

Aus der Klinik für Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde

Direktor: Prof. Dr. med. H. Scherer

Die Rolle von Hypoxie und Ischämie bei der Entstehung von Hörstörungen

HABILITATIONSSCHRIFT

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach

Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Frau Dr. med. Birgit Mazurek
geboren am 25.04.1970 in Schwerin

Dekan: Prof. Dr. med. Martin Paul

eingereicht am: 26.01.2006
Tag der Habilitation: 22.01.2007

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. Th. Lenarz
2. Prof. Dr. A.W. Gummer

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|-----------|
| 1. Einleitung | 5 |
| 1.1. Hörstörungen | 5 |
| 1.2. Rolle der Haarzelle bei der Entstehung von Hörstörungen | 6 |
| 1.2.1. Störungen der Stereozilien und Tip-Links | 7 |
| 1.2.2. Störung der Kalium-Kanäle..... | 8 |
| 1.2.3. Veränderung der Glutamat-Ausschüttung | 9 |
| 1.2.4. Tinnitus..... | 10 |
| 1.3. Hypoxie und Ischämie | 12 |
| 1.3.1. Die Rolle von HIF-1 | 12 |
| 1.3.2. Die Wirkung von Hypoxie und Ischämie in der Cochlea..... | 15 |
| 1.3.3. HIF-1-abhängige Gene | 19 |
| 1.4. Apoptose und Nekrose | 20 |
| 1.5. Prestin | 22 |
| 1.6. Microarray | 25 |
| 1.7. Problemstellung | 27 |
| 2. Methoden | 30 |
| 2.1. Zellkultur | 30 |
| 2.2. Hypoxie und Ischämie | 31 |
| 2.3. Apoptose und Nekrose | 32 |
| 2.4. Isolation und Quantifizierung von Gesamt-RNA | 33 |
| 2.5. Quantifizierung der mRNA | 35 |
| 2.6. Microarray-Untersuchung | 36 |
| 2.6.1. Versuchsaufbau | 36 |
| 2.6.2. RNA-Präparation für die Microarray-Untersuchungen..... | 38 |
| 2.6.3. Microarray-Untersuchung | 38 |
| 2.6.4. Statistik der Microarray-Untersuchungen | 40 |
| 2.7. mRNA von HIF-1 alpha und Prestin | 41 |
| 2.8. HIF-1-Aktivität | 42 |
| 2.9. Statistik | 43 |
| 3. Ergebnisse | 45 |
| 3.1. Die organotypische Kultur der Cochlea | 45 |
| 3.2. Vulnerabilität der Haarzellen gegenüber Hypoxie und Ischämie in der organotypischen Kultur | 45 |
| 3.3. Einflussfaktoren auf den Haarzellverlust | 49 |
| 3.3.1. Einfluss der Kalium-Konzentration auf die Ischämievulnerabilität der Haarzellen in der organotypischen Kultur | 49 |
| 3.3.2. Einfluss der Kalzium-Konzentration auf die Ischämievulnerabilität der Haarzellen in der organotypischen Kultur | 52 |
| 3.3.3. Wirkung von Magnesium auf die Hypoxievulnerabilität von Haarzellen..... | 55 |
| 3.3.4. Wirkung von MK 801 auf die Hypoxievulnerabilität von Haarzellen | 56 |
| 3.4. Art des Zelltodes unter Ischämie | 58 |
| 3.4.1. Apoptose und Nekrose der Haarzellen | 58 |
| 3.4.2. Einfluss von Wachstumsfaktoren auf den Zelltod..... | 61 |
| 3.5. HIF-1-Aktivität in der Cochlea | 64 |
| 3.5.1. HIF-1-Aktivität in der organotypischen Kultur..... | 65 |
| 3.5.2. HIF-1-Aktivierung unter Hypoxie und Ischämie in Einzelzellkultur..... | 66 |
| 3.5.3. HIF-1 alpha Protein in der Einzelzellkultur | 69 |
| 3.6. Genexpression in der Cochlea (mRNA) | 72 |
| 3.6.1. Statistische Betrachtungen zu den angewandten Microarray-Untersuchungen .. | 72 |

| | |
|---|------------|
| 3.6.2. Charakterisierung der Genexpression in der frisch präparierten Cochlea (S1) .. | 78 |
| 3.6.2.1. Analyse der Gene mit einer hohen Expression im Organ Corti im Vergleich zu Modiolus und Stria vascularis | 80 |
| 3.6.2.2. Analyse der Gene mit einer mehr als zweimal so hohen Expression im Organ Corti gegenüber Modiolus und Stria vascularis | 83 |
| 3.6.2.3. Analyse der nur im Organ Corti vorkommenden Gene | 84 |
| 3.6.2.4. Analyse der Gene mit einer hohen Expression im Modiolus im Vergleich zu Organ Corti und Stria vascularis | 86 |
| 3.6.2.5. Analyse der Gene mit einer mehr als zweimal so hohen Expression im Modiolus gegenüber Organ Corti und Stria vascularis | 88 |
| 3.6.2.6. Analyse der nur im Modiolus vorkommenden Gene | 90 |
| 3.6.2.7. Analyse der Gene mit einer hohen Expression in der Stria vascularis im Vergleich zu Organ Corti und Modiolus | 92 |
| 3.6.2.8. Analyse der Gene mit einer mehr als zweimal so hohen Expression in der Stria vascularis gegenüber Organ Corti und Modiolus | 94 |
| 3.6.2.9. Analyse der nur in der Stria vascularis vorkommenden Gene | 96 |
| 3.6.3. HIF-1 alpha mRNA | 99 |
| 3.6.4. Charakterisierung der Genexpression unter besonderer Berücksichtigung HIF-1-abhängiger Gene | 100 |
| 3.6.5. Charakterisierung der Genexpression unter Kultivierung (S2) | 103 |
| 3.6.5.1. Analyse der Gene, die unter Kultivierung hochreguliert wurden | 104 |
| 3.6.5.2. Analyse der Gene, die unter Kultivierung runterreguliert wurden | 128 |
| 3.6.6. Einfluss von Hypoxie auf die Genexpression (S3) | 134 |
| 3.6.6.1. Gene, die unter Hypoxie hochreguliert wurden | 136 |
| 3.6.6.2. Gene, die unter Hypoxie runterreguliert wurden | 140 |
| 3.6.7. Veränderung von „Prestin“ als Schlüsselgen der äußeren Haarzellen in der organotypischen Kultur der Cochlea | 144 |
| 3.6.7.1. Veränderung von „Prestin“ in der organotypischen Kultur unter Hypoxie und Ischämie | 147 |
| 3.6.8. Veränderung der HIF-1-abhängigen Gene unter Kultivierung und Hypoxie .. | 148 |
| 4. Diskussion | 151 |
| 4.1. Vor- und Nachteile des eingesetzten Modells | 151 |
| 4.2. Mechanismen der Schädigung von Haarzellen durch Hypoxie/Ischämie | 152 |
| 4.3. Einfluss von Elektrolyten auf die Ischämievulnerabilität von Haarzellen in der organotypischen Kultur | 155 |
| 4.3.1. Einfluss von Kalium | 155 |
| 4.3.2. Einfluss von Kalzium | 159 |
| 4.3.3. Einfluss von Magnesium | 161 |
| 4.3.4. Protektiver Einfluss von MK 801 | 162 |
| 4.4. Art des Zelltodes unter Ischämie | 163 |
| 4.5. Rolle der HIF-1-Aktivität | 164 |
| 4.6. Analyse der Genexpression (mRNA) | 167 |
| 4.6.1. Charakterisierung der Genexpression in der frisch präparierten Cochlea (S1) .. | 167 |
| 4.6.2. Veränderung der Genexpression unter Kultivierung (S2) | 171 |
| 4.6.2.1. Veränderung der HIF-1-abhängigen Gene unter Kultivierung | 174 |
| 4.6.3. Einfluss von Hypoxie auf die Genexpression (S3) | 175 |
| 4.6.4. Veränderung der HIF-1-abhängigen Gene unter Hypoxie | 177 |
| 4.7. Analyse der Prestinexpression | 177 |
| 5. Schlussfolgerungen für die Protektion von Haarzellen und Ausschau auf zukünftige Untersuchungen | 179 |
| 6. Zusammenfassung | 182 |

