Universität Rostock Traditio et Innovatio

Weiterentwicklung der Tiefen Hirnstimulation (THS) im Tiermodell: Etablierung und Testung eines vollimplantierbaren Systems am Tiermodell der Ratte

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades doctor medicinae (Dr. med.)

der Medizinischen Fakultät

der Universität Rostock

Betreuer: Prof. Dr. med. Alexander Storch

vorgelegt von: Martin Nüssel

vorgelegt: 2022

verteidigt: 2023

1. Gutachter Prof. Dr. A. Storch
Klinik und Poliklinik für Neurologie, Universitätsmedizin Rostock

2. Gutachter Prof. Dr. med. Dr. med. habil. Thomas M. Freiman
Klinik und Poliklinik für Neurochirurgie, Universitätsmedizin Rostock

3. Gutachter Prof. Dr. med. Matthias W. Laschke
Institut für Klinisch-Experimentelle Chirurgie, Universitätsklinikum des Saarlandes

https://doi.org/10.18453/rosdok_id00004496

Dieses Werk ist lizenziert unter einer
Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt zu haben. Die aus den Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht. Die Dissertation ist in dieser Form noch keiner anderen Pr fungsbeh rde vorgelegt worden.

Rostock, den 25.10.2023

Martin Nüssel

Abstract

Bei der Tiefen Hirnstimulation (THS) handelt es sich um ein in der heutigen Zeit etabliertes Verfahren, mit dessen Hilfe Bewegungsstörungen, wie der Morbus Parkinson, therapiert beziehungsweise die auftretenden Symptome gelindert werden können. Trotz des weitverbreiteten Einsatzes und umfangreicher Forschungen ist der genaue Wirkmechanismus der THS bis zum heutigen Tage nicht abschließend geklärt. Für die Erforschung von Wirkungsweisen der THS wurde bislang neben klinischen Forschungsbemühungen vor allem auf entsprechende Tiermodelle, mit für die spezifischen Versuche angepassten Stimulator-Systemen, zurückgegriffen. Weitverbreitet sind hierbei Stimulator-Systeme, bei denen eine extrakorporale Stimulationseinheit mit einer intrakorporalen Elektrode, über eine Kabelverbindung in Kontakt steht. Je nach Anforderung wird die Stimulationseinheit hierbei stationär oder mobil an den Tieren befestigt. Bei einem bereits etablierten System erfolgt die Unterbringung der extrakorporalen Stimulationseinheit in einer „rucksackähnlichen“ Haltevorrichtung im Schulterbereich von Ratten. Dieses Modell ermöglicht bereits die Durchführung von Langzeitversuchen ohne Mobilitätseinschränkungen der Versuchstiere und soll daher in dieser Arbeit als Standardverfahren angesehen werden. Im Rahmen dieser Arbeit erfolgte eine Überprüfung der Funktionalität des THS-Standardverfahrens im Tiermodell der Ratte. Die durchgeführten Versuche konnten die Validität des verwendeten Tiermodells, dem 6-OHDA-Hemiparkinsonmodell der Ratte, erneut nachweisen. Zur Beurteilung der Funktionalität wurden bei den Tieren Verhaltenstests, wie der Stepping- beziehungsweise Korridor-Test, durchgeführt. Hierbei erfolgt die Beurteilung der bei dem Tiermodell experimentell erzeugten, Parkinson-typischen Symptome der Akinesie und des sensomotorischen Neglects. Nach entsprechend einseitiger Symptominduktion, durch unilaterale Läsionierung der Substantia nigra (SN), wurden die Daten der zuvor beschriebenen Tests im Seitenvergleich betrachtet und somit die erfolgreiche Induktion eines Hemiparkinson-Modells im Tiermodell der Ratte erneut erfolgreich dargelegt. Es ergab sich im Stepping-Test ein signifikanter Unterschied der ermittelten Berechnungsgröße für die Akinesie im Seitenvergleich von etwa 25 Prozent. In der Betrachtung des sensomotorischen Neglects ergab sich eine Seitendifferenz von über 50 Prozent. Der Einsatz des standardisierten Stimulationsverfahrens mit extrakorporal befestigter Stimulationseinheit, ergab eine Reduktion der Seitendifferenz im Stepping-Test um circa acht Prozent und im Korridor-Test um circa fünf Prozent, im Vergleich zur nicht läsionierten Kontrollgruppe. Somit führt die Neurostimulation mit dem Standardverfahren zwar zu einer Symptomreduktion, jedoch lässt sich weiterhin ein deutliches Symptomresiduum beobachten.

Neben den funktionellen Testungen wurden die Tiere auch hinsichtlich ihres Wohlbefindens und dem hieraus abgeleiteten Belastungsgrad beurteilt. Neben technischen Problematiken,

wie Beschädigungen oder Dislokationen der extrakorporal angebrachten Stimulationseinheiten, fiel bei dem verwendeten Standardmodell ebenfalls eine durchgehend erhöhte Tierbelastung auf. Es zeigte sich eine durchgehende Depression, beziehungsweise verzögerte Regression des Körpergewichtes.

Neben der Testung des Standardverfahrens mit extrakorporaler Stimulationseinheit erfolgte im Rahmen dieser Arbeit auch die erstmalige Verwendung eines weiterentwickelten Stimulatorsystems. Bei diesem neuartigen Modell wurde die Stimulationseinheit intrakorporal eingebracht und mittels subkutan verlaufender Kabel mit der Stimulationselektrode verbunden, hierfür wurde eine biokompatible und implantationsfähige Verkapselung entwickelt. Es gelang, dass neu entwickelte Stimulatorsystem operativ in den Rattensitus zu implantieren. In der Nachbeobachtung der Tiere mit intrakorporalen Stimulationseinheiten fiel eine günstigere Belastungssituation, mit für den Beobachtungszeitraum positivem Körpergewichtsverlauf, auf. Bei den verwendeten Tieren mit intrakorporaler Stimulationseinheit handelte es sich, aufgrund von behördlichen Auflagen, zunächst nur um sogenannte „non-responder"-Tiere. Dies sind Tiere mit unzureichender Ansprechrate nach unilateraler Läsion der Substantia Nigra. Aus diesem Grund lässt sich noch kein direkter Vergleich des Neuentwickelten mit dem Standarttestverfahren darstellen. Tendenziell lässt sich hieraus jedoch die Theorie ableiten, dass es sich bei dem mittels Halterung extrakorporal befestigten THS-System (Standardverfahren) um eine Störquelle handelt, welche die Testergebnisse in den durchgeführten Verhaltenstests negativ beeinflusste. Auch wenn, aus Gründen der behördlichen Genehmigung, die erneute Durchführung von Verhaltenstests in dieser Arbeit noch nicht möglich war, so lassen die guten Ergebnisse des neuen, vollimplantierbaren THS-Systems auf eine Verbesserung der Testergebnisse hoffen und dienen somit als Grundlage für weitere Versuchsdurchführungen.

Die vorliegende Dissertation dient als Grundlagenarbeit für weitergehende Versuche. Die Ergebnisse der Studie wurden unter dem Thema: „The software defined implantable modular platform (STELLA) for preclinical deep brain stimulation research in rodents" im Journal of Neural Engineering veröffentlicht (Plocksties et al., 2021a).

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis ..... **VIII**

Tabellenverzeichnis ..... **IX**

Abkürzungsverzeichnis ..... **X**

1 Einleitung **1**

1.1 Tiefe Hirnstimulation (THS) 1

1.1.1 Historie und Verlauf 1

1.1.2 Konzepte zur Wirkungsweise 2

1.1.3 Indikationsgebiet Idiopathisches Parkinsonsyndrom 3

1.1.3.1 Überblick und Ätiologie 3

1.1.3.2 Symptome 5

1.1.3.3 Therapieansätze 5

1.1.3.4 Einsatz funktioneller Therapien 6

1.1.4 Weitere Indikationsgebiete 7

1.1.5 Mögliches Potenzial und aktuelle Limitationen 8

1.1.6 Notwendigkeit eines Tiermodells 8

1.2 Tiefe Hirnstimulation im Tiermodell 9

1.2.1 Anforderungen an ein optimales Stimulationssystem unter experimentellen Bedingungen 9

1.2.2 Überblick bislang verwendeter Stimulationssysteme 9

1.2.2.1 Stimulationssystem mit stationärem Impulsgeber 10

1.2.2.2 Stimulationssystem mit mobilem, nicht-implantiertem Impulsgeber 11

1.2.2.3 Stimulationssystem mit mobilem, teilimplantiertem Impulsgeber 12

1.2.3 Eigenschaften eines voll-implantationsfähigen Stimulationsmodelles 13

1.3 Zielsetzung der Arbeit 13

2 Material und Methodik **15**

2.1 Geräte und Verbrauchsmaterialien 15

2.2 Klassifikation und Haltung 17

2.3 Versuchsablauf und Gruppenorganisation 17

2.3.1 Selektion durch Apomorphin-Rotationstest 18

2.4 Elektroden 19

2.5 Stimulationssysteme 20

2.5.1 Extrakorporales Stimulator-System 20

2.5.2 Intrakorporales Stimulator-System 22

2.5.3 Isolierung und Verkapselung 23

2.5.3.1 Version 1: Zwei-Komponenten Silikon 23
2.5.3.2 Version 2: PEEK und Epoxidharz 24
2.5.3.3 Kabelverbindungen....26
2.6 Anästhesie 27
2.7 Operative Verfahren....28
2.7.1 Durchführung stereotaktischer Operationen 28
2.7.2 Unilaterale 6-OHDA Läsion 28
2.7.3 Platzierung der Stimulationselektroden 29
2.7.4 THS-Implantation 31
2.8 Beurteilung, Tests und Scores 31
2.8.1 Stepping-Test....31
2.8.2 Korridor-Test 32
2.8.3 Erhebung von Gewichtsdaten....32
2.8.4 Beurteilung von allgemeiner Befindlichkeit und Belastung....33
2.8.5 Beurteilung von Wundverhältnissen 34
2.9 Perfusion und Gehirnentnahme....36
2.10 Statistik 36

3 Ergebnisse 37
3.1 Ergebnisse Apomorphin Rotationstest 37
3.2 Ergebnisse Verhaltenstests ohne THS....38
3.2.1 Stepping-Test....38
3.2.2 Korridor-Test 39
3.3 Tiere mit extrakorporalen THS 40
3.3.1 Ergebnisse der Verhaltenstests....40
3.3.1.1 Stepping-Test....40
3.3.1.2 Korridor-Test 42
3.3.2 Technische Ergebnisse 42
3.3.3 Funktionelle Ergebnisse 44
3.3.3.1 Gewichtsverlauf....44
3.3.3.2 Allgemeine Befindlichkeit und Belastung 46
3.4 Tiere mit vollimplantierten Stimulatoren....48
3.4.1 Ergebnisse Entwicklung 48
3.4.2 Operative Ergebnisse....49
3.4.2.1 Komplikationen....51
3.4.3 Technische Ergebnisse 52
3.4.3.1 Vollimplantierter Stimulator *in vitro* 52
3.4.3.2 Vollimplantierbarer Stimulator *in vivo*....52

3.4.4 Funktionelle Ergebnisse 54
3.4.4.1 Gewichtsverlauf 54
3.4.4.2 Allgemeine Befindlichkeit und Belastung 56
3.4.4.3 Wundheilung 58

4 Diskussion 60
4.1 Notwendigkeit von Tiermodellen zur Weiterentwicklung der THS 60
4.2 Ergebnisse extrakorporales Stimulator-System 61
4.2.1 Verhaltenstests 61
4.2.2 Körpergewicht und Wohlbefinden 62
4.2.3 Technische Ergebnisse 63
4.3 Ergebnisse vollständig intrakorporales Stimulator-System 64
4.3.1 Körpergewicht und Wohlbefinden 64
4.3.2 Technische Ergebnisse 65
4.3.2.1 Verkapselung 65
4.3.2.2 Operation 66
4.3.2.3 Wundheilung 67
4.4 Vergleich implantiertes vs. nicht-implantiertes Stimulator-System 68
4.4.1 Vergleich Körpergewicht und Belastungen 68
4.4.2 Aufwand und Umsetzbarkeit der Systeme 68
4.5 Kritikpunkte 69

5 Schlussfolgerung und Ausblick 71

Danksagung 73

Literaturverzeichnis 74

Anhang 79

Lebenslauf 80

Thesen 81

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematischer Aufbau der Basalganglien 4
Abbildung 2: Darstellung einer THS mit extrakorporalem, stationärem Impulsgeber 10
Abbildung 3: Funktionelle Testung externer DBS-Impulsgeber 11
Abbildung 4: Platzierung eines teilimplantierten THS-Systems 12
Abbildung 5: „Rodent-Rotometer“ 19
Abbildung 6: Aufbauschema Stimulationselektroden 20
Abbildung 7: Bauschema Steckverbindungen.....21
Abbildung 8: Aufbauschema extern platzierter Neurostimulator 21
Abbildung 9: Kontrollmessung extrakorporaler Stimulator.....22
Abbildung 10: Aufbau intrakorporales Stimulationssystem.....23
Abbildung 11: Verkapselung im Zweischicht-Gießverfahren mittels Silikons 24
Abbildung 12: Konstruktionsplan PEEK Kapsel 26
Abbildung 13: Narkosegerät 27
Abbildung 14: Stepping-Test.....31
Abbildung 15: Korridor-Test 32
Abbildung 16: Körpergewicht Erfassung 33
Abbildung 17: Stepping-Test ohne THS, Vorhand.....38
Abbildung 18: Stepping-Test ohne THS, Rückhand 39
Abbildung 19 Korridor-Test ohne THS. 40
Abbildung 20: Stepping-Test mit extrakorporaler THS, Vorhand 41
Abbildung 21: Stepping-Test mit extrakorporaler THS, Rückhand 41
Abbildung 22: Korridor-Test mit extrakorporaler THS.....42
Abbildung 23: Gewichtsveränderungen nicht-implantierte Stimulatoren. 44
Abbildung 24: Score-Sheet Index in Punktsumme bei extrakorporaler THS. 46
Abbildung 25: Aufbau Verkapselung PEEK und Epoxidharz 48
Abbildung 26: Implantation intrakorporaler Stimulator 50
Abbildung 27: Tier postoperativ nach Implantation des Stimulators. 51
Abbildung 30: Oszilloskopmessung intrakorporaler Stimulator während der Verkapselung. Darstellung eines Rechteckimpulses (130 Hz).....52
Abbildung 29: Gewichtsveränderungen in Prozent bei intrakorporaler THS. 54
Abbildung 30: Score-Sheet Index in Punktsumme bei intrakorporaler THS.....56
Abbildung 31: Durchschnittliche Punktwerte im Wound-healing-Score 58

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Symptome & Wirkmechanismen der THS 2
Tabelle 2: Überblick nicht motorischer Symptome beim IPS Deuschl et al., 2019..... 5
Tabelle 3: Übersicht etablierter Indikationsgebiete für eine THS-Therapie..... 7
Tabelle 4: Auflistung Verbrauchsmaterialien und Geräte 15
Tabelle 5: Auflistung Reagenzien und Chemikalien 16
Tabelle 6: Einteilung der verwendeten Tiere in Untergruppen.....18
Tabelle 7: Testablauf der Versuchsreihe 1.....18
Tabelle 8: Testablauf der Versuchsreihe 2.....18
Tabelle 9: PEEK-Eigenschaften.....25
Tabelle 10: Eigenschaften von PTFE als Isolationsstoff 27
Tabelle 11: Score-Sheet Tierbelastungen.....34
Tabelle 12: Score-Sheet Wundverhältnisse nach Southampton-Wound-Score.....35
Tabelle 13: Ergebnisse Rotationstest Gruppe 1 (Responder). 37
Tabelle 14: Ergebnisse Rotationstest Gruppe 3 (non-Responder). 37
Tabelle 15: Komplikationen extrakorporaler Stimulator 43
Tabelle 16: Funktionstest vollimplantierbarer Stimulator *in vitro*.....52
Tabelle 17: Auflistung gemeldeter Systemfehler 53

Abkürzungsverzeichnis

GP	*Globus pallidus*
IPS	*Idiopatisches Parkinsonsyndrom (Morbus Parkinson)*
SN	*Substantia nigra*
STN	*Nucleus subthalamicus*
THS	*Tiefe Hirnstimulation*
ANT	*Anterior nucleus of the thalami*
ViM	*Nucleus ventralis intermedius thalami*

1 Einleitung

1.1 Tiefe Hirnstimulation (THS)

1.1.1 Historie und Verlauf

Die Geschichte der THS reicht bereits einige Jahrzehnte zurück. Möglich wurde diese Entwicklung durch das zunehmende Verständnis von physiologischen Schaltabläufen und Prozessen im menschlichen Gehirn. So konnte die irrtümliche Annahme, dass eine chirurgische Intervention im Bereich der Basalganglien nicht möglich ist, widerlegt werden (Dandy and Köbcke, 1938). Bestätigt wurde die Annahme durch die erstmalige Resektion von Anteilen der Basalganglien durch den Neurochirurgen R. Meyers im Jahre 1939. Der operierte Patient zeigte anschließend keinerlei Beeinträchtigungen des Bewusstseins, jedoch eine deutliche Linderung, der vorab bestehenden Parkinsonsymptomatik (Abel et al., 2016).

Klinisch etabliert wurden läsionelle Operationen zur Linderung von Bewegungsstörungen mittels gezielter Zerstörung von Nervengewebe. Dies wurde jedoch erst mit der Entwicklung einer Apparatur zur stereotaktischen Durchführung neurochirurgischer Eingriffe durch A. Spiegel und H. Wycis im Jahre 1947 möglich (Spiegel et al., 1947). Sowohl bei Bewegungsstörungen als auch bei psychiatrischen Erkrankungen, erzielten läsionelle Operationsverfahren Erfolge in der Behandlung, sodass diese Form der operativen Therapie in den 1970er-Jahren ihren Höhepunkt erreichte (Rzesnitzek et al., 2019). Eine Begründung hierfür lag an fehlenden Alternativen, beispielsweise einer pharmakologischen Therapie (Hariz et al., 2010). Daher erscheint es nicht verwunderlich, dass mit Verbesserung der medikamentösen Behandlungsoptionen, sei es durch die Entwicklung von L-Dopa in der Therapie des Morbus Parkinson oder der Einführung von Psychopharmaka in der psychiatrischen Therapie, ein deutlicher Rückgang derartiger Operationen zu verzeichnen war (Holtzheimer and Mayberg, 2011).

Die trotz optimaler, medikamentöser Therapie persistierenden Symptome vieler Patienten führten jedoch in den 1990er-Jahren zu einer Wiederbelebung der in den Hintergrund getretenen Operationsmethoden. Befeuert wurde dies durch die maßgeblich von dem französischen Neurochirurgen A. Benabid (Benabid et al., 1987) weiterentwickelte Möglichkeit, moderne Neurostimulationssysteme als Ersatz für irreversible Läsionen zu implantieren (Neumann et al., 2019). Somit gilt Benabid mit seiner im Jahre 1987 erstmals publizierten Beschreibung über Erfolge der THS bei Tremorpatienten als einer der Gründungsväter der heutigen THS-Therapie (Benabid et al., 1987).

1.1.2 Konzepte zur Wirkungsweise

Trotz intensiver Forschungsbemühungen über die Wirkungsweisen der THS sind bis zum heutigen Tage viele Aspekte ungeklärt. Klinische Beobachtungen bei THS-therapierten Patienten konnten zeitliche Divergenzen bei verschiedenen, THS-responsiven Symptomen zeigen (siehe Tab. 1). So lassen sich die therapeutischen Auswirkungen der THS in akute und chronische Effekte mit unterschiedlichen molekularen Wirkansätzen unterteilen. Auch konnten unterschiedliche Effekte, in Abhängigkeit vom Abstand des Nervengewebes zu den Elektroden, gezeigt werden (Wichmann and DeLong, 2016).

Die meisten Erkenntnisse zu den Mechanismen der THS entstammen Forschungsarbeiten zum idiopathischen Parkinsonsyndrom (IPS). Ein abschließendes Verständnis der Tiefen Hirnstimulation oder die Übertragbarkeit auf andere THS-responsive Krankheitsbilder ist in vielen Fällen bislang jedoch noch nicht möglich (Malek, 2019).

Tabelle 1: Symptome & Wirkmechanismen der THS

Mechanismus	Sekunden-Minuten	• Frequenzabhängige Modulation neuronaler Übertragung • Depolarisationsblockade (Na, K) • Axonale/somatische Entkopplung
	Minuten-Tage	• Lokale GABA-Freisetzung • Somatische Hyperpolarisation • Adenosinfreisetzung • Glutamatabnahme • Unterdrückung pathologischer Oszillationen
	Tage-Wochen	• Langzeitpotenzierung und Depression • Modulation der Neurotransmitterfreisetzung vor- und nachgeschalteter Areale
	Wochen-Monate	• Neurogenese
Klinisches Ansprechen	Sekunden-Minuten	• Effekte auf Tremor (ET, IPS)
	Minuten-Tage	• Schmerzen • Effekte auf Rigor und Bradykinese (IPS)
	Tage-Wochen	• Epileptische Anfälle • Dystonie
	Wochen-Monate	• Stimmungsstabilisierung • Angst bei Zwangsstörungen

Darstellung der zeitlichen Ansprechraten verschiedener Symptome auf eine THS-Therapie und mögliche Wirkmechanismen (© abgewandelt nach (Lozano et al., 2019a)). ET: essentieller Tremor; iPS: idiopathisches Parkinsonsyndrom.

1.1.3 Indikationsgebiet Idiopathisches Parkinsonsyndrom

1.1.3.1 Überblick und Ätiologie

Eines der am besten erforschten und mit der THS-Therapie assoziierten Krankheitsbilder ist das Idiopathische Parkinsonsyndrom oder der Morbus Parkinson. Bei dieser nach ihrem Erstbeschreiber, dem britischen Arzt James Parkinson, benannten Form der Bewegungsstörung, kommt es aus bislang nicht abschließend geklärter Ursache zu einem degenerativ bedingten Mangel des Neurotransmitters Dopamin im Gehirn der betroffenen Patienten (Armstrong and Okun, 2020). Als zentrale Schaltstelle der Bewegungsabläufe sind die tief im Gehirn liegenden Basalganglien wichtigster Angriffspunkt für die THS bei IPS. Anatomisch beinhalten die Basalganglien das Striatum (zusammengesetzt aus *Nucleus caudatus* und Putamen) sowie das Pallidum mit seinen zwei Zentren, dem *Globus pallidus externus* (GPe) und dem *Globus pallidus internus* (GPi) (Nambu, 2007). An der Funktion der Basalganglien sind darüber hinaus noch weitere Strukturen beteiligt, welche deshalb unter funktionellen Aspekten ebenfalls zu den Basalganglien gezählt werden. Dies umfasst vor allem die *Substantia nigra* (SN) sowie den *Nucleus subthalamicus* (STN). Alle diese Strukturen stehen funktionell in Verbindung miteinander, wodurch sich verschiedene Schaltmuster ergeben (siehe Abb. 1).

Ursächlich für die motorischen Kernsymptome zeigt sich hierbei vor allem der Verlust von Dopamin produzierenden Neuronen im Bereich der SN pars compacta. Der hierdurch entstehende Mangel an Dopamin führt zu einer Verschiebung des Gleichgewichts in den Basalganglien hin zu einer Überaktivierung des STN, woraus sich der typische Bewegungsmangel ergibt.

Neben dem Mangel an Dopamin kommt es im Verlauf der Erkrankung zu weiteren Degenerationen von Neurotransmitter-produzierenden Neuronen. Die Degeneration von Serotonin- und Noradrenalin-produzierenden Zellen kann zu psychiatrischen Auffälligkeiten führen, wie beispielsweise Depressionen. Ebenso kommt es bei einem Teil der Patienten zur Zerstörung von Acetylcholin produzierenden Neuronen im Bereich des *Ncl. basalis Meynert*, was in Verbindung mit der Entstehung demenzieller Symptome gebracht wird (Deuschl et al., 2019).

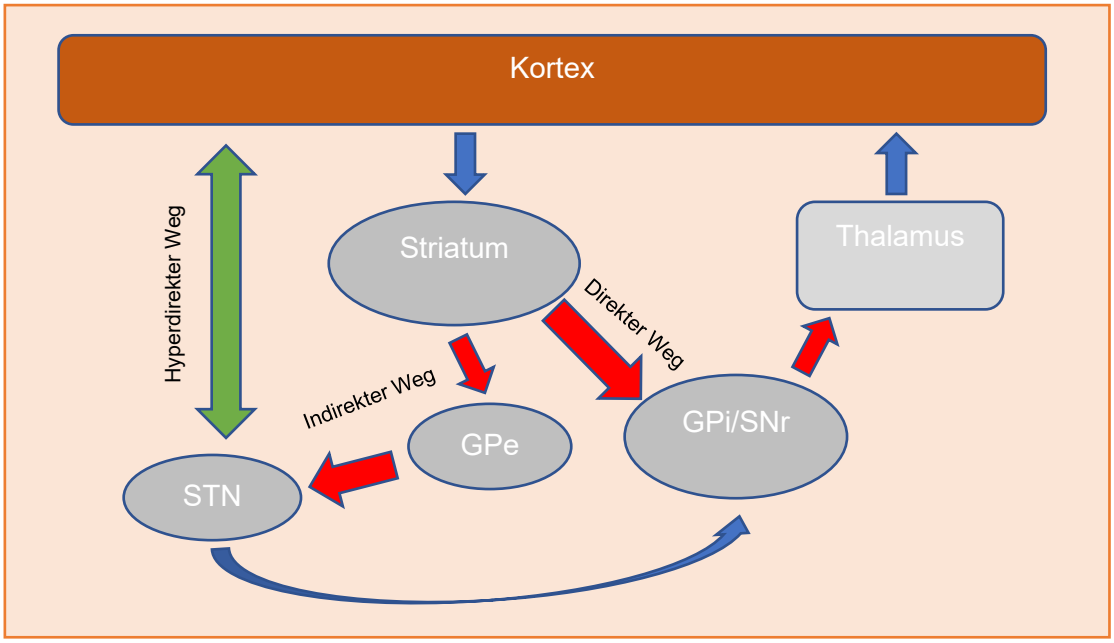


Abbildung 1: Schematischer Aufbau der Basalganglien

Als zentrale Station der Basalganglien-Schleife erhält das Striatum Informationen von der Großhirnrinde sowie der SN und dem STN. Aufgrund der Stimulation des Striatum durch die SN, mittels des Neurotransmitters Dopamin, kommt es beim Eingang von Informationen der Großhirnrinde zur selektiven Weiterleitung über ein Zwei-Wege-System. Vereinfacht dargestellt lassen sich die weiteren Verschaltungen in den sogenannten direkten und den indirekten Weg einteilen. Beim direkten Weg kommt es durch GABAerge-Neurone des Striatum zu einer Hemmung des GPi, welcher ungehemmt seinerseits über GABAerge-Neurone den Thalamus inhibiert. Zusammenfassend führt eine Fortleitung mittels direkten Weges zu einer Enthemmung des Thalamus und damit positiver Initiierung von Bewegungen.

Dem gegenüber gestellt verläuft der indirekte Weg. Hierbei kommt es mittels hemmender Einwirkung auf den GPe zu einem Wegfall der Inhibition auf den STN. Dessen Funktion, die Stimulation des GPi mittels Glutamats, wird hierdurch nicht mehr unterdrückt und es kommt im Weiteren zu einer Hemmung des Thalamus durch den stimulierten GPi mit konsekutiv verminderter Bewegungsinitiierung. (© abgewandelt nach „Parkinson-Syndrome und andere Bewegungss rungen“, Oertel at. all. 2011). STN: Nucleus subthalamicus; GPe: Globus pallidus externus; GPi: Globus pallidus internus; SN: Substantia nigra.

Epidemiologische Studien haben gezeigt, dass es Unterschiede in der Prävalenz des IPS zwischen verschiedenen ethnischen Gruppen gibt. Hieraus lässt sich die Theorie ableiten, dass die Ätiologie der Erkrankung auf genetischen Faktoren beruht. Es konnten genetische Veränderungen in einem Teil der an IPS erkrankten Personen nachgewiesen werden (Bandres-Ciga et al., 2020). Da diese genetischen Veränderungen nur einen Teil der erkrankten Personen betreffen, muss davon ausgegangen werden, dass es sich bei diesen Patienten um eine ätiologische Subgruppe handelt. Ein eindeutiger Nachweis, einer dem Morbus Parkinson zugrunde liegenden Ätiologie, ist bei einem Großteil der Erkrankten, trotz intensiver Forschung, bislang nicht erfolgt.

Bei α-Synuklein handelt es sich um ein körpereigenes Protein, welches mit der Entstehung des IPS in Verbindung gebrachten wird. Nachweis des Proteins, in Nervenfasern der Haut und des enterischen Nervensystems, deuten auf eine periphere Ätiologie mit sekundärer Verschleppung der Erkrankung in das zentrale Nervensystem (ZNS), beispielsweise aus dem Darm hin (Zhu et al., 2020).

Die vorab beschriebenen Theorien (Zhu et al., 2020) sind noch nicht hinreichend erforscht. Aufgrund der verschiedenen Ansätze lässt sich mit hoher Wahrscheinlichkeit sagen, dass es sich bei dem IPS um eine heterogene Gruppe in Bezug auf seine Ätiologie bzw. Ätiopathogenese handelt.

1.1.3.2 **Symptome**

Klinisch äußert sich die Erkrankung durch die motorischen Kardinalsymptome Hypokinese, Tremor, Rigor und posturale Instabilität. Aufgrund der obligat vorliegenden Hypokinesie bis hin zur Akinesie wird das IPS auch zu den Bewegungsstörungen, mit vermindertem (hypokinetischen) Bewegungsprofil, gezählt. Je nach Erkrankungsform können die genannten Symptome in stark heterogener Ausprägungsweise vorliegen (siehe Tab. 2). Verdeutlicht wird dies durch die klinische Einteilung in einen tremor-dominanten- und einen akinetisch-rigiden Typus. Neben den motorischen Symptomen leiden viele Patienten mit IPS zusätzlich auch an einer Vielzahl nicht-motorischer Symptome, beispielsweise vegetativen Störungen und Depressionen (Deuschl et al., 2019).

Tabelle 2: Überblick nicht motorischer Symptome beim IPS Deuschl et al., 2019

Symptomkomplex	Beinhaltete Symptome
Neuropsychiatrische Störungen	Depressionen
	Apathie, Anhedonie
	Frontal exekutive Störung
	Demenz
	Psychose
	Impulskontrolle
	Dopaminerges Dysregulationssyndrom
Schlafstörungen	Insomnie
	Rapid Eye Movement (REM) Sleep Behavior Disorder (RBD)
	Restless-Legs-Syndrom (RLS)/Periodische Beinbewegungen im Schlaf (PLMS)
	Pathologische Tagesmüdigkeit
Autonome Dysfunktion	Orthostatische Hypotension
	Farbdiskriminationsstörung
	Schmerz

1.1.3.3 **Therapieansätze**

Zur Therapie der motorischen Symptome steht ein Spektrum verschiedener medikamentöser Substanzen zur Verfügung.

Diese erhöhen entweder durch Ersatz, Abbauhemmung oder Stimulation, die zur Verfügung stehende Dopaminkonzentration innerhalb der Basalganglien-Schleife. Leitsubstanz in der Pharmakotherapie des IPS stellt seit den 1970er-Jahren L-Dopa als Vorläufersubstanz des Dopamins dar. Durch die Kombination mit Decarboxylase-Hemmern eignet sich diese Substanz auch bei peripherer Applikation als Ersatztherapie der bei den betroffenen Patienten vorliegenden Dopaminmangels (Bethesda, 2012). Als großer Nachteil zeigt sich bei der Therapie mit L-Dopa eine über Jahre fortschreitende Abnahme der Wirkung, vermutlich aufgrund einer zunehmend eingeschränkten Decarboxylaseleistung der verbliebenen Neurone in der SN. Aus diesem Grund erfolgt die medikamentöse Therapie in einem Stufenschema, abhängig von Patientenalter und Symptomausprägung, in Kombination mit weiteren Substanzen (Voges and Timmermann, 2017).

