

Aus der Universitätsklinik für
Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde Tübingen
Abteilung für Phoniatrie und Pädaudiologie
Kommissarischer Leiter: Professor Dr. Dr. h.c. mult. H. P. Zenner

Stereotaktische Entnahme von Innenohrflüssigkeiten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Ulrike Elke Zacher
aus
Leonberg

2003

Dekan: Professor Dr. C. D. Claussen

1. Berichterstatter: Professor Dr. R. Arold

2. Berichterstatter: Privatdozentin Dr. S. Preyer

**In Liebe gewidmet
Ralph,
meinen Eltern, meiner Schwester
und mir selbst**

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	5
1.1	Kurzer historischer Überblick	5
1.2	Motivation zur Arbeit	7
2	Material und Methoden	9
2.1	Untersuchungsmaterial	9
2.1.1	Versuchstiere	9
2.1.2	Medikamente	9
2.1.3	Geräte und Kleinmaterialien	9
2.2	Methoden	9
2.2.1	Das stereotaktische Gerät	9
2.2.2	Narkose und Tötung der Tiere	11
2.2.3	Operationsschritte bis zur eigentlichen stereotaktischen Entnahme der Innenohrflüssigkeiten	11
3	Ergebnisse	13
3.1	Befestigung der Instrumente am stereotaktischen Gerät	13
3.1.1	Laserpointer	13
3.1.2	Bohrer	14
3.1.3	Rasierklingsplitter	14
3.1.4	Glaskapillare	15
3.2	Einstellung des Operationsfeldes im stereotaktischen Gerät	16
3.3	Silikonfolie und deren Fixierung	16
3.4	Einstellungen der Instrumente am stereotaktischen Gerät	17
3.4.1	Meerschweinchen – rechte Seite	19
3.4.2	Meerschweinchen – linke Seite	20
3.4.3	Goldhamster – rechte Seite	21
3.4.4	Goldhamster – linke Seite	22
3.5	Stereotaktische Perilymphentnahme in der Durchführung	23
4	Diskussion	27
4.1	Diskussion der Bedeutung der eigenen Ergebnisse	27
4.1.1	Überlegungen zur Einstellung der Cochlea und der Instrumente	27
4.1.2	Betrachtungen zur Perilymphentnahme	28
4.1.3	Darlegungen zur Stereotaktik	30
4.2	Diskussion der Fehlermöglichkeiten	31
5	Zusammenfassung	33
6	Literatur	35

1 Einleitung

1.1 Kurzer historischer Überblick

Analysen von Innenohrflüssigkeiten scheiterten lange am Problem der Entnahme. Haifische erschienen zunächst als die geeigneten Objekte (Kaieda, 1930). Bei Säugetieren erfolgte die erste in-vivo-Entnahme von Innenohrflüssigkeiten (Aldred et al., 1940). Die Perilymphe der Scala tympani wird durch Punktion der Membrana secundaria, die das runde Fenster zum Mittelohrraum verschließt, gewonnen. Zusätzlich erreicht man die cochleäre Endolymphe durch Punktion der nachfolgenden Membran, der Lamina basilaris, die die Scala media zur Scala tympani abtrennt.

Unter Anwendung der beschriebenen Operationstechnik konnten beim Meeresschweinchen in der Perilymphe hohe Natrium- (150,3 mmol/l) und niedrige Kaliumkonzentrationen (4,8 mmol/l), in der Endolymphe dagegen umgekehrte Verhältnisse festgestellt werden (Smith et al., 1954). Allerdings variierten die angegebenen Werte erheblich, und aufgrund geringerer Verwerfungen ließ sich die Endolymphe utriculi (Natrium 14,2–17,4 mmol/l, Kalium 140,4–148,4 mmol/l) besser verwerten als die der Cochlea.

Nachfolgende Autoren bestätigten das Ergebnis und mit leichter Modifikation der Technik wurden bessere Werte in der Endolymphe erzielt. Ionenspezifische Mikroelektroden maßen in der Scala media des Meerschweinchens Natriumwerte zwischen 1,4 und 2,5 mmol/l und Kaliumwerte zwischen 133 und 160 mmol/l (Johnstone et al., 1963). Mittels Entnahme minimaler Flüssigkeitsproben (kleiner gleich 0,1 µl) erreichte man bei der Ratte, basierend auf dem Mittelwert von 0,91 mmol/l für Natrium und 154 mmol/l für Kalium, Na/K- Quotienten von 0,0059 (Bosher und Warren, 1968) und 0,0088 bei der Katze, entsprechend dem Mittelwert von 1,65 mmol/l für Natrium und 188 mmol/l für Kalium (Peterson et al., 1978).

Trotz dieser relativ dicht beieinander liegenden Werte und der Tatsache, dass 0,1 µl für eine Analyse verschiedener Parameter nicht ausreichend ist, bleibt die

Entnahme von Innenohrflüssigkeiten ein nicht einfaches Unterfangen, was die Kontamination mit Blut, benachbarter Lymphe und zellulären Bestandteilen anbelangt. Die zum Teil zu anderer Literatur kontrovers stehenden Werte von Meerschweinchenendolymph im 95%-Vertrauensbereich von 52–112 mmol/l für Natrium und 106–154 mmol/l für Kalium zeigen ungeachtet dessen die große Bandbreite an gewonnenen Proben auf (Rodgers und Chou, 1966).

Als Reinheitskriterium für entnommene Proben wird das Verhältnis von Natrium- zu Kaliumkonzentration empfohlen (Johnstone und Sellick, 1972). Die Analyse des Gesamtproteingehalts erweist sich als zusätzliches Merkmal (Makimoto et al., 1978). Die Druckentlastung durch vorherige Liquorentnahme ist notwendig, um Verunreinigungen durch nachfließenden Liquor über den Aquaeductus cochlea zu eliminieren (Scheibe et al., 1975).

Wider den Erkenntnissen bleibt die Fragestellung um die Innenohrflüssigkeitsgewinnung ein ständiger Begleiter des Untersuchers. Der hohe Anteil nicht verwertbarer Proben gibt Anlass, sichere Entnahmetechniken zu entwickeln (Giebel, 1981). Die an die Entnahme gestellte Forderung ist die saubere Extraktion winziger Mengen, ca. 3 µl Perilymphe und 1 µl Endolymph, aus aneinander angrenzenden Kompartimenten, die durch dünne von Blutgefäßen durchzogene Membranen getrennt sind.

Selbst die zur Vermeidung von Verunreinigungen entwickelte Gefrierpräparation von Innenohrflüssigkeiten nach Rauch (1964) ist nicht frei von Artefakten. Folglich stellt sie keinen ausnahmslosen Ersatz zur in-vivo-Entnahme dar. Die Physiologie wird am genauesten durch eine Gewinnung am lebenden Tier wiedergegeben. Bei postmortal gewonnenen Proben lässt sich ein Elektrolytausgleich (Silverstein, 1966) sowie ein Abfall der Glucosekonzentration (Silverstein und Griffin, 1970, Mittmeyer und Giebel, 1990) nachweisen.

Auf dem Gebiet der Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde wird die Stereotaktik in der Mikrochirurgie mit Erfolg eingesetzt (Lehner et al., 1998). Auch auf experimenteller Ebene, speziell in der Hirnforschung, kommt dieses Verfahren zur Anwendung (Percheron et al., 1986). Durch die steigende Zuverlässigkeit der

Messungen verringert sich mit jeder Verbesserung der Entnahmetechnik auch die Anzahl der benötigten Versuchstiere. Zudem erwähnenswert bei diesem Verfahren sind die bisher als Fixationsstellen fungierenden Ohren.

1.2 Motivation zur Arbeit

Im Biochemischen Labor Dr. Giebel der Universitätsklinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde Tübingen erfolgten bisweilen die Entnahmen am Tier, insbesondere am Meerschweinchen, frei Hand (Giebel, 1981, Holzner, 1982, Reutter, 1992). Aufgrund zwischenzeitlich erbrachter Ergebnisse über das Vorhandensein von elektronenoptisch nachgewiesenen Gefäßen, die hinter dem runden Fenster frei durch die Scala tympani ziehen (Galic und Giebel, 1987), wurde der Zugangsweg lediglich modifiziert. Die Entnahme der Innenohrflüssigkeiten fand nicht länger an dem jeweiligen Fenster statt (Holzner, 1982), sondern durch eigens gesetzte Bohrlöcher in der Cochlea in angemessenem Abstand von 1–2 mm zu den Fenstermembranen (Reutter, 1992).

