn PD Dr. med. E. Gehrking für das interessante Doktorarbeitsthema, die hervorragende Betreuung, den kollegialen Umgang und nicht zuletzt für seine Geduld bei der Fertigstellung dieser Arbeit bedanken. Auch Prof. Dr. med. S. Remmert, ehemaliger komm. Direktor der HNO Klinik des UKSH, Campus Lübeck, jetzt Chefarzt der HNO-Klinik des Malteser-Krankenhaus St. Anna in Duisburg, sei für die Pionierarbeit bei der chirurgischen Entwicklung der myofasziokutanen Zungenplastik gedankt und die für Initiation des Grundgedankens der FES an diesem Modell erwähnt. Herrn Prof. Dr. med. Ch. Weiss, emeritierter Leiter des Instituts für Physiologie der Universität zu Lübeck, danke ich für die Vermittlung des elektrophysiologischen Grundverständnisses am Nerven im Studium und während dieser Arbeit. Herrn Dipl.Ing. M. Zelazny, wissenschaftliche Werkstätten der Universität zu Lübeck, habe ich für die Entwicklung und Konstruktion des elektronischen Equipments zu danken und für die Beratung hinsichtlich der Auswertungskriterien und in physikalischen Fragestellungen. Herrn PhD M. Haugland, Research and Development Manager von Neurodan A/S in Aalborg, vormals Center for Sensory-Motor Interaction, Universität Aalborg, Dänemark, sei für die handwerklich hervorragend hergestellten Cuffelektroden gedankt. Herrn Dr. med. vet. R. Noël, Leiter der gemeinsamen Tierhaltung der Universität zu Lübeck und seinen Mitarbeitern danke ich für die ausgezeichnete Unterbringung und Betreuung unserer Versuchstiere, sowie für die Möglichkeit, die Tierställe auch außerhalb der üblichen Besuchszeit aufzusuchen.

Der Deutschen Krebshilfe, Bonn, gilt an dieser Stelle, für die finanzielle Förderung mein ganz besonderer Dank. Ohne diese wäre eine Realisation der Forschungen nicht möglich gewesen .

7 Danksagung

Frau Mandy Meyer habe ich für die mentale Unterstützung, die Durchsicht und kritische Korrektur des Manuskriptes zu danken.
Schließlich und endlich danke ich meinen Eltern Christa und Werner Küpper für den finanziellen und moralischen Beistand während der Studien- und Doktorarbeitszeit und darüber hinaus.

8 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Simon Steffan Küpper

Geburtstag: 05.03.1974 in Nairobi / Kenia

Familienstand: ledig, 1 Sohn geb. 23.07.2002

Staatsangehörigkeit: Deutsch

Schulbildung

1980-1984: Französische Grundschule in Korhogo, Elfenbeinküste / Westafrika

1984-1994: Gymnasium Landschulheim Schloss Ising / Bayern

1993: Facharbeit im LK Chemie über das Elektrophoreseverhalten verschiedener Tierblutplasmen

Berufsausbildung

Jan. 1995-Okt. 1995 Schreinerlehre, Schreinerei Strohmayer, Erlstätt / Oberbayern

Hochschulausbildung

Okt. 1995-Apr. 2002 Medizinischen Universität zu Lübeck

Apr. 2002-Apr. 2003 Freie Universität Berlin

Physikum Okt. 1997

1. Staatsexamen Aug. 1998

2. Staatsexamen Sep. 2001

3. Staatsexamen Juni 2003

Famulaturen

März 1998-Apr. 1998: Dr. A. Kreuzmayer, Innere Medizin / Kardiologie, Kreiskrankenhaus Traunstein / Bayern

Okt. 1998-Dez. 1998: Prof. Dr. A. Scher, Radiologie, Tygerberg Hospital, Kapstadt / Südafrika

Schwerpunkte: Konventionelle Röntgendiagnostik, Sonographie und CT, speziell des Thorax bei typischen Infektionserkrankungen des südlichen Afrikas

Jan. 1999-Feb. 1999: Prof. Dr. J.W. Loock, Hals, Nasen und Ohrenheilkunde, Tygerberg Hospital, Kapstadt / Südafrika

Schwerpunkte: Tumor- und Kopf-/Halschirurgie

Feb. 1999-März 1999: Prof. Dr. B. J. van Zeeman, Rekonstruktive und Plastische Chirurgie, Tygerberg Hospital, Kapstadt / Südafrika

Schwerpunkte: Brandverletzte, Rekonstruktionen nach Tumor/Trauma, kraniofaziale Chirurgie bei Kindern mit Apert- und Crouzon-Syndrom, ästhetische Chirurgie

Sept. 2000-Okt. 2000: Prof. Dr. P. Mailänder, Plastische und Handchirurgie, Medizinische Universität zu Lübeck

