

# Kombinierte elektrische Stimulation und neurotrophe Behandlung der ertaubten Katzens Cochlea mittels Cochlea Implant und eingekapselter Zellen

<sup>1</sup>W. Konerding, <sup>1</sup>H. Janssen, <sup>1</sup>J. Schwieger, <sup>2</sup>A. Dhanasingh, <sup>3</sup>J. Ekberg, <sup>3</sup>J. Tornøe, <sup>1</sup>Th. Lenarz, <sup>1</sup>V. Scheper

<sup>1</sup>HNO-Klinik und Deutsches Hörzentrum Hannover (DHZ) der Medizinischen Hochschule Hannover (Direktor: Prof. Th. Lenarz)

<sup>2</sup>MED-EL, Innsbruck; <sup>3</sup>NsGene, Kopenhagen

## Einleitung

Für eine Behandlung tauber Patienten mittels eines Cochlea Implantates (CI) ist der langfristige Erhalt des Hörnervs entscheidend. Bei sensorineuraler Taubheit kann die Degeneration der Spiralganglienzellen (SGZ) durch ein lokales Einbringen neurotropher Faktoren verhindert werden (Scheper et al. 2009). Eine neue Applikationsmethode ist die der faktorproduzierenden, eingekapselten Zellen (sog. EC device, Firma NsGene, Emerich et al. 2014). Diese Methode hat den Vorteil, dass kein Nachfüllen des Medikamentenreservoirs notwendig ist und dadurch das Infektionsrisiko minimiert wird. In der vorliegenden Studie sollen die Voraussetzungen für eine humane Therapie mittels eingekapselter Zellen evaluiert werden.

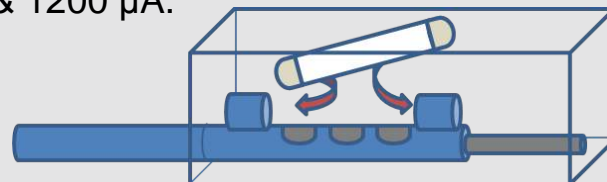
## Fragestellungen

- 1)Produzieren eingekapselte Zellen stabile Mengen neurotropher Faktoren auch während und nach elektrischer Stimulation?
- 2)Ist eine Ko-Implantation von CI und EC möglich und erlaubt eine chronische elektrische Stimulation im Tiermodell?

## Material und Methoden - *in vitro*

Zur Testung des Effektes der CI Stimulation auf die Faktorproduktion der eingekapselten Zellen wurde eine *in vitro* Studie durchgeführt. Hierzu wurden die Kapseln in einem Kulturgefäß (800 µl Zellmedium, ibidi GmbH) auf einer spezielle CI-Elektrode befestigt (3 x 0,16 mm<sup>2</sup> Kontakte, 1 x 3,9 mm<sup>2</sup> Referenz, MED-EL, Abb. 1). Die enthaltenen humanen ARPE-19 Retinalzellen produzierten „glial cell line-derived neurotrophic factor“ (GDNF, NsGene). Die Stimulation erfolgte für 12 h, entsprechend gängiger CI-Stimulationsparameter: biphasische Pulse (25 µs/Phase), 1000 pps & 1200 µA.

Abb. 1 – Schematische Darstellung des Kulturgefäßes mit Elektrode und Zellkapsel



Zur GDNF-Bestimmung wurde für jeweils 4 h das Zellmedium gesammelt und mittels eines *enzyme-linked immunosorbent assays* (ELISA) analysiert. Zusätzlich zu den 3 Messpunkten während der Stimulation, wurden Proben am Tag davor und danach genommen (Abb. 2). Als Kontrolle wurden nichtstimulierte Kapseln verwendet.



Abb. 2 – Zeitablauf der in vitro Studie (blaue Pfeile: Entnahme des Mediums für ELISA)

## Material und Methoden - *in vivo*

Neonatal ertaubte Katzen wurden nach 2-3 Monaten Taubheit ko-implantiert mit einem CI (MedEI) und einer zylindrischen Membrankapsel (ca. 0,4x4 mm, Abb. 3) mit eingekapselten Zellen. Für die chronische elektrische Stimulation (ES) wurde ein CI entwickelt, das den spezies-spezifischen Anforderungen in Größe und Widerstandsfähigkeit entspricht (Abb. 4).

Abb. 3 – Größenordnung Zell-kapsel und aktiver Anteil des CI



Es wurden drei Versuchsgruppen untersucht (Abb. 5): (1) GDNF mit ES (N=7), (2) GDNF ohne ES (N=8) und (3) Kontrollgruppe (ARPE-19 Zellen ohne GDNF, ohne ES, N=6).

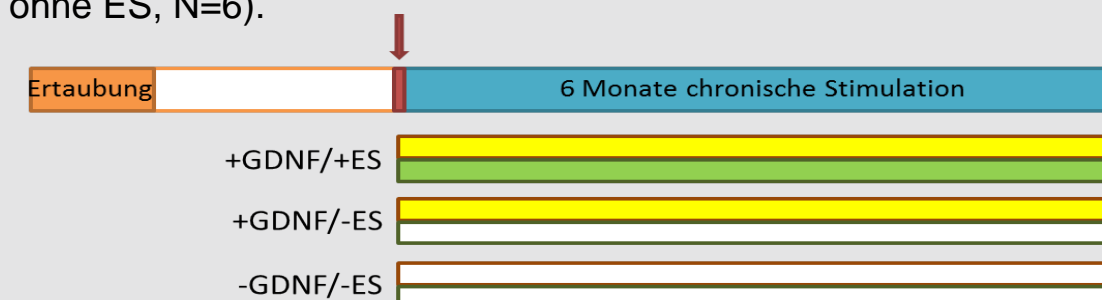


Abb. 5 – Zeitablauf & Gruppeneinteilung der chronischen Katzenstudie (roter Pfeil: monaurale Implantation)

Die ES erfolgte über einen humanen Sprachprozessor (OPUS von MED-EL, max 2000pps). Übermittelt wurden die elektrischen Pulse wie beim Menschen über die magnetische Kopplung der Spulen. Die Stimulation erfolgte 4 h, 5 Tage die Woche. Die Anpassung des dynamischen Bereiches erfolgte basierend auf den individuellen Verhaltenshörschwellen von der Schwelle bis + 6 dB über Schwelle.



Abb. 4 – CI für chronische Stimulation im Katzenmodell

## Ergebnisse - *in vitro*

Durch randomisierte Zuordnung zu Kontroll- und Stimulationsgruppe, unterschieden sich der Anfangswert der beiden Gruppen geringfügig. Es wurden keine statistischen Unterschiede basierend auf der elektrischen Stimulation gefunden (Repeated Measure ANOVA, n=5, p=0,128, Abb. 6). Qualitative Unterschiede zeigten sogar einen leichten Anstieg der Produktion während der ES.

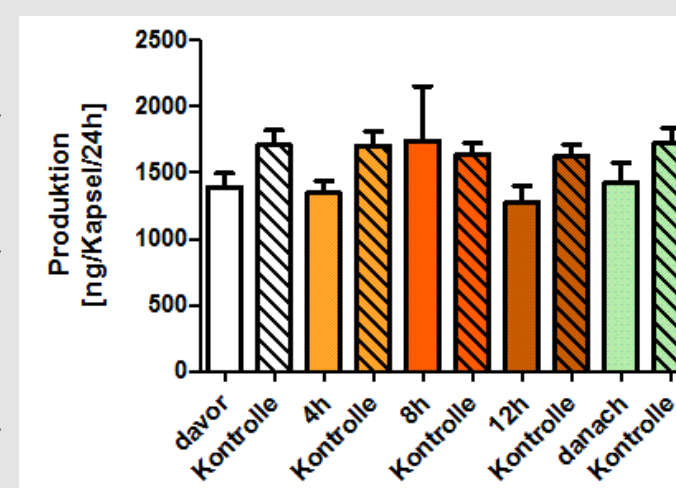


Abb. 6 – Produktion GDNF (Mittelwert + SE, n=5) der stimulierten und Kontrollkapseln (gestreift)

## Ergebnisse - *in vivo*

Es wurden 21 Katzen unilateral implantiert. Dabei konnte in jedem Fall eine Ko-Implantation eines Katzen-CI und eingekapselter Zellen durch das Runde Fenster in die *Skala tympani* realisiert werden (Abb. 7). Für eine erleichterte Insertion wurde die Kapsel mit einem Halter versehen.

Bei den Tieren der +GDNF/+ES Gruppe wurde 14 Tage post-OP, vor Beginn der elektrischen Stimulation, mittels einer elektrischen Hirnstammaudiometrie die Funktionalität des CI bestätigt (Abb. 8).

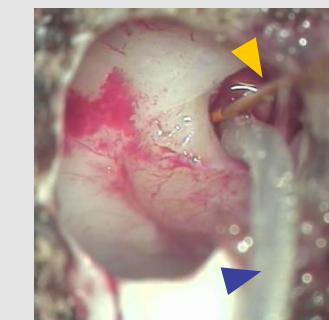


Abb. 7 – Ko-Implantation CI (blauer Pfeil) und EC (Halter; oranger Pfeil)

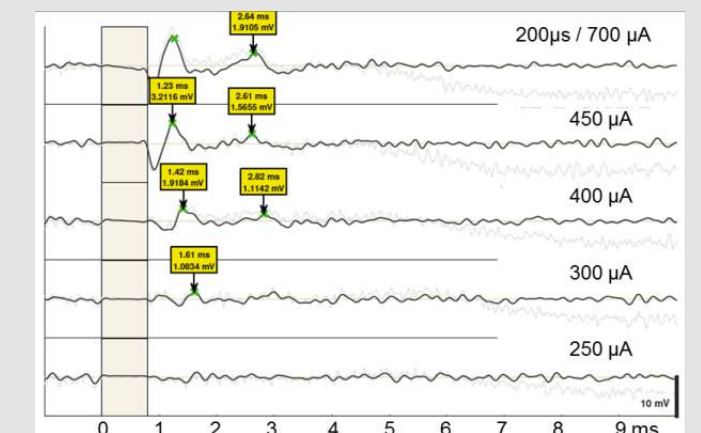


Abb. 8 – Klick evozierte Hirnstammaudiometrie

## Zusammenfassung

- 1)Eingekapselte Zellen produzieren GDNF auch während und nach elektrischer Stimulation.
- 2)Eine funktionale Ko-Implantation von CI und EC im Tiermodell ist realisierbar.

Diese Ergebnisse erlauben die Analyse der Langzeitfunktionalität und Stabilität der gekoppelten Behandlung der ertaubten Katzens Cochlea mittels elektrischer Stimulation (CI) und neurotrophen Faktoren (EC). Aufgrund der sechsmonatigen Versuchsdauer liegen noch keine Daten bezüglich des SGZ-Überlebens vor. Wenn die Einbringung eingekapselter, faktorproduzierender Zellen im Tiermodell langfristig den Erhalt der SGZ gewährleistet, stellt dies einen wichtigen Schritt für die Entwicklung einer neurotrophen Therapie für den Menschen dar.

## Literaturangaben

Emerich DF, Orive G, Thanos C, Tornøe J, Wahlberg LU (2014) Encapsulated cell therapy for neurodegenerative diseases: From promise to product. *Adv Drug Deliv Rev*; Doi: 10.1016/j.addr.2013.07.008  
Scheper V, Paasche G, Miller JA, Warnecke A, Berkingali N, Lenarz T, Stöver T (2009) Effects of delayed treatment with combined GDNF and continuous electrical stimulation on spiral ganglion cell survival in deafened guinea pigs. *J Neurosci Res*; Doi:0.1002/jnr.21964