Das in dieser Arbeit verwendete stereotaktische Gerät fand auch zuvor Anwendung, exemplarisch ist die Messung der Innenohrpotentiale und Durchführung der ferromagnetischen Thrombosierung am Meerschweinchen zu nennen (Strömer, 1991), jedoch entsprang bis dato keine daraufhin durchdachte Aufgabenstellung.

Die vorliegende Untersuchung hatte sich zum Ziel gesetzt, Innenohrflüssigkeiten stereotaktisch aus der Cochlea des Meerschweinchens und des Goldhamsters zu gewinnen. Als eine Abwandlung der Entnahmetechnik mit freier Hand stand sie diesem Vorhaben gegenüber.

Die Erwartung an die Etablierung dieser Methode war:

**Eine umfassende Anleitung zur stereotaktischen Innenohrflüssigkeits-
entnahme mit dem Ziel der Vereinfachung**

Folgende Gesichtspunkte wurden im Einzelnen subsummiert:

1. Erklärung zur Handhabung des stereotaktischen Gerätes
2. Zügiges Zurechtfinden mit der Methode
3. Verkürzung der Einarbeitungszeit
4. Durch Vorgabe von Einstellungen kein Beginn a priori
5. Stabilität der Entnahmeweise
6. Standardisierung
7. Reproduzierbarkeit
8. Sicherung eines ansonsten verlorenen Anteils verwertbarer Proben
9. Durchführbarkeit der Innenohrflüssigkeitsentnahme an sehr kleinen Tieren wie dem Goldhamster

2 Material und Methoden

2.1 Untersuchungsmaterial

2.1.1 Versuchstiere

Die Etablierung der Methode wurde an ohrgesunden pigmentierten Meerschweinchen mit einem Gewicht von 300–650 g und Goldhamstern mit einem Gewicht von 100–200 g durchgeführt. Als Bezugsquelle diente die Charles River Deutschland GmbH in Sulzfeld.

2.1.2 Medikamente

Ketanest 50 (Ketamin), Parke-Davis, Berlin

Rompun 2% (Xylazin), Bayer, Leverkusen

T61 (Embutramid), Hoechst Veterinär, Unterschleißheim

2.1.3 Geräte und Kleinmaterialien

Operationsmikroskop OP MI UI, Carl Zeiss, Oberkochen

Stereotaktisches Gerät für die Arbeit mit Meerschweinchen, Heinz Albrecht Instrumente GmbH & Co., München

OP-Bohrer (für Innenohrchirurgie), K. Storz, Tuttlingen

Elektrische Hundehaarschneidemaschine, Moser, West Germany

Laserpointer „Twist“, Conrad Electronic GmbH, Hirschau

Mikroliterspitzen, 1 µl, Hamilton Micromesure, The Hague, Niederlande

2.2 Methoden

2.2.1 Das stereotaktische Gerät

Das stereotaktische Gerät besteht aus einem Grundrahmen und zwei Mikromanipulatoren. Der in der Höhe verstellbare Grundrahmen ist über ein dreh- und schwenkbares Grundrahmengelenk an einer Vertikalsäule angeordnet. Die Rahmenschenkel haben einen Achsabstand von 17,8 cm, sind 30,4 cm lang, und sind von einem Nullpunkt, Zentrum der Ohrenstiftbefestigung, mit einer Graduierung von 100 mm versehen. Die Mikromanipulatoren werden mit einer Manipulorklemme auf den Grundrahmen gesteckt. Einzustellen ist der Mikro-

manipulator in drei Achsen, mit 40 mm Lauf in lateraler Richtung, 25 mm in anterior-posterior-Richtung und einem Hub von 38 mm. Für die vertikale Richtung gibt es zusätzlich eine Feineinstellung mit einem Hub von 7 mm. Im unteren Teil ist er zu drehen und zu kippen, nochmals acht Mal 45° drehbar ist der Manipulatorkopf im oberen Teil.

Statt der Ohrenstifte wird als Kopfbefestigung ein an den Orbitaländern greifender Halter benutzt, um ein ungehindertes Arbeiten an den Ohren zu gewährleisten. Dieser Kopfhalter wird an einer mittig stehenden Stange befestigt, so dass der Kopf zwischen den Schenkelrahmen, oberhalb bzw. unterhalb dieser Ebene, zu liegen kommt. Extra zu den Schwenk- und Drehbewegungen durch das Grundrahmengelenk kann man den Kopfhalter drehen und schwenken.

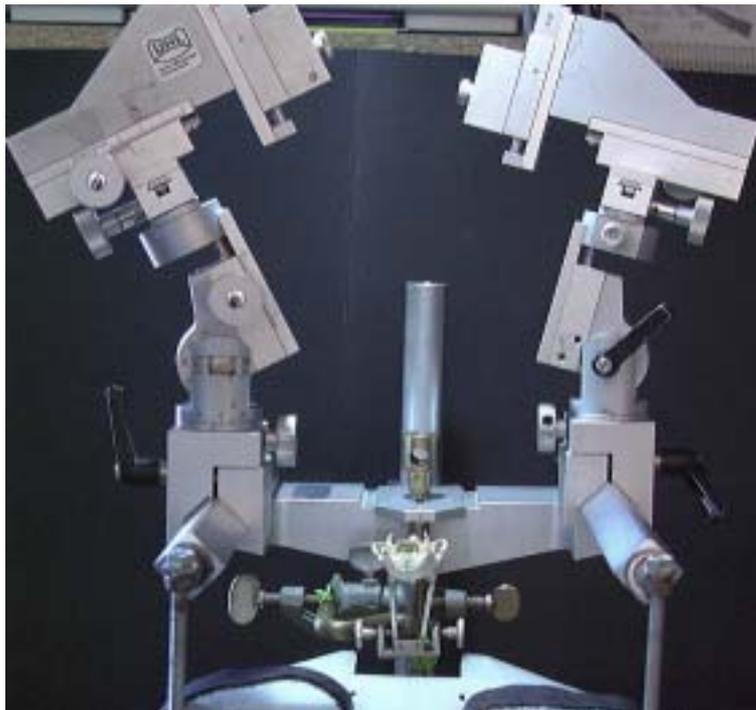


Abbildung 1: Das stereotaktische Gerät

2.2.2 Narkose und Tötung der Tiere

Beim Meerschweinchen bestand die intramuskulär applizierte Narkose aus einer Mischspritze, aufgezogen mit 15 mg Ketanest pro kg Körpergewicht und 6 mg Rompun pro kg Körpergewicht. Die bezogenen Präparate wiesen eine Wirkstoffkonzentrierung von 50 mg/ml bei Ketanest und 20 mg/ml bei Rompun auf, so dass zur Erlangung der Bedarfsmedikation in mg/kg Körpergewicht ein Volumenverhältnis von 1:1 vorlag.

Die Narkose des Goldhamsters setzte sich zusammen aus 150 mg Ketanest pro kg Körpergewicht und 10 mg Rompun pro kg Körpergewicht, die als Mixtur subkutan verabreicht wurde. Das Volumenverhältnis Ketanest zu Rompun betrug hierbei 6:1.

Die Tötung erfolgte in der Narkose durch intrapulmonale Injektion von T61.

2.2.3 Operationsschritte bis zur eigentlichen stereotaktischen Entnahme der Innenohrflüssigkeiten

2.2.3.1 Anlegen des Kopfhalters

Eine Hundehaarschneidemaschine eignete sich zur großzügigen Haarentfernung im Bereich beider Unterkiefer und zwischen den Augen. Zur stabilen Fixierung des Kopfhalters am Orbitaknochen wurde ein Hautzuschnitt längs zum Scheitel gelegt und die Schädeldecke bis zu beiden Orbitaländern präpariert.

2.2.3.2 Operationsweg zur Bulla

Sofern die Unterscheidung zwischen Meerschweinchen und Goldhamster nicht ausdrücklich getroffen wird, gelten die gemachten Aussagen für beide Kleintiere.

Bereits zur Präparation der Bulla wurden die Tiere auf dem Rücken liegend im stereotaktischen Gerät fixiert. Dies erlaubte eine gute Handhabung der Tiere, was sich besonders bei den deutlich kleineren Goldhamstern als nützlich erwies.

Medial des Unterkieferwinkels konnte man in der Tiefe die Bulla tasten. Darüber erfolgte ein parallel zur Mandibula gelegter Hautschnitt. Nach Präparieren des Wundgebietes, was auch das Koagulieren von Gefäßen mit einschloss, stellten sich der Musculus sternocleidomastoideus, der Musculus styloglossus, Processus styloideus und unterhalb des Musculus styloglossus liegend, die gesuchte Bulla dar. Ein zwischen Unterkiefer und paravertebraler Muskulatur angesetzter Wundspreizer hielt das Operationsfeld offen. Nachfolgend wurde neben dem Absetzen des Musculus styloglossus der Processus styloideus entfernt und die Bulla von der sie bedeckenden Faszie freipräpariert.