| | |
|---|------------|
| 7. Literatur | 186 |
| 8. Schema- und Abbildungsverzeichnis | 219 |
| 9. Tabellenverzeichnis | 224 |
| 10. Abkürzungsverzeichnis | 226 |
| Erklärung | 231 |
| Danksagung | 232 |

6. Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurde der Einfluss von Hypoxie/Ischämie auf die organotypische Kultur sowie die daraus resultierenden Veränderungen der Genexpression der neugeborenen Wistar ratte (3.-5. postnataler Tag) untersucht. Die innere Haarzelle ist gegenüber Hypoxie/Ischämie vulnerabler als die äußere Haarzelle. Für die unterschiedliche Vulnerabilität der Haarzellen spielt besonders die Plasmamembran-Kalzium-ATPase (PMCA) eine bedeutende Rolle. Die Aktivierung der Plasmamembran-Kalzium-ATPase kann ein zukünftiger therapeutischer Ansatz zur Protektion von Haarzellen sein.

Elektrolyte haben einen entscheidenden Einfluss auf die Hypoxie/Ischämie-Vulnerabilität von Haarzellen. So führte unter Normoxie als auch unter Ischämie eine Kalium-Erhöhung nicht zu einer Zunahme der Haarzellschädigung. Unter Ischämie hatte im Gegenteil eine Kalium-Konzentration von 70 mM einen stark protektiven Effekt auf die Haarzellen. Magnesium und MK 801 (NMDA-Antagonist) zeigten in der organotypischen Kultur ebenfalls eine Protektion der inneren und äußeren Haarzelle während Hypoxieexposition.

Hypoxie und Ischämie führen zum Zelltod der Haarzellen über Apoptose und Nekrose. Wachstumsfaktoren wie rhEPO, rhIGF-1 und rhEGF verringerten in der organotypischen Kultur die apoptotische und nekrotische Todesrate. Da die Apoptose partiell reversibel ist, kann die Aktivierung oder Blockade bestimmter Signalwege der Apoptose zur Haarzellprotektion oder zum Haarzelltod führen.

Für die Charakterisierung des Profils der Genexpression und ihrer Veränderung durch Kultivierung und Hypoxie wurden Microarray-Untersuchungen (RN U34-Genchip von Affymetrix) verwandt. Die Gewebeproben von drei Regionen der Cochlea, Organ Corti, Modiolus und Stria vascularis, wurden untersucht. Es wurden drei Gruppen gebildet: Genexpressionsprofil der frisch präparierten Cochlea, Genveränderungen unter

Kultivierung und unter Hypoxie. Interessanterweise sind die typischen Eigenschaften der Cochlea bereits am 3.-5. postnatalen Tag ausgeprägt. Im **Organ Corti** fanden sich besonders Gene, die wesentlich für die Kalzium- und Kalium-Homeostase verantwortlich sind. Im **Modiolus** waren besonders Gene nachweisbar, die für die Entwicklung, die Reifung und die Regulation neuronaler Strukturen verantwortlich sind. In der **Stria vascularis** wurden überwiegend Gene exprimiert, deren Genprodukte der Sicherung der Ionenhomeostase und der Durchblutung sowie dem Schutz vor Radikalen dienen.

Betrachtet man die Veränderungen im **Organ Corti** unter Kultivierung, so zeigten sich bei der Hochregulation starke Genveränderungen im Glukose-Stoffwechsel, bei Cytokinen und einigen speziellen Genen, z. B. der „*Heme oxygenase 1*“ (*Hmox*) und „*Proteinkinase 9*“ (*Mapk9*). Runterreguliert waren besonders Gene der Neurotransmission und der Signaltransduktion. Die stärksten Veränderungen in der Genexpression unter Kultivierung waren im **Modiolus** nachweisbar. Die Genveränderungen in der **Stria vascularis** entsprachen im Wesentlichen der des Organ Corti. Die insgesamt sehr starken Veränderungen in der Genexpression innerhalb von 24 Stunden während der Kultivierung sind einerseits offensichtlich Ausdruck des traumatischen Stresses durch Präparation und Kultivierung, andererseits der normalen Entwicklungsprozesse, die aber unter Kulturbedingungen verändert ablaufen.

Im Gegensatz zu den durch die Kultivierung induzierten Veränderungen waren die durch 5 h Hypoxie induzierten Veränderungen sehr gering. Die stärkste Veränderung der Hochregulation in der Genexpression unter Hypoxie zeigte sich im **Modiolus**. Sowohl Wachstumsfaktoren, eine Reihe von Ionenkanälen sowie Gene der Neurotransmission wurden im **Modiolus** hochreguliert.

Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) ist ein Schlüsseltranskriptionsfaktor für die Anpassung von Zellen und Geweben an Hypoxie und Ischämie. In der Cochlea führten Hypoxie und Ischämie zu einer deutlichen und gewebespezifischen Aktivierung von HIF-

1, wobei im **Modiolus** und **Organ Corti** die höchsten Aktivitäten nachweisbar waren. Der HIF-1 alpha mRNA-Gehalt veränderte sich unter Normoxie und Hypoxie nicht und war im **Modiolus** wesentlich niedriger als im **Organ Corti** und in der **Stria vascularis**. Unsere Untersuchungen zeigen, dass die HIF-1 alpha mRNA-Expression und die Proteinexpression in der Cochlea nicht parallel verlaufen. Demzufolge ist die Regulation von HIF-1 in der Cochlea in der Posttranslationsebene zu vermuten. Protektive therapeutische Ansätze sind nicht über die HIF-1 alpha Aktivierung zu erwarten, sondern eher über die Hoch- oder Runterregulation der Targetgene.

Bei den HIF-1-abhängigen Genen wies die **Stria vascularis** unter Normoxie die höchste Expression der Gene „*Solute carrier family 2 (facilitated glucose transporter, member 1*“ (*Slc2a1*) und „*Insulin-like growth factor binding protein 2*“ (*Igfbp2*) auf. Unter Kultivierung wurden zahlreiche HIF-1-abhängige Gene in der Cochlea hochreguliert. Hochreguliert (≥ 2 fach) wurden die Gene, die im Zusammenhang mit dem Umsatz der Glukose (*Gapdh*), dem Glukosetransport (*Slc2a1*), der Aktivität des Wachstumshormons IGF, mit dem Eisentransport (*Tf, Tfrc*), der Durchblutung bzw. der Elimination von Sauerstoffradikalen stehen. Eine 5 Stunden dauernde Hypoxie führte nur zu einer geringen Veränderung der HIF-1-abhängigen Gene. Eine mehr als 2fache Erhöhung war bei „*Insulin-like growth factor 2*“ (*Jgf2*) im **Modiolus** nachzuweisen.

Da das Prestin-Gen auf dem neurobiologischen Chip nicht enthalten ist und aufgrund der bedeutenden Rolle von Prestin für die Haarzellfunktion, wurden die Veränderungen der Prestin mRNA-Expression durch schädigende Faktoren mittels RT-PCR untersucht. Der Prestin mRNA-Gehalt im **Organ Corti** der neugeborenen Ratte stieg während der Entwicklung *in vitro* ebenso wie *in vivo* um den Faktor zwei an. Diese Zunahme war mit der Herausbildung eines apikal-basalen Gradienten verbunden, wobei apikal der höchste mRNA-Gehalt vorlag. Ischämie und Hypoxie führen zu einer Abnahme des Prestin mRNA-Gehaltes parallel zum Verlust der äußeren Haarzellen. Dies bestätigt, dass die

Abnahme des Prestin mRNA-Gehaltes als ein Indikator für den Schaden oder Verlust der äußeren Haarzelle angesehen werden kann.

In der vorliegenden Arbeit wurde eine Reihe neuer Erkenntnisse über die Rolle von Hypoxie/Ischämie in der Cochlea gewonnen, die neue Ansatzpunkte für Therapiemöglichkeiten und Prävention der Hypoxie/Ischämie bedingten Hörstörungen bieten.

8. Schema- und Abbildungsverzeichnis

Schema 1 Tinnitusklassifizierung

Abb. 1 Schematischer Versuchsaufbau der Microarray-Untersuchungen der Cochlea der Serien 1, 2 und 3.

Abb. 2 Darstellung der Microarray-Untersuchung. (Quelle: www.dkfz.de/ibios_old/lectures/bioinf_ss05/rKoenig/FunktionalAnalyse1TB.pdf)

Abb. 3 Kontrollplasmid pGL3 und Reporterplasmid pHBE.

In das Reporterplasmid pHBE sind drei HBE-Bindungsstellen mit einer EcoRI-Kontrollschnittstelle in den Enhancer-Bereich des SV 40-Promotors hineinkloniert worden. Nach Bindung von HIF-1 an die HBEs erfolgt eine im Vergleich zum Kontrollplasmid verstärkte Expression der Luciferase.

Abb. 4 Repräsentative Darstellung der Rhodamine-Phalloidin gefärbten Cochlea-Kultur (apikaler Teil) unter Normoxie (oben) und nach 24 h Hypoxie (unten). Der Strich entspricht 10 μm .

Abb. 5 Prozentualer Verlust von inneren und äußeren Haarzellen (IHZ/ÄHZ) in den 3 cochleären Segmenten nach unterschiedlicher Hypoxiedauer im Vergleich zu den Kontrollgruppen. Die Hypoxieexposition erfolgte unmittelbar (oben; 13 h n = 21, 36 h n = 41, Kontrollen n = 36) oder 12 h (unten; 24 h n = 20, 48 h n = 12, Kontrollen n = 17) nach der Präparation. Angegeben sind die Mittelwerte \pm Standardfehler.

Abb. 6 Haarzellverlust (%) in der gesamten Cochlea nach 6 bzw. 8 h dauerndem Glukosemangel (n=18), Hypoxie (n = 21) oder Ischämie (Glukosemangel + Hypoxie; n=51) im Vergleich zu den Kontrollgruppen (n = 19). Angegeben sind die Mittelwerte \pm Standardfehler.

Abb. 7 Einfluss der Kalium (K^+)-Konzentration im Medium unter Normoxie auf die Anzahl der inneren (IHZ) und äußeren (ÄHZ) Haarzellen, die in den 3 cochleären Segmenten/100 μm gezählt wurden. Angegeben sind die Mittelwerte \pm Standardfehler (5 mM K^+ , n = 36; 30 mM K^+ , n = 19; 50 mM K^+ , n = 17; 70 mM K^+ , n = 19).

Abb. 8/9 Einfluss der Kalium (K^+)-Konzentration im Medium auf die Anzahl der inneren und äußeren Haarzellen (IHZ/ÄHZ), die in den 3 cochleären Segmenten nach 3 h (Abb. 8, oben) und 4 h (Abb. 9, unten) Ischämie pro 100 μm gezählt wurden (% zu Kontrollen). Angegeben sind die Mittelwerte \pm Standardfehler. (Abb. 8: n = 9-11, * p < 0,05; Abb. 9: n = 8-15; ***/*** p < 0,01/0,001/0,001 vs. Ischämie bei 5 mM K^+ im Medium).