1.1.3.4 **Einsatz funktioneller Therapien**

Neben der Pharmakotherapie hat sich in den letzten Jahren eine weitere wichtige Therapiesäule in der Behandlung von Patienten mit IPS etabliert. Die Tiefe Hirnstimulation oder im Englischen „Deep brain stimulation“ stellt ein relativ junges Behandlungskonzept im Therapieschema des IPS dar. Hierbei handelt es sich um eine funktionelle Therapie, welche ein selektives Eingreifen in den Basalganlgien-Schaltkreislauf neuronaler Prozesse ermöglicht.

Zu diesem Zweck werden, nach umfangreichen Voruntersuchungen, im Rahmen einer neurochirurgischen Operation, Elektroden an genau definierten Positionen des Gehirns implantiert. Die Implantation erfolgt im Falle des IPS je nach Symptomatik stereotaktisch meist im Bereich des *Nucleus subthalamicus* (STN), seltener auch in den Globus pallidus oder Thalamus. Eine Kontrolle der korrekten Elektrodenlage erfolgt intraoperativ mittels Elektrostimulation und elektrophysiologischer Kontrolle (Malek, 2019).

Anders als die pharmakologische Therapie zielt die THS nicht auf die Stimulation oder den Ersatz von Neurotransmittern ab. Durch die elektrische Stimulation gelingt es mit dieser Therapie, die aus dem Gleichgewicht geratenen Schaltprozesse, direkt zu beeinflussen. Im Falle des IPS kann so eine Aktivitätsstabilisierung, des durch den pathologischen Prozess überaktivierten STN, erreicht werden. Dies kommt vor allem Patienten mit stark ausgeprägten Wirkfluktuationen unter der Pharmakotherapie zugute. Darüber hinaus lässt sich durch die THS eine umfangreiche Symptomreduktion, des für den Patienten stark belastenden Tremors, erzielen (Armstrong and Okun, 2020).

In den meisten Fällen reicht es bislang noch nicht aus, eine alleinige Tiefe Hirnstimulation durchzuführen. Vielmehr wendet man eine Kombination aus Pharmakotherapie und THS an. Durch den Einsatz der THS kann die medikamentöse Therapie meist deutlich reduziert

und in vielen Fällen eine Stabilisierung der Wirkfluktuation geschaffen werden (Volkmann et al., 2013).

Als positiv zeigt sich der Einsatz von THS bereits in früheren Stadien des IPS (≈ 5-7 Jahr Krankheitsdauer). So ließ sich während einer großen Studie die Überlegenheit der THS-Therapie bezüglich reduzierter motorischer Symptome und Lebensqualität gegenüber einer optimierten medikamentösen Therapie nachweisen (Schuepbach et al., 2013).

Zusammen mit dem Einsatz neuer, spezifischerer Elektroden zeichnet sich somit ein deutlich größeres Einsatzspektrum der THS in der Therapie des IPS in den nächsten Jahren ab.

1.1.4 Weitere Indikationsgebiete

Seit den ersten Erfolgen der THS im Jahre 1987 hat sich die klinische Expertise und auch die verwendete Technik weiterentwickelt. So wurden seit den Anfängen circa 100.000 Patienten mittels THS versorgt. Die größten Erfahrungen zeigen sich in diesem Zusammenhang bei der Therapie des IPS sowie beim essenziellen Tremor, aber auch Dystonien und andere Bewegungsstörungen werden erfolgreich mittels THS therapiert (siehe Tab. 3) (Voges, 2017). Mit circa 700 Operationen pro Jahr hat sich die THS auch in Deutschland zu einem etablierten und zukunftsweisenden Therapieverfahren entwickelt, welches sich tendenziell für ein zunehmendes Krankheitsspektrum einsetzen lässt (Malek, 2019).

Tabelle 3: Übersicht etablierter Indikationsgebiete für eine THS-Therapie

Diagnose	Zulassungsjahr	Indikation	Zielpunkt
Parkinson	1998	• Fluktuationen • Medikamentös refraktärer Tremor • Medikamentenrestriktion	• STN • GPi (Vim)
Tremor	1995	Unwirksamkeit von 2 Medikamenten	Vim
Dystonie	2006	Unwirksamkeit von Medikation/Botulinumtoxin	GPi (STn)
Zwangsstörungen	2009	Unzureichender Effekt von medikamentöser, kognitiver und Verhaltenstherapie	Ventrales Striatum
Epilepsie	2010	Fokale/sekundär generalisierte Epilepsie mit Pharmakoresistenz	ANT

Neben der Therapie des Morbus Parkinson zeigen sich auch in anderen, vor allem schwer therapierbaren Erkrankungen deutliche Verbesserungen unter THS. (© abgewandelt nach Voges und Timmermann; Tiefe Hirnstimulation: Grundlagen, Indikationen, Verfahren 2017)

1.1.5 Mögliches Potenzial und aktuelle Limitationen

Wie die vorangegangenen Punkte eindrucksvoll demonstrieren, bildet die THS bei einem großen Spektrum von neurologischen Erkrankungen alternative Ansatzpunkte zur Therapie. Vor allem Patienten, welche mittels etablierter Therapiemöglichkeiten nicht oder nur unzureichend von ihrem Leiden befreit werden können, bietet eine gezielte Neurostimulation eine nicht zu unterschätzende Alternative und Hoffnung. Nicht verwunderlich erscheint daher, dass die Zahl implantierter Stimulationssysteme und sich darauf spezialisierte Zentren in den letzten Jahren deutlich zugenommen hat (Armstrong and Okun, 2020).

Neben den vorangegangen aufgelisteten Indikationen gibt es Bestrebungen, die THS bei weiteren Bewegungsstörungen, wie der Huntington-Erkrankung einzusetzen (Wojtecki et al., 2016). Viele dieser Ansätze befinden sich noch in der Anfangsphase. Die rasanten Erfolge aus Indikationsgebieten, beispielsweise dem Morbus Parkinson, zeigen jedoch das Potenzial dieser Methode, sodass die THS in Zukunft sicherlich einen festen Platz in neurologischen und psychiatrischen Zentren einnehmen kann.

Trotz der klinischen Erfolge stellt die THS ein Verfahren dar, welches aus Zufallsbefunden entstanden ist und keiner grundlagenorientierten und gezielten Entwicklung entstammt. Dementsprechend sind viele Aspekte zur Wirkungsweise und damit verbundenen Optimierungsmöglichkeiten noch unbekannt. Neuerungen im Bereich der bildgebenden Diagnostik, wie funktionelle MRT- und PET-Darstellungen, eröffnen hier neue Möglichkeiten. Unabdingbar für das Verständnis auf zellulärer Ebene bleiben hierbei Grundlagenforschungen beispielsweise mittels entsprechender Stimulationsmöglichkeiten in Tiermodellen.

1.1.6 Notwendigkeit eines Tiermodells

Durch die Weiterentwicklung der THS in vielen Anwendungsgebieten kann bereits einem großen Patientenspektrum geholfen und die Symptome der zugrunde liegenden Erkrankungen gelindert werden. Ein intensives Verständnis verantwortlicher Prozesse der THS, sowie Einflüsse auf Verschaltungen und Neurotransmitterverschiebungen ist somit von erheblichem Interesse in diesem Teilgebiet der Neurowissenschaften. Der Einsatz moderner Technik und die Arbeit mit Zellkulturen bieten gute Möglichkeiten, Fragestellungen zu aktuell verwendeten Systemen unter physiologischen Bedingungen zu erforschen. Die Darstellung spezieller Voraussetzungen, im Sinne genauer Versuchsaufbauten zu bestimmten Fragestellungen, lassen sich jedoch nur bedingt beantworten. Bei der Erforschung komplexer, neuronaler Netzwerke, ist der Einsatz von Zellkulturen in den meisten Fällen nicht ausreichend (Robinson et al., 2019). Hierfür bedarf es des Einsatzes spezieller, geeigneter Tiermodelle mit adäquaten Stimulationsmöglichkeiten. Mithilfe dieser Modelle können Ver-

suchsaufbauten unter physiologischen Bedingungen, speziell auf bestimmte Erkrankungsbilder zugeschnitten, untersucht werden. Auch wenn sich Erkenntnisse aus Tiermodellen häufig nicht vollständig auf den Menschen übertragen lassen, so ergeben sie doch Tendenzen, welche hilfreich für das Verständnis komplexer Mechanismen sind. Somit sind sie für die Forschung nach derzeitigem Stand unabdingbar (Romanova and Sweedler, 2018). Vor dem Hintergrund einer ethischen Verantwortung bei dem Einsatz von Versuchstieren, sollte sehr genau zwischen Aufwand und Nutzen abgewogen werden. Aus diesem Grund ist eine ausführliche Versuchsplanung mit möglichst realistischem Nachstellungsvermögen essenziell.

1.2 Tiefe Hirnstimulation im Tiermodell

1.2.1 Anforderungen an ein optimales Stimulationssystem unter experimentellen Bedingungen

Durch den Einsatz von Stimulationssystemen unter experimentellen Bedingungen entstehen spezielle Herausforderungen, welche die Entwicklung geeigneter Verfahren erschweren. Einen entscheidenden Unterschied zum Einsatzspektrum am Menschen, stellt die Körpergröße der meisten sich im Einsatz befindlichen Tiermodelle dar. Aufgrund der geringen Körpergröße vieler Versuchstiere ist es erforderlich, miniaturisierte Stimulationssysteme zu entwickeln (Ashouri Vajari et al., 2020). Diese dürfen sowohl bezüglich des Volumens als auch des Gewichtes zu keiner übermäßigen Belastung oder Beeinträchtigung der Tiere führen. Ein weiterer, nicht zu unterschätzender Faktor besteht in der enormen Agilität und Wendigkeit solcher Tiere. Die Stimulationskomponenten müssen robust, hoch flexibel und je nach Modell resistent gegen Umwelteinflüsse, beispielsweise Schmutz und Feuchtigkeit sein (Anderson et al., 2020).

Folglich sind Stimulationssysteme im Tiermodell hohen Beanspruchungen ausgesetzt. Hieraus leitet sich ein hohes Maß an Entwicklungsarbeit für die Etablierung und Verbesserung solcher Systeme ab. Im Laufe der vergangenen Jahre wurden bereits mehrere Ansätze zu Neurostimulatoren für die THS am Tiermodell entwickelt und eingesetzt.

1.2.2 Überblick bislang verwendeter Stimulationssysteme

Die Verwendung von Neurostimulationssystemen an Versuchstieren, wie beispielsweise der Ratte, wurde bereits von mehreren Arbeitsgruppen durchgeführt. Die hierbei verwendeten Verfahren unterschieden sich vor allem in Größe und Lokalisation. Im Folgenden werden stellvertretend drei unterschiedliche Verfahren näher erläutert, welche bislang in experimentellen Studien zum Einsatz kamen.

1.2.2.1 **Stimulationssystem mit stationärem Impulsgeber**

Ein in vielen Arbeitsgruppen etabliertes Verfahren zur Neurostimulation am Tiermodell ist die Impulsabgabe mittels eines stationären Impulsgebers (siehe Abb. 2). Als Vorbereitung hierfür erfolgt eine stereotaktische Implantation von Elektroden in vorher festgelegte Zentren des Gehirns. Diese werden intraoperativ fest mit dem Schädelknochen des Tieres verbunden und verbleiben während der gesamten Versuchszeit im Tier.

Als Verbindungspunkt mit dem Impulsgeber werden die Kontakte der Elektrode mittels transkutanem Stecker nach außen geleitet. Für den Zeitraum der Stimulation erfolgt eine Verbindung der implantierten Elektrode mit dem externen Impulsgeber, mittels Kabelverbindung. Vorteile dieses Verfahrens sind die einfache Handhabung und uneingeschränkte Ausbaumöglichkeit sowie Zugänglichkeit der Impulsgebereinheit. So lassen sich während des Stimulationszeitraumes komplexe Technologien kombinieren und Parameter anpassen, ohne dass dies für das Tier eine zusätzliche Belastung bedeutet (Tan et al., 2010).

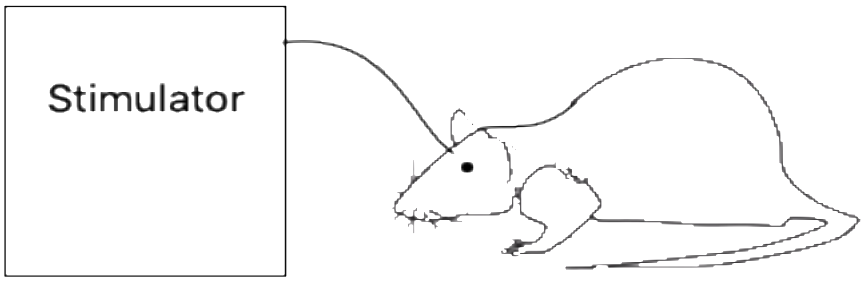


Abbildung 2: Darstellung einer THS mit extrakorporalem, stationärem Impulsgeber
(© abgewandelt nach Tan et all 2010)

Der größte Nachteil bei diesem Verfahren besteht in dem deutlich beschränkten Bewegungsspielraum für das Tier während der Stimulationsphasen. Eine Langzeitstimulation von Versuchstieren ist daher nicht durchführbar. Die Möglichkeit der Stimulation beschränkt sich auf einen definierten Zeitraum, beispielsweise während der Durchführung von Verhaltenstestungen, also im Sinne einer „Kurzzeit Stimulation“. Hieraus leitet sich jedoch das Unvermögen der Erforschung von Langzeiteffekten durch die Neurostimulation auf das umgebende Hirngewebe ab. Der perkutane Verlauf der Kabelverbindung stellt dazu ein nicht unerhebliches Infektionsrisiko für die Versuchstiere dar.

1.2.2.2 **Stimulationssystem mit mobilem, nicht-implantiertem Impulsgeber**

Neben der Möglichkeit einer komplett vom Tier getrennten Stimulationseinheit gibt es bereits Verfahren, bei denen der Impulsgeber an das Tier gekoppelt ist. Somit führt das Tier die komplette Stimulationseinheit konstant bei sich und hat folglich einen erweiterten Bewegungsradius zur Verfügung (siehe Abb. 3). Diese Systeme ermöglichen eine konstante Stimulation über einen längeren Zeitraum, auch außerhalb von bestimmten Testsituationen. Aufgrund der direkten Platzierung am Tier ist es erforderlich, deutlich kleinere und leichtgewichtigere Stimulatoren zu verwenden. Darüber hinaus müssen sie ein hohes Maß an Erschütterungen und äußeren Einflüssen wie Staub standhalten. Durch den ebenfalls perkutanen Verlauf der Kabelverbindungen werden die Tiere einem nicht unerheblichen Infektionsrisiko ausgesetzt.

Für den autarken Betrieb müssen diese Systeme mit einer geeigneten Energiequelle, mit ausreichender Laufzeit und erforderlicher Spannung, ausgestattet sein. Ein großer Vorteil nicht implantierter Impulsgeber besteht in der guten Zugänglichkeit und der Möglichkeit eines Batteriewechsels. Die Befestigung des Impulsgebers erfolgt hierbei meist mithilfe einer rucksackähnlichen Textilkonstruktion.

Abbildung 3: Funktionelle Testung externer DBS-Impulsgeber

(A) Stepping-Test (B) Korridor-Test (© mit freundlicher Genehmigung von K. Badstübner)

Hiermit können sich die Tiere frei bewegen und auch langstreckige Testungen wie den Korridor-Test absolvieren. Bisherige Anwendungen ergaben den Nachteil einer hohen, technischen Störanfälligkeit, beispielsweise dem Abstreifen von Stimulatoren oder zerbissenen Kabeln. Darüber hinaus erscheint das Verhalten mancher Tiere durch die externen Bauteile (z.B. Rucksack) verändert beziehungsweise deren Bewegungsradius durch die Halterungen, eingeschränkt (Badstuebner et al., 2017).

1.2.2.3 **Stimulationssystem mit mobilem, teilimplantiertem Impulsgeber**

Neben den bisherigen Varianten, bei denen die Platzierung des Impulsgebers extern erfolgte, gibt es bereits Erfahrungen mit THS-Modellen, welche weitgehend in das Tier implantiert werden (siehe Abb. 4). Die gesteigerte Invasivität bedeutet zwar einen erhöhten Aufwand bei der Installation des Systems, ergibt jedoch auch einige Vorteile.

Der erhöhte Aufwand entsteht vor allem in der Präparation der Stimulatorkomponenten. Diese müssen für eine Implantation vorbereitet, verkapselt und getestet werden. Im Vergleich zu den Varianten in vorangegangenen Kapiteln ist eine nachträgliche Reparatur- beziehungsweise der Austausch einzelner Komponenten bei dieser Form von THS nicht mehr möglich.

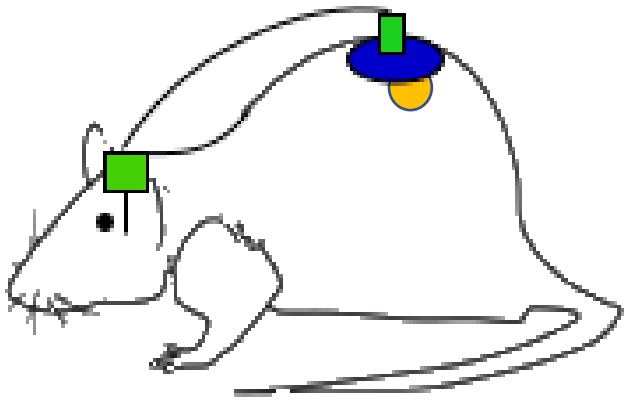


Abbildung 4: Platzierung eines teilimplantierten THS-Systems

Die Implantation des Systems erfolgt in mehreren Schritten. Nach Präparation und Verkapselung der Stimulatoren, hier mittels biokompatiblen Silikons, erfolgt die Implantation von Elektrode und Impulsgeber (blau) mit transkutaner Ausleitung der an diesen befestigten Steckverbindungen (grün). Anschließend werden die extern liegenden Komponenten, bestehend aus Batterien (gelb) und Kabelverbindungen, angebracht. (© abgewandelt nach Alpaugh et. all 2019)

Als vorteilhaft zeigt sich hierbei jedoch der weitgehend uneingeschränkte Bewegungsspielraum der Tiere, welcher auch unabhängig von Veränderungen der Körpergröße besteht. Auch die Anfälligkeit des Systems gegenüber äußeren Störfaktoren erscheint, durch die Implantation der meisten Komponenten deutlich minimiert. Bei der hier vorgestellten Variante eines implantierten THS-Systems handelt es sich um ein teilimplantiertes System. Bei diesem befinden sich die meisten Komponenten, innerhalb des Tieres. Einige, wenige Bauteile werden außerhalb platziert.

In diesem Fall handelt es sich um Steckverbindungen, welche transkutan nach außen geführt werden und so die Kontrolle über die Funktionsfähigkeit und Möglichkeiten von Messungen, wie den Impedanzen, bieten. Als nachteilig erweist sich dabei das erhöhte Verletzungs- und Infektionsrisiko der Tiere (Alpaugh et al., 2019).

1.2.3 Eigenschaften eines voll-implantationsfähigen Stimulationsmodelles

Anhand der beschriebenen Beispielmodelle zeigt sich eine große Diversität in der Durchführung von experimentellen Studien der THS im Tiermodell. Die Wahl der geeigneten Methode hängt hierbei maßgeblich von dem geplanten Versuchsablauf ab. Kurzzeitstimulationen, welche nur auf bestimmte Testsituationen beschränkt sind, lassen sich am einfachsten mit stationären Stimulatoren realisieren. In der Anwendung von Langzeitstudien hingegen erscheint es sinnvoll, möglichst autark arbeitende Systeme einzusetzen, welche die Tiere wenig beeinflussen und eine geringe Störanfälligkeit aufweisen.

Eine Möglichkeit, Stimulationssysteme an Versuchstieren anzubringen, besteht darin, diese mithilfe eines chirurgischen Eingriffs zu implantieren. Hierbei zeigt sich eine starke Äquivalenz zu gängigen Verfahren in der Humanmedizin. Um ein System komplett implantationsfähig zu machen, bedarf es umfangreicher Vorbereitungen und Entwicklungen. So müssen die verwendeten Komponenten biokompatibel verkapselt und so für den Einsatz in einem Organismus vorbereitet werden. Hierbei wird auch die Funktionsweise in einem anaeroben Bereich, ohne zu starke Wärmeentwicklung, vorausgesetzt.

Eine weitere Hürde besteht in der schlechten Zugänglichkeit zu den implantierten Komponenten. Einmal verkapselt und implantiert ist ein Austausch oder eine Reparatur einzelner Bestandteile kaum mehr möglich. Eine garantierte Laufzeit entsprechend der geplanten Versuchslänge ist daher unabdingbar. Darüber hinaus müssen etwaige Systeme in der Lage sein, den aktuellen Funktionszustand für den Beobachter ersichtlich anzuzeigen.

Zusammenfassend lassen sich als Anforderungen an ein in vollem Umfang implantationsfähiges THS-System unter anderem folgende Punkte aufführen: miniaturisiert, thermoneutral, biokompatibel, implantationsfähig, mechano-resistent, programmierbar/kommunikationsfähig (Plocksties et al., 2021a).

1.3 Zielsetzung der Arbeit

Die Tiefe Hirnstimulation stellt seit ihrer Einführung vor annährend 30 Jahren eine aussichtsreiche und zunehmend etablierte Therapieoption, vor allem bei neurologischen Erkrankungen, wie dem Morbus Parkinson, dar. So profitieren ein steigendes Patientenklien-

tel mit neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen von der Möglichkeit, pathologische Prozesse von Hirnstrukturen mittels gezielter Neurostimulation positiv zu beeinflussen. Neuere Forschungsergebnisse verdeutlichen den positiven Einfluss auf ein immer größer werdendes Krankheitsspektrum, ohne dass der Mechanismus hinter diesen Erkenntnissen vollständig bekannt ist. Hieraus ergibt sich die Problematik, neben den klinisch eindrücklichen Verbesserungen auch die hieraus eventuell entstehenden Nebenwirkungen ausreichend zu verstehen und abzuwenden. Da sich gezielte Studien über die Wirkungsweise auf molekularer Ebene aus ethischen Gesichtspunkten bei menschlichen Probanden verbieten, bleibt als derzeit einzige Möglichkeit die Nachahmung und Behandlung entsprechender Krankheitsbilder im Tiermodell.

Bei der Durchführung dieser Testungen stellt sich die Frage nach der Übertragbarkeit und Umsetzbarkeit. Aus diesem Grund ist es aus wissenschaftlicher Sicht sinnvoll, Modelle zu entwickeln, welche möglichst identisch zu den verwendeten Methoden in der klinischen Praxis sind. Darüber hinaus sollte aus ethischen Gründen die Funktionalität optimiert werden, um unnötige Tierversuche mit womöglich zweifelhafter Aussagekraft zu vermeiden sowie die Belastung der Tiere soweit möglich zu reduzieren.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, ein bislang etabliertes, weitgehend extrakorporales THS System beim Hemiparkinson-Modell der Ratte (Standardverfahren) auf dessen Funktionalität hin zu testen. Darüber hinaus wird erstmals ein neues Stimulationssystem biokompatibel verkapselt und vollständig intrakorporal in die Versuchstiere implantiert. Diese Variante stellt sich als praxisorientierter dar, bei deren Einsatz eine bessere Akzeptanz durch die Tiere und eine geringere, technische Störanfälligkeit angestrebt wird. Aus den genannten Ansätzen ergeben sich daher folgende Fragestellungen:

1. Zeigt der Einsatz des bisher verwendeten extrakorporalen Stimulationssystems (Standardverfahren) im Tiermodell der Ratte Wirkung?
2. Lässt sich das neu entwickelte, vollständig intrakorporal liegende, Stimulationsmodell in die Tiere implantieren?
3. Halten Verkapselung und Technik des neuen Stimulationsmodells den Anforderungen unter Implantationsbedingungen stand?

2 Material und Methodik

2.1 Geräte und Verbrauchsmaterialien

Tabelle 4: Auflistung Verbrauchsmaterialien und Geräte

Verbrauchsmaterial/Gerät	Hersteller
Alleinfuttermittel, pelletiert	Ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest, D
Alkohol-Tupfer	B. Braun Melsungen AG, D
Ankerschraube, vergoldet (M1,4; L 3,4 mm)	MailShop GmbH Augenoptik, M hlacker, D
Aufspannvorrichtung HP16047D	Agilent Technologies Deutschland GmbH, B blingen, D
Batterien (12 V) Duracell®	Procter and Gamble Switzerland SARL
Batterien (3 V) CR 2032 Lithium	Eunicell; Berlin, D
Bipolare Pt/Ir-Elektroden	FHC Inc., Bowdoin, USA
Buchse M52-500XX45	Harwin Europe, UK
Crimphülsen- und Zange	RS Components GmbH, M rfelden-Walldorf, D
Dentalbohrer	Foredom®, Bethel, USA
Dieffenbach-Gefäßklemmen (Größe 3,5 cm)	Allgaier Instrumente, Frittlingen/Tuttlingen, D
Golddraht (Ø 0,2 mm)	Goodfellow GmbH, Bad Nauheim, D
Hamilton Mikroliterspritze (5 µl)	Postnova Analytics, Landsberg/Lech, D
Infusionsset, Intrafix®	B. Braun Melsungen AG, D
Injektionskanülen (G 16)	B. Braun Melsungen AG, D
Impedanzspektrometer Sciospec ISX3	Sciospec Scientific Instruments, Pausitz, D
Impedanzspektrometer (4194A Impedance/ Gain-Phase Analyzer)	Hewlett Packard, Palo Alto, USA
Kabel (Einzelader Ø 0,6 mm)	Conrad Electronic SE, Hirschau, D
Korridor-Test-Anordnung	Eigenkonstruktion der Werkstatt des Institutes f r Anatomie der Universität Rostock
Labornetzgerät (Strom- und Spannungsquelle)	Voltcraft, Conrad Electronic AG, Wollerau, CHE
Lanzetten	Carl Roth, Karlsruhe, D
Lötstation	WEIDINGER GmbH, Eichenau, D
Lötzinn, bleifrei	Conrad Electronic SE, Hirschau, D
Mischpistole 10:1 mit dazugehörigen Mischkanülen	M+W Dental Webshop, B dingen, D
Reaktionsgefäße (1,5 ml)	Eppendorf, Hamburg, D
Rotlichtlampe	Petra, Burgau, D
„Rodent-Rotometer“	Eigenentwicklung des Lehrstuhls f r Biophysik
Schermaschine für Tierhaar	Aesculap, T bingen, D
Schrumpfschlauch, biokompatibel	RS Components GmbH, M rfelden-Walldorf, D
Skalpelle	Bayha®, Tuttlingen, D

Spritzen (1 ml, 5 ml)	B. Braun Melsungen AG, D
Stereotaktischer Apparat mit Rattenadapter	Stoelting CO. Wood Dale, Illinois, USA
THS-Stimulatoren (Extrakorporal)	R ckmann & Arndt, Berlin, D
THS-Stimulatoren (Intrakorporal)	Eigenentwicklung des Instituts für angewandte Mikroelektronik und Datentechnik; Leitung: Prof. Timmermann, Warnemünde, D
Tier-Funktionstextil	Lomir Biomedical inc., Malone, USA
Tierwaage	Ohaus, Pine Brook, NJ, USA
Tektronix TDS2014B 4-Kanal Oszilloskop	Tektronix, Inc.
Unipolare Pt/Ir-Elektroden	Polyfil, Zug, Schweiz
AWG-Litzen; 0,22mm² aus 7*0,20	metrofunk Kabel-Union, Berlin
Narkosegerät, EZ-108SA	E-Z Systems Inc., P.O. Box 3544, Palmer, PA 18043

Tabelle 5: Auflistung Reagenzien und Chemikalien

Reagenz/Chemikalie	Hersteller
2-Komponentenkleber (Luxatemp Plus, 76 g Kartusche)	DMG Chemisch-Pharmazeutische Fabrik GmbH, Hamburg, D
6-OHDA	Sigma®, Deisenhofen, D
Apomorphin	Teclapharm, L neburg, D
Diethyl-Ether	Carl Roth, Karlsruhe, D
Ethanol 70 %	Carl Roth, Karlsruhe, D
Epoxidklebstoff auf Silberbasis (RS 186-3616)	RS Components GmbH, M rfelden-Walldorf, D
Paraformaldehydlösung (3,7%ig)	Carl Roth, Karlsruhe, D
Ketamin-Hydrochlorid, Ketanest S® (25 mg/ml)	Pfizer Deutschland, Berlin, D
Kochsalzlösung	Fresenius Kabi Deutschland, Bad Homburg, D
Metamizol (Novaminsulfon-ratiopharm®, 500mg/ml)	Ratiopharm GmbH, Ulm, D
Silikon, biokompatibel	NuSil Technology, Carpinteria, USA
Vidisic® Augengel	Bausch und Lomb GmbH, Berlin, D
Xylazin, Rompun® 20 mg/ml Injektionslösung für Tiere	Bayer Austria, Wien, A

2.2 Klassifikation und Haltung

Als Versuchstiere für die Durchführung der Experimente wurden Albino Ratten verwendet. Hierbei handelte es sich ausschließlich um männliche Ratten des Stammes Wistar Han. Bezogen wurden die Tiere von Charles River Laboratories (Charles River Laboratories, Research Models and Services Germany GmbH, Sulzfeld, Deutschland).

Bei Übernahme hatten die Tiere ein Körpergewicht von circa 200 Gramm. Gehalten wurden die Ratten in einem separaten Versuchstierstall, in welchem ein künstlicher 12 Stunden Tag/Nacht-Zyklus vorherrschte. Als Nahrung erhielten sie für Nagetiere spezialisierte Pellets (Ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest, Deutschland) sowie Wasser. Die Tiere hatten jederzeit Zugang zu Futter und Wasser, in ausreichender Menge und Qualität.

Die Tiere wurden in Einzelhaltung mit offener Käfighaltung. Bei der Betreuung und Durchführung der Versuche wurde ein größtmögliches Augenmerk auf eine artgerechte und tierschutzkonforme Haltung der Tiere gelegt. Die Haltung und sämtliche Versuche an den Tieren wurden nach Richtlinie 2010/63/EU bzw. dem deutschen Tierschutzgesetz der Tierschutz-Versuchstierverordnung durchgeführt.

Die durchgeführten Tierversuche wurden vollumfänglich durch die zuständige Tierschutzbehörde des Landesamtes für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern genehmigt und kontrolliert (Az: LALLF M-V/ 7221.3-1-051/17). Als versuchsdurchführende Person fungierte Frau Dr. rer. nat. K. Badstübner. Herr Martin Nüssel arbeitete als Assistent unter ständiger Aufsicht von Frau Dr. rer. nat. K. Badstübner.

2.3 Versuchsablauf und Gruppenorganisation

Für die Versuchsdurchführung wurden zwei Versuchsreihen gebildet. Aus organisatorischen Gründen wurden die Versuche der verschiedenen Versuchsreihen zeitlich hintereinander durchgeführt.

Zu Beginn erhielten alle Tiere eine Eingewöhnungszeit von mindestens einer Woche.

Für den Vergleich der verschiedenen Eigenschaften wurden die Tiere in mehrere Untergruppen aufgeteilt. Die Versuchsreihe eins bezog sich auf den Nachweis der Funktionalität des bisher verwendeten, extrakorporalen THS-Systems. Hierfür erfolgte ein Vergleich der Hypokinese und des sensomotorischen Neglects. Diese stellten typische Symptomatiken des Morbus Parkinson am Tiermodell dar. Dazu erfolgte eine Testung der Tiere aus Gruppe eins, zu verschiedenen Zeitpunkten und im Vergleich zu den Testleistungen der als Kontrollgruppe fungierenden Gruppe zwei (siehe Tab. 6).