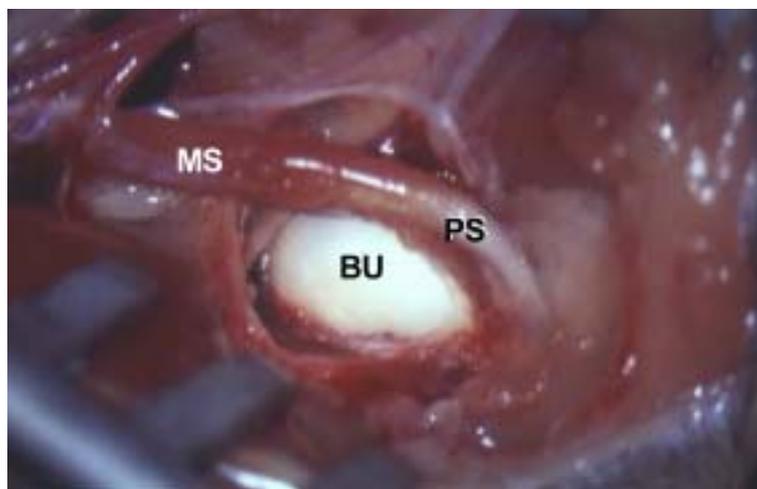


Abbildung 2: Freilegung der Cochlea beim Meerschweinchen
BU- Bulla, MS- Musculus styloideus, PS- Processus styloideus

Die Bulla wurde mit einer Skalpellspitze durchbohrt und mit einer kleinen Zange weiträumig aufgebrochen. Der Anulus tympanicus osseus, den man beim Goldhamster durch die dünnwandige Bulla unlängst erahnen konnte, blieb dabei unversehrt. Die Cochlea war mit ihren vier Windungen nunmehr einsehbar. Im Gegensatz zur ausgeprägten Meerschweinchencochlea zeigte sich die Hörschnecke des Goldhamsters als leichte Erhabenheit. Zusätzlich verlief die Arteria stapedidis in einem Knochenkanal schräg über den unteren Teil der basalen Windung zum Steigbügel. Im Bereich der basalen Windung wurden zur Vermeidung von Kontamination der Perilymphe kleinste Gefäße und die Schleimhaut mit einem spitz zugeschnittenen Tupfer abgestrichen.

3 Ergebnisse

3.1 Befestigung der Instrumente am stereotaktischen Gerät



Abbildung 3:
Befestigung des Laserpointers

3.1.1 Laserpointer

Ein Messingzylinder von 2,8 cm Länge und 1,5 cm Durchmesser bewerkstelligte als Verbindungsstück die Anbringung des Pointers am Mikromanipulator. Zudem wurden senkrecht zur Zylinderhöhe parallel zwei Löcher im jeweiligem Durchmesser des Pointers und der zur Führungsschiene passenden Stange von 28 cm Länge gefräst. Zwei Schrauben, deren Schraubwindungen in Zylinderboden bzw. -decke vorgebohrt wurden, fixierten zusätzlich Pointer und Metallstange. Der Pointer wurde bis kurz vor seinen Druckknopf in das Verbindungsstück vorgeschoben. Die Stange

ragte mit ihrem kurzen Ende um 5 mm auf derselben Zylinderseite heraus, aus der der Laserkopf austrat.

Anschalten ließ sich der Laserpointer durch sein weiteres Vorschieben in die Messinghalterung. Das bewirkte die gewünschte Senkung des Druckknopfes über Kontaktierung mit dem Messinggehäuse.

3.1.2 Bohrer

Das Anschließen des Bohrers am Mikromanipulator beinhaltete eine 21 cm lange Metallstange mit aufgeschweißtem Messingquader (15 mm x 15 mm x 24 mm), in den senkrecht zur Stange ein Loch ausgebohrt wurde, und einem im Durchmesser 23 mm großen Messingring mit angelöteter Stange. Der Messingring wurde über den Bohrer bis auf Höhe des Winkelstücks geschoben und mit einer Schraube am Ring festgezogen. Dabei stand die Ebene, die sich zwischen Bohrkopf und Bohrgehäuse ausspannte, senkrecht zum angeschweißtem Stab. Der Bohrkopf zeigte nach unten. Nach Fixierung der Ringstange in der Messingöffnung durch Anziehen einer Schraube konnte die Metallstange am Mikromanipulator verankert werden. Die Position des Bohrers zur Metallstange wurde bei der Einstellung des Bohrers mit einbezogen.



Abbildung 4: Fixierung des Bohrers

3.1.3 Rasierklingsplitter

Die Metallstange, auf deren vorderem Ende der von Hand zugeschliffene Rasierklingsplitter festgesteckt worden war, reichte in ihrer Länge nicht aus. Die Extension bestand aus einer weiteren Stange und einem im Mikromanipulatorset vorhandenen Verbindungsstück, das den Lanzettenhalter auf insgesamt 28,5 cm mit einer parallelen Verschiebung von 1,5 cm verlängerte. Diese Stufe wurde bei der Angabe zur Einstellung des Rasierklingsplitters mit berücksichtigt.

Für die Herstellung des Splitters wurde ein winziges Stück, ca. 10 mm x 3 mm, aus einer handelsüblichen Rasierklinge an ihrer scharf geschliffenen Seite herausgebrochen und von Hand mit Hilfe des Diamantbohrers die abgebrochene stumpfe Seite spitz zugeschliffen.



Abbildung 5: Rasierklingsplitter

3.1.4 Glaskapillare

Zur Fixierung der Glaskapillare diente eine gelbe Mikroliterspitze als Halterung. Dazu wurde die Spitze einige Millimeter gekappt und eine weitere Öffnung im Plastikkegel mit einer spitz zulaufenden Skalpellklinge geschaffen. Durch beide Öffnungen ließ sich ein dünner Plastikschauch ziehen, der sowohl auf die Glaskapillare passte als auch eine Verbindung zum Entnahmeschlauchsystem fand. Diese präparierte Mikroliterspitze kam mehrmals zur Anwendung.

Nach Einführen der Glaskapillare in das an der Spitze endende Schlauchstück passte sich dieselbe durch Zug am Schlauch in der verbreiterten Öffnung samt Plastik ein. Die Befestigung an der Führungsschiene erfolgte durch eine 22,5 cm lange Eisenstange, auf welche die Mikroliterspitze festgesteckt wurde.



Abbildung 6: Einfassung der Glaskapillare

3.2 Einstellung des Operationsfeldes im stereotaktischen Gerät

Das Vorgehen war bei Meerschweinchen und Goldhamster dasselbe.

Für die Präparation der rechten Cochlea kam der rechts des Grundrahmengelenks angebrachte Mikromanipulator zur Anwendung. Links verhielt es sich analog.

Nach Einspannen des Tieres in Rückenlage im stereotaktischen Gerät wurde durch Schwenken und Drehen des Kopfhalters die bestmögliche Kopfposition gewählt, die es erlaubte, mit allen am Mikromanipulator befestigten Instrumenten an die jeweilige zu operierende Cochlea vorzudringen. Zur Festhaltung und Reproduzierbarkeit der Kopfposition am selben bzw. folgenden Tier gleicher Spezies diente der Laserpointer. Am Mikromanipulator befestigt, ließ er sich mit Richtung des Strahls auf die Cochlea einstellen. Mit einer Schieblehre konnte der Abstand zwischen den festgelegten Parametern Cochleaspitze beim Meerschweinchen und Mitte des Trommelfellrands beim Goldhamster und dem vorderen Messinghalterrand des Pointers abgelesen werden.

Die exakten Angaben zur Positionierung des Laserpointers sind unter 3.4 angegeben.

3.3 Silikonfolie und deren Fixierung

Silikonfolie zeigte im Gegensatz zu vielen anderen Kunststoffmaterialien die Eigenschaft, nach Perforation mit einer fein ausgezogenen Glaskapillare gegenüber Flüssigkeitsaustritt dicht zu bleiben und auch einem geringen Druck standzuhalten.

Getestet wurde die Silikonfolie dadurch, dass sie mit Acrylkleber auf die Öffnung einer mit Wasser gefüllten Spritze geklebt wurde, eine Glaskapillare diese durchbohrte und steckenblieb. Aufgrund der Kapillarwirkung stieg das Wasser in die Glaskapillare auf. Durch leichtes Runterdrücken des Spritzenstempels

stieg das Wasser weiter in der Kapillarsäule an, trat aber nicht neben der Kapillare aus.