Schwerpunkte: Handchirurgie, Intensiveinheit für Brandverletzte

Praktisches Jahr

Okt. 2001-Feb. 2002: Prof. Dr. Dr. H. Weerda, Klinik für Hals, Nasen und Ohren, Medizinische Universität , Lübeck

Modernen Rekonstruktionsverfahren im Kopfhalsbereich

April 2002-Aug. 2002: Prof. Dr. K.P. Schüren, Klinik für Innere Medizin I, Klinikum Auguste Viktoria, Berlin

Internistische Rettungsstelle (gesamtes Tertial)

Aug. 2002-Okt. 2002: Dr. D. Büscher, Unfallchirurgie, Klinikum Am Urban, Berlin

Okt. 2002-Dez. 2002: Prof. Dr. U. Baer, Visceral- und Gefäßchirurgie, Klinikum Am Urban, Berlin

Arzt im Praktikum

Mai 2004-Okt.2004: Dr. med U. Kleine, Allgmein-, Visceral- und Unfallchirurgie mit Funktionsbereich für Plastische Chirurgie, Vivantes Klinikum am Prenzlauer Berg, Berlin

Assitenzarzt

Okt. 2004-März 2005: Dr. med. U. Kleine, Allgmein-, Visceral- und Unfallchirurgie mit Funktionsbereich für Plastische Chirurgie, Vivantes Klinikum am Prenzlauer Berg, Berlin

April 2005-Sept.2008: Dr. med. A. Weskott, Allgmein-, Visceral- und Unfallchirurgie mit Funktionsbereich für Plastische Chirurgie, Vivantes Klinikum am Prenzlauer Berg, Berlin

Sept. 2008-Jan.2009: PD Dr. med. H.Rimpler, Klinik für Chirurgie - Gefäß-, Thorax- und Plastische Chirurgie, Vivantes Klinikum im Friedrichshain, Berlin

Jan.2009-dato: Dr. med. B. Hartmann, Zentrum für Schwerbrandtverletzte mit Plastischer Chirurgie, Unfallklinikum Berlin

Veröffentlichungen / Vorträge

Ableitung von Potentialen des Nervus hypoglossus durch Implantation von Cuffelektroden beim Mini-Schwein

E. Gehrking, S. Küpper, J. Finnern, M. Zelazny, F. Landwehr, C. Weiss, S. Remmert Deutsch-Österreichischer HNO-Kongress, 73. Jahresversammlung der Deutschen Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde, Kopf- und Hals-Chirurgie, 2002 in Baden-

Baden

Funktionelle neuromuskuläre Stimulation (FNS): Neuropotentialanalyse des intakten und axotomierten Nervus hypoglossus durch Cuffelektroden beim Minischwein
E. Gehrking, S. Küpper, J. Finnern, M. Zelazny, F. Landwehr, C. Weiss, S. Remmert
3. Jahrestagung der Norddeutschen Gesellschaft für Otorhinolaryngology und zervikofaziale Chirurgie, 2003 in Heringsdorf

Therapie einer monströsen Bauchwandnarbenhernie und Komplikationsmanagment bei Multiorganversagen
S. Küpper, Kopp S., Walther K.,Weskott A.
Berliner Chirurgische Gesellschaft, 31. Berliner Chirurgen-Treffen, Langenbeck-Virchow-Haus, in Berlin 2006

V.A.C.-Instill, Eine Indikation für die nekrotisiierende Fasziitis?
S. Küpper, Kopp S., Walther K.,Weskott A.
3 Länder V.A.C. Kongress, in Linz 2007, Posterpräsentation

Die nekrotisiierende Fasziitis und die V.A.C.-Instill-Therapie
S. Küpper, Kopp S., Walther K., Weskott A.
Berliner Chirurgische Gesellschaft, 33. Berliner Chirurgen-Treffen, Langenbeck-Virchow-Haus, in Berlin 2008

Die nekrotisiierende Fasziitis, Neue Behandlungsstrategien
S. Küpper, Kopp S., Walther K., Rimpler H.
Medizinhistorisches Museum der Charité, in Berlin 2008

Verbandsanlagen an schwierigen anatomischen Lokalisationen

S. Küpper, S. Kopp, K. Walther, H.Rimpler

3 Länder V.A.C. Kongress, in Berlin 2009

InEK-konforme Kostenevaluation für Patienten mit großen chronischen Weichteildefekten

S. Küpper, K. Walther, A. Weskott, C. Kugler, S. Kopp

Jahreskongress der Deutsche Gesellschaft der Plastischen, Rekonstruktiven und Ästhetischen Chirurgen e.V. (DGPRÄC) und Vereinigung der Deutschen Ästhetisch-Plastischen Chirurgen e.V. (VDÄPC), in Hannover 2009

Mitgliedschaften

Deutsche Vereinigung der Plastischen, Aesthetischen und Rekonstruktiven Chirurgen seit 10.2006

Berliner Chirurgische Gesellschaft seit 02.2007

Berlin, 02.02.2010

Simon Küpper