Tabelle 6: Einteilung der verwendeten Tiere in Untergruppen

Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
• Läsion der SN rechtsseitig mittels 6-OHDA, erfolgreich • Stimulation mittels extrakorporaler THS	• Kontrollgruppe • Keine chirurgischen Interventionen	• Läsion der SN rechtsseitig mittels 6-OHDA, nicht erfolgreich (non-responder) • Stimulation mittels mobiler, intrakorporaler THS

Tabelle 7: Testablauf der Versuchsreihe 1

Zeitpunkt	Gruppe	Test
Nach der Läsionierung mittels 6-OHDA, noch keine THS	• Gruppe 1 • Gruppe 2	• Stepping-Test • Korridor-Test
Nach der Läsionierung mittels 6-OHDA und 3-wöchiger THS	• Gruppe 1	• Stepping-Test • Korridor-Test

In Konsens mit der zuständigen Tierschutzbehörde und aus ethischen Gründen erfolgte die Implantation der intrakorporalen Stimulatoren in Gruppe drei als Pilotprojekt an Tieren, welche in der Läsionskontrolle (siehe Kap. 2.3.1) durchgefallen und daher für weitergehende Versuche zum Beispiel in Gruppe eins nicht mehr geeignet waren. Dies stellte eine Voraussetzung für die Genehmigung weiterführender funktioneller Testungen bei sich ergebender Funktionalität und erkennbarem Nutzen dar.

Aus diesem Grund erfolgte keine weitere Testung mittels der vorab verwendeten Verhaltenstests (Stepping- und Korridor-Test) (siehe Tab. 7). Die zu erfassenden Aspekte beschränken sich auf den Verlauf von Körpergewicht und Befindlichkeit, als Indikatoren für die Akzeptanz des THS-Systems durch die Versuchstiere (siehe Tab. 8).

Tabelle 8: Testablauf der Versuchsreihe 2

Zeitpunkt	Gruppen	Test
Nach der Läsionierung mittels 6-OHDA erfolgreich bzw. als non-responder mit 3-wöchiger THS	• Gruppe 1 • Gruppe 3	• Gewichtsverlauf • Score Befindlichkeit

2.3.1 Selektion durch Apomorphin-Rotationstest

Als Grundlage für die Einteilung in die verschiedenen Versuchsgruppen diente der Nachweis über die erfolgreiche Läsion mittels 6-OHDA (siehe Kap. 2.7.2). Hierzu erfolgte die Anwendung des Apomorphin-induzierten Rotationstest nach Ungerstedt und Arbuthnott (1970). Die Injektion von Apomorphin (Apomorphin, 10 mg/ml), einem Dopamin-Agonisten,

erfolgte intraperitoneal. Hierbei erhielten die Tiere 0,25 mg Apomorphin pro Kilogramm Körpergewicht in 0,9%iger Kochsalzlösung. Anschließend erfolgte die Erfassung möglicher Seitendifferenzen bei Rotationsbewegungen. Hierf wurden die Tiere in einem „Rodent-Rotometer“ platziert und die Rotationen fünf Minuten nach Injektion für 40 Minuten aufgezeichnet. Als erfolgreich läsioniert wurden hierbei die Tiere angesehen, welche mindestens zwei Umdrehungen pro Minute in entsprechender Richtung absolvierten (siehe Abb. 5).

Abbildung 5: „Rodent-Rotometer“
Gerät mit digitaler Anzeigetechnik und Erfassung beidseitiger Rotationen. (© mit freundlicher Genehmigung durch K. Badstübner)

2.4 Elektroden

Bei den für die Stimulation eingebrachten Elektroden handelte es sich um Pt/Ir-Elektroden (Pt90Ir10). Diese wurden speziell für den Einsatz von THS im Tiermodell entworfen (Polyfil, Zug/Schweiz, Abb. 6).

Die Elektroden wurden mit einer äußeren Isolationsbeschichtung bezogen, wobei ein 100 µm langer Bereich an den Spitzen unisoliert blieb. Aus physikalischen Gründen wurde zusätzlich eine Gegenelektrode implantiert, welche aus einem 30 mm langen und 0,2 mm dicken Golddraht (Goodfellow GmbH, Bad Nauheim, Deutschland) bestand. Die Implantation der Gegenelektrode erfolgte subkutan im Nackenbereich des Tieres. Für die Verbindung mit dem Stimulator wurden die 15 mm langen „Drahtst cke“ der Elektroden mit einem biokompatibel ummantelten Kabel verbunden. Aufgrund der hitzeempfindlichen Isolationsbeschichtung, wurde auf eine L tverbindung verzichtet und das Zusammenfügen stattdessen mittels leitfähigen Epoxidklebstoff auf Silberbasis (RS 186-3616, RS Components GmbH, M rfelden- Walldorf, Deutschland) durchgeführt. Die so entstandene Verbindungsstelle wurde anschließend mit einem biokompatiblem Schrumpfschlauchst ck umhüllt, welches zusätzlich mit biokompatiblem Silikon überzogen wurde.

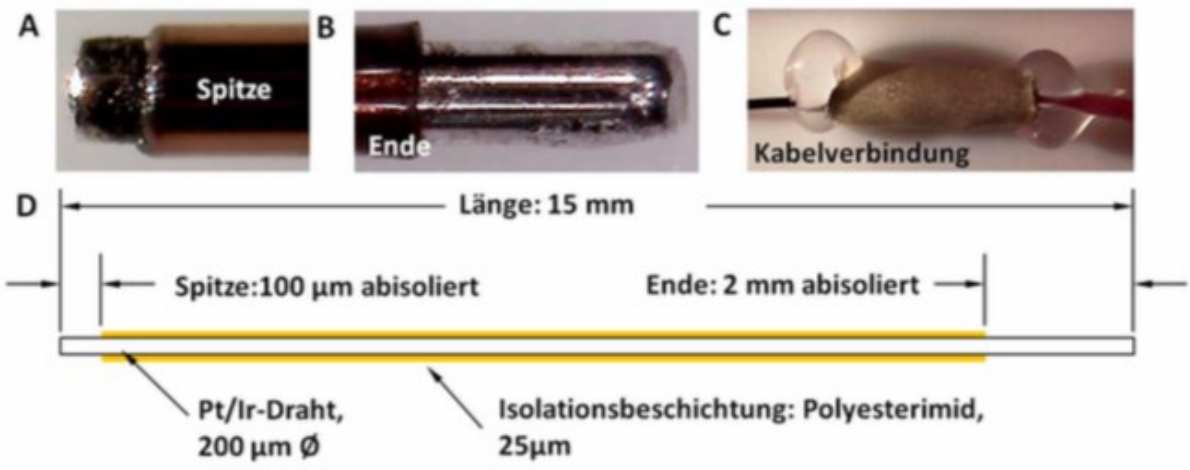


Abbildung 6: Aufbauschema Stimulationselektroden

Der Aufbau der Stimulationselektroden erfolgte aus Pt/Ir-Draht. Dieser wurde mittels Polyesterimid mit Ausnahme von freiliegenden Teilstücken an der Spitze (A) sowie am Ende (B) ummantelt. Die Verbindung mit dem Kabel erfolgte mittels leitfähigen Klebstoffes und Abschirmung durch biokompatibles Silikon (C). (© mit freundlicher Genehmigung durch K. Badstübner)

2.5 Stimulationssysteme

2.5.1 Extrakorporales Stimulator-System

Für die Verwendung von nicht implantationsfähigen Stimulatoren zur THS wurde sich eines etablierten und bereits mehrfach eingesetzten Systems bedient (Badstübner et. al 2013). Komponenten des Systems waren eine Stimulationselektrode, ein Impulsgeber sowie eine Spannungsquelle. Die Stimulationselektrode (siehe Kap. 2.4) wurde mittels operativen Eingriffes in das Zielgebiet implantiert. Nach der stereotaktischen Platzierung und Fixation der Elektrode (siehe Kap. 2.7.3) wurden die mit der Elektrode verbundenen Kabel subkutan verlegt und im Nackenbereich des Tieres transkutan ausgeleitet. Anschließend erfolgte nach entsprechender Zeitkarenz in einem zweiten Schritt die Anbringung textiler Haltevorrichtungen, welche entsprechend der Tiergröße bezogen (Lomir Biomedical Inc., Vertrieb durch F hr Medical Instruments (FMI) GmbH, Seeheim, Deutschland) und angepasst wurden. Mithilfe dieser Rucksack-ähnlichen Halterungen, die mittels Klettverschlusses verschlossen werden konnten, war es möglich, die verwendeten Stimulatoren an den Tieren zu befestigen, ohne ihren Bewegungsspielraum einzuschränken. Die Rucksäcke wurden in regelmäßigen Abständen auf ihre Passgenauigkeit kontrolliert und entsprechend den Umfangsveränderungen der Tiere angepasst. Als Impulsgeber dienten speziell hierfür bestückte Leiterplatinen (R ckmann & Arndt, Berlin, Deutschland; Harwin Europe, UK).

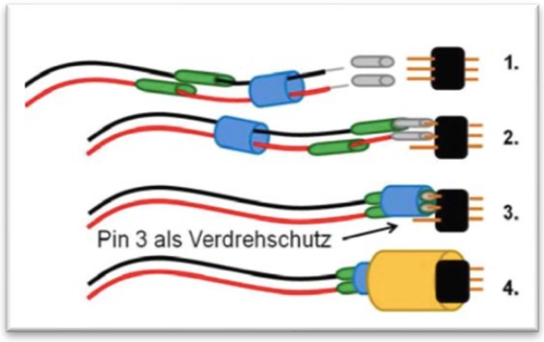


Abbildung 7: Bauschema Steckverbindungen

Der Aufbau der Steckverbindungen zwischen Stimulationselektrode und Impulsgeber erfolgte mittels 3-fach Steckpol und mehrschichtiger Isolierung mit Schrumpfschläuchen *(© mit freundlicher Genehmigung durch K. Badstübner).*

Geschützt durch eine Kapsel aus PMMA wurden die Impulsgeber innerhalb des vorab (siehe Abb. 8) beschriebenen Rucksackes platziert und mittels Steckverbindung (siehe Abb. 7) an das ausgeleitete Kabel der Stimulationselektrode angeschlossen. Die elektrische Versorgung wurde durch das Anlöten bzw. Platzieren in hierfür vorgesehene Halterungen von zwei Batterien sichergestellt. Hierbei handelte es sich um eine 12V Batterie (Duracell MN21 23 Alkali Batterie 12V) sowie zur Unterstützung eine 3V Knopfbatterie (VARTA CR2025 Lithium Knopfzelle 3V Batterie).

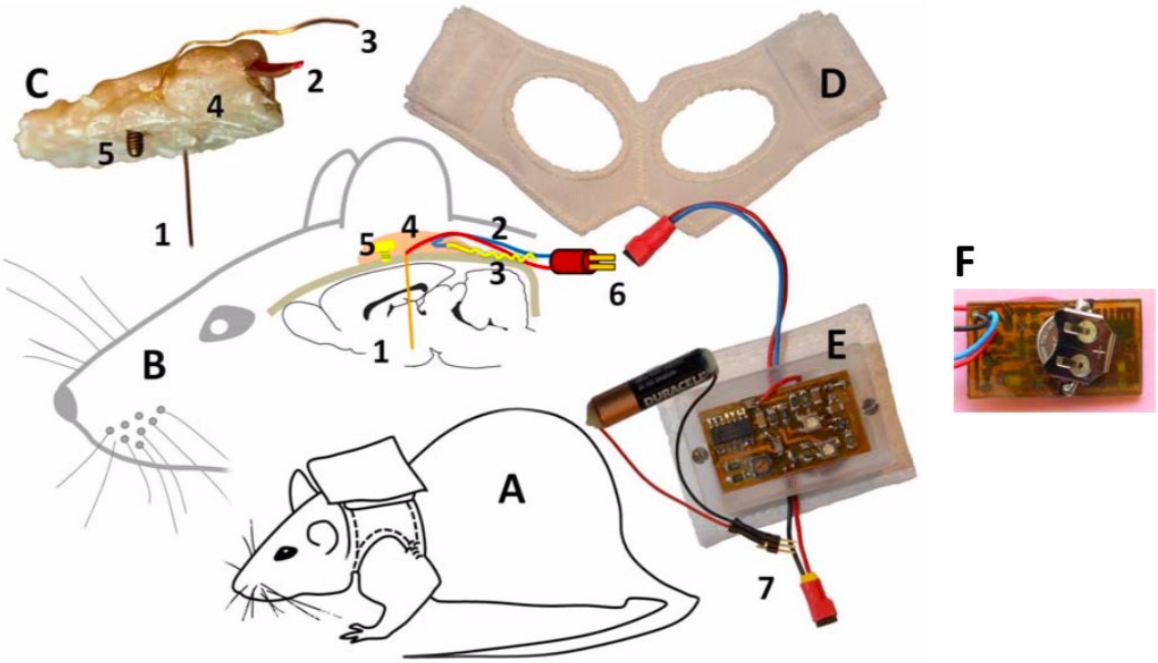


Abbildung 8: Aufbauschema extern platzierter Neurostimulator

(A) Skizze einer Ratte mit platzierter Stimulatorhalterung (Textil-Rucksack). (B) Skizze in sagittaler Darstellung der implantierten Stimulationselektrode (siehe Kap. 2.4). (C) Foto einer explantierten Stimulationselektrode mit Befestigungsmaterial. (D) Textil-Rucksack zur Impulsgeberbefestigung mit Klettverschluss. (E) Oberseite des verwendeten Impulsgebers in einer Kapsel aus PMMA mit Steckverbindungen zur Elektrode und 12V Batterie. (F) Unterseite Impulsgeber mit 3V Knopfbatterie *(© mit freundlicher Genehmigung durch K. Badstübner).*

Für die Stimulation wurden die Impulsgeber auf die Abgabe von rechteckigen Impulsen mit einer Frequenz von 130 Hz programmiert. Die monophasisch ausgegebenen Impulse hatten eine Breite von 60 µs und eine H e von 200 µA. Vor Platzierung erfolgten eine Funktionskontrolle und Feinjustierung mithilfe eines Oszilloskops (Tektronix, Inc.; siehe Abb. 9). Bei abweichenden Werten erfolgte die Nachjustierung der Stimulationswerte mithilfe auf der Platine verbauten Drehwiderständen.

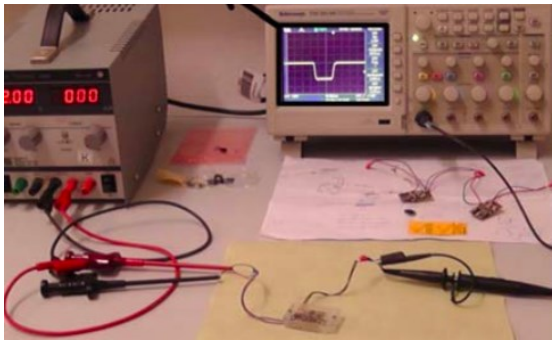


Abbildung 9: Kontrollmessung extrakorporaler Stimulator

Kontrolle der Stimulationsparameter mittels Oszilloskops unter Verwendung eines 10 kΩ Widerstands bei externer Spannungsquelle *(© mit freundlicher Genehmigung durch K. Badstübner).*

2.5.2 Intrakorporales Stimulator-System

Neben dem vorab beschriebenen Stimulator-System (siehe Kap. 2.5.1) kam auch erstmals ein durch die Mitglieder des Sonderforschungsbereiches 1270 „ELAINE“ der Universität Rostock entwickeltes Stimulator-System zum Einsatz, wofür eine vollständig intrakorporale Nutzung sämtlicher Komponenten konzipiert wurde.

Das System bestand ebenfalls aus einer Stimulationselektrode, einem Impulsgeber sowie einer Spannungsquelle. Als Stimulationselektrode kamen bei den Versuchen die identischen Modelle zum Einsatz, wie sie bereits bei den vorherigen Versuchen (siehe Kap. 2.5) verwendet wurden.

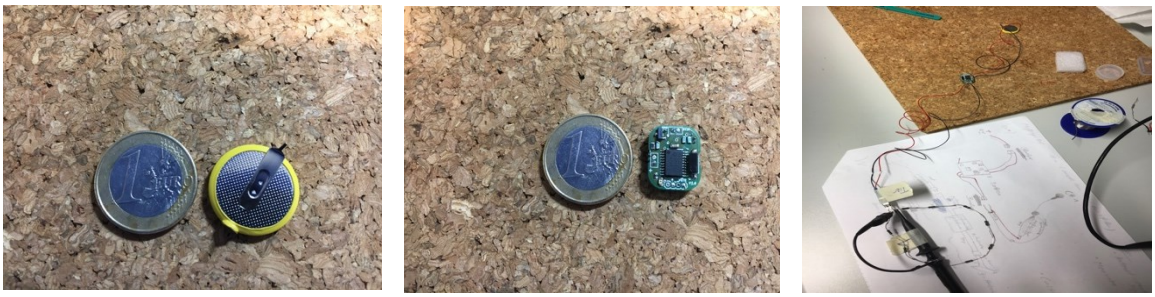
Als Impulsgeber fungierten miniaturisierte Leiterplatinen, welche vorab fertig bestückt und entsprechend programmiert wurden (Universität Rostock, Collaborative Research Centre 1270 “ELAINE“, AG: B03, Leitung: Prof. D. Timmermann). Die Impulsabgabe erfolgte in Form von Rechteckimpulsen mit 100 µA Stromstärke und 60 µs Pulsbreite sowie einer Frequenz von 130 Hz.

Um die Implantationsfähigkeit der Leiterplatinen herzustellen, wurden die Platinen biokompatibel verkapselt (siehe Kap. 2.5.3). Um eine ON-/OFF Schaltung der Stimulatoren durchführen zu können, waren diese mit einem Magnetschalter versehen, welcher mittels transkutaner Magnetstimulation ausgelöst werden konnte. Als Statuskontrolle für den Modus des

Geräts wurden die Platinen mit einer LED bestückt. Diese zeigte mithilfe verschiedenartiger Leuchtsignale den Funktionsstatus des Stimulators an.

Als Spannungsquelle für den Impulsgeber wurde eine biokompatibel verkapselte Knopfbatterie verwendet (VARTA CR2032 Lithium Knopfzelle 3 V Batterie). Für die Verbindungen zwischen den einzelnen Komponenten wurden vor der Verkapselung mit biokompatiblem Silikon ummantelte Kabel an die Bauteile gelötet (siehe Abb. 10).

Nach abschließender Kontrolle mittels Oszilloskops erfolgte die operative Implantation des Stimulator-Systems (siehe Kap. 2.7.4).



A) *B)* *C)*

Abbildung 10: Aufbau intrakorporales Stimulationssystem

A) Spannungsquelle (VARTA CR2032 Lithium Knopfzelle 3V Batterie); B) Impulsgeber; C) Testaufbau zur Spannungsmessung mittels Oszilloskops

2.5.3 Isolierung und Verkapselung

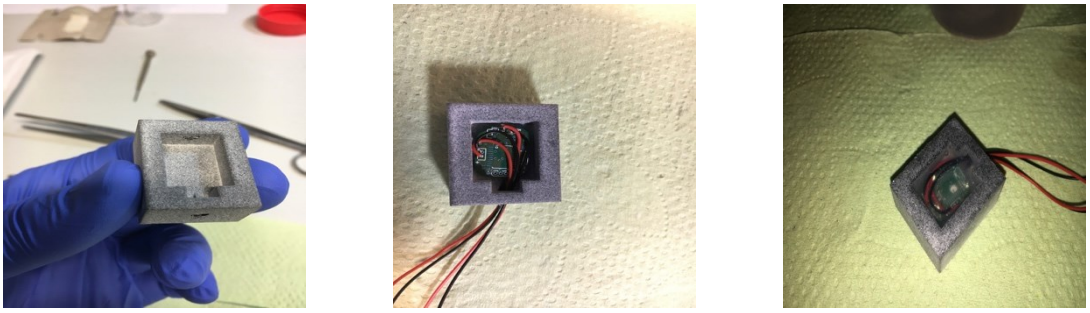
2.5.3.1 Version 1: Zwei-Komponenten Silikon

Um eine Verwendung des gesamten THS-Systems unter implantierten Bedingungen im Organismus möglich zu machen, bedarf es einer besonderen Beachtung auf die Isolierung und Abschirmung der verwendeten Bauteile, gegen die in diesem Milieu wirkenden Einflüsse, beispielsweise Feuchtigkeit und Reibungen. Darüber hinaus stellt ein lebender Organismus ein kompliziertes Biosystem dar, welches empfindlich auf Fremdkörper innerhalb dieses Kompartiments reagiert. So kann das Einbringen fremder Materialien zu massiven Immun- und Abstoßungsreaktionen führen, was nicht nur Auswirkungen auf das Material, sondern vor allem auf das Wohlbefinden des betroffenen Lebewesens haben kann. Benötigte Eigenschaften einer guten Abschirmung des THS-Systems sind neben der Dichtigkeit auch eine entsprechende Biokompatibilität. Hierzu eignen sich verschiedene Materialien, welche je nach Schwerpunktsetzung unterschiedliche Vorteile besitzen. Ein in der Isolierung elektronischer Materialien häufig eingesetztes Material ist Silikon. Diese synthetisch

hergestellten Silicium Polymere zeichnen sich je nach Beschaffenheit durch ein hohes Maß an Wärmebeständigkeit aus und bilden darüber hinaus ein hydrophobes Dielektrikum. Je nach Zusammensetzung erfüllen Silikone verschiedene Ansprüche der Biokompatibilität. Hieraus ergibt sich in der Medizin ein weites Anwendungsspektrum.

Zur Verkapselung und elektrischen Isolierung der Bauteile wurden diese in einem mehrzeitigen Gussverfahren mittels verschiedenartiger Silikone ummantelt (siehe Abb. 11). Hierfür wurden anhand der Bauteilproportionen mittels CAD-Software angepasste Gussformen erstellt, welche anschließend in 3D-Druckverfahren produziert wurden (Rapidobject GmbH, Weißenfelser Straße 84, 04229 Leipzig, Deutschland).

In einem ersten Gussverfahren erfolgte die Versiegelung und elektrische Isolierung der Bauteile Mithilfe eines niedrig viskosen Silikons zum Elektronikverguss (AS1700, ACC Silicons Ltd., Somerset, UK). Nach mehrtägiger Aushärtungszeit erfolgte in einem zweiten Gussverfahren der Aufzug einer biokompatiblen Silikonschicht als Außenhülle in einer größer proportionierten Gussform (WACKER SILPURAN® 4200).



A) *B)* *C)*

Abbildung 11: Verkapselung im Zweischicht-Gießverfahren mittels Silikons

A) Gussform aus 3-D-Druck Verfahren; B) Einpassung der Komponenten in die Gussform; C) Ausguss der Form mit Silikon

2.5.3.2 **Version 2: PEEK und Epoxidharz**

Bei der Verarbeitung und Benutzung von Stimulator-Systemen, welche nach der Vorgehensweise von Version eins (siehe Kap. 2.5.3.1) verkapselt wurden, zeigten sich im Laufe der Benutzung gewisse Defizite. Eine nähere Beschreibung dieser Defizite findet sich unter der Rubrik Ergebnisse (siehe Kap. 3.2.2). Ziel der Entwicklung eines neuen Stimulator-Systems ist die Zurverfügungstellung eines voll-implantationsfähigen Neurostimulators im Miniaturdesign, zur Langzeit Anwendung im Tiermodell. Um dieses Ziel über den bisherigen

Zeitraum mit Version eins hinaus weiter verfolgen zu können, wurden die bislang verwendeten Isolierungen neu konstruiert und weiterentwickelt.

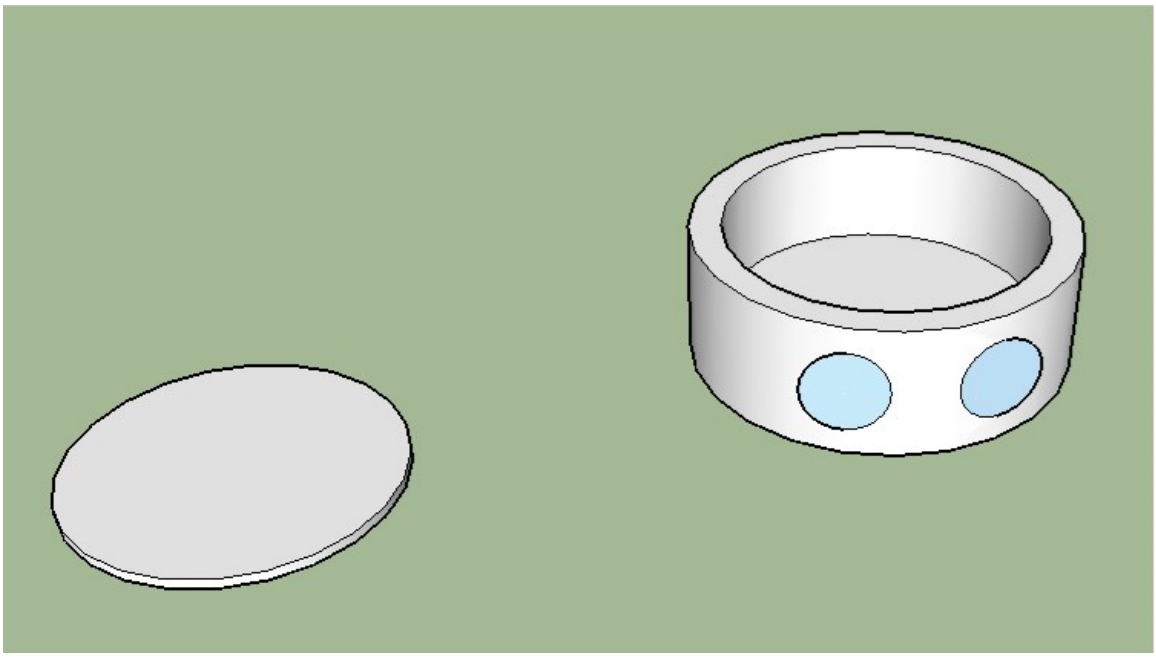
Kern der Weiterentwicklung war eine Abschirmung aller Bauteile, mit einer Hülle aus Polyetheretherketon (PEEK). Hierbei handelt es sich um einen hochtemperaturbeständigen, thermoplastischen Kunststoff. Chemisch gehört PEEK zur Stoffgruppe der Polyaryletherketone. Als moderner Hochleistungswerkstoff findet PEEK bereits breite Anwendung in verschiedensten Bereichen der Medizin. Mit seinen Materialeigenschaften (siehe Tab. 9) ist PEEK dabei eine interessante Alternative für den bisherigen Einsatz von Materialien, wie Titan, medizinischem Stahl oder Amalgam. Seit der offiziellen Zertifizierung von PEEK als Implantat Material durch die American Food and Drug Administration (FDA), nimmt das Einsatzspektrum, beispielsweise in der Orthopädie oder der Zahnheilkunde, stetig zu.

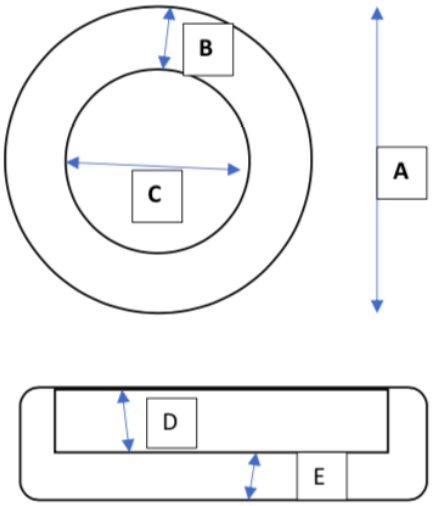
Tabelle 9: PEEK-Eigenschaften

PEEK (Poly-Ether-Ether-Keton)
Biokompatibel, lösungsmittelfrei
Compoundierbar mit verschiedenen Zusätzen
Verblendbar mit konventionellen Kompositen
Mehrere Verarbeitungsverfahren möglich
Hochbeständig gegenüber Verschleiß
Geringe Wasseraufnahme
Röntgentransparent
Thermisch stark belastbar
Leicht aufgrund niedriger Dichte
Elektrisch und thermisch isolierend
Beständig gegen Strahlung
Keine Plaqueadhärenz

Nach Schitalla et. all 2014

Vor allem das geringe Gewicht, die enorme Härte und Widerstandsfähigkeit sowie die Biokompatibilität machen PEEK interessant für die Verkapselung von Neurostimulatoren unter experimentellen Bedingungen. Die Planung der Kapselform erfolgte mittels CAD-Modell. Anhand dieser CAD Zeichnungen wurden die Kapselteile aus PEEK-Rohmaterial mittels Drehbank millimetergenau abgedreht (Institut für Physik, Feinmechanische Werkstatt, Universität Rostock, Albert-Einstein-Straße 23-24, 18059 Rostock) (siehe Abb. 12).





Maße Stimulator-Verkapselung in Millimetern

A. 18
B. 1,5
C. 15
D. 5
E. 1,5
F. Deckel: 15x1

Maße Batterie-Verkapselung in Millimetern

A. 26
B. 1,5
C. 23
D. 6
E. 1,5
F. Deckel: 26x1

Abbildung 12: Konstruktionsplan PEEK Kapsel

CAD Konstruktionsplan der PEEK Kapsel mit entsprechenden Abmessungen unterteilt in Stimulator- und Batteriekapseln

2.5.3.3 **Kabelverbindungen**

Die elektrische Verbindung zwischen den einzelnen Komponenten wurde durch den Einsatz spezieller, biokompatibler Kabel gewährleistet. Diese wurden im Rahmen der vorab beschriebenen Verkapselungen in die verschiedenen Bauteile integriert und während der Implantation mittels Verbindungselement zusammengefügt. Zum Einsatz kamen hierbei Polytetrafluorethylen (PTFE) ummantelte Kupferleitungen (AWG-Litzen; 0,22 mm² aus

7*0,20; metrofunk Kabel-Union, Berlin). Diese zeichneten sich durch eine hohe Belastbarkeit und aufgrund des inerten Isolationsmaterials vollständigen Biokompatibilität aus (siehe Tab. 10).

Tabelle 10: Eigenschaften von PTFE als Isolationsstoff

Schwere Entflammbarkeit
Ozonbeständigkeit
Keine Wasseraufnahme
Hoher Lichtbogenwiderstand
Resistent gegen Lösungsmittel
Beständigkeit gegen Mikrokulturen und Pilze
Hohe Witterungsbeständigkeit
Hohe Temperaturbeständigkeit
Biokompatibilität

(© abgewandelt nach metrofunk Kabel-Union, Berlin)

Die Verbindung zwischen den Kabeln der Hirnelektrode und dem Stimulator-Batterie-Komplex erfolgte durch eine Lötverbindung, welche mittels biokompatiblem Schrumpfschlauch (RS Components GmbH, M rfelden-Walldorf, D) und Epoxidharz Ausguss isoliert wurde.

2.6 Anästhesie

Die medikamentöse Komponente bestand hierbei aus einer speziellen Mischung („Mousemix“) von 10 mg Ketamin-Hydrochlorid (Ketanest S® 25 mg/ml, Pfizer, Karlsruhe, Deutschland) und 0,5 mg Xylazin (Rompun® 20 mg/ml Injektion für Tiere, 20 mg/ml, Bayer Austria, Wien). Diese wurden gewichtsadaptiert pro 100 g Körpergewicht dosiert und intraperitoneal (i.p.) injiziert.

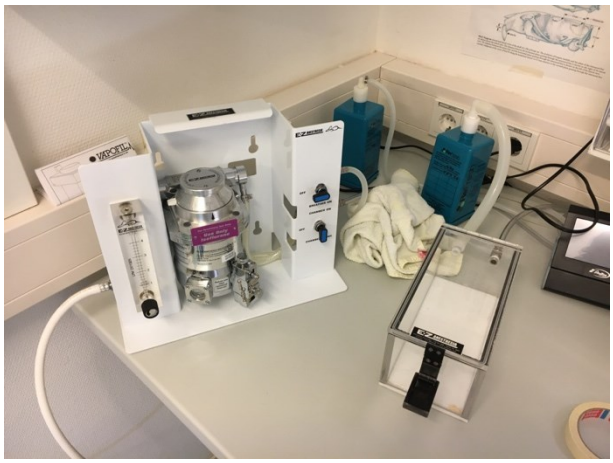


Abbildung 13: Narkosegerät

S-Ketamin wirkt stark analgetisch und dissoziativ anästhetisch. Xylazin besitzt neben ebenfalls analgetisch und hypnotisch wirkenden Eigenschaften vor allem einen muskelrelaxierenden Effekt. Als inhalative Komponente kam bei den Operationen Isofluran (Isofluran CP®, CP-Pharma Handelsgesellschaft mbH, Burgdorf, Germany) zum Einsatz. Dieses volatile Anästhetikum zeichnet sich durch ein geringes Risikopotential für Schleimhautirritationen aus und wurde in diesem Versuch mithilfe eines Nager-spezifischen Narkosegeräts (EZ-108SA, E-Z Systems Inc., P.O. Box 3544, Palmer, PA 18043) appliziert (siehe Abb. 13).