Zur Abdeckung der gebohrten Exkavation wurde die Silikonfolie durch den sich noch im Mikromanipulator befindlichen Bohrer fest in die Aushöhlung gedrückt. Die endgültige Fixierung der Folie am Cochleaknochen erfolgte durch flüssigen Acrylkleber, der mit Hilfe des Schlauchsystems durch Ausblasen über eine Kapillare unter den Rand der Folie gebracht wurde.

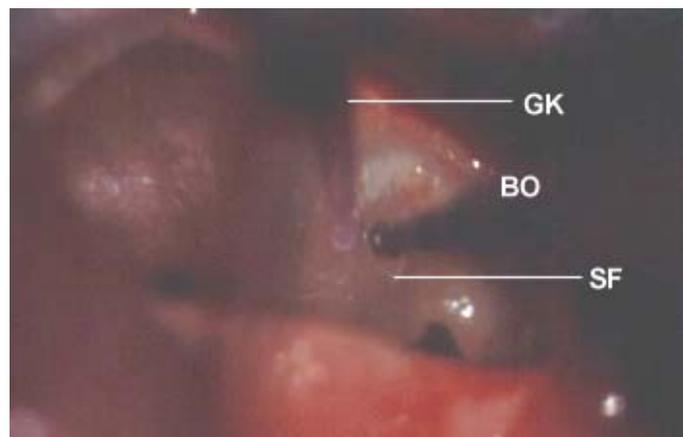


Abbildung 7: Fixierung der Silikonfolie mit Acrylkleber am Meerschweinchen
BO- Bohrer, GK- Glaskapillare, SF- Silikonfolie

3.4 Einstellungen der Instrumente am stereotaktischen Gerät

Die folgenden Angaben bezogen sich auf die Grobeinstellung des Mikromanipulators. Diese Voreinstellungen ermöglichten es, die Punktionsstellen für die Scala vestibuli und Scala tympani über die Millimeterschraube in der X-, Y-, Z-Achse gezielt anzugehen. Es werden jeweils drei Werte angezeigt. Der erste (a) gibt an, an welcher Graduierungsmarke der Mikromanipulator am Schenkelrahmen befestigt wird. Der zweite (b) bezieht sich auf die Drehbewegung und der dritte (c) auf die Schwenkrichtung.

Für die erstmalige Erhebung der Instrumenteneinstellungen und die Position des Laserpointers wurde eine Neutralstellung des Mikromanipulators gewählt. Die Definition lautete: In der vertikalen Richtung wurde der Mikromanipulator bis zum kranialen Anschlag eingestellt. In lateraler Richtung schloss der dazuge-

hörige obere Anteil der Führungsschiene mit dem unteren Anteil seitlich genau ab. In anterior-posterior-Richtung kamen die hinteren kurzen Seiten der Führungsschiene übereinander zum Liegen.

Hinweis: + bedeutet rechts, – links der Nullmarkierung.

3.4.1 Meerschweinchen – rechte Seite

	(a)	(b)	(c)	Zusatzangaben
Einstellung des Pointers	+50 mm	-42°	+7°	Der Mikromanipulator wurde in Neutralstellung gebracht. Der Pointer wurde links parallel zur Stange eingestellt. Die Stange schaute 13 cm hinter ihrer Halterung hervor. Die Entfernung zwischen Cochleaspitze und vorderer Seite der Pointerhalterung betrug 12,1 cm.
Einstellung des Handbohrers bei einer Schaftlänge von 70 mm	+50 mm	-51°	+18°	Das Bohrgehäuse befand sich links vom Mikromanipulator auf Höhe der Befestigungsstange. Die Stange stand 3 cm hinter der Halterung heraus.
Einstellung des Rasierklingsplitters	+50 mm	-29°	+7°	Die Punktionsklinge wurde rechts parallel zu ihrer Verlängerungsstange auf gleicher Höhe eingestellt. Die Stange ragte 5 cm aus der Mikromanipulatorhalterung hervor.
Einstellung der Glaskapillaren zum Vordringen in beide Scalae	+50 mm	-38°	+6°	Abhängig von der Kapillarlänge überragte die 22,5 cm lange Stange die Führungsschiene am Ende um 10–12 cm. Diese Abschätzung erfolgte nach Augenmaß.

3.4.2 Meerschweinchen – linke Seite

	(a)	(b)	(c)	Zusatzangaben
Einstellung des Pointers	+70 mm	-53°	+13°	Der Mikromanipulator wurde in Neutralstellung gebracht. Der Pointer wurde links parallel zur Stange eingestellt. Die Stange schaute 13 cm hinter ihrer Halterung hervor. Die Entfernung zwischen Cochleaspitze und vorderer Seite der Pointerhalterung betrug 12,3 cm.
Einstellung des Bohrers mit 70 mm Schaftlänge	+70 mm	-53°	+34°	Das Bohrgehäuse befand sich links vom Mikromanipulator auf Höhe der Befestigungsstange. Die Stange stand 3 cm hinter der Halterung heraus.
Einstellung des Rasierklingsplitters	+70 mm	-54°	+13°	Die Punktionsklinge wurde links parallel zu ihrer Verlängerungsstange auf gleicher Höhe eingestellt. Die Stange ragte 5 cm aus der Mikromanipulatorhalterung hervor.
Einstellung der Glaskapillaren	+70 mm	-48°	+17°	Abhängig von der Kapillarlänge überragte die 22,5 cm lange Stange die Führungsschiene am Ende um 10–12 cm. Diese Abschätzung erfolgte nach Augenmaß.

3.4.3 Goldhamster – rechte Seite

	(a)	(b)	(c)	Zusatzangaben
Positionierung des Pointers	+35 mm	-48°	+8°	Der Mikromanipulator wurde in Neutralstellung gebracht. Der Pointer wurde links parallel zur Stange eingestellt. Die Stange schaute 13 cm hinter ihrer Halterung hervor. Die Entfernung zwischen Cochleaspitze und vorderer Seite der Pointerhalterung betrug 13,5 cm.
Positionierung des Bohrers mit 70 mm Schaftlänge	+35 mm	-58°	+17°	Das Bohrgehäuse befand sich links vom Mikromanipulator auf Höhe der Befestigungsstange. Die Stange stand 3 cm hinter der Halterung heraus.
Positionierung des Rasierklingsplitters	+35 mm	-39°	+9°	Die Punktionsklinge wurde rechts parallel zu ihrer Verlängerungsstange auf gleicher Höhe eingestellt. Die Stange ragte 4,5 cm aus der Mikromanipulatorhalterung hervor.
Positionierung der Glaskapillaren zur Punktierung der Scala vestibuli und tympani	+35 mm	-47°	+10°	Abhängig von der Kapillarlänge überragte die 22,5 cm lange Stange die Führungsschiene am Ende um 10–12 cm. Diese Abschätzung erfolgte nach Augenmaß.

3.4.4 Goldhamster – linke Seite

	(a)	(b)	(c)	Zusatzangaben
Positionierung des Pointers	+60 mm	-55°	+7°	Der Mikromanipulator wurde in Neutralstellung gebracht. Der Pointer wurde links parallel zur Stange eingestellt. Die Stange schaute 13 cm hinter ihrer Halterung hervor. Die Entfernung zwischen Cochleaspitze und vorderer Seite der Pointerhalterung betrug 12,3 cm.
Positionierung des Handbohrers mit 70 mm Schaftlänge	+60 mm	-61°	+20°	Das Bohrgehäuse befand sich links vom Mikromanipulator auf Höhe der Befestigungsstange. Die Stange stand 3 cm hinter der Halterung heraus.
Positionierung des Rasierklingsplitters	+60 mm	-58°	+7°	Die Punktionsklinge wurde links parallel zu ihrer Verlängerungsstange auf gleicher Höhe eingestellt. Die Stange ragte 4,5 cm aus der Mikromanipulatorhalterung hervor.
Positionierung der Glaskapillaren	+60 mm	-46°	+8°	Abhängig von der Kapillarlänge überragte die 22,5 cm lange Stange die Führungsschiene am Ende um 10–12 cm. Diese Abschätzung erfolgte nach Augenmaß.