- Abb. 10** Wirkung von unterschiedlichen Eosinkonzentrationen (1,5 μM , n = 15; 5 und 10 μM , je n = 9) auf die Anzahl der inneren und äußeren Haarzellen (IHZ/ÄHZ) unter normoxischen Bedingungen im Vergleich zur Kontrollgruppe (n = 19). Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardfehler (**/*** p < 0,05/0,01 vs. Kontrolle).
- Abb. 11** Verlust von inneren und äußeren Haarzellen (IHZ/ÄHZ) in den 3 cochleären Segmenten nach 36 h Hypoxie ohne (n = 12) und mit Zusatz von 3 mM Magnesium (Mg, n = 6) im Vergleich zu den Kontrollgruppen (n = 15). Angegeben sind die Mittelwerte \pm Standardfehler. P < 0,01/0,001 kennzeichnet die Signifikanzen zwischen den beiden Hypoxiegruppen.
- Abb. 12** Verlust von inneren und äußeren Haarzellen (IHZ/ÄHZ) in den 3 cochleären Segmenten nach 36 h Hypoxie ohne (n = 12) und mit Zusatz von 1 μM (n = 6) bzw. 10 μM MK 801 (n = 8) im Vergleich zu den Kontrollgruppen (n = 15). Angegeben sind die Mittelwerte \pm Standardfehler. P < 0,05/0,001 kennzeichnet die Signifikanzen zwischen der unbehandelten und den mit MK 801 behandelten Hypoxiegruppen.
- Abb. 13** Anzahl der inneren (IHZ) und äußeren (ÄHZ) Haarzellen/100 μm in den 3 cochleären Bereichen nach 3 h (n = 5-19) und 4 h Ischämie (n = 6-22) im Vergleich zu den Kontrollen (n = 18-28). Die Proben wurden entweder unmittelbar oder 24 h nach der Ischämie fixiert (**/*** p < 0,05/0,01 vs. unmittelbar). Angegeben sind die Mittelwerte \pm Standardfehler.
- Abb. 14** Anzahl der nekrotischen und apoptotischen Zellkerne/100 μm in den 3 cochleären Segmenten nach 3 h (n = 5-21) und 4 h Ischämie (n = 4-22) im Vergleich zu den Kontrollen (n = 18-28). Die Proben wurden entweder unmittelbar oder 24 h nach der Ischämie untersucht (**/*** p < 0,05/0,01 vs. unmittelbar). Angegeben sind die Mittelwerte \pm Standardfehler.
- Abb. 15** Anzahl der im apikalen, medialen und basalen Segment der Cochlea gezählten inneren und äußeren Haarzellen/100 μm der Kontrollgruppe (n = 22-23) sowie nach 3,5 h Ischämie ohne Wachstumsfaktoren (WF) (n = 30-33), mit rhEPO (n = 8-9), rhIGF-1 (n = 11-12) und rhEGF (n = 9-11). (Mittelwerte \pm Standardfehler; **/*** p < 0,05/0,001 vs. Ischämie ohne WF).
- Abb. 16** Einfluss der Wachstumsfaktoren (WF) auf die Anzahl der nekrotischen (PI-gefärbten) und apoptotischen (ApopTag^R-gefärbten) Kerne, die in den 3 cochleären Segmenten der Kontrollgruppen (n = 18-23) und nach 3,5 h Ischämie ohne WF (n = 26-33) sowie mit rhEPO (n = 8-10), rhIGF-1 (n = 11-12) und rhEGF (n = 4-11) pro 100 μm gezählt wurden (Mittelwerte \pm Standardfehler; **/*** p < 0,05/0,01 vs. Ischämie ohne WF).

- Abb. 17** Korrelation zwischen der Anzahl der Haarzellen und den PI- and ApopTag®-gefärbten Kernen, die im apikalen, medialen und basalen Segment der Cochlea/100 µm gezählt wurden. Es wurden die Mittelwerte der einzelnen Gruppen verwendet. (Kontrolle und Ischämie mit und ohne Wachstumsfaktoren).
- Abb.18** Erythropoetin-Rezeptor-Bande in Organ Corti (OC), Stria vascularis (SV), Modiolus (MOD) im Vergleich zur Leber.
- Abb. 19** Expression der Vektoren pGL3 (weiß) und pHRE (schwarz) in der Explant-Kultur von Stria vascularis (SV), Organ Corti (OC) und Modiolus (MOD) in Normoxie und Hypoxie (gemessen in RLE = relativen Lumineszenzeinheiten, Mittelwert ± Standardfehler, n = 11-15). Die Kulturen wurden direkt nach der Hypoxie (24 h) transfiziert (* p < 0,001 vs. SV).
- Abb. 20** Kinetik der HIF-1-Aktivität in den Einzelzellkulturen der drei Cochleagewebe Stria vascularis (SV), Organ Corti (OC) und Modiolus (MOD) nach 6 h, 13 h, 24 h und 36 h Hypoxie. Angegeben ist der Quotient aus pHRE/pGL3 unter Normoxie und Hypoxie (Mittelwerte ± Standardfehler; n = 4-6 für jede Hypoxiezeit; * p < 0,05 vs. 6 h; # p < 0,05 im Vergleich zu SV).
- Abb. 21** Einfluss von Hypoxie und Ischämie auf die HIF-1-Aktivierung in der Einzelzellkultur von Organ Corti (OC), Modiolus (MOD) und Stria vascularis (SV). Die Untersuchung erfolgte im kompletten Medium (Hypoxie), in Elektrolytlösung mit Glukose (Hypoxie) und Elektrolytlösung ohne Glukose (Ischämie). Dargestellt sind die Mittelwerte ± Standardfehler (n = 4-6).
- Abb. 22** Zytochemische Identifikation von HIF-1 alpha in Einzelzellkulturen von Stria vascularis (SV), Cortischem Organ (OC) und Modiolus (MOD) in Kulturen nach 24-stündiger Normoxie oder Hypoxie. (a) SV, Normoxie; (b) SV, Hypoxie; (c) SV, 60 Minuten nach Hypoxie; (d) OC, Normoxie; (e) OC, Hypoxie; (f) OC, 60 Minuten nach Hypoxie; (g) MO, Normoxie; (h) MO, Hypoxie; (i) MO, 60 Minuten nach Hypoxie. Dabei wurden normoxische Kulturen mit Kulturen, die einer Hypoxie von 24 h ausgesetzt waren und direkt nach Hypoxieende fixiert wurden, sowie mit Kulturen, die einer 24 h Hypoxie ausgesetzt waren aber 60 min nach Hypoxieende fixiert wurden, verglichen.
- Abb. 23** Korrelation der normierten Signale von zwei Aliquotes des Organ Corti.
- Abb. 24** Korrelation der normierten Signale des Organ Corti der Proben P2 und P4.
- Abb. 25** Korrelation der normierten Signale der „housekeeping“ Gene in den Proben P1 und P2-P4 von Organ Corti.
- Abb. 26** Variation der normierten Signale der Proben P2 und P4 des Organ Corti.

- Abb. 27** Analyse der Signifikanzschwelle der normierten Signale des Organ Corti (P2).
- Abb. 28** Histogramm der Absolutwerte (oben) und der log 2-Werte (unten) der normierten Signale des Organ Corti (P2).
- Abb. 29** Ergebnis der Berechnung von hierarchischen Clustern der neugeborenen Ratte in den Regionen Organ Corti, Stria vascularis und Modiolus. Rot = hohe Expression, blau = niedrige Expression, gelb = mittlere Expression.
- Abb. 30** Gene, die über der 90. Perzentile im Organ Corti exprimiert wurden. Ionenkanäle und Ionenhomeostase regulierende Gene = schwarz, Wachstums- und Überlebensgene = dunkelgrau, andere Gene = weiß.
- Abb. 31** Gene im Organ Corti (OC), deren normierte Signale mehr als doppelt so hoch exprimiert wurden wie in Modiolus (MOD) und Stria vascularis (SV).
Ionenkanäle und Ionenhomeostase regulierende Gene (1): *Atp2b2, Slc10a1*,
Wachstums- und Überlebensgene (2): *Igf1bp3*,
Interzelluläre und synaptische Signaltransduktion (3): *Rab3a, Slc1a3*.
- Abb. 32** Gene, die nur im Organ Corti als „present“ bewertet wurden. Ionenkanäle und Ionenhomeostase regulierende Gene = schwarz, Wachstums- und Überlebensgene = dunkelgrau, interzelluläre und synaptische Signaltransduktion = hellblau.
- Abb. 33** Gene, die über der 90. Perzentile im Modiolus exprimiert wurden. Wachstums- und Überlebensgene = dunkelgrau.
- Abb. 34** Gene, die im Modiolus mindestens doppelt so hoch exprimiert wurden wie im Organ Corti und der Stria vascularis.
Wachstums- und Überlebensgene (2): *Cnp1, Egr1, Igf2, Mag, Nr4a1, Plp, Ednrb, Mapk9, Prnp, Vcam1, Ctsk*,
Interzelluläre und synaptische Signaltransduktion (3): *Snca*.
- Abb. 35** Gene, die nur im Modiolus exprimiert wurden. Wachstums- und Überlebensgene = dunkelgrau, interzelluläre und synaptische Signaltransduktion = hellgrau, andere Gene = weiß.
- Abb. 36** Gene, die in der Stria vascularis hoch exprimiert wurden. Ionenkanäle und Ionenhomeostase regulierende Gene (1) = schwarz, Wachstums- und Überlebensgene (2) = dunkelgrau, interzelluläre und synaptische Signaltransduktion (3) = hellblau.
- Abb. 37** Gene, die in der Stria vascularis signifikant höher exprimiert wurden als im Organ Corti und im Modiolus.
Ionenkanäle und Ionenhomeostase regulierende Gene (1): *Atp1a1, Atp1b2, Atp1b3*,

Wachstums- und Überlebensgene (2): *ApoE*, *Fgfr1*, *Fgfr4*, *Igf1*, *Igfbp2*, *Nnat*, *Pou3f4*, *Serpine2*, *Sod3*, *Tf*,

Interzelluläre und synaptische Signaltransduktion (3): *Ghul*.

- Abb. 38** Gene, die nur in der Stria vascularis exprimiert wurden. Ionenkanäle und Ionenhomeostase regulierende Gene = schwarz, Wachstums- und Überlebensgene = dunkelgrau, interzelluläre und synaptische Signaltransduktion = hellblau.
- Abb. 39** Expression von HIF-1-abhängigen Genen in der organotypischen Kultur von Cortischem Organ (OC), Modiolus (MOD) und Stria vascularis (SV) unter Normoxie. Die Analyse erfolgte mittels Microarray (Affymetrix). Dargestellt sind die normierten Signale in logarithmischer Form. Folgende Gene erreichen im OC und MOD nicht die statistische Signifikanz von $p < 0,04$: *Pdgfa*, *Vegfb*, *Hmox1*, *Nos2*, *Trfc*. In der SV ist *Trfc* „marginal“ ($p = 0,054$).
- Abb. 40** Cochleogramm für die inneren (grau) und äußeren (weiß) Haarzellen (IHZ/ÄHZ) nach 5 h Hypoxie (% zur Normoxie). Angegeben sind die Mittelwerte \pm Standardfehler ($n = 9-13$).
- Abb. 41** Totale RNA (oben) und Prestin mRNA (unten) in den 3 cochleären Segmenten während der Kultivierung *in vitro*. Angegeben sind die Mittelwerte \pm Standardfehler ($n = 6$). * $p < 0,001$ vs. sofort; # $p < 0,01$ vs. apikal bzw. medial.
- Abb. 42** Totale RNA (oben) und Prestin mRNA (unten) in den 3 cochleären Segmenten während der Entwicklung *in vivo* am 3. (weiß), 5. (grau) und 7. (schwarz) postnatalen Tag. Angegeben sind die Mittelwerte \pm Standardfehler ($n = 3$). * $p < 0,05$ vs. 3. Tag; # $p < 0,01$ vs. apikal.
- Abb. 43** Veränderung der HIF-abhängigen Gene in der organotypischen Kultur von Organ Corti (OC), Stria vascularis (SV) und Modiolus (MOD) unter Kultivierung.
- Abb. 44** Veränderung der HIF-abhängigen Gene in der organotypischen Kultur von Organ Corti (OC), Stria vascularis (SV) und Modiolus (MOD) unter Hypoxie.
- Abb. 45** Mögliche Ursachen der unterschiedlichen Vulnerabilität von äußeren (ÄHZ) und inneren (IHZ) Haarzellen und bei Hypoxie und Ischämie.
- Abb. 46** Zusammenfassung der spezifischen Genexpression in der frisch präparierten Cochlea (S1) im Organ Corti (OC), Modiolus (MOD) und in der Stria vascularis (SV). (Quelle Cochlea: anatomy.iupui.edu/Earf04/cochlea.jpg)

9. Tabellenverzeichnis

- Tabelle 1** Rolle von Hypoxie/Ischämie für den neurosensorischen Tinnitus.
- Tabelle 2** Verlust von inneren und äußeren Haarzellen (IHZ/ÄHZ) unter ischämischen Bedingungen und einer K^+ -Konzentration von 70 mM im Medium ohne Blocker oder mit Linopiridin, KB-R7943 bzw. Eosin. Angegeben sind die Mittelwerte \pm Standardfehler (% gegenüber Werten ohne Blocker bei 70 mM K^+ unter Normoxie).
- Tabelle 3** Anzahl der gezählten inneren und äußeren Haarzellen (IHZ/ÄHZ) pro 100 μm unter Normoxie und Ischämie ohne (Kontrollen) und mit unterschiedlichen Thapsigargin-Konzentrationen [Mittelwert \pm Standardfehler (n)].
- Tabelle 4** Anzahl der gezählten inneren und äußeren Haarzellen (IHZ/ÄHZ) pro 100 μm unter Ischämie ohne (Kontrollen) und mit unterschiedlichen Eosin-Konzentrationen [Mittelwert \pm Standardfehler (n)].
- Tabelle 5** Korrelationsanalyse der normierten Signale von Organ Corti (OC), Modiolus (MOD) und Stria vascularis (SV) unter den Bedingungen Normoxie, Kultivierung und Hypoxie.
- Tabelle 6** Korrelationsanalyse der normierten Signale der „housekeeping“ Gene von Organ Corti (OC), Modiolus (MOD) und Stria vascularis (SV) zwischen Normoxie (P1) und Kultivierung (P2/P4).
- Tabelle 7** Differentielle Genexpression in den Regionen Organ Corti (OC), Modiolus (MOD) und Stria vascularis (SV).
- Tabelle 8** HIF-1 alpha mRNA-Expression in Organ Corti (OC), Modiolus (MOD) und Stria vascularis (SV) in Normoxie. Gegenübergestellt sind die Microarray-Daten (normierte Signale) und die Werte der quantitativen RT-PCR.
- Tabelle 9** HIF-1-abhängige Zielgene, die auf dem RN U34-Chip enthalten sind.
- Tabelle 10** Anzahl der hoch- und runterregulierten Gene unter Kultivierung.
- Tabelle 11** Unter Kultivierung hochregulierte Gene der Gruppe Kohlenhydratstoffwechsel.
- Tabelle 12** Unter Kultivierung hochregulierte Gene der Gruppe Wachstumsfaktoren.
- Tabelle 13** Unter Kultivierung hochregulierte Gene der Gruppe Cytokine.
- Tabelle 14** Unter Kultivierung hochregulierte Gene der Gruppe der Kinasen.
- Tabelle 15** Unter Kultivierung hochregulierte Gene der Gruppe Redoxstoffwechsel.
- Tabelle 16** Unter Kultivierung hochregulierte Gene der Gruppe Apoptose.
- Tabelle 17** Unter Kultivierung hochregulierte Gene der Gruppe der Transkriptionsfaktoren.

- Tabelle 18** Unter Kultivierung hochregulierte Gene der Gruppe Stress-Proteine und Peptide.
- Tabelle 19** Unter Kultivierung hochregulierte Gene der Gruppe der Phosphodiesterasen.
- Tabelle 20** Unter Kultivierung hochregulierte Gene der Gruppe der „anderen“ Gene.
- Tabelle 21** Unter Kultivierung runterregulierte Gene der Gruppe Wachstum und Zytoskelett.
- Tabelle 22** Unter Kultivierung runterregulierte Gene der Gruppe Ionenkanäle.
- Tabelle 23** Unter Kultivierung runterregulierte Gene der Gruppe Neurotransmission.
- Tabelle 24** Unter Kultivierung runterregulierte Gene der Gruppe Signaltransduktion.
- Tabelle 25** Unter Kultivierung runterregulierte Gene der Gruppe Apoptose.
- Tabelle 26** Unter Kultivierung runterregulierte Gene der Gruppe Transportproteine.
- Tabelle 27** Unter Kultivierung runterregulierte Gene der Gruppe Proteinsynthese.
- Tabelle 28** Anzahl der hoch- und runterregulierten Gene unter Hypoxie (5 h).
- Tabelle 29** Unter Hypoxie hochregulierte Gene der Gruppe Wachstumsfaktoren.
- Tabelle 30** Unter Hypoxie hochregulierte Gene der Gruppe Transkriptionsfaktoren.
- Tabelle 31** Unter Hypoxie hochregulierte Gene der Gruppe Ionenkanäle.
- Tabelle 32** Unter Hypoxie hochregulierte Gene der Gruppe Neurotransmission.
- Tabelle 33** Unter Hypoxie hochregulierte Gene der Gruppe Apoptose.
- Tabelle 34** Unter Hypoxie runterregulierte Gene der Gruppe Wachstum/Zytoskelett.
- Tabelle 35** Unter Hypoxie runterregulierte Gene der Gruppe Apoptose.
- Tabelle 36** Unter Hypoxie runterregulierte Gene der Gruppe Cytokine.
- Tabelle 37** Unter Hypoxie runterregulierte Gene der Gruppe Redoxstoffwechsel.
- Tabelle 38** Unter Hypoxie runterregulierte Gene der Gruppe Signaltransduktion.
- Tabelle 39** Unter Hypoxie runterregulierte Gene der Gruppe Transkriptionsfaktoren.
- Tabelle 40** Effekt der Hypoxie (38 h) auf den Prestin mRNA Gehalt des Organ Corti.

10. Abkürzungsverzeichnis

| | |
|------------------|--|
| Abb. | Abbildung |
| ACH | Acetylcholin |
| ADP | Adenosindiphosphat |
| ÄHZ | Äußere Haarzelle |
| AMPA | Alpha-Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolpropionsäure |
| ApopTag® | Insitu DNA End labeling Assay |
| ARNT | Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator |
| ATP | Adenosintriphosphat |
| bHLH-PAS- | Basische Helix-Loop-Helix- und PER-ARNT-SIM-Homologie-Domäne |
| bzw. | Beziehungsweise |
| ca. | Zirka |
| Ca ²⁺ | Kalzium |
| cGMP | 3,5-Guanylmorphosphat |
| CO ₂ | Kohlendioxid |
| DA | Dopamin |
| DLU | Digital light unit |
| DNA | Desoxyribonukleinsäure |
| ELISA | Enzyme-linked immunosorbent assay |
| EST | Expressed sequence tag |
| ET1 | Endothelin 1 |
| EZK | Einzelzellkultur |
| F-Aktin | Filamentäres Aktin |
| GABA | Gammaaminobuttersäure |
| G-Aktin | Globuläre Aktin-Monomere |
| GLUT1 | Glukosetransporter 1 |
| GLUT5 | Glukosetransporter 5 |
| h | Stunde |
| HIF-1 | Hypoxia-inducible factor 1 |
| HRE | Hypoxie response element |
| IHZ | Innere Haarzelle |
| iNOS | Induzierte Stickstoffmonoxid-Synthase |
| K ⁺ | Kalium |
| MOD | Modiolus |
| mRNA | Messenger ribonucleic acid |
| N ₂ | Stickstoff |
| Na ⁺ | Natrium |
| NGF | Nerve growth factor |
| NMDA | N-Methyl-D-Aspartat |
| nNOS | Neuronale Stickstoffmonoxid-Synthasen |
| NO | Stickstoffmonoxid |
| NOS | Stickstoffmonoxid-Synthase |
| n.s. | Nicht signifikant |
| OC | Organ Corti |
| PCR | Polymerase chain reaction |
| PI | Propidiumiodid |
| PMCA | Plasmamembran-Kalzium-ATPase |
| pO ₂ | Sauerstoffpartialdruck |

| | |
|---------|---|
| rhEGF | Recombinant human epithelial growth factor |
| rhEpo | Recombinant human erythropoetin |
| rhIGF-1 | Recombinant human insulin-like growth factor |
| RLE | Relative Lumineszenzeinheit |
| ROS | Reactive oxygen species |
| RT-PCR | Real-time polymerase chain reaction |
| SERCA | Smooth endoplasmatic reticulum calcium ATPase |
| SLC 26 | Sulfat-Anionen-Austauscher ähnliche Proteine |
| SV | Stria vascularis |
| TNF | Tumor necrosis factor |
| u. a. | Unter anderem |
| VK | Variationskoeffizient |
| WF | Wachstumsfaktoren |
| z. B. | Zum Beispiel |
| ZNS | Zentralnervensystem |

GENE

| | |
|---------|--|
| Adora2b | Adenosine A2B receptor |
| Apoe | Apolipoprotein E |
| Arrb2 | Arrestin, beta 2 |
| ATF2 | Activating transcription factor |
| Atp1a1 | ATPase, Na ⁺ /K ⁺ transporting, alpha 1 polypeptide |
| Atp1a2 | ATPase, Na ⁺ /K ⁺ transporting, alpha 2 polypeptide |
| Atp1b1 | ATPase, Na ⁺ /K ⁺ transporting, beta 1 polypeptide |
| Atp1b3 | ATPase, Na ⁺ /K ⁺ transporting, beta 3 polypeptide |
| Atp2a3 | ATPase, Ca ²⁺ transporting |
| Atp2b2 | ATPase, Ca ²⁺ transporting, plasma membrane 2, auch als Pmca2 bekannt |
| Bax | Bcl2-associated X protein |
| Bcl2 | B-cell cll/lymphoma 2 |
| Bdnf | Brain derived neurotrophic factor |
| Birc2 | Baculoviral IAP repeat containing 2 |
| Bmyc | Brain expressed myelocytomatosis oncogene |
| C3 | Komplementfaktor 3 |
| C4a | Komplementfaktor 4a |
| C9 | Complement component 9 |
| Cacna1e | Calcium channel, voltage-dependent, L type, alpha 1E subunit |
| Cacnb2 | Calcium channel, voltage-dependent, beta 2 subunit |
| Calm1 | Calmodulin 1 |
| Casp2 | Caspase 2 |
| Casp3 | Caspase 3 |
| Capn3 | Calpain 3 |
| Ccl2 | Chemokine (C-C motif) ligand 2 |
| Ccl3 | Chemokine (C-C motif) ligand 3 |
| Cebpb | CCAAT-enhancer binding protein beta |
| Chrm2 | Cholinergic receptor, muscarinic 2 |
| Chrna9 | Cholinergic receptor, nicotinic, alpha polypeptide 9 |
| Chrna7 | Cholinergic receptor, nicotinic, alpha polypeptide 7 |
| Cited2 | Cbp/p300-interacting transactivator |

| | |
|------------|--|
| Ckb | Creatine kinase, brain |
| Clcn3 | Chloride channel 3 |
| Cnp1 | Cyclic nucleotide phosphodiesterase 1 |
| Crem | cAMP response element modulator |
| Ctsk | Cathepsin K |
| Drd1a | Dopamine receptor 1A |
| Et-1 | Endothelin-1 |
| Ednrb | Endothelin receptor type B |
| Eef2 | Eukaryotic translation elongation factor 2 |
| Egr1 | Early growth response 1 |
| Eno2 | Enolase 2, gamma |
| Enpp2 | Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 2 |
| Fas ligand | TNF superfamily, member 6 |
| Fez1 | Fasciculation and elongation protein zeta 1 |
| Fez2 | Fasciculation and elongation protein zeta 2 |
| Fgf2 | Fibroblast growth factor |
| Fgf5 | Fibroblast growth factor 5 |
| Fgfr1 | Fibroblast growth factor receptor 1 |
| Fgfr4 | Fibroblast growth factor receptor 4 |
| Fos11 | Fos-like antigen 1 |
| Gabbr1 | GABA B receptor 1 |
| Gabt1 | GABA Transporter protein |
| Gapdh | Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase |
| Gfap | Glia fibrillary acidic protein |
| Glul | Glutamine synthetase 1 |
| Gmfb | Glia maturation factor, beta |
| Gnao | Guanine nucleotide binding protein, alpha o |
| Gpr51 | G protein-coupled receptor 51 |
| Gria4 | Glutamate receptor, ionotropic, 4 |
| Grm6 | Glutamate receptor, metabotropic 6 |
| Gsta5 | Glutathion-S-transferase A5 |
| Hk1 | Hexokinase 1 |
| Hmox1 | Heme oxygenase 1 |
| Hspa1a/b | Heat shock protein 1a/b |
| Hspa1a | Heat shock protein 1a |
| Hsp70 | Heat shock protein 70 |
| Icam1 | Intercellular adhesion molecule 1 |
| Igf1 | Insulin-like growth factor 1 |
| Igf2 | Insulin-like growth factor 2 |
| Igfbp1 | Insulin-like-growth factor binding protein 1 |
| Igfbp2 | Insulin-like growth factor binding protein 2 |
| Igfbp3 | Insulin-like growth factor binding protein 3 |
| Il15 | Interleukin 15 |
| Il1b | Interleukin 1 beta |
| Il6 | Interleukin 6 |
| Il8 | Interleukin 8 |
| Irf-1 | Interferon regulatory factor 1 |
| Jak2 | Januskinase 2 |
| Jgflr | Insulin-like growth factor 1 receptor |
| Jun | V-jun sarcoma virus 17 oncogene homolog (avian) |

| | |
|------------|---|
| Junb | Jun-B oncogen |
| Kcne1 | Potassium voltage-gated channel, Isk-related subfamily, member 1 |
| Kcnj1 | Potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 1 |
| Kcnj11 | Potassium inwardly rectifying channel, subfamily J, member 11 |
| Kcnj16 | Potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 16 |
| Mag | Myelin-associated glycoprotein |
| Maob | Monoamine oxidase B |
| Mapk9 | Mitogen-activated protein kinase 9 |
| Mapt | Microtubule associated protein tau |
| Mbp | Myelin basic protein |
| Mbz | Myelin protein zero |
| Mcl-1 | Myeloid cell leukaemia sequence 1 |
| Mif | Macrophage migration inhibitory factor |
| Mtap2 | Microtubule associated protein 2 |
| Mt1a | Metallothionein |
| Nefh | Neurofilament heavy polypeptide |
| Neud4 | Neuronal d4 domain family member |
| Nfl | Neurofibromatosis 1 |
| Nip3 | BCL2/adenovirus E1B 19-kDa protein-interacting protein 3 |
| Nnat | Neuronatin |
| Nos2 | Nitric oxide synthase 2, inducible |
| Npy | Neuropeptide y |
| Nr4a1 | Nuclear receptor subfamily 4, group A, member 1 |
| Nrxn2 | Neurexin 2 |
| Ntf3 | Neurotrophin-3 |
| Ntrk2 | Neurotrophic tyrosine kinase receptor, type 2 |
| Nxph4 | Neurexophilin 4 |
| Oprk1 | Opioid receptor kappa 1 |
| P53 | Tumor protein 53 |
| Pbp | Phosphatidylethanolamine binding protein |
| Pcp4 | Purkinje cell protein 4 |
| Pdap1 | PDGFA associated protein 1 |
| Pde4b | Phosphodiesterase 4b |
| Pdgfa | Platelet-derived growth factor, alpha |
| Pdgfb | Platelet-derived growth factor, B polypeptide |
| Pdgfra | Platelet-derived growth factor receptor, alpha polypeptide |
| Penk-rs | Preproenkephalin, related sequence |
| Plp | Proteolipid protein |
| Pmca2 | ATPase, Ca ²⁺ transporting, plasma membrane 2, auch als Atp2b2 bekannt |
| Pou3f4 | POU domain, class 3, transcription factor 4 |
| Prkez | Protein kinase C, zeta |
| Prnp | Prion protein |
| Rab3a | RAB3A, member RAS oncogene family |
| RG:621458 | Neurofilament light polypeptide |
| RGD:61922 | Sodium channel, voltage-gated, type 6, alpha polypeptide |
| RGD:628710 | Voltage-gated channel like 1 |
| Rhoip3 | Rho interacting protein 3 |
| S100a1 | S100 calcium binding protein A1 |
| S100b | S 100 protein, beta polypeptide |
| Scn3a | Sodium channel, voltage-gated, type III, alpha polypeptide |

| | |
|---------|---|
| Selp | Selectin, platelet |
| Ser2 | Serpine 2 |
| Serpin2 | Serine proteinase inhibitor, clade E, member 2 |
| Slc1a2 | Solute carrier family 1 (glial high affinity glutamate transporter), member 2 |
| Slc1a3 | Solute carrier family 1 (glial high affinity glutamate transporter), member 3 |
| Slc2a1 | Solute carrier family 2 (facilitated glucose transporter), member 1 |
| Slc2a3 | Solute carrier family 2 (facilitated glucose transporter), member 3 |
| Slc6a3 | Solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter, dopamine), member 3 |
| Slco1a4 | Solute carrier organic anion transporter family, member 1a4 |
| Smad1 | SMAD, mothers against DPP homolog 1 |
| Snca | Synuclein alpha |
| Sncg | Synuclein gamma |
| Sod3 | Superoxide dismutase 3 |
| Stx12 | Syntaxin 12 |
| Stxbp1 | Syntaxin binding protein 1 |
| Sult2A2 | Sulfotransferase family 2, member 2 (predicted) |
| Syt3 | Synaptotagmin 3 |
| Tac1 | Tachykinin1 |
| Tf | Transferrin |
| Tfrc | Transferrin receptor |
| Tgfb1 | Transforming growth factor, beta 1 |
| Tgfb2 | Transforming growth factor, beta 2 |
| Thra | Thyroid hormone receptor alpha |
| Vcam1 | Vascular cell adhesion molecule 1 |
| Vdac1 | Voltage-dependent anion channel 1 |
| Vegfb | Vascular endothelial growth factor B |
| Vgf | VGF nerve growth factor inducible |

Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde bzw. welchen Ausgang ein durchgeführtes Habilitationsverfahren hatte,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden.
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Datum

Unterschrift

Danksagung

Herrn Prof. Dr. H. Scherer möchte ich sehr herzlich danken für die freundliche und wohlwollende Förderung und Unterstützung meiner klinischen und wissenschaftlichen Arbeit. Seine hohe wissenschaftliche und menschliche Kompetenz waren überaus motivierend für das Zustandekommen dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. J. Gross gilt mein ganz besonderer und herzlicher Dank für die freundliche Unterstützung meiner wissenschaftlichen Aktivitäten. Seine wissenschaftliche Kompetenz und sein menschlicher Stil haben die Fertigstellung dieser Arbeit erst ermöglicht. Bei der Betreuung der molekularbiologischen Arbeiten und deren Auswertung stand er mir stets mit anregenden Diskussionen zur Seite.

Herrn Prof. Dr. B. Klapp möchte ich sehr herzlich für seine wohlwollende und von nachhaltigem Interesse geprägte Unterstützung meiner Arbeit danken. Aufmerksam und zurückhaltend beratend begleitete er meinen beruflichen und wissenschaftlichen Werdegang.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dipl. Ing. (FH) H. Haupt, die durch ihre Ideen, Anmerkungen und wertvollen Hinweise sowie den außerordentlich bereichernden wissenschaftlichen Gedankenaustausch das Ergebnis der Arbeit entscheidend mitgeprägt hat.

Für die unermüdliche Unterstützung bei der Laborarbeit und für die von nicht selbstverständlichem Einsatz geprägte Zusammenarbeit danke ich Frau N. Amarjargal, Frau A. Machulik, Frau J. Fuchs, Frau M. Descher und Frau R. Moller auf das herzlichste.

Herrn Dr. Kuban und Frau Dr. Ungethüm danke ich für die sehr angenehme Zusammenarbeit und fachliche Unterstützung bei der Auswertung und Bearbeitung der Microarray-Daten.

Bei Frau Dr. E. Winter, Frau Dr. C. Rheinländer und Herrn Dr. F. Fuchs möchte ich mich herzlich bedanken, die im Rahmen ihrer Promotionsarbeiten mit ganzem Einsatz die Labortätigkeiten unterstützten.

Mein Dank gilt allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Tinnituszentrums der Charité, die mich in vielfältiger Weise bei der Fertigstellung dieser Arbeit unterstützten.

Mein besonderer Dank gilt meinem Ehemann und meinen Eltern für die vielfältige Unterstützung, Motivation und das immerwährende Verständnis während der Fertigstellung dieser Arbeit.