2.7 Operative Verfahren

2.7.1 Durchführung stereotaktischer Operationen

Um eine millimetergenaue Läsionierung und Platzierung zu gewährleisten, erfolgten die Operationen mittels stereotaktischer Verfahren. Dies wird durch die exakte Kartografie der einzelnen Hirnareale ermöglicht. Hierbei kam der Rattenhirnatlas nach Paxinos und Watson zum Einsatz [2007].

Während der Vorbereitungsphase der Operation erhielten die Tiere eine 3-tägige Schmerzprophylaxe mit Novaminsulfon (1 g/100 ml) als Trinkwasserzugabe.

Zu Beginn der Operation erfolgte eine gründliche Rasur des Operationsgebietes mithilfe eines elektrischen Tierhaarschneiders (Aesculap, T bingen, Deutschland). Anschließend wurden die Tiere in einem stereotaktischen Rahmen (Stoelting CO. Wood Dale, Illinois, USA) eingespannt. In der sogenannten „flat-skull“ Position ergab sich somit, mithilfe des Hirnatlas, ein reproduzierbares Operationsgebiet. Während der Operationen wurden die Ratten auf einer elektrischen Wärmematte gelagert, um eine Hypothermie zu verhindern. Um einer potenziellen Augenschädigung, durch den bei der Narkose ausgefallenen Lidschlussreflex entgegenzuwirken, wurde den Tieren prophylaktisch ein Tränenersatzgel (Vidisic®, Bausch und Lomb GmbH, Berlin, Deutschland) verabreicht.

2.7.2 Unilaterale 6-OHDA Läsion

Zur artifiziellen Induktion einer parkinsonoiden Symptomatik wurde durch die stereotaktische Injektion eines Zellgiftes (6-OHDA) eine selektive Läsionierung des medialen Vorderhirnbündels (MVB) hervorgerufen. Die Zielkoordinaten bei unilateraler Läsion des MVB relativ zum Bregma lauteten hierbei: anterior-posterior (AP) = -2,3 mm, medial-lateral (ML) = -1,5 mm und dorsal-ventral (DV) = -9 mm nach Paxinos und Watson (K. Badstübner, 2012). Nach der Hautpräparation und Freilegung der Suturen wurde das Bregma mit der Spitze der eingespannten 5 µl Hamiltonspritze (Postnova Analytics, Landsberg/Lech,

Deutschland) angesteuert und die Koordinaten an der Skala des Stereotaxie-Apparates abgelesen. Nach Berechnung der absoluten Zielkoordinaten in x/y-Richtung wurden diese angesteuert und mithilfe des Stifts auf dem Knochen markiert. Die Eröffnung der Schädeldecke erfolgte mithilfe eines Dentalbohrers. Hierbei wurde, unter Schonung der Dura mater, vorsichtig ein Loch durch die Schädeldecke gebohrt. Diese wurde vorsichtig mit einem Skalpell inzidiert und die Zielkoordinate in z-Richtung angesteuert. Nun erfolgte die Applikation von 4 µl 0,1-molarer Zitratpuffer-Lösung, welche 24 µg 6-OHDA enthielt. Durch die Applikation von 6-OHDA kam es zur selektiven Zerstörung Dopamin produzierender Neurone in der Zielregion.

Zur Erfolgsprüfung der Läsion, wurde nach zwölf-vierzehn Tagen der Apomorphin-induzierte Rotationstest (siehe Kap. 2.3.1) durchgeführt. Anschließend erfolgte die Selektion in „läsionierte“ und „non-responder“ Tiere.

2.7.3 Platzierung der Stimulationselektroden

Nach erfolgreicher Läsion, beziehungsweise im Falle der implantierten Stimulations-Systeme bei „non-responder“ Tieren, erfolgte die operative Platzierung der Stimulationselektroden. Die Implantation der THS-Elektroden wurde anschließend erneut stereotaktisch in den STN der vormals läsionierten Hemisphäre durchgeführt. Nach Paxinos und Watson [2007] ergaben sich hieraus folgende Koordinaten: anterior-posterior (AP)= -3,8 mm, medial-lateral (ML) = -2,4 mm und dorsal-ventral (DV) = -7,6 mm (K. Badstübner, 2012). Bei Ratten mit einem K rpergewicht ber 350 g wurde eine Korrektur der Koordinaten vorgenommen. Hier lauteten die Zielkoordinaten: anterior-posterior $(AP)_{>350g}$ = -4,0 mm, medial-lateral $(ML)_{>350g}$ = -2,4 und $DV_{>350g}$ = -8,1 mm.

Die Ansteuerung der Operationsstelle sowie die Schädeleröffnung erfolgten ident dem Verfahren der 6-OHDA Läsion (siehe Kap. 2.7.2). Zur späteren Fixation der Elektrode wurde eine sogenannte „Ankerschraube“ (MailShop GmbH Augenoptik, M hlacker, Deutschland) in dem Knochen um die Operationsstelle platziert. Nach Vorbohrung wurde diese mittels eines Mini-Schraubendrehers in den Knochen der linken Hemisphäre weniger als 1 mm eingedreht, sodass der Schraubenkopf aus dem Knochen herausragte.

Die eingespannte Elektrode wurde nun zur Zielkoordinate in z-Richtung in das Hirn abgesenkt. Die endgültige Fixation erfolgte mittels zwei-Komponentenkleber, welcher innerhalb von circa 30 Sekunden komplett aushärtete (Luxatemp-Automix Plus, DMG Chemisch-Pharmazeutische Fabrik GmbH, Hamburg, Deutschland). Somit ergab sich eine feste Verbindung von Elektrode, Knochen und Halteschrauben.

Nach Aushärtung des Klebers wurde die Klemmvorrichtung des Elektrodenkabels vorsichtig abgelöst. Anschließend wurden die von der Elektrode abgehenden Kabel, entsprechend dem angewendeten Stimulator-Modells verlegt.

Im Falle des nicht implantationsfähigen Stimulator-Systems erfolgte die subkutane Durchstechung der Kabel mit transkutaner Ausleitung im Schulter-Nacken Bereich der Tiere. Bei den implantationsfähigen Systemen erfolgte zudem die subkutane Konnektierung mit den Kabeln der Impulsgebereinheit.

2.7.4 THS-Implantation

Um eine vollständig intrakorporale Lage aller Komponenten zu gewährleisten, erfolgte die Implantation der Stimulationseinheit in den subkutanen Rückenbereich der Tiere. Die entsprechenden Kabel wurden anschließend subkutan getunnelt und mit den Kabeln der Stimulationselektrode verbunden. Anschließend wurden alle Wunden subkutan sowie intrakutan vernäht. Alle Komponenten wurden entsprechend den Anforderungen an langfristige Implantate zum Schutz gegen Feuchtigkeit verkapselt (siehe Kap. 2.5.3).

Nach ersten Probedurchläufen wurde die Operationszeit mit circa 60 Minuten veranschlagt.

2.8 Beurteilung, Tests und Scores

2.8.1 Stepping-Test

Die Durchführung des Stepping-Tests erfolgte nach Olsson *et al.* [1995] und Schallert *et al.* [2000]. Hierbei handelte es sich um ein Verfahren zur Erfassung des motorischen Defizites im Seitenvergleich. Während des Tests erfolgte eine Provokation von Ausfallschritten („adjusting-steps“) sowohl der läsionierten als auch der gesunden Vorderpfote des Tieres (siehe Abb. 14). Während der Durchführung wurden die Ratten mit einem speziellen Handgriff fixiert, sodass die Hinterpfoten nicht bewegt werden konnten und nur eine Vorderpfote den Boden berührte. Es erfolgte eine Erfassung der Schrittanzahl in Vor-und Rückhandrichtung, während einer definierten Zeitspanne von fünf Sekunden und über eine festgelegte Strecke von 90 cm. Die gezählten Schritte jeder Seite wurden, mithilfe des „Kontrolateralen Bias“, im Verhältnis der gesamten Schrittanzahl in Prozent betrachtet.

Abbildung 14: Stepping-Test

Stepping-Test am 6-OHDA Hemiparkinson Model der Ratte und THS mittels extrakorporalen THS-Systems (© mit freundlicher Genehmigung durch K. Badstübner)

2.8.2 Korridor-Test

Die Durchführung des Korridor-Tests erfolgte nach Dowd et al. [2005]. Hierzu wurden die Tiere fünf Minuten in einen 240 cm langen, sieben Zentimeter breiten und 23 cm hohen Korridor gesetzt (siehe Abb. 15). Der Korridor war in regelmäßigen Abständen beidseitig mit kleinen Futternäpfen mit speziellen Zuckerpellets (5TUT, TestDiet®, USA) bestückt. Den Ratten war es während des Versuchs möglich, den Korridor fünf Minuten frei zu erkunden und Zuckerpellets zu fressen. Nach jedem Durchlauf erfolgte eine erneute Bestückung der Futternäpfe mit jeweils fünf Pellets. Die Erfassung der Annäherungen an die Futternäpfe zur kontra- und ipsilateralen Seite erfolgte manuell. Es wurden sowohl das Fressen der Pellets, als auch die bloße Annäherung der Tiere an die Futternäpfe gewertet. Die gezählten Annährungen jeder Seite wurden mithilfe des „Kontrolateralen Bias“ im Verhältnis der gesamten Schrittanzahl in Prozent betrachtet.

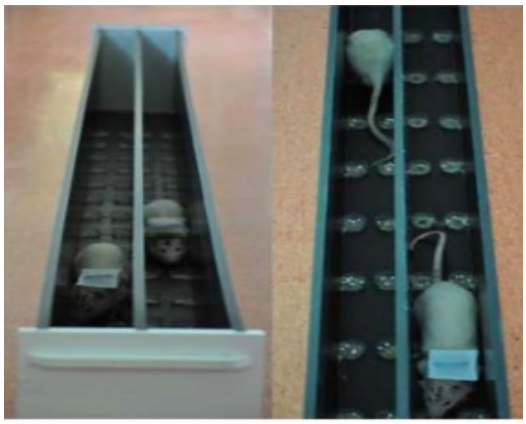


Abbildung 15: Korridor-Test

Korridor-Test am 6-OHDA Hemiparkinson Model der Ratte und THS mittels nicht-implantierten THS-Systems *(© mit freundlicher Genehmigung durch K. Badstübner)*

Erhebung von Gewichtsdaten

Für die Beurteilung von Leid und Schmerzen bei Versuchstieren gibt es im allgemeinen Konsensus verschiedene Surrogatmarker (Leuchtweis et al., 2020). Neben Verhaltensänderungen und Auffälligkeiten des Haarkleides, sind Veränderungen des Körpergewichts, insbesondere eine Gewichtsreduktion, als sensible Anhaltspunkte für eine Belastungssituation der Tiere anzusehen (Klune et al., 2019).

Eine Kontrolle und Protokollierung des Körpergewichts erfolgten täglich bei allen Tieren (siehe Abb. 16).

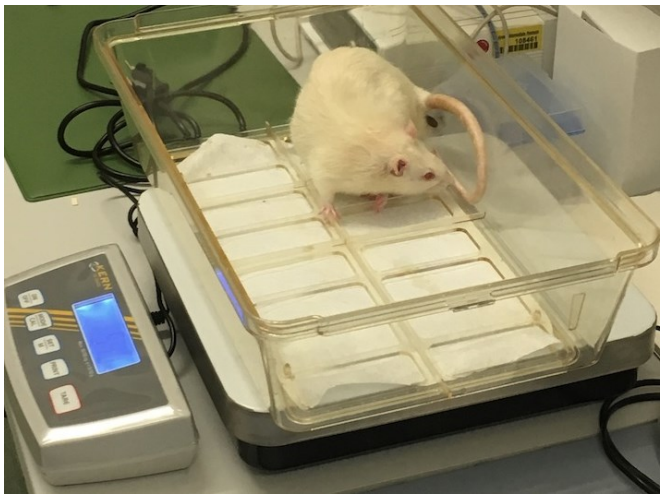


Abbildung 16: Körpergewicht Erfassung

2.8.4 Beurteilung von allgemeiner Befindlichkeit und Belastung

Neben Veränderungen des Körpergewichts zeigen Tiere, abgängig von der ausgesetzten Belastung, noch weitere klassifizierbare Veränderungen. So kommt es bei zunehmender Belastung zu Abweichungen vom natürlichen, artspezifischen Verhalten. Außerdem sind Veränderungen der Fellbeschaffenheit festzustellen. Für diesen Versuch wurde, zur genauen Klassifizierung der oben genannten Veränderungen, ein Score-System entwickelt (siehe Tab. 11).

Tabelle 11: Score-Sheet Tierbelastungen

Kategorie	Beobachtung	Punktwertung
Körpergewicht	Unbeeinflusst oder Anstieg	0
	Gewichtsreduktion < 5 %	1
	Gewichtsreduktion 5-10 %	5
	Gewichtsreduktion 11-20 %	10
	Gewichtsreduktion > 20 %	20
Allgemeinzustand	Fell glatt; Körperöffnungen sauber; Augen klar, glänzend	0
	Felldefekte (verminderte oder übersteigerte Körperpflege)	1
	Fell stumpf, ungeordnet; ungepflegte Körperöffnungen; Augen trüb; erhöhter Muskeltonus	5
	Schmutziges Fell; feuchte oder klebrige Körperöffnungen; unnormale Haltung; Augen trüb; hoher Muskeltonus	10
	Verkrampfungen, Lähmungen (Rumpfmuskulatur, Extremitäten); Atemgeräusche; Palpable Hypothermie	20
Spontanverhalten	Normales Verhalten (Schlafen, Reaktion auf Anblasen und Berührung, Neugier, Sozialkontakte)	0
	Geringe Abweichungen vom Normalverhalten (z.B.: nach Transport, nach dem Umsetzen, neuer Käfiggemeinschaft)	1
	Ungewöhnliches Verhalten (eingeschränkte Motorik oder Hyperkinetik; Stressreaktionen: gesträubtes Fell, Schnappatmung, gekrümmte Körperhaltung)	5
	Selbstisolation, Lethargie; ausgeprägte Hyperkinetik bzw. Verhaltensstereotypien; Koordinationsstörungen	10
	Selbstamputationen (Autoaggression, Autonomie)	20

2.8.5 Beurteilung von Wundverhältnissen

Die Erfassung der durch die chirurgischen Eingriffe entstandenen Wunden erfolgte bei allen Tieren mit implantierten Stimulatoren nach den folgenden Kriterien (siehe Tab. 12).

Tabelle 12: Score-Sheet Wundverhältnisse nach Southampton-Wound-Score

Hauptkategorie	Subkategorie	Punktwert
Wundtyp	chronisch	1
	akut	0
Lokalisation	Gleichbleibende Stelle	0
	Veränderte Stelle	1
Tiefe	Epidermis	1
	Subkutis	2
	Faszie, Muskel	3
	Sehnen	4
	Körperhöhle	5
Fläche (cm²)	gleichbleibend oder kleiner	0
	größer	1
Zustand	Epithel	0
	Granulation	1
	Fibrin	2
	Nekrose	3
Heilungsphase	Reparation	1
	Proliferation/Granulation	2
	Resorption	3
	Exsudation/Entzündung	4
Sekretmenge	keine	0
	wenig	1
	mäßig	2
	viel	3
Sekretfarbe	transparent	1
	bräunlich	2
	gelblich	3
	grünlich	4
Umgebungshaut	transparent	0
	bräunlich	1
	gelblich	2
	ekzematös	3
Automutilative Exkoriation	nein	0
	ja	1
Maßnahmen (z.B. Antibiose)	keine	0
	erforderlich	5

2.9 Perfusion und Gehirnentnahme

Nach Abschluss der Versuchsreihen erfolgte die schmerzfreie Tötung der Versuchstiere. Hierzu wurden die Tiere mittels Isofluran narkotisiert. Anschließend erhielten die Tiere eine Überdosis „Mousemix“[1]. Nach Todeseintritt erfolgte die Eröffnung des Thorax mit anschließender Kanülierung der rechten Herzkammer. Durch Einleitung einer 3,7%igen Paraformaldehyd Lösung erfolgte die Fixation der Gewebestrukturen, wodurch die Entnahme der Gehirne ermöglicht wurde.

2.10 Statistik

Die statistische Auswertung der gewonnenen Daten erfolgte anhand des Programms SPSS (IBM SPSS Statistics Version 25).

Zunächst wurde die Normalverteilung der Daten mittels Kolmogorov-Smirnov-Test überprüft. Bei fehlender Normalverteilung wurden anschießend nicht-parametrische Tests angewendet.

Im Falle unverbundener Stichproben wurde der Krushal-Wallis- sowie der Post-Hoc Mann-Whitney-Test und für verbundene Stichproben der Bonferroni-korrigierte Post-Hoc Wilcoxon-Test verwendet. Um Unterschiede der Daten an mehreren Zeitpunkten des Versuchsverlaufes festzustellen, wurde der Friedmann-Test angewendet.

Als Signifikanzniveau in dieser Arbeit galt ein Wert von α=0.05. Dementsprechend gelten Ergebnisse mit einem p≤0.05 als statistisch signifikant. Ein Signifikanzniveau von α=0.08, also p≤0.08, ist als Trend definiert (Pitak-Arnnop et al., 2010).

Die Literaturverwaltung erfolgte mittels Literatursoftware (Endnote X8, Clarivate Analytics).

[1] Ketamin/Xylazin

3 Ergebnisse

3.1 Ergebnisse Apomorphin Rotationstest

Wie in Kap. 2.3.1 beschrieben, wurden die Tiere nach den Ergebnissen im Apomorphin induzieren Rotationstest in verschiedene Gruppen selektiert. Der Nachweis einer erfolgreichen Läsion der unilateralen *Substantia nigra* (SN) bestand per Definition darin, wenn die Tiere über einen Zeitraum von 40 Minuten, mindestens 2 Umdrehungen pro Minute in die kontralaterale Richtung der läsionierten Seite machten.

Somit konnten die Tiere in erfolgreich läsionierte, responder Tiere (Gruppe 1) und nicht erfolgreich läsionierte, oder non-responder Tiere (Gruppe 3) unterschieden werden (Tabl. 13+14).

Tier-ID	Rotationen gesamt	Rotationen/min	Ergebnis
3	121	3.03	responder
22	92	2.3	responder
25	96	2.4	responder
35	82	2.05	responder
286	88	2.2	responder
298	91	2.28	responder

Tabelle 13: Ergebnisse Rotationstest Gruppe 1 (Responder).

Rotationen gesamt über 40 Minuten; Rotationen pro Minute

Tier-ID	Rotationen gesamt	Rotationen/min	Ergebnis
303	76	1.9	non-responder
304	68	1.7	non-responder
310	59	1.48	non-responder
330	74	1.85	non-responder
511	51	1.28	non-responder
513	46	1.15	non-responder

Tabelle 14: Ergebnisse Rotationstest Gruppe 3 (non-Responder).

Rotationen gesamt über 40 Minuten; Rotationen pro Minute

Somit ergab sich für die Gruppe der erfolgreich läsionierten Tiere (Responder) eine Gruppenstärke von n=6. Ebenso wurde eine Gruppe mit einer Größe von n=6 nicht erfolgreich läsionierter Tiere (Non-Responder) zusammengestellt.

3.2 Ergebnisse Verhaltenstests ohne THS

3.2.1 Stepping-Test

Wie in Kap. 2.8.1 beschrieben, wurde der Stepping für jede Vorderpfote in Vorwärtsrichtung (Vorhand) und in Rückwärtsrichtung (Rückhand) durchgeführt. Es erfolgte eine erste Testung bei den erfolgreich läsionierten Tieren der Gruppe 1 (Prä_Stimulation) und den Tieren ohne Läsionen (Kontrolle).

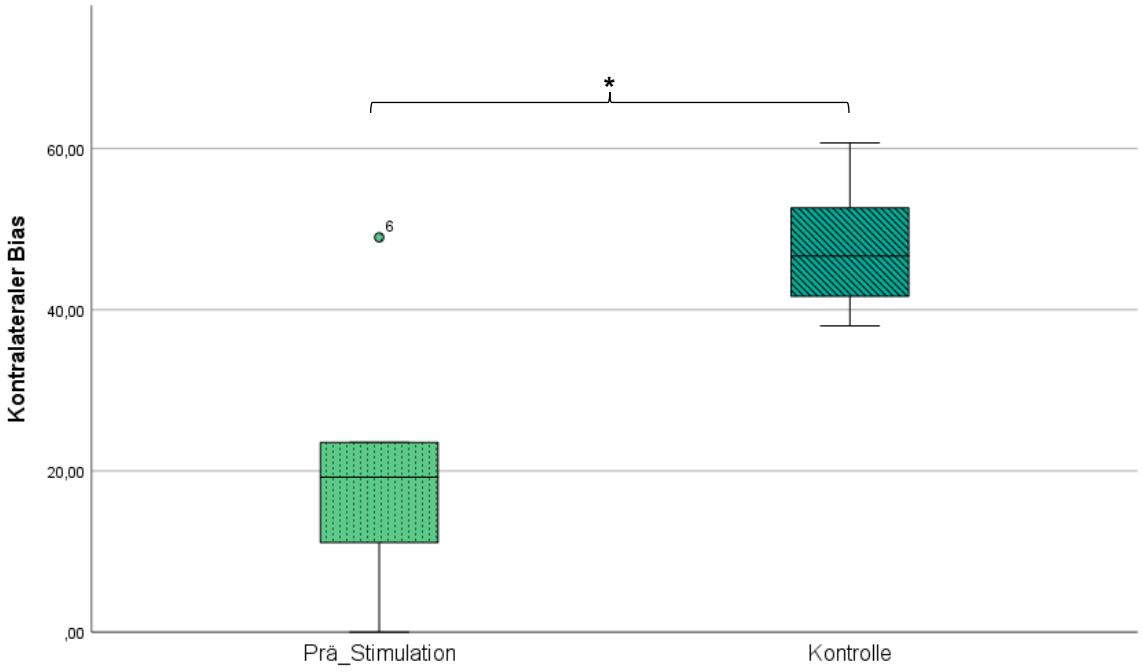


Abbildung 17: Stepping-Test ohne THS, Vorhand

Auswirkungen einer durch 6-OHDA-induzierten Läsion auf die Akinesie. Prüfung der forcierten Ausfallschrittrate bei seitlicher Bewegung in **Vorhand**. Die unterschiedlichen Boxplots repräsentieren hierbei verschiedene Subgruppen; grün gepunktet zeigt das Ergebnis der Tiere mit 6-OHDA-induziertem Hemiparkinson (Gruppe 1; n=6); Türkis gestreift zeigt das Ergebnis der Kontrollgruppe, ohne 6-OHDA-induziertem Hemiparkinson (Gruppe 2; n=6); Die statistische Prüfung auf signifikante Unterschiede erfolgte hierbei mittels nicht-parametrischer Testung. Für unverbundene, nicht normalverteilte Stichproben unter Verwendung des Mann-Whitney-U-Test. * (signifikant): p≤ 0,05.

Nach erfolgreicher Läsion der unilateralen *Substantia nigra* (SN) (Gruppe 1), kam es bei diesen Tieren zu einer signifikanten Verschlechterung des Kontralateralen Bias. Dies ließ sich sowohl bei der Durchführung des Stepping-Tests in Vorhand (p=0.025) als auch bei der Durchführung des Stepping-Tests in Rückhand (p=0.016) beobachten (Abb. 17+18).

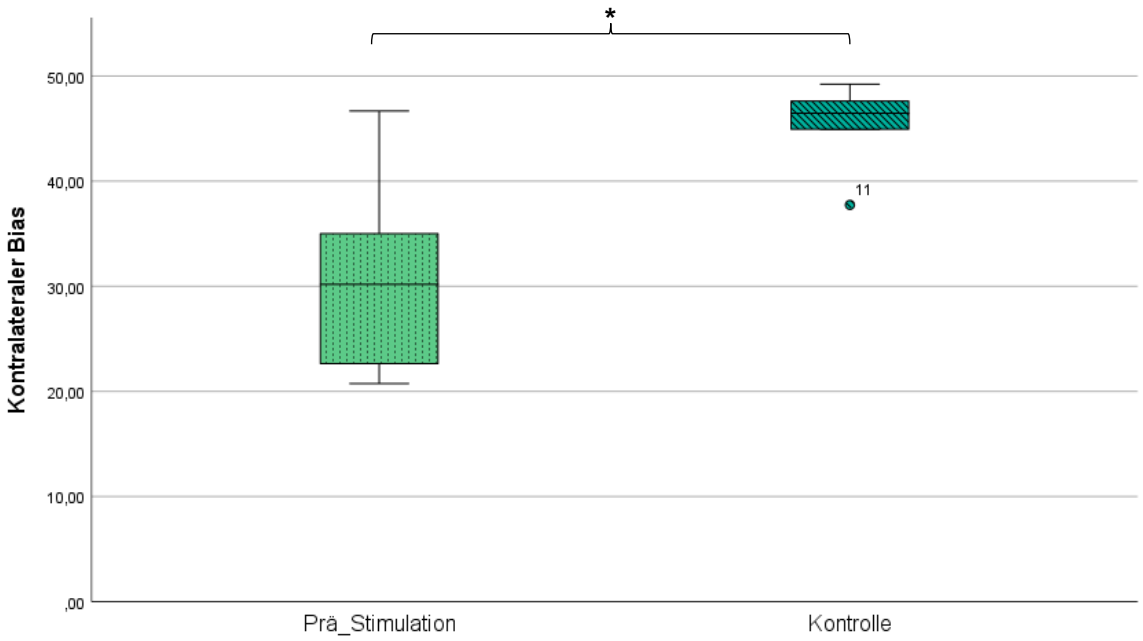


Abbildung 18: Stepping-Test ohne THS, Rückhand

Auswirkungen einer durch 6-OHDA-induzierten Läsion auf die Akinesie.. Prüfung der forcierten Ausfallschrittrate bei seitlicher Bewegung in **Rückhand**. Die unterschiedlichen Boxplots repräsentieren hierbei verschiedene Subgruppen; grün gepunktet zeigt das Ergebnis der Tiere mit 6-OHDA-induziertem Hemiparkinson (Gruppe 1; n=6); Türkis gestreift zeigt das Ergebnis der Kontrollgruppe, ohne 6-OHDA-induziertem Hemiparkinson (Gruppe 2; n=6); Die statistische Prüfung auf signifikante Unterschiede erfolgte hierbei mittels nicht-parametrischer Testung. Für unverbundene, nicht normalverteilte Stichproben unter Verwendung des Mann-Whitney-U-Test. * (signifikant): p≤ 0,05.

3.2.2 Korridor-Test

Neben dem Stepping-Test wurde, wie in Kap. 2.8.2 beschrieb ebenfalls der Korridor Test durchgeführt. Dieser wurde bei den Tieren der Gruppe 1 ebenfalls nach erfolgreicher 6-OHDA Läsionierung der unilateralen *Substantia nigra* (SN) angewendet. Auch die Tiere der Kontrollgruppe (Gruppe 2) wurden dem Korridor-Test unterzogen. Die Ergebnisse wurden mit Hilfe des Kontralateralen Bias bewertet. Im Vergleich mittels nicht parametrischer Testung konnte keine signifikante Verschlechterung des Kontralateralen Bias bei den Tieren nach erfolgreicher Läsion im Verhältnis zur Kontrollgruppe beobachtet werden (p=0.054). Es ergab sich jedoch eine Tendenz (p≤0.08) hinsichtlich eines Einflusses auf den sensomotorischen Neglect, welcher bei der Durchführung des Korridor-Tests bewertet wird.

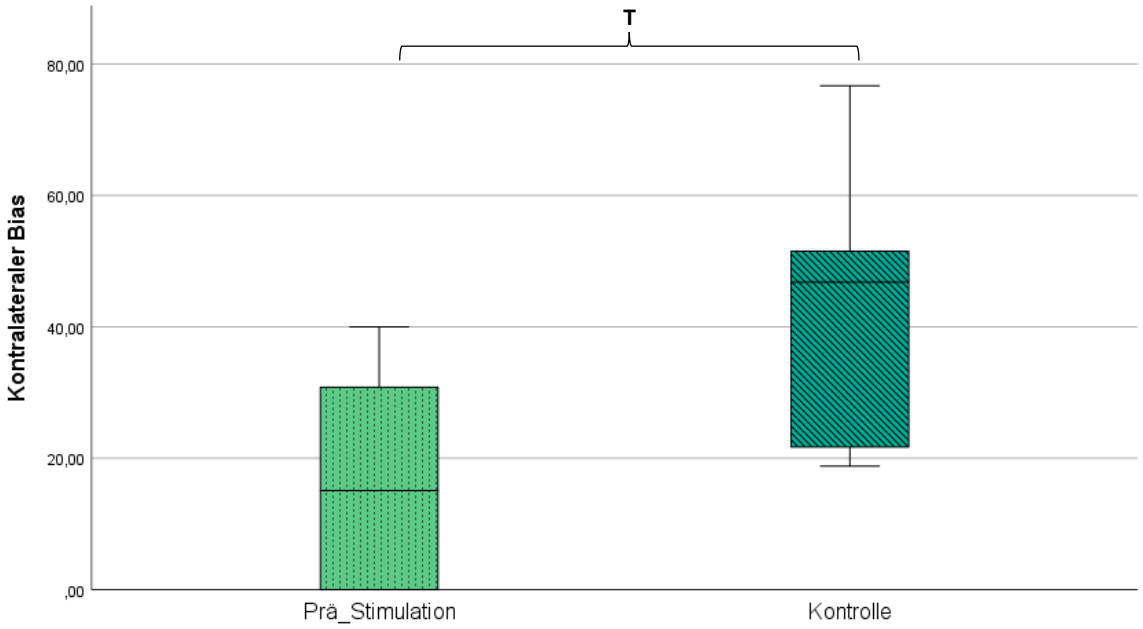


Abbildung 19 Korridor-Test ohne THS.

Auswirkungen einer durch 6-OHDA-induzierten Läsion auf den sensomotorischen Neglect. Die unterschiedlichen Boxplots repräsentieren hierbei verschiedene Subgruppen; grün gepunktet zeigt das Ergebnis der Tiere mit 6-OHDA-induziertem Hemiparkinson (Gruppe 1; n=6); Türkis gestreift zeigt das Ergebnis der Kontrollgruppe, ohne 6-OHDA-induziertem Hemiparkinson (Gruppe 2; n=6). Die statistische Prüfung auf signifikante Unterschiede erfolgte hierbei mittels nicht-parametrischer Testung. Für unverbundene, nicht normalverteilte Stichproben unter Verwendung des Mann-Whitney-U-Test. * (signifikant): p≤ 0,05; T (Trend): p≤ 0,08.

3.3 Tiere mit extrakorporalen THS

3.3.1 Ergebnisse der Verhaltenstests

3.3.1.1 Stepping-Test

Um die Auswirkungen der THS bei durch Injektion von 6-OHDA hervorgerufenen Läsion der *Substantia Nigra* (SN) auf die Motorik bzw. Akinesie der Tiere erfassen zu können, wurde der Stepping-Test vor und nach einer 3-wöchigen THS durchgeführt (Abb. 20+21).

Beobachtet wurde erneut der Kontralaterale Bias der Tiere bei Versuchsdurchgängen in Vorhand sowie in Rückhand. Nach der 21-tägigen Stimulation des *Nucleus subthalamicus* (STN) zeigte sich bei der Versuchsdurchführung in Vorhand keine signifikante Verbesserung der Werte (p=0.6). Bei der Durchführung des Versuchs in Rückhand konnte ebenfalls kein signifikanter Zusammenhang zwischen einer Verbesserung der Akinese und der Stimulation mittels extrakorporaler THS gezeigt werden (p=0,917).

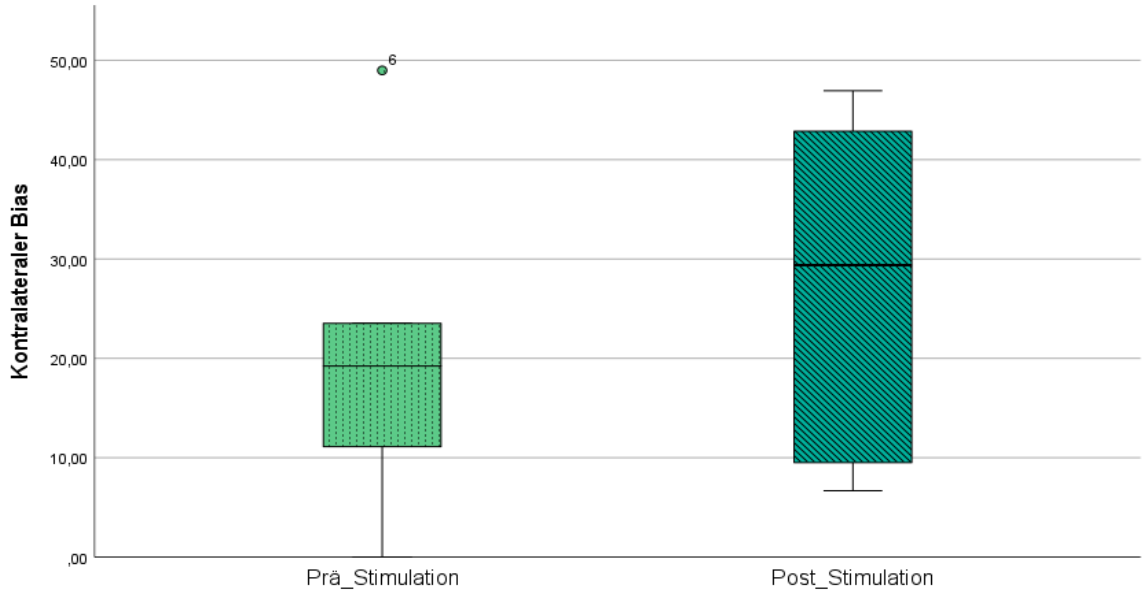


Abbildung 20: Stepping-Test mit extrakorporaler THS, Vorhand

Auswirkungen der THS auf die 6-OHDA-induzierte Akinesie bei unilateraler Stimulation des STN. Prüfung der forcierten Ausfallschrittrate bei seitlicher Bewegung in **Vorhand**. Die unterschiedlichen Boxplots repräsentieren hierbei verschiedene Subgruppen; grün gepunktet zeigt das Ergebnis der Tiere mit 6-OHDA-induziertem Hemiparkinson vor der THS (Gruppe 1; n=6); Türkis gestreift zeigt das Ergebnis der Tiere mit 6-OHDA-induziertem Hemiparkinson nach der THS (Gruppe 3; n=6). Die statistische Prüfung auf signifikante Unterschiede erfolgte hierbei mittels nicht-parametrischer Testung. Für unverbundene, nicht normalverteilte Stichproben unter Verwendung des Wilcoxon-Test. * (signifikant): p≤ 0,05.

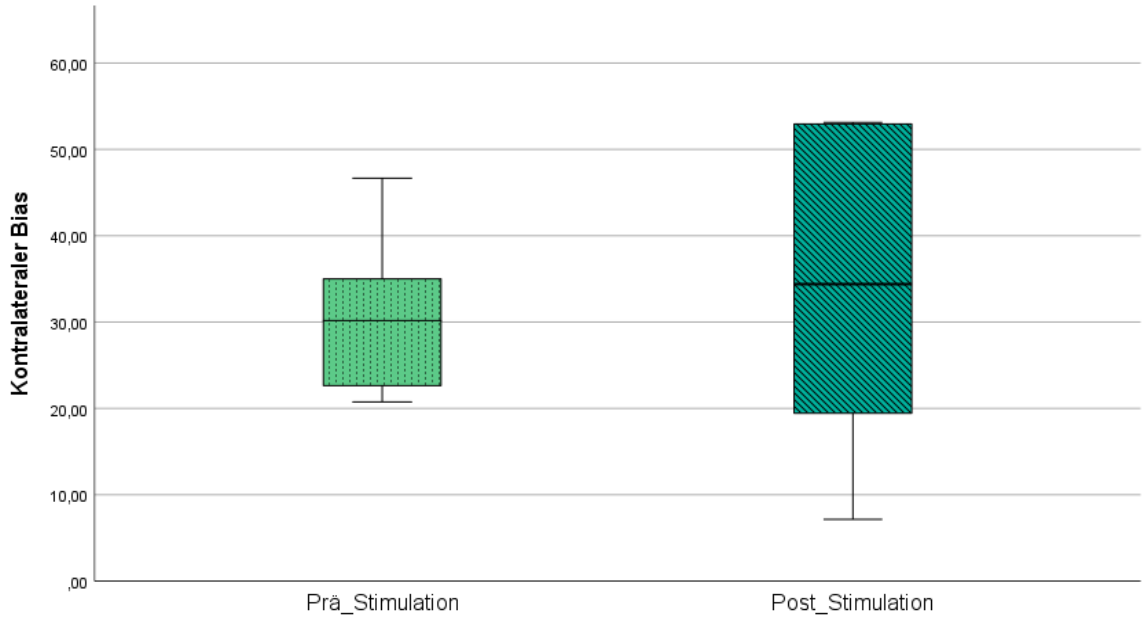


Abbildung 21: Stepping-Test mit extrakorporaler THS, Rückhand

Auswirkungen der THS auf die 6-OHDA-induzierte Akinesie bei unilateraler Stimulation des STN. Prüfung der forcierten Ausfallschrittrate bei seitlicher Bewegung in **Rückhand**. Die unterschiedlichen Boxplots repräsentieren hierbei verschiedene Subgruppen; grün gepunktet zeigt das Ergebnis der Tiere mit 6-OHDA-induziertem Hemiparkinson vor der THS (Gruppe 1; n=6); Türkis gestreift zeigt das Ergebnis der Tiere mit 6-OHDA-induziertem Hemiparkinson nach der THS (Gruppe 3; n=6). Die statistische Prüfung auf signifikante Unterschiede erfolgte hierbei mittels nicht-parametrischer Testung. Für unverbundene, nicht normalverteilte Stichproben unter Verwendung des Wilcoxon-Test. * (signifikant): p≤ 0,05.

3.3.1.2 **Korridor-Test**

Um die Auswirkungen der THS bei durch Injektion von 6-OHDA hervorgerufenen Läsion der *Substantia Nigra* (SN) auf motorischen Neglect der Tiere erfassen zu können, wurde der Korridor-Test vor und nach einer 3-wöchigen THS durchgeführt (Abb. 22).

Beobachtet wurde erneut der Kontralaterale Bias der Tiere. Nach der 21-tägigen Stimulation des *Nucleus subthalamicus* (STN) ließ sich kein signifikanter Unterschied zu den Ergebnissen vor der Stimulation nachweisen (p=0.345).

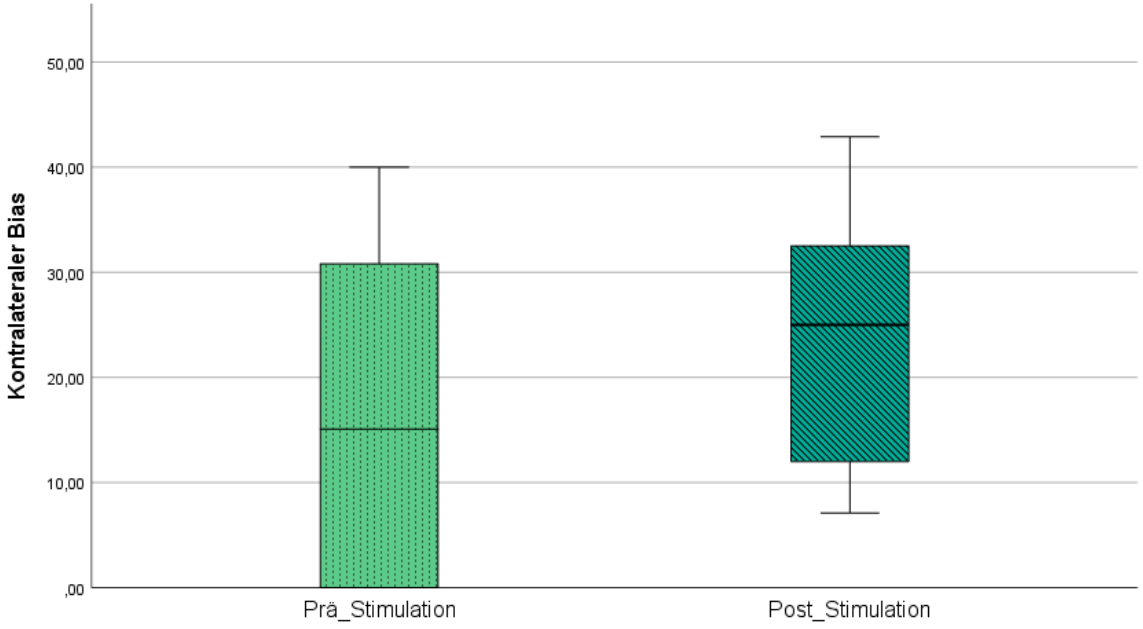


Abbildung 22: Korridor-Test mit extrakorporaler THS.

Auswirkungen der THS auf den 6-OHDA-induzierten sensomotorischen Neglect bei unilateraler Stimulation des STN. Die unterschiedlichen Boxplots repräsentieren hierbei verschiedene Subgruppen; grün gepunktet zeigt das Ergebnis der Tiere mit 6-OHDA-induziertem Hemiparkinson vor der THS (Gruppe 1; n=6); Türkis gestreift zeigt das Ergebnis der Tiere mit 6-OHDA-induziertem Hemiparkinson nach der THS (Gruppe 3; n=6). Die statistische Prüfung auf signifikante Unterschiede erfolgte hierbei mittels nicht-parametrischer Testung. Für unverbundene, nicht normalverteilte Stichproben unter Verwendung des Wilcoxon-Test. * (signifikant): p≤ 0,05.

3.3.2 Technische Ergebnisse

Die in der Gruppe 1 verwendeten Stimulatoren wurden vor ihrer Platzierung mittels Oszilloskop auf ihre Funktionsfähigkeit geprüft und nach den gesetzten Parametervorgaben (siehe Kap. 2.5.1) genormt.

Die nachfolgenden Überprüfungen der Funktionsfähigkeit erfolgten durch zeitweise Abnahme der Stimulatoren von dem Tier und erneuter Messung der Stimulationsparameter mittels Oszilloskop.

Während des Versuchszeitraums wurde auf die korrekte Funktionsweise der Stimulatoren geachtet. Zudem wurden Schwierigkeiten bei der Systembefestigung, das Tier oder die Verkabelung betreffend, dokumentiert. Hierbei ergaben sich die in Tabelle 15 aufgelisteten Komplikationen.

Tabelle 15: Komplikationen extrakorporaler Stimulator

Art	**Anzahl betroffener Tiere (n;%) (n= 6)**	**Zeitpunkt (Tage)**	
		Median	IQR
Verlust/Verrutschen von Stimulatoren	5 (83 %)	5	2
Beschädigung von Kabeln	4 (67 %)	11	1,5
Systembedingte Hautläsionen	3 (50 %)	14	2,5
Kontaktprobleme Batterie	1 (17 %)	3	0
Wundprobleme, Elektrode	2 (33 %)	17	3

Darstellung des durchschnittlichen Auftretens eines spezifischen Fehlers bei allen Stimulatoren. Dargestellt ist die Anzahl der von einem Fehler betroffenen Tiere in absoluter Anzahl und Prozent bei insgesamt 6 Tieren, in dieser Gruppe. Weiterhin ist der Zeitpunkt in Tagen des erstmaligen Auftretens eines Fehlers als Median und Interquartilsabstand (IQR) dargestellt.

3.3.3 Funktionelle Ergebnisse

3.3.3.1 Gewichtsverlauf

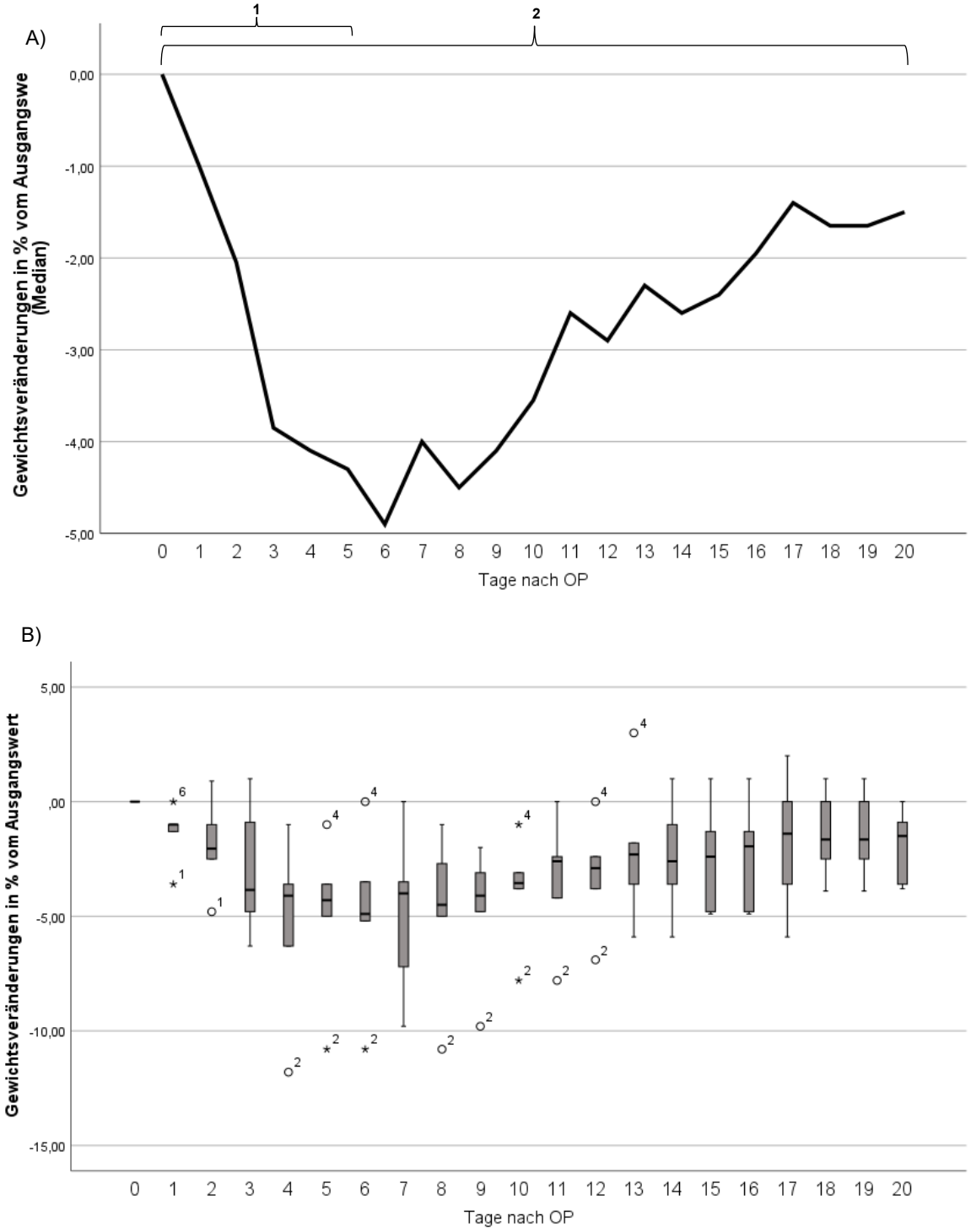


Abbildung 23: Gewichtsveränderungen nicht-implantierte Stimulatoren.

Prozentuale Gewichtsveränderungen bei Tieren mit nicht-implantierten Stimulatoren. Abb. A zeigt den durchschnittlichen Verlauf der Körpergewichte in prozentualer Veränderung zum Ausgangswert. Abb. B stellt die tagesspezifische Streuung der prozentualen Veränderungen im Gewichtsverlauf dar. Hierbei zeigt sich im Friedmann-Test ein signifikanter Gewichtsverlust ($p=0,004$; Signifikanzniveau: $\alpha \leq 0,05$). In der genaueren Betrachtung mittels Friedmann Post-hoc-Test beschränkt sich der signifikante Bereich auf die ersten fünf Messtage (Bereich 1). Zwischen dem fünften und dem 20. Messtag (Bereich 2) ergibt sich demnach kein signifikanter Unterschied.

Das Körpergewicht als wesentlicher, objektiver Parameter für die Beurteilung des Allgemeinzustands der Tiere eignete sich gut für eine Verlaufskontrolle während des Versuches. Die täglich erhobenen Körpergewichte in Gramm wurden im prozentualen Verhältnis zum Ausgangswert gesetzt (Abb. 23). Hierbei zeigte sich ein ausgeprägter Gewichtsverlust zu Beginn der Stimulationsphase. Dieser begann unmittelbar mit dem Start der Stimulationsphase und dauerte die ersten vier Tage an. Somit zeigten die Tiere durch die Stimulation eine signifikante Verschlechterung des Gewichtsverlaufes. Anschließend war eine langsame und diskontinuierliche Erholungsphase des Körpergewichts ab dem fünften Tag bis zum 19. Tag festzustellen. Am letzten Tag zeigte sich nochmals ein geringer Abwärtstrend der Gewichtsentwicklung. Zusammenfassend war für den Zeitraum der THS ein zweiphasiger Gewichtsverlauf zu verzeichnen. Dieser begann mit einer signifikant ausgeprägten Reduktionsphase zu Beginn und ging anschließend in eine schleichende Erholungsphase über. Am Ende des Stimulationszeitraumes wurde das Ausgangsgewicht nicht erneut erreicht. Es ergab sich statistisch jedoch kein signifikanter Unterschied zum Ausgangspunkt. Für die Streuweite der Gewichtsveränderungen bestand an den einzelnen Tagen eine unterschiedliche Ausprägung (siehe Abb. 23B). Demnach reagierten die einzelnen Tiere unterschiedlich sensibel auf die Belastungen, durch die angebrachten Stimulatoren.

3.3.3.2 **Allgemeine Befindlichkeit und Belastung**

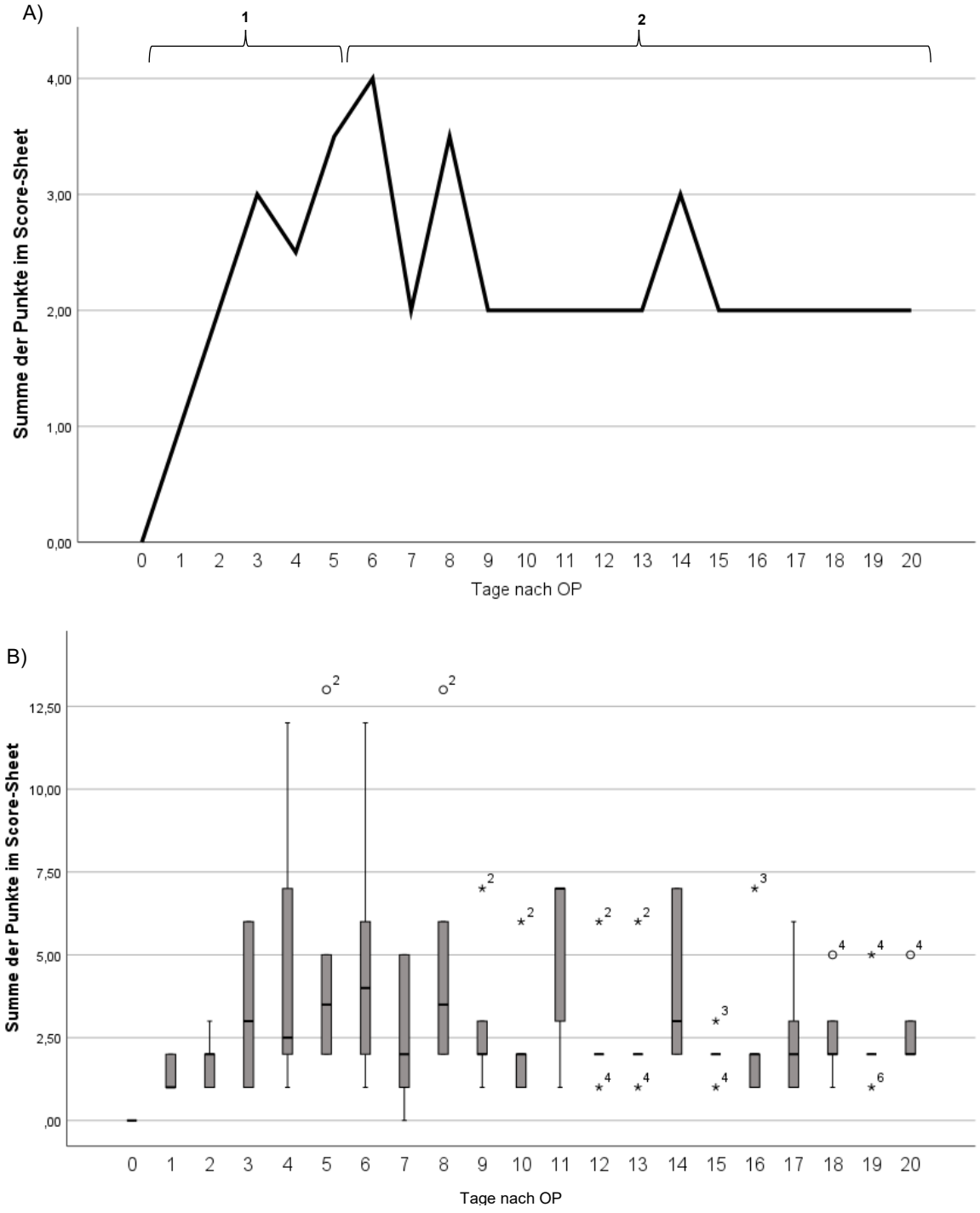


Abbildung 24: Score-Sheet Index in Punktsumme bei extrakorporaler THS.

Abb. A zeigt den durchschnittlichen Verlauf der summierten Punktwerte. Abb. B stellt die tagesspezifische Verteilung der summierten Punktwerte dar. Im Friedmann-Test ergibt sich hierbei eine signifikante Verschlechterung der Punktwerte (p=0,009; Signifikanzniveau: α≤0,05). In der genaueren Betrachtung mittels Post-hoc-Test betrifft dies sowohl den Zeitraum während der ersten fünf Tage (Bereich 1), als auch den gesamten Messzeitraum (Bereich 2).

Die allgemeine Befindlichkeit und Belastung der Tiere wurden mittels Score-Sheet (siehe Kap. 2.8.4) beurteilt. Neben objektiven Bestandteilen, zum Beispiel dem Körpergewicht,

spielten hierbei auch subjektive Beobachtungen, beispielsweise die Fellbeschaffenheit eine Rolle.

Anhand der Abb. 24 ist zu erkennen, dass die Beobachtungen am Ausgangszeitpunkt mit dem Punktwert Null begonnen haben. Im Verlauf der ersten Tage, nach Platzierung des nicht-implantierten Stimulators, kam es zu einem stetigen Anstieg der Punktwerte mit einem ersten Peak, nach vier Tagen. Dies stellte eine signifikante Verschlechterung des Ausgangsbefindens der Tiere dar. Anschließend kam es zu einem unstetigen Rückgang der Belastungen im Sinne eines Gewöhnungseffektes, bis zu einem abschließenden Wert von circa drei Punkten. Dies stellte ebenfalls eine signifikante Verschlechterung der Belastungssituation im Bezug zur Ausgangssituation dar.

Wie in der Abbildung zu erkennen (siehe Abb. 24B) ist, zeigte sich die Streuweite an den einzelnen Tagen unterschiedlich ausgeprägt. Demnach reagierten die einzelnen Tiere verschieden sensibel auf die Belastungen durch die angebrachten Stimulatoren.

3.4 Tiere mit vollimplantierten Stimulatoren

3.4.1 Ergebnisse Entwicklung

Die Planung der Kapselform erfolgte mittels CAD-Modell. Anhand dieser CAD Zeichnungen wurden die Kapselteile aus PEEK Rohmaterial mit Hilfe einer Drehbank millimetergenau abgedreht (Institut für Physik, Feinmechanische Werkstatt, Universität Rostock, Albert-Einstein-Straße 23-24, 18059 Rostock). Anschließend wurden die durch Lötstellen verbunden Bauteile des Neurostimulators in den PEEK Kapseln platziert und durch den Verguss eines zwei-Komponenten-Gießharzes (Mastersil Med 151, Masterbond, Hackensack, USA) fixiert (Abb. 25). Für eine leichtere Implantation wurden Impulsgeber und Batterie hierbei in separaten Kapseln untergebracht. Nach dem Verguss wurden die Kapseln mit einem Deckel, ebenfalls aus PEEK, verschlossen.

Anschließend erfolgte eine Funktionsprüfung *in vitro* in einem 35 °C warmen Gefäß mit Vollelektrolytlösung (Ringer-Lactat).

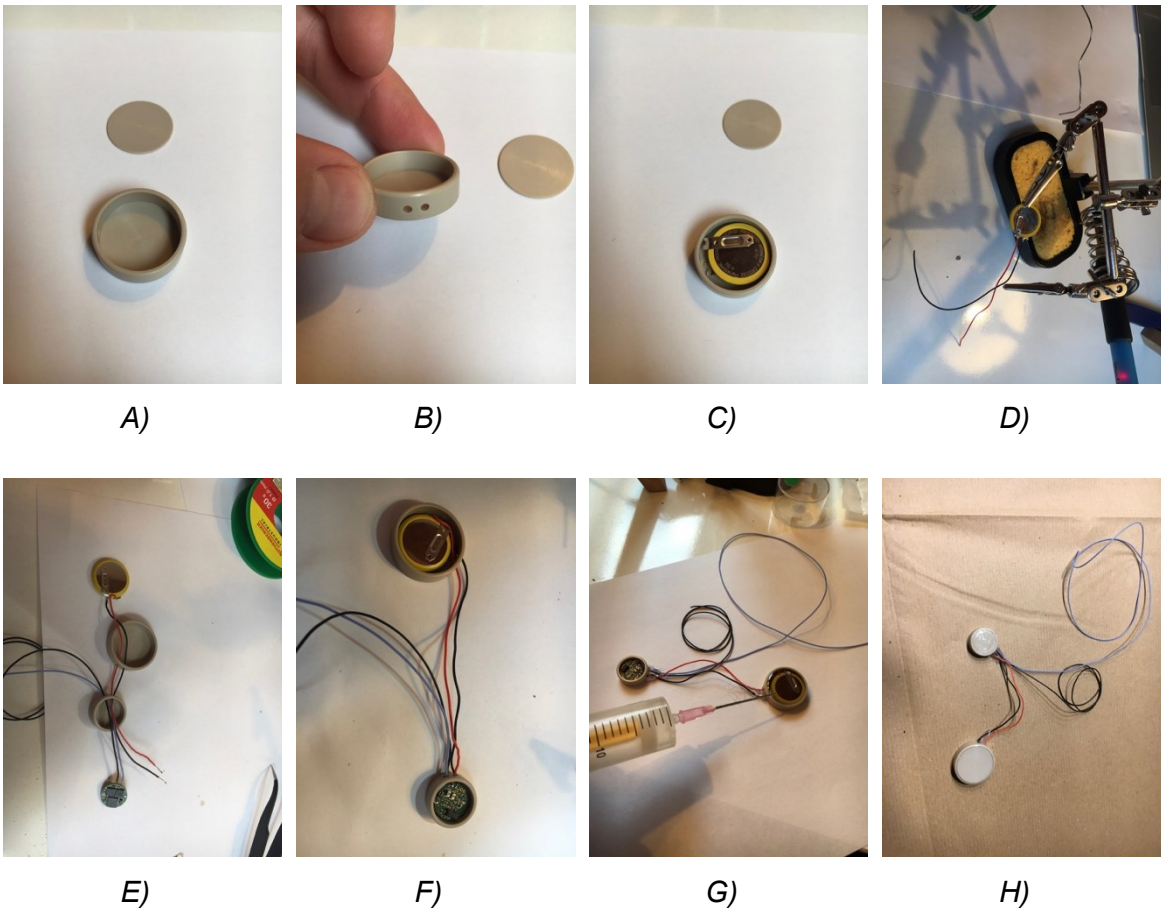


Abbildung 25: Aufbau Verkapselung PEEK und Epoxidharz

A+B: Rohkapsel aus PEEK; C: Einpassen von Impulsgeber und Batterie in die Kapseln; D: Anlöten der Kabel an die einzelnen Komponenten; E+F: Einlegen und Endverkabelung aller Komponenten; G: Ausguss der Kapseln mit Epoxidharz; H: Fertige Stimulatoren mit Deckel

3.4.2 Operative Ergebnisse

Zur vollständigen Implantation des intrakorporalen Stimulator-Systems wurde im rasierten Rückenbereich zunächst eine circa zwei Zentimeter lange Hautinzision, leicht paravertebral, angelegt (Abb. 26). Um die Bewegungsfähigkeit der Vordergliedmaßen so wenig wie möglich zu beeinflussen, wurde darauf geachtet, den Schnitt mindestens 1 cm kaudal der Scapula zu beginnen. Anschließend wurde durch stumpfes Präparieren mit einer Schere, beidseits paravertebral, eine subkutane Hautfalte geschaffen. Hierbei musste darauf geachtet werden, die Größe möglichst exakt an den Stimulator, beziehungsweise die Batterie anzupassen. Alle Komponenten wurden entsprechend den Anforderungen an langfristige Implantate zum Schutz gegen Feuchtigkeit verkapselt (siehe Kap. 2.5.3). Nach der Implantation erfolgte die Verbindung der von kranial durchtunnelten Elektrodenkabel, an den Stimulator, durch Lötverbindungen. Anschließend wurden die Verbindungskabel zwischen Stimulator und Elektrode schlaufenförmig eingelegt. Dies diente zur Sicherstellung einer uneingeschränkten Flexion der Wirbelsäule. Im nächsten Schritt wurden beide Bauteile in die entsprechenden Hauttaschen eingelegt und mittels Faden (Prolene® monofil 3-0) und chirurgischen Knoten mit der Haut fixiert. Die Zugangswege der Hauttaschen zur Hautinzision wurden anschließend mit subkutanen Nähten verschlossen, um eine bessere Wundheilung zu fördern und ein mögliches Verrutschen zu verhindern. Am Ende wurden die Hautinzisionen in Donati-Nahttechnik verschlossen. Eine Woche nach der Implantation wurde der Stimulator von außen per „Fernbedienung“ aktiv geschaltet.

Ein wesentlicher Unterschied in der Vorgehensweise zwischen dem Einsatz von extern platzierten, nicht-implantierten Stimulatoren und dem Einsatz implantationsfähiger Stimulatoren, bestand in der umfangreicheren Ausprägung der operativen Komponente. Während für die Verwendung nicht-implantierter Stimulatoren die Durchführung lokalisiert stereotaktischer Eingriffe zur Elektrodenplatzierung ausreichend waren, erforderten die Verwendung implantationsfähiger Hirnstimulatoren den großflächigeren Einsatz operativer Maßnahmen. Neben den hierfür erforderlichen chirurgischen Kenntnissen spiegelte sich dies vor allem in den benötigten Operationszeiten wider. Während für die Platzierung der Elektroden durchschnittlich 30 Minuten pro Tier notwendig waren, so erforderten die Implantierungen der Stimulatoren im Durchschnitt 75 Minuten pro Tier.

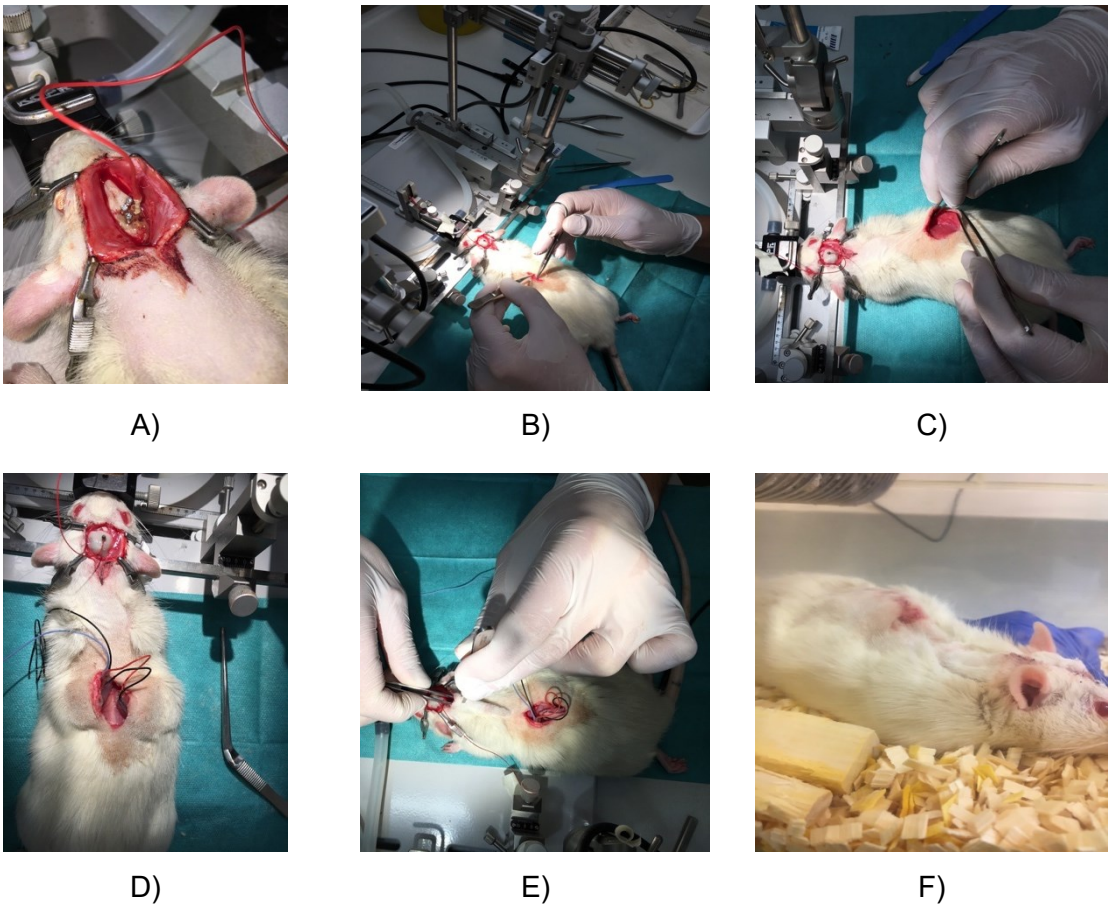


Abbildung 26: Implantation intrakorporaler Stimulator

A: Implantation Elektrode; B: Inzision im Rückenbereich; C: beidseitige Präparation von subkutanen Taschen; D: Einbringen von Batterie und Impulsgeber; E: Tunnelierung der Kabelverbindungen zwischen beiden Operationsgebieten; F: mehrschichtig vernähte Operationswunden

Mit Hilfe der durchgeführten Operationen konnte somit erstmals die Praktikabilität und grundsätzliche Funktionsfähigkeit der Operationsmethode, sowie der neu entwickelten Stimulationseinheiten demonstriert werden. Wie in Abbildung 26 zu sehen, gelang es alle Komponenten vollständig in das Tier zu integrieren. Der vollständige Wundverschluss stellte sich problemlos dar. Es erfolgte eine Versiegelung der Wunden mit Silberspray. Postoperativ zeigten die operierten Tiere, trotz der längeren Narkose, ein schnelles Aufwachverhalten. Anhand von Abbildung 27 ist ersichtlich, dass es durch die Operation zu keinen klinischen Defiziten kam. Somit gelang es, im Hinblick auf sich anschließende Versuche, dass neue Operations- und Implantationskonzept, erfolgreich zu etablieren.

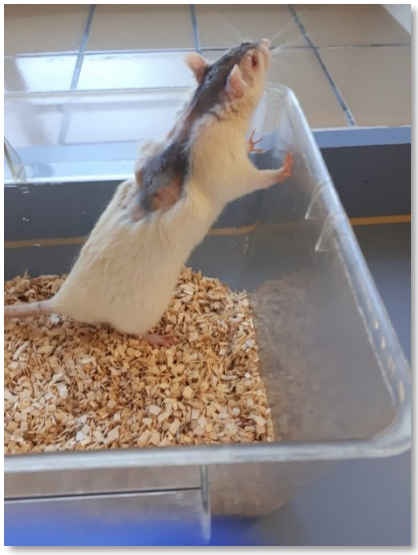


Abbildung 27: Tier postoperativ nach Implantation des Stimulators.

3.4.2.1 **Komplikationen**

Nach einem circa vierzehn-tägigen Zeitraum stellte sich bei einem der Tiere eine langsam progrediente Umfangszunahme der Implantationsstelle dar. Die zu Beginn tastbare und mit zunehmender Größe sichtbare Umfangsvermehrung präsentierte sich als weiche, verschiebliche Struktur. Die Operationsnarbe präsentierte einen reizfreien Verlauf. Eine Dehiszenz war nicht zu eruieren, ebenfalls zeigte sich keine Hautverfärbung. Aufgrund der Progredienz wurde eine Punktion der Umfangsvermehrung durchgeführt und die enthaltene Flüssigkeit drainiert. Es konnten mehrere Milliliter klare bis rötliche Flüssigkeit, entfernt werden. Aufgrund der Zusammensetzung und Viskosität der entnommenen Flüssigkeit ist bei der Umfangsvermehrung am ehesten von Gewebsflüssigkeit und Lymphe, im Sinne eines Seroms auszugehen. Nach Punktion kam es zu einer Stabilisierung der Wundheilung. Ab Tag sechzehn kam es zudem bei einem der Tiere zu einer progredienten, sekundären Wundheilungsstörung. Dies präsentierte sich anfangs mit einer zunehmenden Rötung im Umfeld der Operationsnarbe. Schließlich stellte sich auch im direkten Umfeld der Narbe eine rötliche Verfärbung sowie eine derbe Verdickung der Narbenstruktur dar. Nach circa zwei Tagen begann eine progrediente Dehiszenz der Wundränder, bis die Wunde weitgehend geöffnet war. Aus diesem Grund war eine chirurgische Revision mit Spülung der Wunde und Re-verschluss notwendig. Zudem waren selbstbeigefügte Irritationen der Wunden, in Form von Verbiss, bei den Tieren festzustellen. Ein Tier zeigte darüber hinaus eine Irritation im Bereich des seitlichen Abdomens. Diese entstand vermutlich durch Scheuern der mittels Naht verschlossenen Kopfwunde, bei der täglichen Fellpflege des Tieres.

Eine Verschiebung von Komponenten des Stimulationssystems war indes bei drei Tieren zu beobachten.

3.4.3 Technische Ergebnisse

3.4.3.1 Vollimplantierter Stimulator *in vitro*

Wie in Kapitel 2.5.3.2 bereichtet, erfolgt zunächst eine in vitro Testung der neuen Stimulatoren.

Tabelle 16: Funktionstest vollimplantierbarer Stimulator *in vitro*

Tag	Batterieleistung (Volt)	LED-Signal
1	3,20	Voll funktionsfähig
5	3,18	Voll funktionsfähig
10	3,17	Voll funktionsfähig
15	3,14	Voll funktionsfähig
20	3,08	Voll funktionsfähig
25	3,04	Voll funktionsfähig
30	3,01	Ladestand gering
35	2,87	Funktionsausfall

3.4.3.2 Vollimplantierbarer Stimulator *in vivo*

Während der Verkapselung wurde die korrekte Funktion der Stimulatoren unter Zuhilfenahme eines Oszilloskops getestet. Hierbei ergaben sich identische Rechteck-Impulse mit einer Frequenz von 130 Hz. Eine fortwährende Überprüfung durch ein Oszilloskop war aufgrund der Implantation nicht möglich. Um die Funktionsfähigkeit der Stimulatoren dennoch überprüfen zu können, waren diese mit einer Kontroll-LED ausgestattet, welche durch einen Magnetschalter stimuliert, die korrekte Funktion transkutan anzeigte. Durch die Codierung von Fehlern mittels Signalabfolge der LED war es somit möglich, spezifische Anfälligkeiten zu registrieren. Hierbei ergaben sich die in Tabelle dreizehn aufgeführten Funktionsmeldungen.

Abbildung 28: Oszilloskopmessung intrakorporaler Stimulator während der Verkapselung. Darstellung eines Rechteckimpulses (130 Hz)

Tabelle 17: Auflistung gemeldeter Systemfehler

Art der Problematik	Anzahl betroffener Tiere (n;%) (n=6)	Zeitpunkt des Auftretens (Tage)	
		Median	IQR
Kompletter Funktions-verlust	5 (83 %)	17	4
Erhöhter Widerstand	3 (50 %)	13	2
Batteriestand gering	4 (67 %)	16	2,25

Darstellung des durchschnittlichen Auftretens eines spezifischen Fehlers bei allen Stimulatoren. Dargestellt ist die Anzahl der von einem Fehler betroffenen Tiere in absoluter Anzahl und Prozent bei insgesamt 6 Tieren, in dieser Gruppe. Weiterhin ist der Zeitpunkt in Tagen des erstmaligen Auftretens eines Fehlers als Median und Interquartilsabstand dargestellt (IQR).

Bei der Verkapselung einiger Stimulatoren wurde eine Hülle aus mehrschichtigem Silikon verwendet, siehe Kapitel 2.5.3. Bei dieser Methode ergaben sich während des Stimulationszeitraums deutliche Anfälligkeiten des Silikons bezüglich der mechanischen Einwirkungen in dem implantierten Milieu. Bei mehreren Stimulatoren waren, vermutlich bedingt durch Scherkräfte, Ablösungen der Silikonschichten zwischen der elektrisch-isolierenden Schicht im Inneren und der biokompatiblen äußeren Schicht, festzustellen. Der hierdurch ermöglichte Eintritt von Feuchtigkeit führte bei einigen Geräten zum Funktionsverlust.

Eine nachgebesserte Verkapselung mittels PEEK-Hüllen, siehe Kap. 2.5.3., erwies sich makroskopisch als gut geeignete Variante zur Abschirmung der Systemkomponenten unter Implantationsbedingungen. So führte ein Stimulationszeitraum von 20 Tagen zu keinen makroskopisch auffälligen Schäden an der Verkapselung.

Als problematisch zeigten sich jedoch die verwendeten Kabelverbindungen. Zur Anwendung kamen, siehe Kap. 2.5.3.3, Kupferleiter, welche mit Silikon ummantelt waren. Es zeigte sich, dass die verwendeten Kabel, für die auf sie einwirkenden Bewegungen in der Ratte, nicht flexibel genug waren. So registrierten wir während der Durchführung mehrere Widerstandserhöhungen, welche wahrscheinlich auf Beschädigungen der Kabel zurückzuführen waren. Bei der Explantation der Systeme vielen darüber hinaus mehrere makroskopisch sichtbare Beschädigungen der Kabel auf.

Nachgebesserte Kabel aus PTFE ummantelten Kupferleitern präsentierten eine wesentlich höhere Widerstandsfähigkeit und daraus resultierend eine verminderte Rate an technischen Störungen. Als deutliche Schwachstelle bei diesem Konzept zeigten sich die Verbindungsstelle zwischen den Kabeln des Stimulators und der implantierten Elektrode (siehe Abb. 15). Hier zeigten sich nach Explanation deutliche Korrosionsschäden mit starker Erhöhung des elektrischen Widerstands.

3.4.4 Funktionelle Ergebnisse

3.4.4.1 Gewichtsverlauf

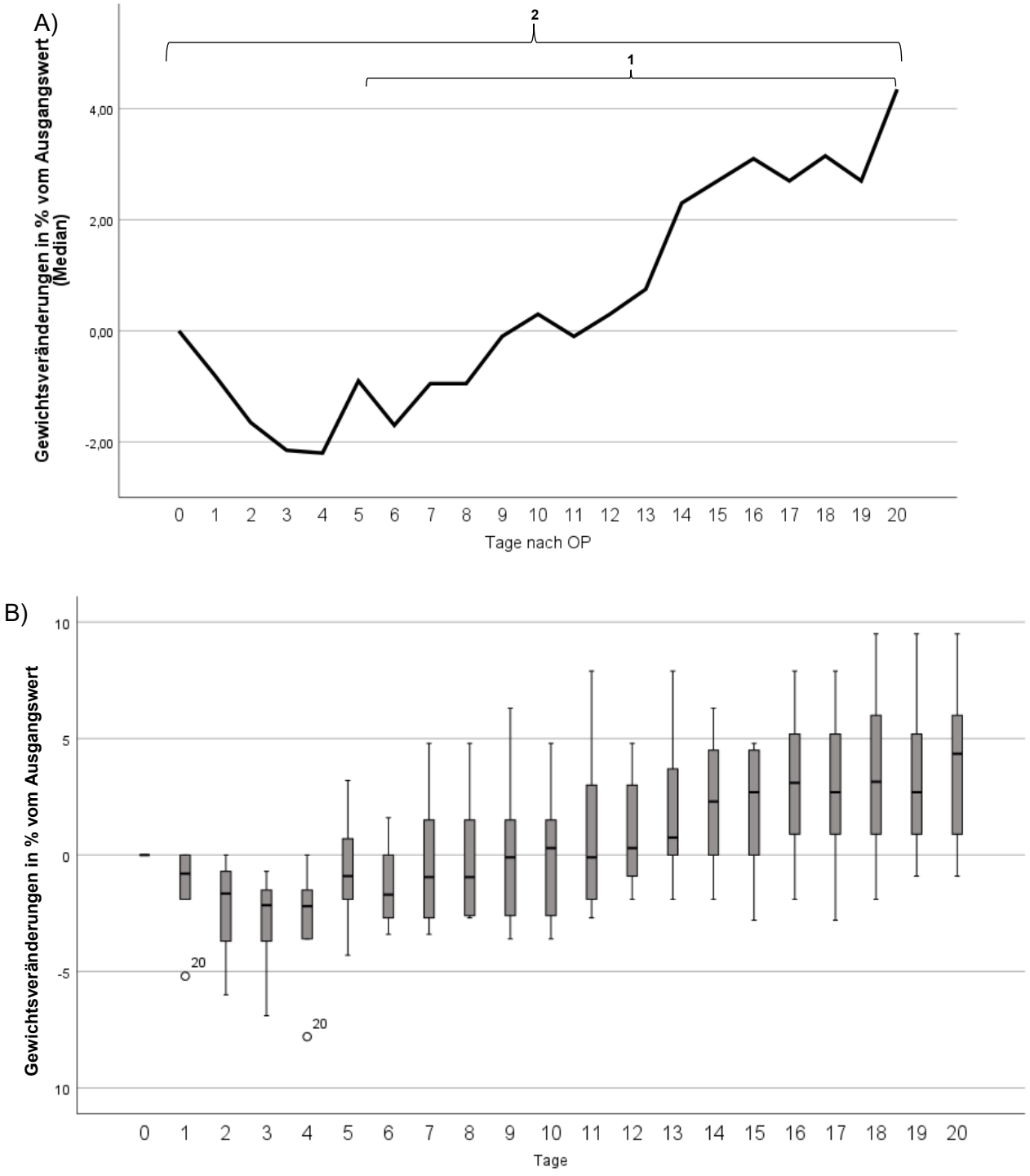


Abbildung 29: Gewichtsveränderungen in Prozent bei intrakorporaler THS.

Gewichtsveränderungen in Prozent bei Tieren mit intrakorporalen Stimulatoren. Abb. A zeigt den durchschnittlichen Verlauf der Körpergewichte in prozentualer Veränderung zum Ausgangswert. Abb. B stellt die tagesspezifische Verteilung der prozentualen Veränderungen im Gewichtsverlauf dar. Hierbei zeigt sich im Friedmann-Test eine signifikante Gewichtsveränderung ($p=0,03$; Signifikanzniveau: $\alpha \leq 0,05$). In der genaueren Betrachtung mittels Friedmann Post-hoc-Test beschränkt sich der signifikante Bereich jedoch auf den Bereich zwischen dem 5. und dem 20. Messtag (Bereich 1). Für den Gesamtzeitraum (Bereich 2) lässt sich kein signifikanter Unterschied nachweisen.

In Abb. 29 wird die tägliche Schwankung des Körpergewichts aller Tiere, welche mit vollimplantierbaren Stimulator-Systemen versehen wurden dargestellt. Da es sich bei dem gezeigten Verlauf um durchschnittlich prozentuale Werte im Vergleich zum Ausgangswert handelt, beginnen die Werte bei null. Nach der Implantation und dem Beginn der Stimulation zeigten die Tiere einen vorübergehenden Gewichtsverlust. Dieser fiel in den ersten zwei Tagen steil aus und flachte sich ab dem dritten Tag deutlich ab. Bis zum vierten Tag hatten die Tiere durchschnittlich fast drei Prozent ihres Körpergewichtes verloren. Nach Tag vier kam es zu einer ausgeprägten Erholung des Körpergewichtes. So kam es während weiterer vier Tage zu einem kompletten Ausgleich des Gewichtsverlustes, sodass die Tiere an Tag acht ihr ursprüngliches Körpergewicht wiedererlangten. Im weiteren Verlauf zeigte sich ein diskontinuierlicher Verlauf, welcher tendenziell jedoch positiv verlief und eine Gewichtszunahme darstellte. Am Ende des Stimulationszeitraumes nach 20 Tagen hatten die Tiere circa vier Prozent an Körpergewicht, im Vergleich zum Stimulationsbeginn, zugelegt.

Wie in der Abbildung 29B zu erkennen ist, zeigte sich die Streuweite an den einzelnen Tagen unterschiedlich ausgeprägt. Demnach reagierten die einzelnen Tiere verschieden auf die Belastungen durch die angebrachten Stimulatoren.

3.4.4.2 **Allgemeine Befindlichkeit und Belastung**

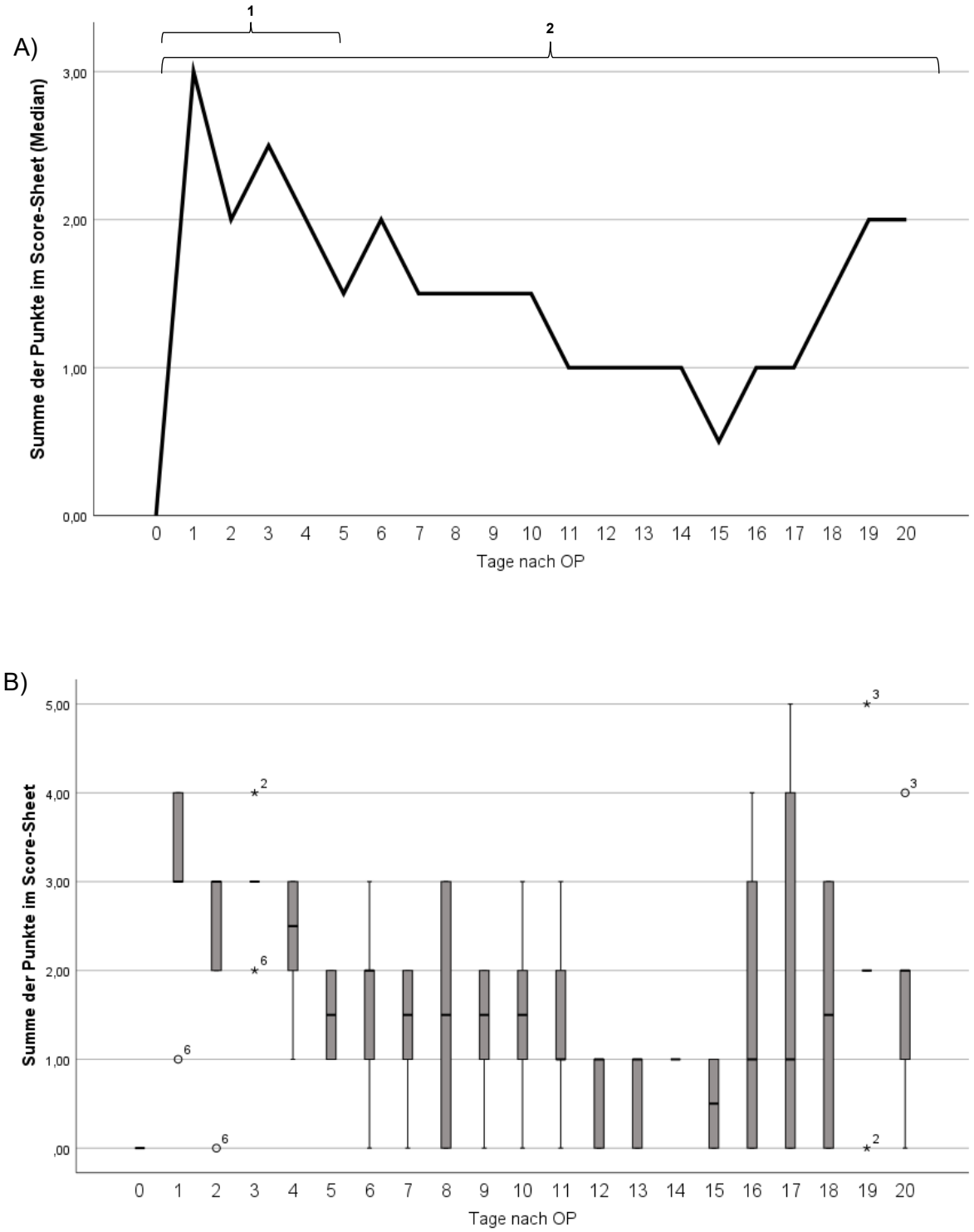


Abbildung 30: Score-Sheet Index in Punktsumme bei intrakorporaler THS.

Abb. A zeigt den durchschnittlichen Verlauf der summierten Punktwerte. Abb. B stellt die tagesspezifische Verteilung der Punktwerte dar. Im Friedmann-Test ergibt sich hierbei eine signifikante Verschlechterung der Punktwerte ($p=0,01$; Signifikanzniveau: $a \leq 0,05$). In der genaueren Betrachtung mittels Friedmann Post-hoc-Test trifft dies jedoch nur auf den Gesamtzeitraum zu (Bereich 2). Während der ersten fünf Tage (Bereich 1) lässt sich demnach keine signifikante Veränderung feststellen.

Die Darstellung in Abbildung 30 bezieht sich auf das Wohlbefinden und die Belastungen der Tiere, während des Versuchszeitraumes. Ermittelt wurden diese mithilfe eines Score-Sheets unter Berücksichtigung von Körpergewicht, äußeren Merkmalen und Verhalten. Hierbei zeigte sich eine ausgeprägte Belastungszunahme nach der Implantation der Komponenten und Stimulationsbeginn. So kam es zu einem Anstieg mit einem Maximalwert von drei Punkten. Diese Stresssituation hielt während der ersten drei Versuchstage an. Anschließend kam es zu einer Minderung der Punktwerte. So halbierte sich die Belastung im Zeitraum zwischen dem fünften und zehnten Tag. Im weiteren Verlauf gingen die Belastungen weiter zurück und erreichten am fünfzehnten Tag ihren Tiefpunkt seit Beginn des Stimulationszeitraumes. Gegen Ende des Beobachtungsfensters kam es jedoch erneut zu einer signifikant relevanten Zunahme der Belastungssituation, mit einem Anstieg der Werte über zwei Punkte.

Wie in der Abbildung 30B zu erkennen ist, zeigte sich die Streuweite an den einzelnen Tagen unterschiedlich ausgeprägt. Demnach reagierten die einzelnen Tiere verschieden auf die Belastungen durch die angebrachten Stimulatoren.

3.4.4.3 **Wundheilung**

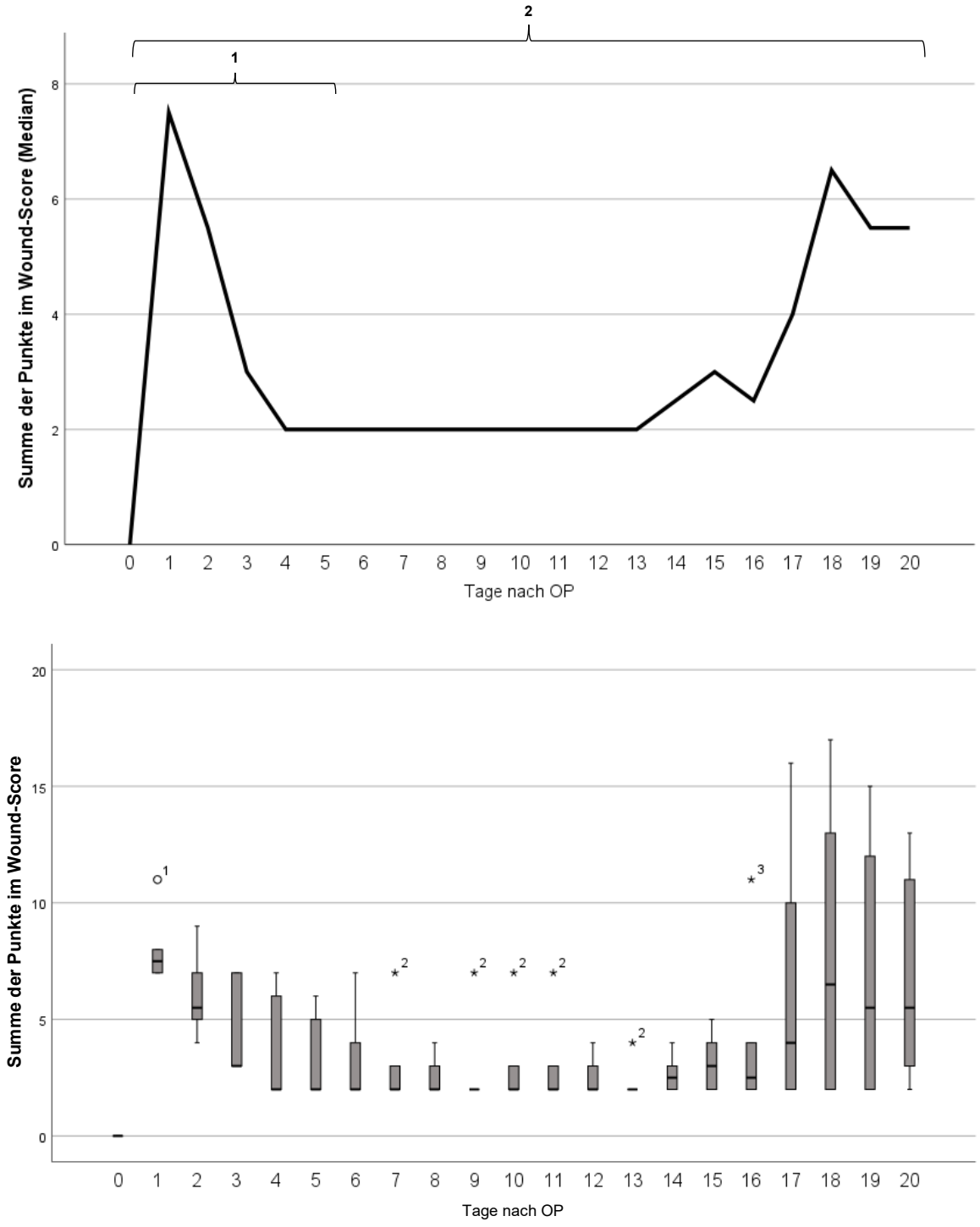


Abbildung 31: Durchschnittliche Punktwerte im Wound-healing-Score

Abb. A zeigt den durchschnittlichen Verlauf der summierten Punktwerte. Abb. B stellt die tagesspezifische Verteilung der Punktwerte dar. Im Friedmann-Test ergibt sich hierbei eine signifikante Verschlechterung der Punktwerte ($p=0{,}006$; Signifikanzniveau: $\alpha \leq 0{,}05$). In der genaueren Betrachtung mittels Post-hoc-Test trifft dies sowohl auf den Bereich zwischen dem Anfang und 5. Tag zu, als auch zwischen dem Anfang und 20. Tag, zwischen dem 5. und 20. Tag ergibt sich kein signifikanter Unterschied.

In Abbildung 31 wird der Verlauf des Wound-healing-Scores, angelehnt an den Southhampton-Wound Score während des Stimulationszeitraumes dargestellt. Es handelte sich um die täglichen, durchschnittlichen Summenwerte aller Tiere. Wie in der Grafik zu erkennen, zeigte sich zu Beginn ein ausgeprägtes Wundmuster mit hohen Punktwerten. Im Verlauf waren bei den Tieren Heilungstendenzen mit kontinuierlichem Rückgang der Scoring Werte festzustellen. Diese Tendenz zeigte sich für etwa zwei Wochen beständig. So kam es zwischen Tag eins und Tag dreizehn zu einer Punkte-Reduktion von circa 75 Prozent. Komplikationen, wie unter Kap. 3.2.1.1 beschrieben, führten ab dem vierzehnten Tag zu einem erneuten Anstieg der Punktwerte im Wound-healing-Score. Diese erreichten nicht mehr den Ausgangswert, zeigten jedoch zeitweise eine deutliche Zunahme.

Wie in der Abbildung 31B zu erkennen ist, zeigte sich die Streuweite an den einzelnen Tagen unterschiedlich ausgeprägt. Demnach reagierten die einzelnen Tiere verschieden auf die Belastungen durch die angebrachten Stimulatoren.

4 Diskussion

4.1 Notwendigkeit von Tiermodellen zur Weiterentwicklung der THS

Die Tiefe Hirnstimulation hat sich während der letzten Jahre zu einer etablierten Therapieoption bei Erkrankungen, vor allem aus dem neurologischen Krankheitsspektrum, entwickelt (Cernera et al., 2020). Angefangen mit der Therapie von Symptomen des Morbus Parkinson, welches bis zum heutigen Tage eine der Hauptindikationen für THS darstellt, erhalten inzwischen immer mehr Patienten anderer Krankheitsbilder (beispielsweise Patienten mit essentiellen Tremor) die Möglichkeit, ihre Krankheitssymptome durch den Einsatz von THS zu lindern (Doshi, 2018).

Die Forschungsbemühungen der letzten Jahre haben dabei umfangreiche Ansätze und Erkenntnisse über die Wirkungsweise der THS ergeben (David et al., 2020). So hält man im Falle des IPS die Resynchronisation von pathologischen, neuronalen Oszillationen, hervorgerufen durch gestörte kortikobasale Regelkreise, als wahrscheinlichste Erklärung für die Wirkungsweise der THS (McIntyre and Anderson, 2016). Die Umsetzung dieser Resynchronisation beruht hierbei wahrscheinlich auf einer umfangreichen Kaskade lokaler und systemischer Stimulationseffekte (siehe Kap. 1.1.2), wobei diese bislang nur teilweise nachgewiesen werden konnten (Muthuraman et al., 2020). Für andere Indikationsgebiete lassen sich die zu Grunde liegenden Wirkmechanismen derzeit nur bedingt erklären (Lozano et al., 2019b). Es ist daher sinnvoll, verbesserte Simulationsbedingungen auf experimenteller Ebene zu schaffen, um die bislang ungeklärten Mechanismen besser verstehen und somit die THS noch spezifischer und umfangreicher einsetzen zu können.

Ein bislang unersetzbares Verfahren zur gezielten Simulation von Krankheitsbildern *in vivo* stellen hierbei spezifische Tiermodelle der jeweiligen Erkrankung dar (Garattini and Grignaschi, 2017). Für die Verbesserung von Stimulationssystemen auf experimenteller Ebene scheint es hierbei sinnvoll, auf bereits etablierte Tiermodelle, wie dem 6-OHDA-Hemiparkinson-Model der Ratte, zurückzugreifen (Stefani et al., 2021).

Die Anwendung von Weiterentwicklungen an diesem Tiermodell erscheint jedoch nur dann von Nutzen, wenn dieses in entsprechendem Maße die spezifischen Eigenschaften der zu imitierenden Erkrankung zeigt und vulnerabel für die Therapie mittels THS ist (Veening-Griffioen et al., 2021).

4.2 Ergebnisse extrakorporales Stimulator-System

4.2.1 Verhaltenstests

Zur Überprüfung der unter Kapitel 4.1 beschriebenen Voraussetzungen erfolgten im Rahmen dieser Arbeit experimentelle Verhaltenstestungen. Hierbei zeigten sich klare Veränderungen der gezeigten Leistungen nach der künstlichen Induktion einer parkinsonoiden Störung durch Läsion der SN mittels 6-OHDA. So fielen die motorischen Leistungen der läsionierten Tiere im Stepping-Test signifikant schlechter aus als bei den gesunden Kontrolltieren. Auch die sensomotorischen Leistungen im Korridor-Test zeigten eine schlechtere Tendenz nach erfolgter Läsion. Der hierbei zugrunde liegende Wirkmechanismus beruht auf einer Veränderung im mitochondrialen Sauerstoffstoffwechsel der umliegenden Neurone, mit Aktivierung reaktiver Sauerstoffverbindungen, was schlussendlich zu einer Autooxidation und neuronalen Apoptose führt (Prasad and Hung, 2020). Neben dem 6-OHDA-Verfahren gibt es außerdem Erfahrungen mit 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) und 1-Methyl-4-phenylpyridinium (MPP+) (Lai et al., 2018). Ursprünglich wurden diese Verfahren jedoch bei cerebral niedriger entwickelten Lebewesen, beispielsweise Goldfischen, getestet und erhalten erst nach und nach Einzug in etablierten Simulationsmodellen mit Nagetieren (Manasa et al., 2020). Aufgrund ausgiebiger Erfahrungen stellt die 6-OHDA-Induktionsmethode ein prädisponiertes und sicheres Verfahren zur Untersuchung neuer Methoden dar. Wie bereits in zahlreichen anderen Studien gezeigt wurde (Su et al., 2021), konnten wir auch im Rahmen dieser Studie die zuverlässige Wirksamkeit der 6-OHDA-Induktion für Parkinson-Modelle mit signifikanten Veränderungen, sowohl im Stepping-, als auch im Korridor-Test, bestätigen.

Die Therapie mittels THS der läsionierten Tiere erfolgte mit extrakorporalen Stimulatoren. Nach circa drei-wöchiger Stimulationszeit wurde eine erneute Testung der Motorik und Sensomotorik durchgeführt. Trotz optischer Symptomlinderung zeigten sich für den Stepping-Test und den Korridor-Test keine signifikanten Veränderungen der nach der Läsion sichtbaren Symptome. Mögliche Gründe für den schlechten Outcome erscheinen vielfältig. Als Ursache sind Wesensveränderungen durch Stress, bedingt durch Umweltfaktoren anzuführen. In Studien konnte hierbei der negative Einfluss von körperlichem Stress auf neuroendokrine Prozesse und kognitive Leistungen bei Raten nachgewiesen werden (Gonzalez-Pardo et al., 2019). Dies stellt gerade bei Bewertungen des Spontanverhaltens einen nicht unerheblichen Einflussfaktor dar (Slikker et al., 2005).

Aufgrund der niedrigen Fallzahl sind natürliche Störfaktoren, beispielsweise Umweltfaktoren und das Stresslevel der Tiere, mitverantwortlich für eine hohe Standartabweichung der Testergebnisse, welche einen negativen Einfluss auf die Aussagekraft der Ergebnisse haben kann (Mishra et al., 2019). Mögliche Optionen zur Optimierung bestehen also in einer

Erhöhung der Gruppengröße sowie einer Reduktion externer Störfaktoren, beispielsweise extrakorporal angebrachten Bauteilen von Stimulatoren, durch welche sich die Tiere gestört fühlen könnten (Ewing et al., 2013).

4.2.2 Körpergewicht und Wohlbefinden

Neben den Verhaltenstests, welche eine Momentaufnahme darstellen, eignen sich das Erfassen von Körpergewichten und äußeren Merkmalen, zum Beispiel dem Wohlbefinden, als interessante Verlaufsparameter für den klinischen Zustand der Tiere. So gilt das Körpergewicht als Surrogat-Parameter für den Gesundheitszustand von Versuchstieren sowie für sich verändernde Belastungssituationen, weshalb dieses täglich kontrolliert wurde (Knyazeva et al., 2012). In der Tiergruppe, welche mittels extrakorporalen Stimulatoren behandelt wurde, zeigte sich nach Beginn der Stimulation eine deutliche Reduktion der Körpergewichte. Diese begann unmittelbar nach Stimulationsbeginn und hielt etwa vier Tage kontinuierlich an. Hieraus lässt sich eine mögliche Stress- und Belastungssituation für die Versuchstiere ableiten, welche mit einer eingeschränkten Nahrungsaufnahme der Tiere in Zusammenhang gebracht werden kann. Die Ergebnisse decken sich hierbei mit Beobachtungen anderer Studien, bei welchen durch künstliche Stressinduktion eine Veränderung der Nahrungsaufnahme und Futterverwertung hervorgerufen werden konnte (Tu et al., 2019). Aufgrund der ausgeprägten erkennbaren Gewichtsreduktion scheinen die Tiere durch das externe Bauteil auf ihrem Rücken stark irritiert und beängstigt zu sein. Für diese Annahme spricht die kontinuierliche Zunahme von Belastungswerten in dem hierfür verwendeten Score (siehe Kap. 3.1.3.2). Auch hier zeigt sich ein kontinuierlicher Anstieg innerhalb der ersten vier Tage.

Die Stagnation, beziehungsweise tendenzielle Verbesserung der Werte ab dem fünften Tag, lässt eine gewisse Gewöhnung oder Toleranz der Tiere vermuten. Die starke Anpassungsfähigkeit und Toleranz gegenüber Störquellen bei Raten hat sich bereits in anderen Versuchen dargestellt (Silva et al., 2016). Eventuell reicht die Toleranz jedoch im Verhältnis zur bestehenden Störquelle (extrakorporale Stimulationseinheit) nicht aus, um eine völlige Erholung der Tiere zu gewährleisten. So werden während der gesamten Stimulationsperiode die ursprünglich erhoben Werte nicht mehr erreicht. Als Gegenargument lässt sich hierbei jedoch eine progrediente Muskelatrophie, hervorgerufen durch die erfolgreiche Läsion der unilateralen SN, anbringen (Peker et al., 2018). Diese könnte ebenfalls zu einem negativen Einfluss auf das Körpergewicht und dessen Erholung führen.

Zusammenfassend lässt sich durch den Einsatz eines extrakorporalen Stimulator-Systems eine Belastungssituation der Versuchstiere eruieren, welche trotz einsetzendem „Gew - nungseffektes“ während des gesamten Versuchs bestehen bleibt. Kritisch zeigt sich in der

Verwendung des Körpergewichtes als Surrogat-Marker die tendenziell höhere Möglichkeit von muskulären Atrophien, bedingt durch die Einschränkungen der Motorik bei erfolgreich läsionierten Versuchstieren.

4.2.3 Technische Ergebnisse

Der Einsatz des extrakorporalen Stimulator-Systems zeigte, dass es sich hierbei um ein technisch funktionierendes System handelt, welches Langzeittestungen an Versuchstieren ermöglicht. Die Impulsgeber-Einheiten zeichneten sich, während des Versuchszeitraums, durch eine hohe Resistenz gegenüber Umweltfaktoren, beispielsweise Feuchtigkeit und Staub aus. Vorteilhaft ist außerdem die weitgehende Wiederverwendbarkeit der Stimulatoren, da diese einfach zu überholen und mit neuer Batterie ausstattbar sind, was sich positiv auf die Wirtschaftlichkeit der Systeme auswirkt (Badstuebner et al., 2017).

Als negativer Kritikpunkt ist die hohe Fragilität des Systems im Bereich der Befestigungen und Kabelverbindungen anzuführen, beispielsweise der Verlust der Impulsgebereinheit eines Tieres. Darüber hinaus waren häufig Beschädigungen an den extern verlaufenden Kabeln zwischen Impulsgeber und Elektrode erkennbar. Abgemildert wurden diese Schäden zwar durch die Tatsache, dass sie bei guter Zugänglichkeit leicht zu reparieren sind, jedoch bedeutet dies jedes Mal eine Unterbrechung der Stimulationszeit und durch den Eingriff eine zusätzliche Belastung für die Tiere.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass es sich bei dem verwendeten extrakorporalen System um ein funktionierendes und einfach zu handhabendes System zur Neurostimulation am Tiermodell handelt. Negativ erscheinen ein hoher Pflegeaufwand sowie eine ausgeprägte Störanfälligkeit des Systems auf mechanische Einflüsse.

4.3 Ergebnisse vollständig intrakorporales Stimulator-System

4.3.1 Körpergewicht und Wohlbefinden

In der Tiergruppe, welche mit vollständig-implantierten Stimulatoren ausgestattet war, wurden kontinuierlich das Körpergewicht und das äußere Wohlbefinden der Versuchstiere registriert.

Ähnlich dem Verlauf der nicht-implantierten Gruppe kam es auch bei diesen Tieren zu einer Reduktion des Körpergewichtes innerhalb der ersten vier Tage. Bei der Betrachtung des Kurvenverlaufes konnte somit auch bei diesem System von einer anfänglichen Stress- und Belastungssituation ausgegangen werden (Tu et al., 2019). Diese besserte sich jedoch kontinuierlich ab dem fünften Tag. Die Tatsache, dass an Tag elf das ursprüngliche Ausgangsniveau erneut erreicht wurde, könnte auf eine Erholung der Tiere von der anfänglichen Stresssituation hindeuten. Diese Hypothese wird durch die im weiteren Versuchsablauf folgende, kontinuierliche Gewichtszunahme der Tiere, im Vergleich zum Ausgangswert, bestätigt (siehe Abb. 30). Auch die Erfassung der Belastungen mittels Score-Sheet spiegelt tendenziell die Ergebnisse der bei den Körpergewichten postulierten Erkenntnisse wieder (Hu et al., 2017). Auch hier zeigt sich eine ausgeprägte Zunahme der erfassten Belastungen zu Beginn des Versuches. Nach einer ersten Stress- und Belastungssituation erfolgt auch hier ein Rückgang der registrierten Auffälligkeiten im Verlauf. Im Gegensatz zu den Körpergewichten wird hierbei das Ausgangsniveau nicht erneut erreicht. Mögliche Gründe hierfür könnten in der tendenziell schnelleren Regenerationsfähigkeit vegetativer Mechanismen, im Gegensatz zu psychischen Auswirkungen auf Stress sein (McEwen, 2007).

Zusammenfassend lässt sich bei der Gruppe von Tieren, bei welchen die verwendeten Stimulatoren vollständig in das Tier implantiert wurden, ein zweiphasiger Verlauf der erhobenen Werte registrieren. Dieser beginnt mit einer Verschlechterung des Wohlbefindens zu Beginn des Versuches, wahrscheinlich infolge einer Anpassungsstörung an das neu eingebrachte Fremdmaterial. Nach einigen Tagen tritt jedoch ein Gewöhnungseffekt mit konsekutiver Erholung der Tiere und stellenweise sogar verbesserten Werten im Vergleich zur Ausgangssituation ein.

Die erhobenen Daten sollten vor dem Tatbestand der Objektivierbarkeit betrachtet werden. So stellt die Erfassung von Werten des Körpergewichtes ein rein objektives Verfahren dar. Die Erstellung eines Score-Sheet für das Wohlbefinden und die Belastung der Tiere beinhaltet, wie in Kap. 2.8.4 zu sehen ist, subjektiv einzuschätzende Komponenten. Obwohl umfangreicher, zeigt sich die Aussagekraft im Vergleich zu den rein objektiv erhoben Ge-

wichtsdaten erschwert. Dies ist bedingt durch das Bias eines individuellen Einschätzungsmusters, der erhebenden Person, welches trotz konkreter Erfassungsangaben eingeschränkt ist (Hernan et al., 2004). Als weitere Limitierung speziell für die Erfassung des Körpergewichtes fällt weiterhin auf, dass es bei den Tieren mit intrakorporalen Stimulatoren vorab nicht zu einer erfolgreichen Läsion im Bereich der SN gekommen war. Dies könnte, bedingt durch eine weniger ausgeprägte atrophische Wirkung, einen positiven Einfluss auf die erfassten Daten des Körpergewichtes haben (Peker et al., 2018).

4.3.2 Technische Ergebnisse

Bei der Verwendung des intrakorporalen und somit vollständig-implantierbaren Systems im Tiermodell der Ratte konnte dessen Funktionalität und Praktikabilität mit Einschränkungen nachgewiesen werden. So zeigten die Stimulatoren zu allen Messzeitpunkten stabile Stimulationswerte. Auch die Schaltfunktionen mittels Magnetschaltung funktionierten, trotz transdermaler Übertragung, uneingeschränkt.

Als technische Schwachstelle bei der Verwendung der Stimulatoren *in vivo* stellten sich die Kabelverbindungen zwischen den einzelnen Komponenten dar. Während die zum Einsatz kommenden silikonumhüllten Kabel eine *in vitro* Testung komplikationslos überstanden, kam es bei der Verwendung *in vivo* zu gehäuften Kabelbrüchen und damit verbunden zu erhöhten Widerständen bei der Impulsweitergabe. Als Folge hiervon reduzierte sich die Batterieleistung der Stimulatoren enorm. Kabelbrüche gehören sowohl im präklinischen, als auch im klinischen Bereich, zu einer hervorzuhebenden Schwachstelle implantationsfähiger Systeme (Revesz et al., 2016). Eine Systemverbesserung durch den Einsatz von PTFE umhüllten Kabeln führten, in diesem Versuch, zu einem deutlichen Rückgang von Kabelschäden. Als persistente Schwachstelle stellten sich die Verbindungsstellen zwischen den einzelnen Kabeln heraus. Diese bestanden aus Lötpunkten, ummantelt mit einem biokompatiblen Schrumpfschlauch, welcher mit Epoxidharz ausgegossen wurde. Die Lötpunkte erwiesen sich, trotz der Isolierung, sehr anfällig für Korrosion. Dies hatte eine Erhöhung des elektrischen Widerstandes zu Folge (Niemann G., 2001). Zukünftige Versuche sollten mit möglichst korrosionsbeständigen Verbindungsstellen, zwischen den einzelnen Bauteilen, erfolgen, um eine uneingeschränkte Funktionsfähigkeit, bei optimaler Lebensdauer der Batterien, zu ermöglichen.

4.3.2.1 **Verkapselung**

Ein essenzieller Bestandteil dieser Arbeit bestand in der Entwicklung und Testung von Möglichkeiten der Verkapselung, um die verwendeten Komponenten für die Implantation in Versuchstieren tauglich zu machen. Hierfür wurden zwei verschiedene Strategien verfolgt. Ein

Konzept wurde durch den Einsatz verschiedener Silikonschichten um die verwendeten Bauteile realisiert. Durch die Verwendung speziell angefertigter Gussformen gelang eine gleichmäßige Umhüllung mit zwei Schichten unterschiedlicher Silikone (siehe Kap. 2.5.3.1) pro Bauteil. In der Verwendung *in vivo* zeigte sich, trotz positiver *in vitro* Testung, die Anfälligkeit der Variante gegenüber mechanischen Kräften, welche unter Implantationsbedingungen im Tiermodell wirken. Der Versatz zwischen innerer und äußerer Silikonschicht, mit hierdurch feuchtigkeitsbedingten Funktionsverlust, verdeutlichte die Herausforderungen bei der Entwicklung von biokompatiblen und implantationsfähigen Komponenten.

Als Weiterentwicklung der Verkapselung aus mehrschichtigem Silikon erfolgte anschließend die Verwendung eines Hochleistungskunststoffes in Form von PEEK. Mit seinen für die *in vivo* Verwendung positiven Eigenschaften wie Biokompatibilität, chemischer Resistenz und Härte ließ sich das Material gut verarbeiten (Panayotov et al., 2016). Sehr praktikabel zeigte sich bei der Verwendung dieser Variante auch die Möglichkeit der Serienproduktion. So lassen sich die entsprechenden PEEK-Hüllen maschinell in großen Stückzahlen produzieren und dienen im anschließenden Verarbeitungsprozess direkt als äußere Hülle sowie als Gussform für den inneren Kern aus Epoxidharz. Somit ist es möglich, mehrere Stimulatoren auf einmal zu verkapseln, da keine wiederverwendbaren Gussformen nötig sind. Hierdurch wird die Wirtschaftlichkeit des Systems erhöht und zu einer Beschleunigung des Versuchsablaufes beigetragen. Trotz reduzierter Leistungsfähigkeit *in vivo,* zeigten Funktionstests, nach Entnahme der Stimulatoren aus dem Tier, die grundsätzliche Funktionsfähigkeit der Stimulatoren. Dies zeigt die grundsätzliche Tauglichkeit der Verkapselung unter Implantationsbedingungen.

4.3.2.2 **Operation**

Für die Platzierung der Stimulatoren in den Tiersitus erfolgte eine operative Implantation von Impulsgeber und Batterie. Hierbei wurde ein Verfahren gewählt, bei welchem Stimulationselektrode und Stimulator an getrennten Lokalisationen mit separaten Zugangswegen implantiert wurden. Vorteilhaft bei dieser Art der Implantation zeigte sich eine möglichst kleinvolumige Wundhöhle mit reduzierter Gefahr von Gewebewassereinlagerungen. Darüber hinaus erfolgte, als Verbindung zwischen Stimulator und Elektrode, eine langstreckige, subkutane Tunnelung. Hierdurch sollte tendenziell eine geringere Infektionsgefahr zwischen beiden Operationsgebieten, durch Biofilm-Bildung, erreicht werden. Dieses Vorgehen zeigte sich hierbei similär zur klinischen Herangehensweise, bei dem ebenfalls auf möglichst geringe Wundgrößen und lange, subkutane, Tunnelungen geachtet wurde, um die Infektionszahlen niedrig zu halten (Panayotov et al., 2016). Aufgrund der ähnlichen Herangehensweise zwischen präklinischem Versuchsablauf und klinischer Anwendung ergab sich darüber hinaus eine höhere Vergleichbarkeit (Kim et al., 2019).

Als nachteilig bei diesem Vorgehen stellte sich eine vergrößerte Narbenfläche, als beispielsweise bei einer unifokalen Implantation aller Bestandteile mit großflächiger Hautpräparation, beispielsweise von kranial ausgehend, dar.

4.3.2.3 **Wundheilung**

Als zentraler Bestandteil bei der Etablierung eines neuen Implantationsverfahrens erfolgte, im Rahmen dieser Arbeit die Erfassung der Wundverhältnisse. Die in der klinischen Praxis verwendeten Wund-Scores sind nicht direkt auf den gegebenen Versuchsablauf anwendbar, aus diesem Grund erfolgte eine Modifizierung des Southampton-Wound-Scores (MacFarlane et al., 2014).

Wie zu erwarten, ergaben sich zu Beginn des Versuchs erhöhte Werte. Dies lässt sich vor allem aufgrund der größeren Wundfläche mit initialen Entzündungsreaktionen erklären (Martin, 2020). Zwischenzeitlich kam es zu einem deutlichen Rückgang mit normal verlaufender Wundheilung. Erst gegen Ende des Versuches stiegen die Werte im Wund-Score, aufgrund von Komplikationen, beispielsweise mechanischen Irritationen, erneut an. Dies zeigte sich eher konträr zu klinischen Beobachtungen. Hier treten die überwiegende Anzahl an Komplikationen zu Beginn der Therapie auf (Bernstein et al., 2019). Zukünftig stellt sich also die Aufgabe, den physiologischen Wundverlauf weiter zu fördern und Strategien zu entwickeln, mögliche Langzeitkomplikationen zu vermeiden.

4.4 Vergleich implantiertes vs. nicht-implantiertes Stimulator-System

4.4.1 Vergleich Körpergewicht und Belastungen

Ein Hauptfokus bei der Entwicklung eines intrakorporalen Stimulator-Systems bestand in der Verminderung von Stress und Belastungen für die Versuchstiere, während des Stimulationszeitraumes. Bei einer direkten Gegenüberstellung des extra- und intrakorporalen Stimulator-Systems, bezüglich Körpergewichtsverlauf und detektiertem Wohlbefinden der Versuchstiere, ließ sich eine tendenzielle Überlegenheit des intrakorporalen gegenüber dem extrakorporalen Stimulator-Systems vermuten. Aufgrund der ungleichen Ausgangsbedingungen, welche durch die, bei diesem Versuch zu Grunde liegenden, behördlichen Genehmigungen bedingt waren, verbietet sich ein direkter Vergleich der genannten Parameter. Die zunehmende Gewichtsreduktion der Tiere der Versuchsgruppe mit extrakorporalen Stimulatoren, lässt sich möglicherweise auch auf eine erfolgreiche Läsion der SN mit konsekutiv umfangreicher, ausgeprägter Muskelatrophie zurückführen (Shahidi et al., 2018). Für einen definitiven Vergleich ist es in weitergehenden Versuchen unabdingbar, vollkommen gleiche Ausgangsbedingungen, mit beidseits erfolgreich läsionierten Versuchstiergruppen, zu definieren.

Isoliert betrachtet zeigten die Tiere in der Versuchsgruppe mit intrakorporalen Stimulatoren einen positiven Verlauf. Zu Beginn des Versuches war eine Gewichtsreduktion der Tiere zu verzeichnen, mit hoher Wahrscheinlichkeit bedingt, durch den initialen Adaptionsstress der Tiere an die Versuchssituation (Sahagun et al., 2019). Über den Gesamtzeitraum betrachtet konnte während des Versuchs eine Zunahme des Körpergewichts detektiert werden.

4.4.2 Aufwand und Umsetzbarkeit der Systeme

Ein nicht zu unterschätzender Faktor, in der Verwendung von vollständig-implantierten Stimulator-Systemen im experimentellen Setting, ist der zeitliche und materielle Mehraufwand. Vor der Implantation ist die Verkapselung aller Komponenten als zusätzlicher Arbeitsschritt notwendig, um die Implantations-Kompatibilität gewährleisten zu können. Aufgrund der Tatsache, dass es sich bei den verwendeten Stimulator-Systemen in der Regel um Eigenentwicklungen der jeweiligen Forschungsgruppen handelt, ebenso in diesem Versuch, existieren für die Verkapselung kaum erwerbbare Möglichkeiten. Somit bedarf es eines eigenentwickelten Verfahrens zur Isolation und Abschirmung der verwendeten Komponenten, gegen Flüssigkeiten und schädliche Einflüsse, unter Implantationsbedingungen.

Die verwendeten Komponenten müssen zum einen biokompatiblen Charakter aufweisen und zusätzlich den enormen mechanischen und chemischen Einflüssen im Körper der Versuchstiere standhalten können. Darüber hinaus stellt die Wirtschaftlichkeit, für die zukünftige Verwendung im größeren Umfang, einen nicht außer Acht zu lassenden Faktor dar. Durch die Verwendung von modernen Materialien beispielsweise PEEK konnten ein wirtschaftlich interessantes und den aufgeführten Ansprüchen genügendes Verfahren zur Verkapselung von Stimulatoren und Batterien realisieren. Die Verkapselung (siehe Kapitel 2.5.3) konnte durch die mittels CNC-Drehtechnik vorgefertigten PEEK Bauteile schnell und unkompliziert durchgeführt werden. Da komplizierte Formgussvorgänge (siehe Kapitel 2.5.3) entfallen, lässt sich diese nachgebesserte Verkapselungsvariante auch von ungeübten Personen einfach realisieren. Außerdem wird hierdurch die Herstellung umfangreicher Stückzahlen in einem wirtschaftlich vertretbaren Zeitrahmen gewährleistet. Somit verringert sich der Aufwand in der Herstellung der Komponenten. Nachteilig gegenüber dem Verfahren mit nicht-implantierten Stimulatoren zeigt sich der erhöhte Zeitaufwand, während der operativen Implantation. Durch die umfangreicheren Operationsschritte kommt es bei dem voll-implantierten System im Durchschnitt zu einer Verdoppelung der Operationszeiten. Kompensiert wird dies durch die geringere Störanfälligkeit und damit einem verminderten Pflegeaufwand, im Vergleich zu den im Rucksack untergebrachten, nicht-implantierten Stimulatoren.

Abschließend lässt sich sagen, dass die Verwendung von voll-implantierten Stimulatorsystemen einen Mehraufwand in Produktion und Implantation bedeuten. Dieser Mehraufwand lässt sich durch die Optimierung, beispielsweise durch maschinell produzierte Verkapselungskomponenten, reduzieren. Darüber hinaus benötigen implantierte Komponenten weniger Betreuung, weshalb sich der Mehraufwand gegenüber nicht-implantierten Stimulatorsystemen weiter kompensiert.

4.5 Kritikpunkte

In der hier vorgestellten Studie zeigte sich eine Wirksamkeit des etablierten 6-OHDA-induzierten Hemiparkinson-Tiermodells der Ratte. So ergaben sich nach der Läsion signifikant schlechtere Werte der betroffenen Seite für Motorik und Sensomotorik in entsprechenden Testungen. Die Stimulation mittels nicht-implantierten Stimulator-System führte zu keiner signifikanten Verbesserung der gezeigten Symptome. Als negativ für die Aussagekraft dieser Ergebnisse ist hierbei die geringe Fallzahl der verschiedenen Gruppen zu werten. Dies hat einen negativen Einfluss auf die Aussagekraft der Ergebnisse und folglich auf die Möglichkeiten der statistischen Auswertung.

Im weiteren Verlauf des Versuchs konnten Erfahrungen mit selbst entwickelten Konzepten zur Verkapselung und Implantation eines neu konstruierten Stimulatorsystems gesammelt werden. Das Auftreten technischer Schwierigkeiten erforderte ein Nachbessern bei den Verkapselungen, während des Versuchsablaufes. Aus diesem Grund wurden in der Gruppe mit vollständig-implantierten Stimulatoren zwei Varianten von Verkapselungen verwendet. Diese wurden exakt identisch implantiert. Auch bei den Vergleichen von vollständig-implantierten, mit nicht-implantierten Stimulatoren, erfolgte die Testung hinsichtlich Machbarkeit und Wohlbefinden an Gruppen mit geringen Fallzahlen. Dies führte zudem zu Einschränkungen der Aussagekraft und Auswertbarkeit. Ein Grund hierfür lag in ethischen Bestrebungen, Tierversuche zur Neuetablierung von Methoden an einer möglichst geringen Fallzahl zu beginnen, da es keine Erfahrungswerte über die Funktionalität und Umsetzbarkeit der Versuche gibt. Eine weitere Einschränkung in der Auswertung ergab sich zudem durch eine fehlende Normalverteilung der Daten.

5 Schlussfolgerung und Ausblick

Mit der vorliegenden Studie konnte veranschaulicht werden, dass es durch die künstliche Induktion eines IPS mittels 6-OHDA-Läsion der SN zu nachweisbaren Verschlechterungen im motorischen und sensomotorischen Outcome, der entsprechend getesteten Versuchstiere kommt. Ebenso stellten sich partiell belegbare, positive Veränderungen nach dem Einsatz eines nicht-implantierten Stimulator-Systems dar. Diese waren nicht in allen Versuchsaufbauten nachweisbar und erreichten das Referenzniveau der Kontrollgruppe nicht. Ein möglicher Grund hierfür könnte in der Beeinträchtigung der Tiere durch das nicht-implantierte Stimulationssystem selbst liegen. So präsentierten die Tiere während des Versuchsablaufes eine ausgeprägte Zunahme in der Beurteilung der gezeigten Belastungsparameter. Hoffnungsvoll erscheint hier der mildere Verlauf dieser Werte bei den Tieren mit vollständig implantierten Stimulatoren. Leider waren vergleichende Testungen bezüglich Motorik und Sensomotorik aus Gründen der behördlichen Genehmigung zum Zeitpunkt dieser Studie noch nicht möglich. Die positive Tendenz, der hier präsentierten Werte, lässt auf einen Ausbau der nachweisbaren Erfolge in Verhaltenstestungen, mit deutlicherer Annäherung von stimulierten Tieren und Tieren der Kontrollgruppe hoffen.

Die erstmaligen Implantationen des vollständig implantierbaren Stimulator-Systems zeigten eine grundsätzliche Funktionalität des gesamten Systems. Während des Gebrauchs stellten sich die verwendeten Kabelverbindungen als eine der Hauptschwachstellen des Systems dar. Die hier aufgetretenen Kabelbrüche führten nicht selten zum Funktionsverlust des Stimulator-Systems. Aus diesem Grund bedarf es weiterer Anstrengungen, technisch und funktionell kompatible Kabel bereitzustellen, welche den enormen Anforderungen im implantierten Zustand standhalten. Dies gelang bereits partiell durch den Einsatz von PTFE ummantelten Kabeln.

Anfänglich aufgetretene Probleme bei der Verkapselung der Komponenten konnten durch den Einsatz von PEEK Hüllen beseitigt werden.

Somit erscheint es sinnvoll, bei der Beseitigung der noch bestehenden Problematiken den Einsatz von Neurostimulatoren in Tiermodellen auf die Nutzung vollständig implantierbarer Systeme zu fokussieren. Dies trifft vor allem auf den Einsatz bei Langzeitstudien zu, da sich der durch die vollständige Implantation erhöhte Aufwand hierbei am deutlichsten ausgleicht. Bei der Beseitigung der Problematiken, welche durch die Kabelverbindungen entstanden sind, scheint ein kontinuierlicher Einsatz auch über zwanzig Tage mit dem hier erprobten System möglich. Somit eröffnen sich weitere Möglichkeiten, Langzeiteffekte durch Stimulation definierter Hirnareale in Bezug auf Verhalten, aber auch post mortem auf zellulärer

Ebene zu erforschen. Neben weiteren Erkenntnissen über die Behandlung des Morbus Parkinson ergeben sich hierdurch auch vereinfachte Möglichkeiten, neue Indikationsgebiete der Tiefen Hirnstimulation zu erforschen.

Somit dienen die Ergebnisse und Beobachtungen dieser Arbeit als Grundlage für die Beantragung und Planung weiterer Versuche, mit vollständig implantierten Stimulator-Systemen.

Danksagung

Für die Möglichkeit, eine Promotion verfasst haben zu können, bin ich zutiefst dankbar. Dieser Dank gilt vor allem all den Personen, welche mich während der gesamten Zeit mit Rat und Tat unterstützt haben.

Als Erstes möchte ich mich hierbei gerne bei Herrn Prof. Dr. med. Alexander Storch für die Themenvergabe und das Engagement sowohl für die Beratung als auch Korrektur meiner Arbeit bedanken.

Weiterhin bedanke ich mich sehr herzlich bei Frau Dr. rer. nat. Kathrin Badstübner für die immer freundliche Betreuung während eines Großteiles meiner Promotionszeit sowie für die Bereitstellung von Bild- und Datenmaterial. Für die abschließende Betreuung und Korrekturen bedanke ich mich außerdem vielmals bei Frau Dr. med. Mareike Fauser. Bei der Durchführung der Versuche helfend zur Seite standen mir darüber hinaus Frau Maria Kober sowie Frau Jennifer Käthner, wofür ich mich ebenfalls herzlichst bedanken möchte.

Es war eine schöne Zeit im Forschungslabor für Experimentelle Neurologie (FEN), geprägt von Kollegialität und Teamgeist, wofür ich allen Mitarbeitern, allen vorweg Frau Uta Naumann, ebenfalls herzlichst danken möchte.

Die Möglichkeit zur Durchführung dieser Arbeit beruht zu großen Teilen auf den wissenschaftlich-technischen Errungenschaften, welche im Rahmen des Sonderforschungsbereiches 1270 „Elaine“ an der Universität Rostock entstanden sind. Hierf m te ich mich besonders bei der Arbeitsgruppe B03 von Herrn Prof. Dr.-Ing. Dirk Timmermann und dessen Arbeitsgruppe, speziell Herrn Franz Plocksties, für die gute Zusammenarbeit und die Entwicklungsbemühungen bedanken.

Ein besonderer Dank gilt darüber hinaus Herrn Prof. Dr. Hans-Joachim Deppe und Frau Sarah Seufert für die Korrekturlesungen dieser Arbeit.

Abschließend gilt mein Dank noch den an dieser Arbeit beteiligten Gutachtern.

Danke!

Literaturverzeichnis

ABEL, T. J., WALCH, T. & HOWARD, M. A., 3RD 2016. Russell Meyers (1905-1999): pioneer of functional and ultrasonic neurosurgery. *J Neurosurg,* 125**,** 1589-1595.

ALPAUGH, M., SAINT-PIERRE, M., DUBOIS, M., AUBE, B., ARSENAULT, D., KRIZ, J., CICCHETTI, A. & CICCHETTI, F. 2019. A novel wireless brain stimulation device for long-term use in freely moving mice. *Sci Rep,* 9**,** 6444.

ANDERSON, C., SHEPPARD, D. & DORVAL, A. D. 2020. Parkinsonism and subthalamic deep brain stimulation dysregulate behavioral motivation in a rodent model. *Brain Res,* 1736**,** 146776.

ARMSTRONG, M. J. & OKUN, M. S. 2020. Diagnosis and Treatment of Parkinson Disease: A Review. *Jama,* 323**,** 548-560.

ASHOURI VAJARI, D., RAMANATHAN, C., TONG, Y., STIEGLITZ, T., COENEN, V. A. & DOBROSSY, M. D. 2020. Medial forebrain bundle DBS differentially modulates dopamine release in the nucleus accumbens in a rodent model of depression. *Exp Neurol,* 327**,** 113224.

BADSTUEBNER, K., GIMSA, U., WEBER, I., TUCHSCHERER, A. & GIMSA, J. 2017. Deep Brain Stimulation of Hemiparkinsonian Rats with Unipolar and Bipolar Electrodes for up to 6 Weeks: Behavioral Testing of Freely Moving Animals. *Parkinsons Dis,* 2017**,** 5693589.

BANDRES-CIGA, S., DIEZ-FAIREN, M., KIM, J. J. & SINGLETON, A. B. 2020. Genetics of Parkinson's disease: An introspection of its journey towards precision medicine. *Neurobiol Dis,* 137**,** 104782.

BENABID, A. L., POLLAK, P., LOUVEAU, A., HENRY, S. & DE ROUGEMONT, J. 1987. Combined (thalamotomy and stimulation) stereotactic surgery of the VIM thalamic nucleus for bilateral Parkinson disease. *Appl Neurophysiol,* 50**,** 344-6.

BERNSTEIN, J. E., KASHYAP, S., RAY, K. & ANANDA, A. 2019. Infections in Deep Brain Stimulator Surgery. *Cureus,* 11**,** e5440.

BETHESDA 2012. Parkinson Disease Agents. *LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury.* Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases.

CERNERA, S., EISINGER, R. S., WONG, J. K., HO, K. W. D., LOPES, J. L., TO, K., CARBUNARU, S., RAMIREZ-ZAMORA, A., ALMEIDA, L., FOOTE, K. D., OKUN, M. S. & GUNDUZ, A. 2020. Long-term Parkinson's disease quality of life after staged DBS: STN vs GPi and first vs second lead. *NPJ Parkinsons Dis,* 6**,** 13.

DANDY, W. E. & KÖBCKE, H. 1938. *Hirnchirurgie,* Leipzig, Barth.

DAVID, F. J., MUNOZ, M. J. & CORCOS, D. M. 2020. The effect of STN DBS on modulating brain oscillations: consequences for motor and cognitive behavior. *Exp Brain Res,* 238**,** 1659-1676.

DEUSCHL, G., OERTEL, W. & POEWE, W. 2019. *Parkinson-Syndrome und andere Bewegungsstörungen,* Stuttgart, Thieme.

DOSHI, P. K. 2018. Expanding indications for deep brain stimulation. *Neurol India,* 66**,** S102-S112.

EWING, S. G., PORR, B., RIDDELL, J., WINTER, C. & GRACE, A. A. 2013. SaBer DBS: a fully programmable, rechargeable, bilateral, charge-balanced preclinical microstimulator for long-term neural stimulation. *J Neurosci Methods,* 213**,** 228-35.

GARATTINI, S. & GRIGNASCHI, G. 2017. Animal testing is still the best way to find new treatments for patients. *Eur J Intern Med,* 39**,** 32-35.

GONZALEZ-PARDO, H., ARIAS, J. L., VALLEJO, G. & CONEJO, N. M. 2019. Environmental enrichment effects after early stress on behavior and functional brain networks in adult rats. *PLoS One,* 14**,** e0226377.

HARIZ, M. I., BLOMSTEDT, P. & ZRINZO, L. 2010. Deep brain stimulation between 1947 and 1987: the untold story. *Neurosurg Focus,* 29**,** E1.

HERNAN, M. A., HERNANDEZ-DIAZ, S. & ROBINS, J. M. 2004. A structural approach to selection bias. *Epidemiology,* 15**,** 615-25.

HOLTZHEIMER, P. E. & MAYBERG, H. S. 2011. Deep brain stimulation for psychiatric disorders. *Annu Rev Neurosci,* 34**,** 289-307.

HU, C., LUO, Y., WANG, H., KUANG, S., LIANG, G., YANG, Y., MAI, S. & YANG, J. 2017. Re-evaluation of the interrelationships among the behavioral tests in rats exposed to chronic unpredictable mild stress. *PLoS One,* 12**,** e0185129.

K. BADSTÜBNER, T. K., E. MIX, U. GIMSA , R. BENECKE AND J. GIMSA 2012. CHARACTERIZATION OF THE ENCAPSULATION PROCESS OF DEEP BRAIN STIMULATION ELECTRODES USING IMPEDANCE SPECTROSCOPY IN A RODENT MODEL.

KIM, I. J., SHIM, D. J., LEE, J. H., KIM, E. T., BYEON, J. H., LEE, H. J. & CHO, S. G. 2019. Impact of subcutaneous tunnels on peripherally inserted catheter placement: a multicenter retrospective study. *Eur Radiol,* 29**,** 2716-2723.

KINFE, T., DEL VECCHIO, A., NÜSSEL, M., ZHAO, Y., STADLBAUER, A. & BUCHFELDER, M. 2022. Deep brain stimulation and stereotactic-assisted brain graft injection targeting fronto-striatal circuits for Huntington's disease: an update. *Expert Rev Neurother***,** 1-8.

KLUNE, C. B., LARKIN, A. E., LEUNG, V. S. Y. & PANG, D. 2019. Comparing the Rat Grimace Scale and a composite behaviour score in rats. *PLoS One,* 14**,** e0209467.

KNYAZEVA, S. I., LOGINOVA, N. A. & LOSEVA, E. V. 2012. Anxiety level and body weight changes in rats living in overpopulated cages. *Bull Exp Biol Med,* 154**,** 3-6.

LAI, F., JIANG, R., XIE, W., LIU, X., TANG, Y., XIAO, H., GAO, J., JIA, Y. & BAI, Q. 2018. Intestinal Pathology and Gut Microbiota Alterations in a Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) Mouse Model of Parkinson's Disease. *Neurochem Res,* 43**,** 1986-1999.

LEUCHTWEIS, J., SEGOND VON BANCHET, G., EITNER, A., EBBINGHAUS, M. & SCHAIBLE, H. G. 2020. Pain-related behaviors associated with persistence of mechanical hyperalgesia after antigen-induced arthritis in rats. *Pain,* 161**,** 1571-1583.

LOZANO, A. M., LIPSMAN, N., BERGMAN, H., BROWN, P., CHABARDES, S., CHANG, J. W., MATTHEWS, K., MCINTYRE, C. C., SCHLAEPFER, T. E., SCHULDER, M., TEMEL, Y., VOLKMANN, J. & KRAUSS, J. K. 2019a. Deep brain stimulation: current challenges and future directions. *Nat Rev Neurol,* 15**,** 148-60.

LOZANO, A. M., LIPSMAN, N., BERGMAN, H., BROWN, P., CHABARDES, S., CHANG, J. W., MATTHEWS, K., MCINTYRE, C. C., SCHLAEPFER, T. E., SCHULDER, M., TEMEL, Y., VOLKMANN, J. & KRAUSS, J. K. 2019b. Deep brain stimulation: current challenges and future directions. *Nat Rev Neurol,* 15**,** 148-160.

MACFARLANE, R. J., DONNELLY, T. D., KHAN, Y., MORAPUDI, S., WASEEM, M. & FISCHER, J. 2014. Clinical outcome and wound healing following carpal

tunnel decompression: a comparison of two common suture materials. *Biomed Res Int,* 2014**,** 270137.

MALEK, N. 2019. Deep Brain Stimulation in Parkinson's Disease. *Neurol India,* 67**,** 968-978.

MANASA, K., CHITRA, V. & TAMILANBAN, T. 2020. Teleost Model as an Alternative in Parkinson's Disease. *Neurol India,* 68**,** 979-984.

MARTIN, R. F. 2020. Wound Healing. *Surg Clin North Am,* 100**,** ix-xi.

MCEWEN, B. S. 2007. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol Rev,* 87**,** 873-904.

MCINTYRE, C. C. & ANDERSON, R. W. 2016. Deep brain stimulation mechanisms: the control of network activity via neurochemistry modulation. *J Neurochem,* 139 Suppl 1**,** 338-345.

MISHRA, P., PANDEY, C. M., SINGH, U., KESHRI, A. & SABARETNAM, M. 2019. Selection of appropriate statistical methods for data analysis. *Ann Card Anaesth,* 22**,** 297-301.

MUTHURAMAN, M., BANGE, M., KOIRALA, N., CIOLAC, D., PINTEA, B., GLASER, M., TINKHAUSER, G., BROWN, P., DEUSCHL, G. & GROPPA, S. 2020. Cross-frequency coupling between gamma oscillations and deep brain stimulation frequency in Parkinson's disease. *Brain,* 143**,** 3393-3407.

NAMBU, A. 2007. Globus pallidus internal segment. *Prog Brain Res,* 160**,** 135-50.

NEUMANN, W. J., TURNER, R. S., BLANKERTZ, B., MITCHELL, T., KUHN, A. A. & RICHARDSON, R. M. 2019. Toward Electrophysiology-Based Intelligent Adaptive Deep Brain Stimulation for Movement Disorders. *Neurotherapeutics,* 16**,** 105-118.

NIEMANN G., W. H., HÖHN BR. 2001. Löt-, Kleb- und kombinierte Verbindungen. *Maschinenelemente. Springer, Berlin, Heidelberg.*

NÜSSEL, M., HAMPERL, M., MASLAROVA, A., CHAUDHRY, S. R., KÖHN, J., STADLBAUER, A., BUCHFELDER, M. & KINFE, T. 2021. Burst Motor Cortex Stimulation Evokes Sustained Suppression of Thalamic Stroke Pain: A Narrative Review and Single-Case Overview. *Pain Ther,* 10**,** 101-114.

NÜSSEL, M., ZHAO, Y., KNORR, C., REGENSBURGER, M., STADLBAUER, A., BUCHFELDER, M., DEL VECCHIO, A. & KINFE, T. 2022. Deep Brain Stimulation, Stereotactic Radiosurgery and High-Intensity Focused Ultrasound Targeting the Limbic Pain Matrix: A Comprehensive Review. *Pain Ther,* 11**,** 459-476.

PANAYOTOV, I. V., ORTI, V., CUISINIER, F. & YACHOUH, J. 2016. Polyetheretherketone (PEEK) for medical applications. *J Mater Sci Mater Med,* 27**,** 118.

PEKER, N., DONIPADI, V., SHARMA, M., MCFARLANE, C. & KAMBADUR, R. 2018. Loss of Parkin impairs mitochondrial function and leads to muscle atrophy. *Am J Physiol Cell Physiol,* 315**,** C164-C185.

PITAK-ARNNOP, P., DHANUTHAI, K., HEMPRICH, A. & PAUSCH, N. C. 2010. Misleading p-value:do you recognise it? *Eur J Dent,* 4**,** 356-8.

PLOCKSTIES, F., KOBER, M., NIEMANN, C., HELLER, J., FAUSER, M., NUSSEL, M., USTER, F., FRANZ, D., ZWAR, M., LUTTIG, A., KROGER, J., HARLOFF, J., SCHULZ, A., RICHTER, A., KOHLING, R., TIMMERMANN, D. & STORCH, A. 2021a. The software defined implantable modular platform (STELLA) for preclinical deep brain stimulation research in rodents. *J Neural Eng,* 18.

PLOCKSTIES, F., KOBER, M., NIEMANN, C., HELLER, J., FAUSER, M., NÜSSEL, M., USTER, F., FRANZ, D., ZWAR, M., LÜTTIG, A., KRÖGER, J.,

HARLOFF, J., SCHULZ, A., RICHTER, A., KÖHLING, R., TIMMERMANN, D. & STORCH, A. 2021b. The software defined implantable modular platform (STELLA) for preclinical deep brain stimulation research in rodents. *J Neural Eng,* 18.

PRASAD, E. M. & HUNG, S. Y. 2020. Behavioral Tests in Neurotoxin-Induced Animal Models of Parkinson's Disease. *Antioxidants (Basel),* 9.

REVESZ, D., RYDENHAG, B. & BEN-MENACHEM, E. 2016. Complications and safety of vagus nerve stimulation: 25 years of experience at a single center. *J Neurosurg Pediatr,* 18**,** 97-104.

ROBINSON, N. B., KRIEGER, K., KHAN, F. M., HUFFMAN, W., CHANG, M., NAIK, A., YONGLE, R., HAMEED, I., KRIEGER, K., GIRARDI, L. N. & GAUDINO, M. 2019. The current state of animal models in research: A review. *Int J Surg,* 72**,** 9-13.

ROMANOVA, E. V. & SWEEDLER, J. V. 2018. Animal Model Systems in Neuroscience. *ACS Chem Neurosci,* 9**,** 1869-1870.

RZESNITZEK, L., HARIZ, M. & KRAUSS, J. K. 2019. The Origins of Human Functional Stereotaxis: A Reappraisal. *Stereotact Funct Neurosurg,* 97**,** 49-54.

SAHAGUN, E., WARD, L. M. & KINZIG, K. P. 2019. Attenuation of stress-induced weight loss with a ketogenic diet. *Physiol Behav,* 212**,** 112654.

SCHUEPBACH, W. M., RAU, J., KNUDSEN, K., VOLKMANN, J., KRACK, P., TIMMERMANN, L., DEUSCHL, G et al. 2013. Neurostimulation for Parkinson's disease with early motor complications. *N Engl J Med,* 368**,** 610-22.

SHAHIDI, B., SHAH, S. B., ESPARZA, M., HEAD, B. P. & WARD, S. R. 2018. Skeletal Muscle Atrophy and Degeneration in a Mouse Model of Traumatic Brain Injury. *J Neurotrauma,* 35**,** 398-401.

SILVA, K., CARVALHO, M. C. & PADOVAN, C. M. 2016. Tolerance to repeated stress in rats with lesions of the serotoninergic neurons of the Median Raphe Nucleus and chronically treated with imipramine. *Behav Brain Res,* 302**,** 220-7.

SLIKKER, W., JR., ACUFF, K., BOYES, W. K., CHELONIS, J., CROFTON, K. M., DEARLOVE, G. E., LI, A., MOSER, V. C., NEWLAND, C., ROSSI, J., SCHANTZ, S., SETTE, W., SHEETS, L., STANTON, M., TYL, S. & SOBOTKA, T. J. 2005. Behavioral test methods workshop. *Neurotoxicol Teratol,* 27**,** 417-27.

SPIEGEL, E. A., WYCIS, H. T., MARKS, M. & LEE, A. J. 1947. Stereotaxic Apparatus for Operations on the Human Brain. *Science,* 106**,** 349-50.

STEFANI, A., CERRONI, R., PIERANTOZZI, M., D'ANGELO, V., GRANDI, L., SPANETTA, M. & GALATI, S. 2021. Deep brain stimulation in Parkinson's disease patients and routine 6-OHDA rodent models: Synergies and pitfalls. *Eur J Neurosci,* 53**,** 2322-2343.

SU, C. F., JIANG, L., ZHANG, X. W., IYASWAMY, A. & LI, M. 2021. Resveratrol in Rodent Models of Parkinson's Disease: A Systematic Review of Experimental Studies. *Front Pharmacol,* 12**,** 644219.

TAN, S., VLAMINGS, R., LIM, L., SESIA, T., JANSSEN, M. L., STEINBUSCH, H. W., VISSER-VANDEWALLE, V. & TEMEL, Y. 2010. Experimental deep brain stimulation in animal models. *Neurosurgery,* 67**,** 1073-9; discussion1080.

TU, B. X., WANG, L. F., ZHONG, X. L., HU, Z. L., CAO, W. Y., CUI, Y. H., LI, S. J., ZOU, G. J., LIU, Y., ZHOU, S. F., ZHANG, W. J., SU, J. Z., YAN, X. X., LI, F.

& LI, C. Q. 2019. Acute restraint stress alters food-foraging behavior in rats: Taking the easier Way while suffered. *Brain Res Bull,* 149**,** 184-193.

VEENING-GRIFFIOEN, D. H., FERREIRA, G. S., BOON, W. P. C., GISPEN-DE WIED, C. C., SCHELLEKENS, H., MOORS, E. H. M. & VAN MEER, P. J. K. 2021. Tradition, not science, is the basis of animal model selection in translational and applied research. *ALTEX,* 38**,** 49-62.

VOGES, J. & TIMMERMANN, L. 2017. Tiefe Hirnstimulation. Grundlagen, Indikationen, Verfahren. *EBOOK PACKAGE Medicine and Life Sciences 2017.* Berlin: De Gruyter.

VOLKMANN, J., ALBANESE, A., ANTONINI, A., CHAUDHURI, K. R., CLARKE, C. E., DE BIE, R. M., DEUSCHL, G., EGGERT, K., HOUETO, J. L., KULISEVSKY, J., NYHOLM, D., ODIN, P., OSTERGAARD, K., POEWE, W., POLLAK, P., RABEY, J. M., RASCOL, O., RUZICKA, E., SAMUEL, M., SPEELMAN, H., SYDOW, O., VALLDEORIOLA, F., VAN DER LINDEN, C. & OERTEL, W. 2013. Selecting deep brain stimulation or infusion therapies in advanced Parkinson's disease: an evidence-based review. *J Neurol,* 260**,** 2701-14.

WICHMANN, T. & DELONG, M. R. 2016. Deep Brain Stimulation for Movement Disorders of Basal Ganglia Origin: Restoring Function or Functionality? *Neurotherapeutics,* 13**,** 264-83.

WOJTECKI, L., GROISS, S. J., HARTMANN, C. J., ELBEN, S., OMLOR, S., SCHNITZLER, A. & VESPER, J. 2016. Deep Brain Stimulation in Huntington's Disease-Preliminary Evidence on Pathophysiology, Efficacy and Safety. *Brain Sci,* 6.

ZHU, S., JIANG, Y., XU, K., CUI, M., YE, W., ZHAO, G., JIN, L. & CHEN, X. 2020. The progress of gut microbiome research related to brain disorders. *J Neuroinflammation,* 17**,** 25.

Anhang

Daten

ID	Vpn	Status	Startgewicht	Gewichtsverlauf_T_0	Belastung_T_0	Gewicht_Tag_1	Gewichtsverlauf_Tag_1	Belastung_T_1	Gewicht_Tag_2	Gewichtsverlauf_Tag_2	Belastung_Tag_2	Gewicht_Tag_3	Gewichtsverlauf_Tag_3	Belastung_Tag_3	Gewicht_Tag_4	Gewichtsverlauf_Tag_4	Belastung_Tag_4	Gewicht_Tag_5	Gewichtsverlauf_Tag_5	Belastung_Tag_5	Gewicht_Tag_6	Gewichtsverlauf_Tag_6	Belastung_Tag_6	Gewicht_Tag_7	Gewichtsverlauf_Tag_7
1	3	1																							
2	298	1																							
3	286	1																							
4	25	1																							
5	22	1																							
6	35	1																							
7	9	3																							
8	14	3																							
9	16	3																							
10	17	3																							
11	30	3																							
12	34	3																							
13	3	4	415,00	0,00	0,00	400,00	-3,60	2,00	395,00	-4,80	3,00	395,00	-4,80	3,00	400,00	-3,60	2,00	400,00	-3,60	4,00	395,00	-4,80	3,00	385,00	-7,20
14	298	4	510,00	0,00	0,00	505,00	-1,00	2,00	500,00	-2,00	2,00	490,00	-3,90	3,00	450,00	-11,80	12,00	455,00	-10,80	13,00	455,00	-10,80	12,00	460,00	-9,80
15	286	4	480,00	0,00	0,00	475,00	-1,00	1,00	470,00	-2,10	2,00	450,00	-6,30	6,00	450,00	-6,30	7,00	460,00	-4,20	2,00	455,00	-5,20	6,00	460,00	-4,20
16	25	4	505,00	0,00	0,00	500,00	-1,00	1,00	500,00	-1,00	1,00	510,00	1,00	1,00	500,00	-1,00	2,00	500,00	-1,00	3,00	505,00	0,00	1,00	505,00	0,00
17	22	4	400,00	0,00	0,00	395,00	-1,30	1,00	390,00	-2,50	2,00	385,00	-3,80	1,00	385,00	-3,80	1,00	380,00	-5,00	5,00	380,00	-5,00	5,00	385,00	-3,80
18	35	4	565,00	0,00	0,00	565,00	0,00	1,00	570,00	0,90	1,00	560,00	-0,90	6,00	540,00	-4,40	3,00	540,00	-4,40	2,00	545,00	-3,50	2,00	545,00	-3,50
19	303	5	560,00	0,00	0,00	560,00	0,00	3,00	550,00	-1,80	3,00	545,00	-2,70	3,00	540,00	-3,60	2,00	550,00	-1,80	2,00	545,00	-2,70	2,00	545,00	-2,70
20	304	5	580,00	0,00	0,00	550,00	-5,20	7,00	545,00	-6,00	6,00	540,00	-6,90	6,00	535,00	-7,80	6,00	555,00	-4,30	2,00	560,00	-3,40	3,00	560,00	-3,40
21	310	5	670,00	0,00	0,00	670,00	0,00	1,00	665,00	-0,70	2,00	665,00	-0,70	3,00	670,00	0,00	1,00	675,00	0,70	1,00	670,00	0,00	0,00	670,00	0,00
22	330	5	540,00	0,00	0,00	530,00	-1,90	3,00	520,00	-3,70	2,00	520,00	-3,70	2,00	525,00	-2,80	2,00	530,00	-1,90	2,00	530,00	-1,90	2,00	530,00	-1,90
23	511	5	335,00	0,00	0,00	335,00	0,00	3,00	330,00	-1,50	2,00	330,00	-1,50	2,00	330,00	-1,50	2,00	335,00	0,00	1,00	330,00	-1,50	2,00	340,00	1,50
24	513	5	315,00	0,00	0,00	310,00	-1,60	1,00	315,00	0,00	0,00	310,00	-1,60	2,00	310,00	-1,60	1,00	325,00	3,20	1,00	320,00	1,60	1,00	330,00	4,80

Belastung_Tag_7	Gewicht_Tag_8	Gewichtsverlauf_Tag_8	Belastung_Tag_8	Gewicht_Tag_9	Gewichtsverlauf_Tag_9	Belastung_Tag_9	Gewicht_Tag_10	Gewichtsverlauf_Tag_10	Belastung_Tag_10	Gewicht_Tag_11	Gewichtsverlauf_Tag_11	Belastung_Tag_11	Gewicht_Tag_12	Gewichtsverlauf_Tag_12	Belastung_Tag_12	Gewicht_Tag_13	Gewichtsverlauf_Tag_13	Belastung_Tag_13	Gewicht_Tag_14	Gewichtsverlauf_Tag_14	Belastung_Tag_14	Gewicht_Tag_15	Gewichtsverlauf_Tag_15	Belastung_Tag_15
5,00	395,00	-4,80	4,00	395,00	-4,80	3,00	400,00	-3,60	2,00	405,00	-2,40	1,00	405,00	-2,40	2,00	400,00	-3,60	2,00	400,00	-3,60	3,00	395,00	-4,80	2,00
5,00	455,00	-10,80	13,00	460,00	-9,80	7,00	470,00	-7,80	6,00	470,00	-7,80	5,00	475,00	-6,90	6,00	480,00	-5,90	6,00	480,00	-5,90	7,00	485,00	-4,90	2,00
2,00	460,00	-4,20	3,00	465,00	-3,10	2,00	465,00	-3,10	1,00	460,00	-4,20	2,00	465,00	-3,10	2,00	470,00	-2,10	2,00	475,00	-1,00	3,00	470,00	-2,10	3,00
0,00	500,00	-1,00	2,00	495,00	-2,00	2,00	500,00	-1,00	2,00	505,00	0,00	1,00	505,00	0,00	1,00	520,00	3,00	1,00	510,00	1,00	2,00	510,00	1,00	1,00
1,00	380,00	-5,00	6,00	385,00	-3,80	1,00	385,00	-3,80	1,00	390,00	-2,50	22,00	385,00	-3,80	2,00	390,00	-2,50	2,00	390,00	-2,50	2,00	395,00	-1,30	2,00
2,00	550,00	-2,70	2,00	540,00	-4,40	2,00	545,00	-3,50	2,00	550,00	-2,70	2,00	550,00	-2,70	2,00	555,00	-1,80	2,00	550,00	-2,70	7,00	550,00	-2,70	2,00
2,00	545,00	-2,70	3,00	540,00	-3,60	2,00	540,00	-3,60	3,00	545,00	-2,70	1,00	555,00	-0,90	1,00	560,00	0,00	0,00	560,00	0,00	1,00	560,00	0,00	0,00
2,00	565,00	-2,60	3,00	565,00	-2,60	1,00	565,00	-2,60	2,00	570,00	-1,70	3,00	575,00	-0,90	1,00	580,00	0,00	0,00	585,00	0,90	1,00	585,00	0,90	0,00
1,00	670,00	0,00	0,00	675,00	0,70	0,00	680,00	1,50	1,00	690,00	3,00	1,00	690,00	3,00	0,00	695,00	3,70	1,00	695,00	3,70	1,00	700,00	4,50	1,00
2,00	530,00	-1,90	2,00	535,00	-0,90	2,00	535,00	-0,90	2,00	530,00	-1,90	2,00	530,00	-1,90	1,00	530,00	-1,90	1,00	530,00	-1,90	1,00	525,00	-2,80	1,00
1,00	340,00	1,50	1,00	340,00	1,50	1,00	340,00	1,50	1,00	340,00	1,50	1,00	340,00	1,50	1,00	340,00	1,50	1,00	350,00	4,50	1,00	350,00	4,50	0,00
0,00	330,00	4,80	0,00	335,00	6,30	2,00	330,00	4,80	0,00	340,00	7,90	0,00	330,00	4,80	0,00	340,00	7,90	1,00	335,00	6,30	1,00	330,00	4,80	1,00

Gewicht_Tag_16	Gewichtsverlauf_Tag_16	Belastung_Tag_16	Gewicht_Tag_17	Gewichtsverlauf_Tag_17	Belastung_Tag_17	Gewicht_Tag_18	Gewichtsverlauf_Tag_18	Belastung_Tag_18	Gewicht_Tag_19	Gewichtsverlauf_Tag_19	Belastung_Tag_19	Gewicht_Tag_20	Gewichtsverlauf_Tag_20	Belastung_Tag_20	ST_VHL	ST_VHR	KLB_VH	ST_RHL	ST_RHR	KLB_RH	KT
															4,00	13,00	23,53	6,00	20,50	22,64	40,00
															4,50	17,00	21,50	7,00	13,00	35,00	0,00
															1,00	8,00	11,11	6,00	13,50	30,80	27,27
															0,00	13,00	0,00	6,50	15,50	29,55	2,90
															5,00	24,50	16,95	5,50	21,00	20,75	0,00
															12,00	12,50	48,98	14,00	16,00	46,67	30,80
															12,50	14,00	47,17	14,50	16,50	46,77	76,70
															9,50	15,50	38,00	16,00	16,50	49,23	51,50
															12,00	14,00	46,15	15,00	17,50	46,15	21,70
															15,00	13,50	52,63	15,00	16,50	47,62	18,80
															12,50	17,50	41,67	10,00	16,50	37,74	46,70
															17,00	11,00	60,71	15,50	19,00	44,93	46,90
395,00	-4,80	1,00	400,00	-3,60	2,00	405,00	-2,40	3,00	405,00	-2,40	2,00	400,00	-3,60	2,00	0,50	7,00	6,67	3,50	14,50	19,44	7,10
485,00	-4,90	2,00	480,00	-5,90	6,00	490,00	-3,90	2,00	495,00	-2,90	2,00	500,00	-2,00	2,00	3,00	8,50	26,10	7,50	16,50	31,30	12,00
470,00	-2,10	7,00	475,00	-1,00	3,00	480,00	0,00	2,00	480,00	0,00	2,00	475,00	-1,00	3,00	1,00	9,50	9,50	8,00	15,00	53,13	32,50
510,00	1,00	1,00	515,00	2,00	1,00	510,00	1,00	5,00	510,00	1,00	5,00	505,00	0,00	5,00	1,50	2,00	42,86	4,50	4,00	52,94	26,90
395,00	-1,30	2,00	400,00	0,00	1,00	390,00	-2,50	2,00	390,00	-2,50	2,00	385,00	-3,80	2,00	11,50	13,00	46,94	0,50	6,50	7,14	23,10
555,00	-1,80	2,00	555,00	-1,80	2,00	560,00	-0,90	1,00	565,00	0,00	1,00	560,00	-0,90	2,00	8,00	16,50	32,65	6,00	10,00	37,50	42,90
565,00	0,90	0,00	565,00	0,90	0,00	570,00	1,80	0,00	565,00	0,90	2,00	575,00	2,70	1,00							
590,00	1,70	0,00	585,00	0,90	0,00	585,00	0,90	0,00	585,00	0,90	0,00	585,00	0,90	0,00							
705,00	5,20	4,00	705,00	5,20	4,00	700,00	4,50	3,00	705,00	5,20	5,00	710,00	6,00	4,00							
530,00	-1,90	1,00	525,00	-2,80	1,00	530,00	-1,90	1,00	535,00	-0,90	2,00	535,00	-0,90	2,00							
350,00	4,50	3,00	350,00	4,50	5,00	355,00	6,00	3,00	350,00	4,50	2,00	355,00	6,00	2,00							
340,00	7,90	1,00	340,00	7,90	1,00	345,00	9,50	2,00	340,00	9,50	2,00	345,00	9,50	2,00							

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name:	Martin Johann Nüssel
Geburtsdatum:	08.05.1992 in Bayreuth
Familienstand:	ledig

Berufliche Tätigkeit

04/2020 – 03/2022	AiW; Klinik und Poliklinik für Neurochirurgie; Universitätsklinikum Erlangen (Prof. Dr. M. Buchfelder)
Seit 04/2022	AiW, Klinik für diagnostische und interventionelle Radiologie / Neuroradiologie; Klinikum Bayreuth; Campus Oberfranken; Universitätsklinikum Erlangen (PD Dr. T Klink).

Akademische Ausbildung

09/2013 bis 05/2015	Studium der Humanmedizin an der Universität Pécs (Ungarn)
09/2015 bis 11/2019	Studium der Humanmedizin an der Universität Rostock

Publikationen

- The software defined implantable modular platform (STELLA) for preclinical deep brain stimulation research in rodents (Plocksties et al., 2021b)
- Deep brain stimulation and stereotactic-assisted brain graft injection targeting fronto-striatal circuits for Huntington's disease (Kinfe et al., 2022)
- Deep Brain Stimulation, Stereotactic Radiosurgery and High-Intensity Focused Ultrasound Targeting the Limbic Pain Matrix: A Comprehensive Review (Nüssel et al., 2022)
- Burst Motor Cortex Stimulation Evokes Sustained Suppression of Thalamic Stroke Pain: A Narrative Review and Single-Case Overview (Nüssel et al., 2021)

Thesen

I. Durch die intrazerebrale Injektion von 6-OHDA kommt es zu einer nachweisbaren Induktion von Symptomen des Morbus Parkinson.

II. Durch den Gebrauch von extrakorporalen Stimulatoren zur Tiefen-Hirnstimulation lassen sich Defizite, wie Akinesie und motorischer Neglect signifikant verbessern.

III. Durch eine vollständige Verkapselung lassen sich Stimulatoren für einen Versuchszeitraum von mindestens 20 Tagen vollständig in die Versuchstiere implantieren.

IV. Bezüglich objektivierbarer Parameter, wie dem Verlauf der Körpergewichte zeigt sich die intrakorporale Stimulationsvariante gegenüber der extrakorporalen Stimulationsvariante überlegen.

V. Die intrakorporale Stimulationsvariante zeigt eine niedrigere Belastung für die Versuchstiere.

VI. Tiermodelle sind aktuell weiterhin notwendig, um neue Therapiekonzepte zu etablieren.

VII. Die Verwendung neuer Materialien, wie PEEK, eröffnen neue Möglichkeit für die Etablierung von Versuchsmodellen.