3.5 Stereotaktische Perilymphentnahme in der Durchführung

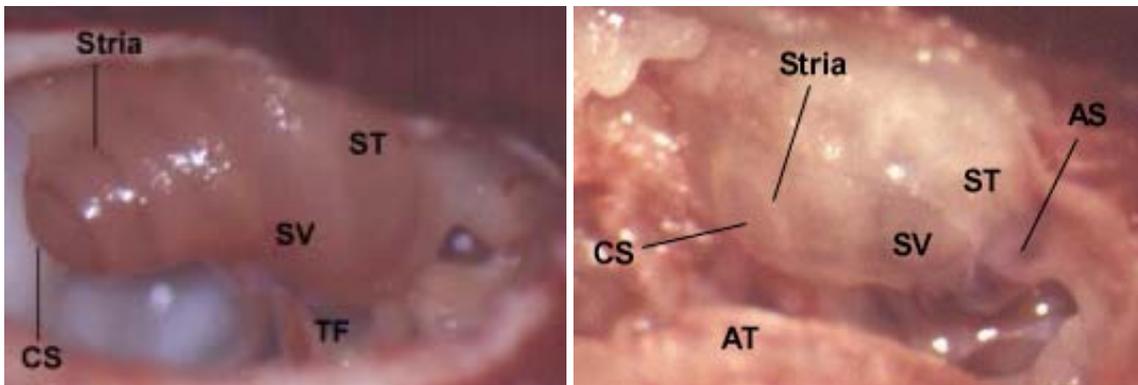


Abbildung 8: Aufsicht auf die Cochlea des Meerschweinchens (links) und des Goldhamsters
AT- Anulus tympanicus, AS- Arteria stapedidis, CS- Cochleaspitze, Stria- Stria vascularis, ST- Scala tympani, SV- Scala vestibuli, TF- Trommelfell

Mit Darstellung der Cochlea begann die eigentliche stereotaktische Entnahme. Dazu wurde der Pointer nach den obigen Angaben eingestellt und angeschaltet. Der Tierkopf wurde so positioniert, dass sich der Laserstrahl auf die Cochlea richtete. Mit Hilfe einer Schieblehre wurde der einzuhaltende Abstand zur Messinghalterung geprüft und entsprechend angepasst.

Unter dem Operationsmikroskop bei zehn- bis vierzigfacher Vergrößerung erfolgten die Entnahmeschritte zur Perilymphgewinnung. Diese wurde im Folgenden exemplarisch beim Meerschweinchen zuerst an der Scala tympani und beim Goldhamster anfänglich an der Scala vestibuli durchgeführt. Die Reihenfolge des Entnahmeablaufs ist aus technischer Sicht nicht von Bedeutung.

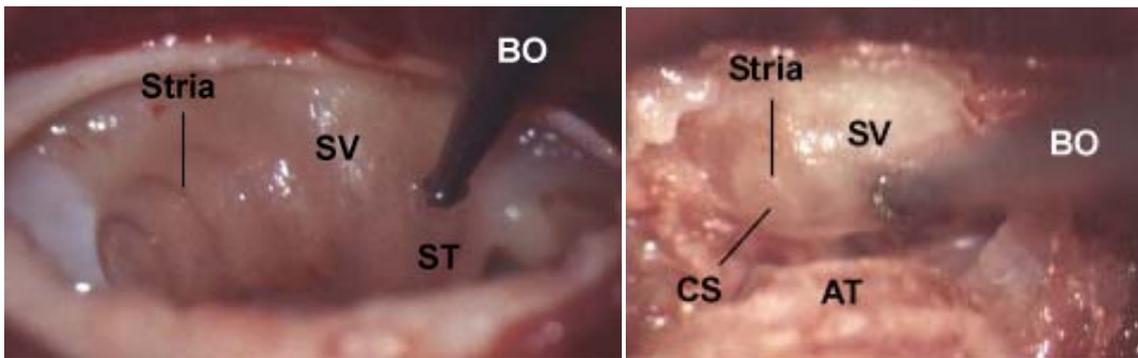


Abbildung 9: Anlegen des Bohrers an die Scala tympani des Meerschweinchens (links) bzw. die Scala vestibuli des Goldhamsters
 AT- Anulus tympanicus, BO- Bohrer, CS- Cochleaspitze, Stria- Stria vascularis, ST- Scala tympani, SV- Scala vestibuli

Nach den in 3.4 genannten Angaben wurde der Bohrer justiert und über die drei Achsen der Feineinstellung auf die jeweilige Scala gerichtet. Zum Anbohren diente lediglich eine Achse als Vorstoßrichtung. Der Bohrer wurde wenige Millimeter zurückgezogen, angeschaltet und unter Sicht kontrolliert vor- und zurückgetrieben. Dadurch ließ sich im Bereich der Scala tympani bzw. Scala vestibuli eine Exkavation bis auf eine dünne Knochenlamelle bearbeiten.

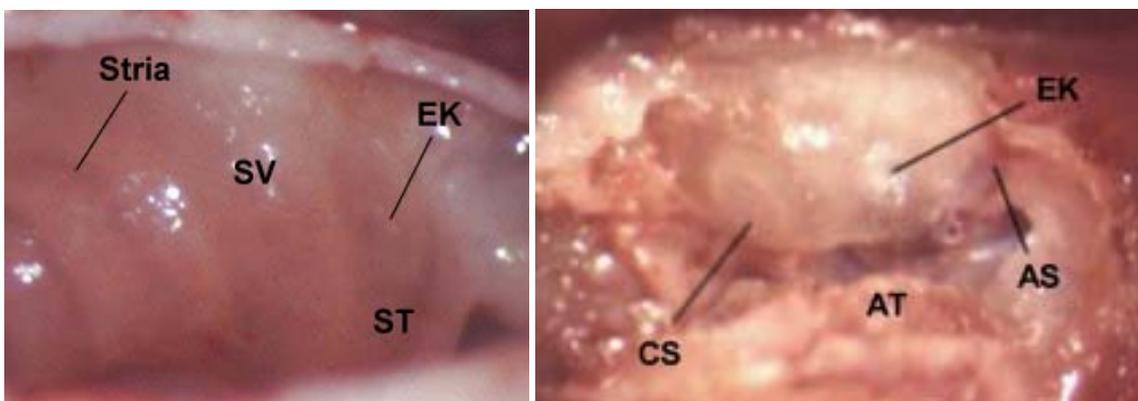


Abbildung 10: Ausdünnung der Cochlea bei Meerschweinchen (links) bzw. Goldhamster
 AT- Anulus tympanicus, AS- Arteria stapedidis, CS- Cochleaspitze, EK- Exkavation, Stria- Stria vascularis, ST- Scala tympani, SV- Scala vestibuli

Im Folgenden wurde ein 1 mm² kleines Stück Silikonfolie mit einer Pinzette auf die ausgebohrte Exkavation gelegt. Ein Abgleiten der Folie ließ sich vermeiden, indem der sich noch im Mikromanipulator befindliche Bohrer sie fest in die Aus- höhlung drückte. Die endgültige Fixierung der Folie am Cochleaknochen

erfolgte durch flüssigen Histoacrylkleber. Mit Hilfe des Schlauchsystems wurde er durch Ausblasen über eine Glaskapillare unter den Rand der Folie gebracht. Nach Aushärten des Klebers konnte der Bohrer zurückgenommen werden.

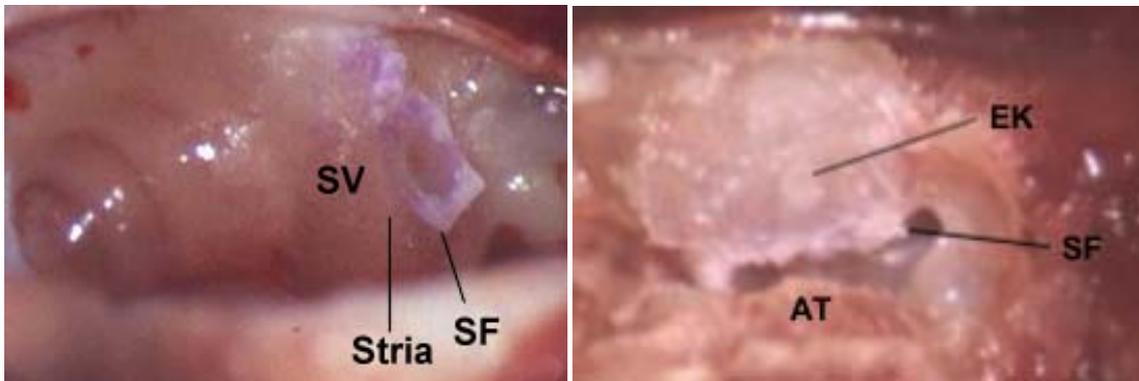


Abbildung 11: Folienfixierung mit Acrylkleber bei Meerschweinchen (links) und Goldhamster
 AT- Anulus tympanicus, EK- Exkavation, SF- Silikonfolie, Stria- Stria vascularis, SV- Scala vestibuli

Im nächsten Schritt wurde der Rasierklingensplitter eingespannt. Seine Aufgabe bestand darin, mit seiner von Hand zugeschliffenen Spitze die Silikonfolie und die stehen gebliebene Knochenlamelle zu perforieren. Somit bestand mühelos Zugang zum Perilymphraum, der durch das dichte Aneinanderlegen der Silikon-schnittflächen aber nach außen hin verschlossen blieb.

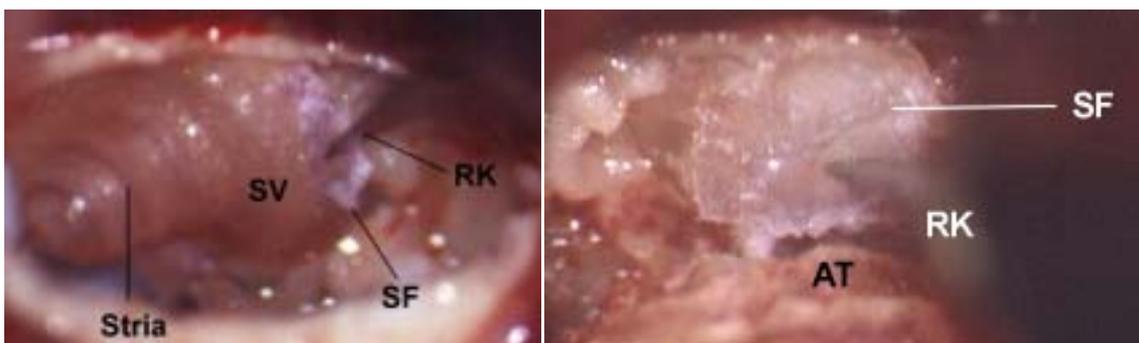


Abbildung 12: Perforation der Knochenlamelle samt Folie bei Meerschweinchen (links) und Goldhamster
 AT- Anulus tympanicus, RK- Rasierklingensplitter, SF- Silikonfolie, Stria- Stria vascularis, SV- Scala vestibuli

Zur Perilymphentnahme kamen fein über dem Bunsenbrenner ausgezogene Glaskapillaren zur Anwendung. Diese wurden samt des Entnahmeschlauch-

systems mit der unter 3.1.4 beschriebenen Technik an der Führungsschiene verankert und positioniert. Nach Perforation der Silikonfolie stieg die Perilymphe durch die Kapillarsogwirkung leicht in der Glaskapillare auf. Die Menge an gewonnener Perilymphe konnte durch vorsichtiges Ansaugen am Mundende vergrößert werden.

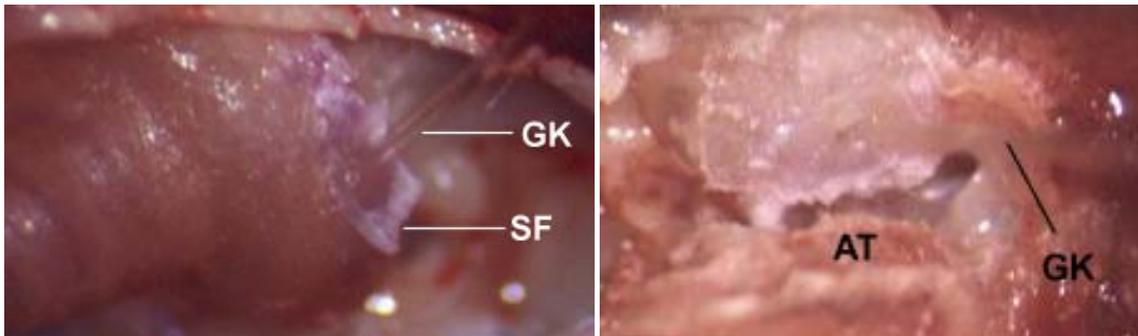


Abbildung 13: Gewinnung der Perilymphe mit Glaskapillare bei Meerschweinchen (links) und Goldhamster
 AT- Anulus tympanicus, GK- Glaskapillare, SF- Silikonfolie

Nach derselben Vorgehensweise folgte die Perilymphentnahme aus der gegenüberliegenden Scala.

Als Besonderheit beim Goldhamster läuft die Arteria stapedidis schräg über die basale Cochleawindung. Diese Arterie diente zur Orientierungshilfe als Leit-schiene, zu der parallel darüber die Löcher gesetzt wurden.

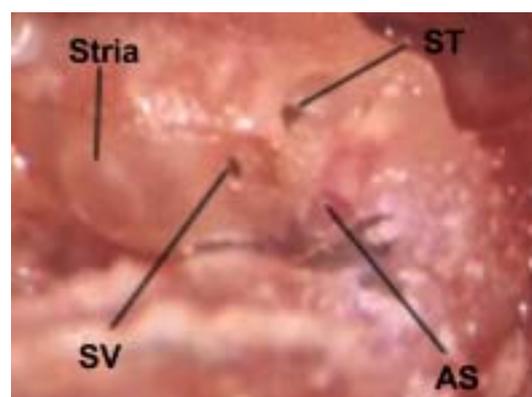


Abbildung 14: Lochbohrungen parallel zur Arteria stapedidis beim Goldhamster
 AS- Arteria stapedidis, Stria- Stria vascularis, ST- Scala tympani, SV- Scala vestibuli

4 Diskussion

4.1 Diskussion der Bedeutung der eigenen Ergebnisse

4.1.1 Überlegungen zur Einstellung der Cochlea und der Instrumente

Stereotaktische Einstellungen in Vorversuchen am Meerschweinchen missglückten, da sich die Ergebnisse der an einem Tier exemplarisch positionierten Instrumente nicht auf das nächste übertragen ließen. Aufgrund unterschiedlicher Kopfgrößen stellte sich die Cochlea trotz gleicher Kopfposition nicht in der gewünschten Lage dar, so dass die Reichweite der Instrumente über die Feinmodulation des Mikromanipulators nicht ausreichte.

Beim Goldhamster wäre es durchaus denkbar gewesen, die Abweichungen angesichts des kleineren Kopfes über die Feineinstellung kompensieren zu können. Jedoch war Ziel der Arbeit, sowohl für den Goldhamster als auch für das Meerschweinchen ein Verfahren zu etablieren, das anwendbar ist.

Daraufhin gemachte Überlegungen, die Köpfe zu vermessen, um das Tier entsprechend seiner Kopfmaße einzustellen, wurden wegen der aufwendigen Durchführung verlassen. Außerdem bestand bei der Befestigung des Kopfhalters am stereotaktischen Gerät keine Skalierung, so dass Angaben zur reproduktiven Einstellung ohne zusätzliche Kontrolle Fehlerquellen enthielten.

Abgeleitet aus der Radiologie, bei der ein Lichtfeld das zu röntgende Areal anzeigt, lag der Gedanke nahe, ebenfalls ein Hilfsmittel zu verwenden, das, ungeachtet der Kopfgröße oder anderer Parameter, die Lage der Cochlea vorgab, die von allen eingesetzten Instrumenten erreicht werden konnte.

Der Laserpointer erwies sich als das gesuchte Utensil. Dabei erfolgte beispielhaft an einem Meerschweinchen sowie einem Goldhamster zunächst die Festlegung der geeigneten Kopfposition, auf die der Laserpointer sich einstellen ließ. Neben der Richtung durch den Laserstrahl wurde die Höhe der Schnittstelle Cochlea/Laser durch einen einzuhaltenden Abstand festgelegt. Der Kopf nachfolgender Tiere brauchte nur noch in die entsprechende Position gebracht werden.

Diese Methode hatte auch den Vorteil, vom Tierkopfhalter unabhängig zu sein. Im Hinblick auf weiterführende Arbeiten auf dem Gebiet der experimentellen Pädaudiologie war es im Nachhinein möglich, einen zierlichen Kopfhalter anzufertigen, ohne dass dadurch die erhobenen Werte überarbeitet werden mussten. Gegenstand der Untersuchungen sind Goldhamster unterschiedlichen Alters. Deren Innenohr als eines der primitivsten Ohranlagen braucht zum Ausreifen 16 Tage post partum, das circa dem zweiten Monat des menschlichen Embryos entspricht. Nach Aussetzung der Neugeborenen einer Noxe, zum Beispiel einer Hypoxie, können ihre Innenohrflüssigkeiten, neben der Histologie und Elektrophysiologie, biochemisch auf Veränderung analysiert werden.

Bei den Angaben zur Instrumentenpositionierung handelte es sich um eine Voreinstellung. Von dort erfolgten die vom Operateur selbst durchgeführten zielgerechten Bewegungen durch Bedienung des Mikromanipulators. Man hätte nicht im Sinne des Operateurs gehandelt, wenn sich die Angaben bis auf die letzte Einstellung bezogen hätten. Für die Erhebung dieser Einstellungsmaße war es wichtig, dass sich der Mikromanipulator in Neutralstellung befand. Ansonsten hätte man sich im Nachhinein die Feinmodulation in den drei Freiheitsgraden nicht durchgängig zunutze machen können.

4.1.2 Betrachtungen zur Perilymphentnahme

Die auf den ersten Blick scheinbar aufwendige Entnahmetechnik entstand aus den folgenden Überlegungen zu einer Perilymphentnahme nach Lochbohrung:

1. Bereits das Eröffnen der Cochlea führt zu einem Druckabfall im empfindlichen Perilymphsystem. Die Konsequenz ist ein Nachfließen des Liquors über den Ductus cochleae in den Perilymphraum mit der unweigerlichen Folge der Kontamination (Scheibe et al., 1975).
2. Ferner resultiert bei den winzigen Mengen ein nicht unbedeutamer Perilymphverlust, der sich zusammensetzen kann aus:
 - a) den Bohrerkopf benetzende Perilymphe
 - b) dem Abfließen der Perilymphe über die Cochleaoberfläche

- c) ungewolltem Aufsaugen von Perilymphe durch Reinigung des Operationsfeldes mit Tupfern zur Entfernung von bei der Bohrung entstandenem Knochenmehl
 - d) dem Verdunsten der Perilymphe, zusätzlich verstärkt durch die Wärmeentwicklung unter dem Operationsmikroskop.
3. Die Perilymphe ist nicht geschützt vor Kontamination. Allein das Lösen von kleinsten Substanzen in der Perilymphe aus dem umliegenden Operationsfeld kann zu Verfälschungen ihrer biochemischen Zusammensetzung führen. Davon abgesehen zieht ein Bluten in das Operationsgebiet unweigerlich das Verwerfen der Probe nach sich.

Unter Berücksichtigung dieser Gesichtspunkte wurde die Entnahmetechnik möglichst schonend gestaltet. Im Einzelnen beinhaltet das ein Vorgehen in Teilschritten im Gegensatz zu der Direktgewinnung der Perilymphe über ein gebohrtes Loch.

Mit dem Bohrer erfolgte die gezielte Ausdünnung des Cochleaknochens über der betreffenden Scala. Dies gewährleistete den Einsatz der weiteren, bis zu einem gewissen Grade widerstandsfähigen Instrumente. Unter der Vorstellung, den Perilymphraum nach außen hin abzudichten, wurde die Exkavation mit Silikonfolie abgeklebt. Im nächsten Schritt perforierte der Rasierklingsplitter die Folie samt stehen gebliebener Knochenlamelle. Durch das regelrechte Aneinanderlegen der gegenüberliegenden Schnittflächen der Silikonfolie blieb das Perilymphsystem weiterhin verschlossen. Es bestand aber zugleich kein Hindernis, die Perilymphe mit einer Glaskapillare zu entnehmen.

Zusammenfassend formuliert, vermied das vorangehende Versiegeln des Perilymphraumes die angeführten Punkte 2, 3 und eingeschränkt auch Punkt 1. Zumindest wurde er solange umgangen, bis die Perilymphe mit der Glaskapillare entnommen wurde. Dabei kam es fraglos zum Druckverlust. Die Liquorentnahme vor der Perilymphgewinnung zur Druckentlastung bleibt somit immer noch Standard (Scheibe et al., 1975).

4.1.3 Darlegungen zur Stereotaktik

Diese Vorgehensweise der Perilymphgewinnung wurde wesentlich durch die Anwendung der Stereotaktik vereinfacht, weshalb an dieser Stelle gesondert darauf eingegangen werden soll.

Durch die feste Verankerung des Handbohrers im Mikromanipulator und die resultierende Möglichkeit, den Handbohrer über die drei Achsen der Feineinstellung sicher zu bewegen, konnte der Cochleaknochen an gewünschter Position exakt ausgedünnt werden. Der Bohrer ließ sich in einer Achsrichtung wiederholt vor- und zurücktreiben. Das hatte den Zweck, die Tiefe der Aushöhlung unter dem Operationsmikroskop zu kontrollieren, um nicht das Endost am Ende zu durchbrechen.

Der noch justierte Bohrer erleichterte auch die Anbringung der Silikonfolie. Anstatt die Folie mit einer Pinzette an die Exkavation zu halten, womit eine Hand blockiert gewesen wäre, fügte der Bohrer die Folie passgenau in die Einbuchtung ein, und beide Hände blieben weiterhin frei. So konnte eine Glaskapillare mühelos mit Histoacrykleber gefüllt und der Kleber unter den Rand der Folie gebracht werden. Das Benutzen des Bohrers als vorübergehenden Fixateur brachte zudem den Vorteil, lediglich den Folienrand mit Kleber zu versehen, wohingegen die Mitte frei blieb.

Zur Perforation der Folie und der Knochenlamelle erwies sich die Befestigung des Rasierklingensplitters am Mikromanipulator gleichsam als günstig. Dadurch waren die Richtungen des Rasierklingensplitters und der Glaskapillare aufeinander abgestimmt, und ein Abbrechen der Kapillarspitze aufgrund stark differierender Eintrittswinkel wurde vermieden. Aus dem Grund war der Mehraufwand, das Einspannen des Splitters in der Führungsschiene sowie das Positionieren, im Gegensatz zur Perforation frei Hand zu vernachlässigen.

Insbesondere beim letzten Schritt, der eigentlichen Perilymphentnahme, war die Stereotaktik ein Gewinn. Nach Befestigung der Glaskapillare über die zum Verbindungsstück abgewandelte Mikroliterspitze am Mikromanipulator konnte die

Perilymphe vorsichtig gewonnen werden, ohne dass durch eine unachtsame Handbewegung die Kapillare zerbrochen wäre.

Darüber hinaus hatte diese Entnahmetechnik einen weiteren Vorteil. Sie ließ sich in der Dauer reduzieren. Aus Gründen der Übersichtlichkeit erfolgten die Entnahmen aus der Scala vestibuli und tympani jeweils nacheinander. Da die Zwischenschritte aber in sich geschlossen waren, waren sie auch parallel durchführbar. Die wiederholte Einstellung der Instrumente zur Perilympheentnahme aus der Scala vestibuli bzw. tympani entfiel damit.

In der Durchführung bearbeitete der positionierte Bohrer die Exkavationen über der Scala vestibuli und tympani hintereinander weg, fixierte zunächst die Silikonfolie über der einen Aushöhlung bis zur Kleberaushärtung und dann die Folie über der anderen. Der Rasierklingsplitter perforierte beide Folien samt ausgedünntem Cochleaknochen. Zur Vermeidung einer Kontamination wurde der Splitter zwischen den Perforationen gereinigt. Die Entnahme der Innenohrflüssigkeiten erfolgte mit zwei Glaskapillaren, die nacheinander in die Halterung gesteckt wurden.

4.2 Diskussion der Fehlermöglichkeiten

Die Richtung des Laserstrahls und die Entfernung zwischen zwei gewählten Bezugspunkten an Cochlea und Pointerbefestigung definierten die Lage der Cochlea im stereotaktischen Gerät.

Bei genauer Betrachtung ließ diese Definition noch Spielraum für die Einstellung zu. Abweichungen bestanden bezüglich des Laserquerschnitts und des stellvertretenden Punktes der Cochlea, der Cochleaspitze. Der Laserquerschnitt war relativ zur Cochlea zu groß und leuchtete beim Goldhamster mehr als beim Meerschweinchen die Cochlea über die knöcherne Begrenzung die Bulla aus. Dadurch existierte eine Anzahl an Möglichkeiten, die Cochlea nach Augenmaß mittig in den Laserstrahl zu positionieren.

Durch die Reduzierung der Cochlealebene auf einen Punkt zur vereinfachenden Abstandsüberprüfung konnten im Nachhinein bei unveränderter Länge verschiedene Schnittebenen eingenommen werden. Die Entfernung wurde auf 0,1 cm gerundet angegeben.

Insgesamt waren die Abweichungen aber tolerabel, da sie sich innerhalb der Rangierweite der Feineinstellung befanden und demnach zu kompensieren waren.

5 Zusammenfassung

Gegenstand der Dissertation war die Etablierung einer um die Stereotaktik erweiterten Extraktionstechnik, die stereotaktische Entnahme von Innenohrflüssigkeiten am Tier. Die Untersuchungen erfolgten an in der Narkose getöteten Meerschweinchen und Goldhamstern.

Vor allem anderen wurden zur Befestigung der benötigten Instrumente am stereotaktischen Gerät bzw. am Mikromanipulator geeignete Verbindungsstücke angefertigt.

Für die stereotaktische Entnahme war von maßgeblicher Bedeutung die dem Operationsfeld entsprechende Lage der Cochlea, die von allen Instrumenten per Mikromanipulation gut erreicht werden musste.

Zur Einstellung der Cochlea bewährte sich der Laserpointer. Dazu wurde bei einem Meerschweinchen und einem Goldhamster die Cochlea jeweils exemplarisch für die stereotaktische Entnahme eingestellt. Diese Lage ließ sich durch die Position des Laserpointers, dessen Strahl sich auf die Cochlea richtete, und den Abstand zwischen den Bezugspunkten an der Cochlea einerseits und an der Pointerhalterung andererseits festhalten.

Insgesamt bezogen sich die gemachten Angaben zur Einstellung der Instrumente am stereotaktischen Gerät auf die Voreinstellung. Von dieser Ausgangslage nahm der Operateur über die Feinmodulation am Mikromanipulator die letzte Instrumentenpositionierung vor.

Von der Stereotaktik gänzlich unabhängig, wurde die eigentliche Perilymphentnahme gesondert betrachtet und insofern überarbeitet, als nicht nur ein Loch in die Cochlea gebohrt und die Perilymphe entnommen wurde, sondern über dazwischen geschaltete Schritte eine denkbare Kontamination der Perilymphe vermieden wurde.

Im Einzelnen verlief die Extraktion wie folgt: Nach Präparation der Cochlea ließ sich mit dem positionierten Bohrer in der Cochleaoberfläche über der jeweiligen Scala eine Exkavation bis auf eine dünne Knochenlamelle bearbeiten. Diese Aushöhlung bekam eine Abdeckung aus Silikonfolie, die sich nach separater Prüfung auf Materialeigenschaft als geeignet erwiesen hatte, aufgesetzt. Ein von Hand zugeschliffener Rasierklingsplitter perforierte die Silikonfolie und die stehen gebliebene Knochenlamelle. In der Folge konnte die Perilymphe mit einer am Entnahmeschlauchsystem angeschlossenen Glaskapillare über Ansaugen am Mundende gewonnen werden.

6 Literatur

Aldred, P., Hallpike, C.S., Ledoux, A. (1940)

Observations on the osmotic pressure of the endolymph.
J. Physiol. (Lond.) 98, 446–453

Bosher, S.K., Warren, R.S. (1968)

Observations on the electrochemistry of the cochlear endolymph of the rat.
Proc. R. Soc. B. 171, 227–247

Galic, M., Giebel, W. (1987)

Rasterelektronische Untersuchungen zur Struktur des Gewebes in der cochleären Apertur des Aquaeductus cochleae.
Laryngol. Rhinol. Otol. (Stuttg.) 66, 1–5

Giebel, W. (1981)

Vergleichende Histochemie und Biochemie des Innenohres der Vertebraten.
Habilitationsschrift, Tübingen

Holzner, H.H.-H. (1982)

Biochemische Untersuchungen der Innenohrflüssigkeiten bei experimentellem Hydrops: Glucosewerte bei Normo- und Hyperglykämie.
Dissertation, Tübingen

Johnstone, C.G., Schmidt, R.S., Johnstone, B.M. (1963)

Sodium and potassium in vertebrate cochlear endolymph as determined by flame microspectrophotometry.
Comp. Biochem. Physiol. 9, 335–341

Johnstone, B.M., Sellick, P.M. (1972)

The peripheral auditory apparatus.
Quart. Rev. Biophys. 5, 1–57

Kaieda, J. (1930)

Biochemische Untersuchungen des Labyrinthwassers und der Cerebrospinalflüssigkeit der Haifische.
Hoppe Seylers Z. Physiolog. Chem. 188, 193–202

Lehner, R., Maasen, M.M., Müller, G., Leysieffer, H., Zenner, H.P. (1998)

Ein osseointegrierter Mikromanipulator als Halterung für implantierbare Hörgewandler.
Teil 1: Anpassung an die chirurgische Anatomie des Felsenbeins und operationstechnische Eigenschaften.
HNO 46(4), 311–323

Makimoto, K., Takeda, T., Silverstein, H. (1978)

Chemical composition in various compartments of inner ear fluids.
Eur. Arch. Otorhinolaryngol. 220, 259–264

Mittmeyer, H.J., Giebel, W. (1990)

Zur forensischen Verwertbarkeit der Glucosekonzentration in der Perilymphe.
In: Klose, W., Oehmichen, M. (Hrsg.):
Rechtsmedizinische Forschungsergebnisse.
Max Schmidt-Römhild Verlag Lübeck, 442–448

Percheron, G., Francois, C., Yelnik, J. (1986)

Instruments and techniques for the stereotactic surgery based on the CA-CP ventricular system of coordinates in monkeys.
J. Neurosci. Methods 17(2-3), 89-99

Peterson, S.K., Frishkopf, L.S., Lechene, C., Oman, C.M., Weiss, T.F.(1978)

Element composition of inner ear lymphs in cats, lizards, and skates determined by electron probe microanalysis of liquid samples.
J. comp. Physiol. 126, 1-14

Rauch, S. (1964)

Biochemie des Hörorgans. Einführung in die Methoden und Ergebnisse.
Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart

Reutter, G. (1992)

Der Glucosegehalt der Innenohrflüssigkeiten bei vergleichender Untersuchung zwischen thrombosiertem und nicht thrombosiertem Innenohr beim Meerschweinchen.
Dissertation, Tübingen

Rodgers, K., Chou, J.T.Y. (1966)

Concentrations of inorganic ions in guinea-pig inner ear fluids.
J. Laryngol. Otol. 80/II, 778-790

Scheibe, F., Haupt, H., Hache, U., Gerhardt, H.J., Lauterbach, H. (1975)

Zur Proteinkonzentration der Meerschweinchenperilymphe.
Acta Otolaryngol. (Stockh.) 79, 51-57

Silverstein, H. (1966)

Biochemical and physiological studies of the endolymphatic sac of the cat.
Laryngoscope 76, 498-512

Silverstein, H., Griffin, W.L. jr. (1970)

Comparison of inner ear fluids in the antemortem and postmortem state of the cat.
Ann. Otol. (St. Louis) 79, 178-186

Smith, C.A., Lowry, O.H., Wu, M.L. (1954)

The electrolytes of the labyrinthine fluids.
Laryngoscope 64, 141-153

Strömer, H. (1991)

Elektrophysiologie der Cochlea bei lokaler Ischämie durch einen ferromagnetischen Thrombus. Ein Tiermodell für den ischämischen Hörsturz.
Dissertation, Tübingen

Meinen herzlichen Dank

**Herrn Prof. Dr. med. Ralf Arold
für die Überlassung des Themas**

**Herrn Priv.-Doz. Dr. phil. nat. Werner Giebel
für seine Einweisung in die Operationstechnik und seine Betreuung der
Arbeit**

**Herrn Heiko Wiesenhütter
für seine Unterstützung in vielen technischen Belangen**

**Herrn Björn Zeeb, Herrn Daniel Schmollinger und Herrn Tobias Döhler
für ihre Hilfsbereitschaft bei der Bildbearbeitung am Computer**

Lebenslauf

Ulrike Elke Zacher

- 16.09.1974 Geburt in Leonberg als Tochter des Dipl. Ing. Ulrich Zacher und seiner Ehefrau Ruth, geb. Beißwenger, exam. Kinderkrankenschwester und Hausfrau
- 1981–1982 Wilhelm-Grundschule in Ditzingen
- 1982–1985 Mörike-Grundschule in Leonberg
- 1985–1991 Johannes-Kepler-Gymnasium in Leonberg
- 1991–1992 Highschool-Jahr in Erie, Pennsylvania, USA
- 1992–1995 Johannes-Kepler-Gymnasium in Leonberg
- 1996 Studium der Zahnmedizin in Mainz
- 1996–1998 Studium der Medizin in Jena
- 1998–2001 Studium der Medizin in Tübingen
- 2001–2002 Praktisches Jahr in der städtischen Frauenklinik Berg Stuttgart, in der Northwestern Medical School Chicago/Illinois/USA, im Bürgerhospital Stuttgart und im Regionalspital Rheinfelden/Schweiz
- 12.11.2002 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung