

Arzneistoffträgersysteme für die kontrollierte Freisetzung von Dexamethason an das Innenohr

Kumulative Dissertation

zur Erlangung des
Doktorgrades der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

der

Naturwissenschaftlichen Fakultät I
– Biowissenschaften –
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg,

vorgelegt von

Herrn Eric Lehner
geboren am 24.01.1989 in Zittau

Gutachter:

1. Prof. Dr. Karsten Mäder
2. Prof. Dr. Stefan Plontke
3. Prof. Dr. Jürgen Siepmann

Tag der öffentlichen Verteidigung: 10.12.2021 in Halle (Saale)

Ein Element des Erfolges, egal in welchem Beruf, ist die Lust am Handwerk.

Irène Joliot-Curie

Gewidmet meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

INHALTSVERZEICHNIS.....	I
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	II
TABELLENVERZEICHNIS	III
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	IV
1 EINLEITUNG.....	1
1.1 Epidemiologie der Erkrankungen des Innenohrs	1
1.2 Anatomischer Aufbau des Ohrs.....	2
1.3 Arzneistoffabgabe an das Innenohr	4
1.3.1 Intratympanale Applikation.....	5
1.3.2 Intracochleäre Applikation.....	7
1.4 Zielstellung der Arbeit	8
2 KUMULATIVER TEIL.....	11
2.1 Intracochlear PLGA based implants for dexamethasone release: Challenges and solutions	14
2.2 Microimaging of a novel intracochlear drug delivery device in combination with cochlear implants in the human inner ear.....	24
2.3 Novel biodegradable Round Window Disks for inner ear delivery of dexamethasone.....	35
3 DISKUSSION DES KUMULATIVEN TEILS.....	45
4 ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK.....	63
5 LITERATURVERZEICHNIS	67
6 ANHANG	A

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Schematischer Aufbau des menschlichen Ohrs..	2
Abbildung 2: Querschnitt durch eine Windung der Cochlea.	3
Abbildung 3: Intratympanale Injektion.	5
Abbildung 4: PubMed Recherche	8
Abbildung 5: Grafische Zusammenfassung zu Lehner et al.	14
Abbildung 6: Grafische Zusammenfassung zu Lehner et al.	15
Abbildung 7: Grafische Zusammenfassung zu Lehner et al.	16
Abbildung 8: Stereomikroskopische und REM Aufnahmen von flexibler Formulierung B.	46
Abbildung 9: A) Thermogramme und Kraft-Weg-Diagramme	46
Abbildung 10: Morphologie eines 0,3 mm × 3 mm Implantats der Formulierung D und 3D-Rekonstruktion der Cochlea.	47
Abbildung 11: Kumulative Freisetzung von DEX aus PLGA-Extrudaten.	49
Abbildung 12: Simulation der Wirkstoffspiegel in der humanen Perilymphe.	50
Abbildung 13: Histogramm der HU der 0,3 mm × 3 mm Implantate	51
Abbildung 14: Seitenansicht, Draufsicht und 3D Rekonstruktionen von Formulierung D verschiedener Dimensionen in humanen Cochleae	53
Abbildung 15: Seitenansicht, Draufsicht und 3D Rekonstruktionen von Formulierung D mit diversen CI's in humanen Cochleae.	54
Abbildung 16: 3D-Rekonstruktion der Cochlea zur Visualisierung eines 0,3 mm × 3 mm Implantats von Formulierung D und einer Cochlear Contour Advance-Elektrode	55
Abbildung 17: TGA und DSC Kurven zu verschiedenen Zeitpunkten der Vakuumtrocknung...	56
Abbildung 18: Mikroskopische und REM Aufnahmen der RWDs.	58
Abbildung 19: GPC Analysen zeigen den Einfluss der Herstellung und Sterilisation der RWDs auf die molare Masse und den PDI des Polymers.	59
Abbildung 20: Fortschritt des Massenverlusts und der Wasseraufnahme von RWDs in Korrelation mit dem Abbau der molaren Masse und der Veränderung des PDI.	59
Abbildung 21: Kumulative und tägliche Freisetzung aus unsterilen und sterilen RWDs.	60
Abbildung 22: RWD appliziert auf die runde Fenstermembran eines Meerschweinchens.	61

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Allgemeine Informationen zu den Fachzeitschriften	11
Tabelle 2: Darlegung des prozentualen Eigenanteils an den Veröffentlichungen	13
Tabelle 3: Übersicht der hergestellten und charakterisierten Formulierungen	45

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

% (m/m)	Massenprozent
3D	dreidimensional
BaSO ₄	Bariumsulfat
BDNF	Brain-derived neurotrophic factor
CI	Cochlea-Implantat
CT	Computertomographie
DEX	Dexamethason
DDS	Drug Delivery System / Arzneistoffträgersystem
DSC	Dynamische Differenzkalorimetrie
FDA	U.S. Food and Drug Administration
GPC	Gelpermeationschromatographie
h	Stunde
HEI-OC1	House Ear Institute-Organ of Corti 1
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
HU	Hounsfield units
K	Kelvin
kDa	Kilodalton
kGy	Kilogray
min	Minute
M _n	zahlenmittlere molare Masse
M _w	gewichtsmittlere molare Masse
PBS	phosphate-buffered saline / phosphatgepufferte Salzlösung
PCL	Polycaprolacton
PDI	Polydispersitätsindex
PEG	Polyethylenglycol

pH	<i>potentia hydrogenii</i>
PLA	Poly(D,L-lactid)
PLGA	Poly(D,L-lactid-co-glycolid)
REM	Rasterelektronenmikroskop
RT	Raumtemperatur
RWD	Round Window Disk
SM	Scala media
ST	Scala tympani
SV	Scala vestibuli
T _g	Glasübergangstemperatur
TGA	Thermogravimetrische Analyse
WHO	Weltgesundheitsorganisation
°C	Grad Celsius

1 EINLEITUNG

1.1 Epidemiologie der Erkrankungen des Innenohrs

Das Ohr ist für die physische und soziale Gesundheit ein sehr wichtiges Organ. Es ist essentiell für das Hören und den Gleichgewichtssinn. Die Aufnahme und Weiterleitung von Schall ist laut WHO bei weltweit ungefähr 466 Millionen Menschen gestört [1]. Allein in Deutschland sind 11,1 Millionen Erwachsene geringgradig schwerhörig [2].

Die Beeinträchtigung des Hörens ist entweder angeboren oder erworben. Beispielsweise erleiden 0,1 bis 0,3 % aller Neugeborenen vor oder kurz nach der Geburt einen Hörverlust, welcher genetisch bedingt ist oder durch Komplikationen während der Schwangerschaft und Geburt verursacht werden kann [3,4]. Bei Kindern entsteht ein erworbener Hörverlust häufig durch eine chronische Mittelohrentzündung [5]. Bei Erwachsenen können Hörbeeinträchtigungen auch berufliche Gründe haben. Personen, die fortwährend mit lauten Geräten und Maschinen arbeiten oder im Militärdienst explosionsartigem Lärm ausgesetzt sind, klagen häufig über Tinnitus oder ein Lärmtrauma [6,7]. Eine weitere Ursache kann auch übermäßiger Konsum von lauter Musik in der Freizeit sein. Eine Studie zeigte, dass rund 85 % der Besucher nach einem Rockkonzert unter Tinnitus litten [8]. Eine irreversible Beschädigung des Innenohrs bei dauerhafter Exposition ist hierbei nicht ausgeschlossen. Des Weiteren können genetische Faktoren, ototoxische Medikamente, wie z.B. bestimmte Antibiotika, Diuretika oder Zytostatika [9], oder bakterielle oder virale Infekte (Masern, Mumps, Röteln, Scharlach, Diphtherie) [10] ursächlich sein.

Die Auswirkungen auf das Privat- und Berufsleben von Patienten mit Schwerhörigkeit sind enorm. Stigmatisierungen oder Vorurteile können zu sozialer Ausgrenzung führen, einhergehend mit psychischen Folgeerkrankungen [11,12]. Die Verwendung eines Hörgerätes zur Verbesserung bis zur Wiederherstellung des Sprachverständnisses ermöglicht eine Resozialisierung, jedoch verweigern viele ältere Patienten dieses Hilfsmittel aufgrund ästhetischer Aspekte oder Schwierigkeiten im Umgang mit diesen Geräten [13]. Deshalb ist es besonders wichtig, eine Schwerhörigkeit rechtzeitig zu diagnostizieren und adäquat zu behandeln. Bevor Arzneistoffträgersysteme (Drug Delivery System, DDS) zur Therapie des Innenohrs beschrieben werden (Abschnitt 1.3), ist im folgenden Kapitel eine kurze Einführung in die Anatomie und Physiologie des Ohrs dargelegt.

1.2 Anatomischer Aufbau des Ohrs

Das menschliche Ohr ist in drei Abschnitte unterteilt: das äußere Ohr, das Mittelohr und das Innenohr (Abbildung 1). Das äußere Ohr besteht aus der Ohrmuschel, die den sichtbaren Teil des Ohrs darstellt, und dem 2,5 cm langen Gehörgang, der das äußere Ohr mit dem Trommelfell verbindet. Angrenzend an das Trommelfell befindet sich das Mittelohr, welches die Paukenhöhle, sowie die Gehörknöchelchenkette bestehend aus Hammer, Amboss und Steigbügel, umfasst. Die luftgefüllte Paukenhöhle hat ein Volumen von 1 bis 2 cm³ und ist über die Eustachische Röhre mit dem Nasenrachenraum verbunden. Das Mittelohr ist über zwei semipermeable Membranen, die runde Fenstermembran und die ovale Fenstermembran, mit dem Innenohr verbunden. Das angrenzende Innenohr besteht aus der Hörschnecke (Cochlea), in der die Schallwahrnehmung stattfindet, und dem Vestibularapparat (Bogengänge), der für den Gleichgewichtssinn verantwortlich ist.

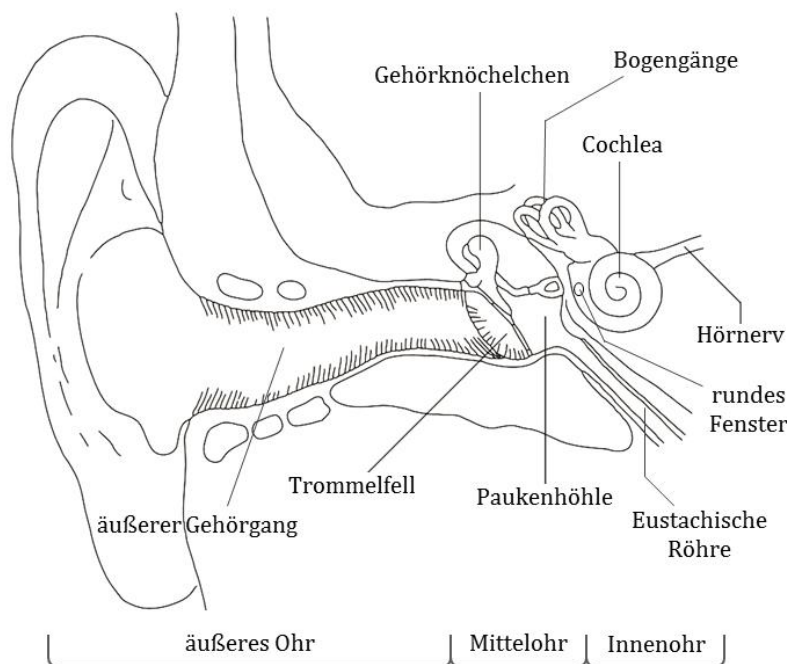


Abbildung 1: Schematischer Aufbau des menschlichen Ohrs. Die Darstellung wurde modifiziert nach [14].

Bei einer Schwerhörigkeit ist meist die Cochlea betroffen. Sie ist von hartem Knochenmaterial umgeben und besteht, wie in Abbildung 2 dargestellt, aus den drei flüssigkeitsgefüllten Gängen Scala vestibuli (SV), Scala media (SM) und Scala tympani (ST). Die Gänge sind durch Membranen voneinander abgegrenzt. Die SM ist durch die Reissner-Membran von der SV und durch die Basilarmembran von der ST getrennt [15]. In der SM befindet sich die kaliumreiche Endolymphe und das Corti-Organ mit den darin enthaltenen hochspezialisierten inneren und äußeren Haarzellen, die mechanische Schwingungen in Nervenimpulse umwandeln.

Die SM ist gegenüber den anderen beiden Gängen relativ klein und als Applikationsort für Arzneistoffe eher unüblich. Hingegen ist die ST aufgrund ihres engen Kontaktes zum Corti-Organ und des größeren Volumens dafür besser geeignet. Die ST und SV enthalten Perilymphe und sind an der Spitze der Cochlea über das Helicotrema verbunden. Das Gesamtvolumen an Perilymphe in der Cochlea beträgt bei Menschen 75,9 μl und bei Meerschweinchen 8,9 μl [16,17].

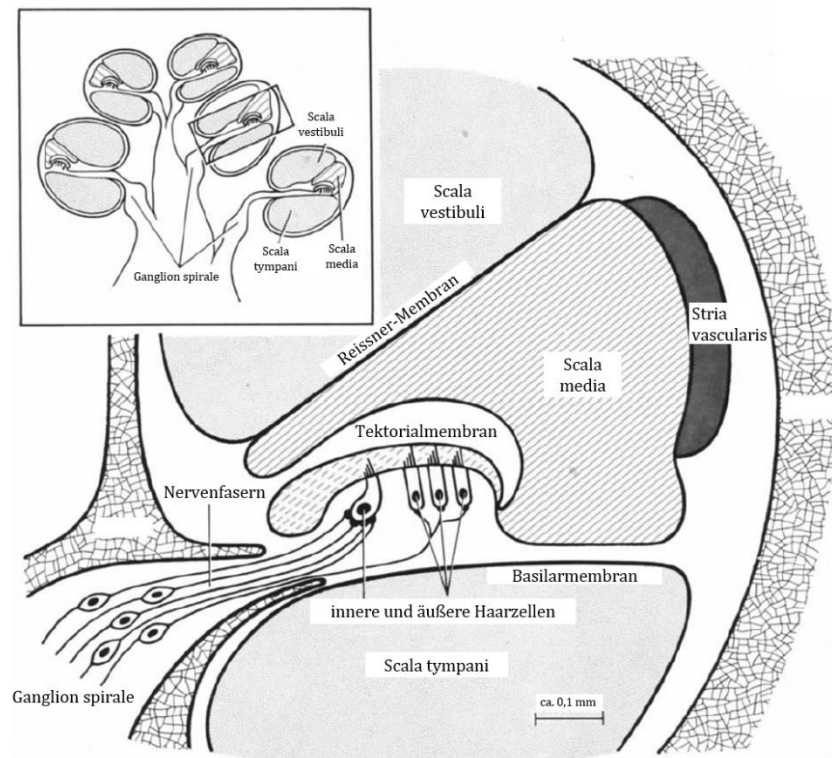


Abbildung 2: Querschnitt durch eine Windung der Cochlea, der die endolymphatischen und perilymphatischen Räume sowie das Corti-Organ und seine inneren und äußeren Haarzellen zeigt. Angelehnt an [18].

Für die lokale Arzneistoffabgabe am Innenohr ist die runde Fenstermembran eine Option. Aufgebaut ist die Membran aus drei Schichten: einem äußeren Epithel, einem mittleren Bindegewebe und einem inneren Epithel. Das mittlere Bindegewebe ist der dominierende Teil der Membran, der Fibroblasten, Kollagen, elastische Fasern sowie Blut- und Lymphgefäße enthält [19]. Die ovale Oberfläche der Membran beträgt bei Menschen etwa 2 mm^2 und bei Meerschweinchen ungefähr 1 mm^2 [20,21]. Oft ist die runde Fenstermembran durch eine „falsche Schleimhautmembran“ bedeckt [22]. Diese muss bei einer lokalen Arzneistoffabgabe entfernt werden, da sonst das DDS ungewollt auf die falsche Schleimhautmembran appliziert werden könnte. Diffundiert der Arzneistoff erfolgreich über die runde Fenstermembran, gelangt er in die ST und somit auch an die inneren und äußeren Haarzellen.

1.3 Arzneistoffabgabe an das Innenohr

Aktuelle Strategien in der Klinik konzentrieren sich hauptsächlich auf die medikamentöse Behandlung von idiopathischem Hörsturz, Morbus Menière und Autoimmunerkrankungen [23]. In vielen Fällen werden nach intravenöser Injektion oder oraler Gabe, aufgrund des Vorhandenseins physiologischer Barrieren und einer schnellen Clearance, nur unzureichende Arzneimittelkonzentrationen erreicht [23–25]. Durch eine lokale Arzneimittelgabe kann der First-Pass-Metabolismus und der Barriereeffekt der Blut-Labyrinth-Schranke vermieden werden [26]. Somit können unter Verwendung geringerer Mengen eines Arzneistoffs erhöhte therapeutische Wirkstoffkonzentrationen in der Cochlea erreicht und toxische systemische Nebenwirkungen vermieden werden [27,28]. Durch die versteckte Lage der Cochlea im Felsenbein, das geringe Volumen und die hohe Empfindlichkeit der sensorischen und nicht-sensorischen Strukturen stellt die lokale Applikation eine große Herausforderung dar. Zur lokalen Gabe von Arzneimitteln steht der intratympanale (extracochleäre), der intracochleäre und der intralabyrinthäre Applikationsweg zur Verfügung [29]. Abhängig von der beabsichtigten Behandlung haben die Routen verschiedene Vor- und Nachteile. Auf den eher selten angewandten intralabyrinthären Applikationsweg wird an dieser Stelle nicht eingegangen.

1.3.1 Intratympanale Applikation

Bei der etablierten intratympanalen Applikation wird das DDS über das Trommelfell in die Paukenhöhle injiziert (Abbildung 3) [30]. Dort diffundiert der Wirkstoff hauptsächlich über das runde, aber teilweise auch über das ovale Fenster in das Innenohr [31]. Der Vorteil dieser Strategie ist die komplikationsarme und normalerweise ambulante Verabreichung. Für einen effizienten Wirkstofftransport in das Innenohr müssen einige Voraussetzungen erfüllt sein. Eine rasche Clearance des Arzneistoffs oder der Arzneistoffformulierung über die Eustachische Röhre sollte verhindert werden, um wiederholte Applikationen zu vermeiden [32]. Diese Wiederholungen erhöhen das Risiko, dass Krankheitserreger in das Innenohr gelangen. Die Verweildauer kann zum Beispiele mit Hilfe von Hydrogelbildnern (Chitosan, Hyaluronsäure, Gelatine, Kollagen) signifikant erhöht werden [33]. Ein besonderer Vertreter dieser Gruppe ist das Blockpolymer Poloxamer 407, welches für die Herstellung wässriger thermogeliegender Gele genutzt werden kann. Diese Zubereitungen sind bei Raumtemperatur niedrigviskos und bei Körpertemperatur hochviskos. Ein mit Dexamethason (DEX) beladenes Poloxamergel (OTIVIDEX®) gegen Morbus Menière scheiterte jedoch in den USA an der durch die FDA genehmigten Phase-III-Studie [34].

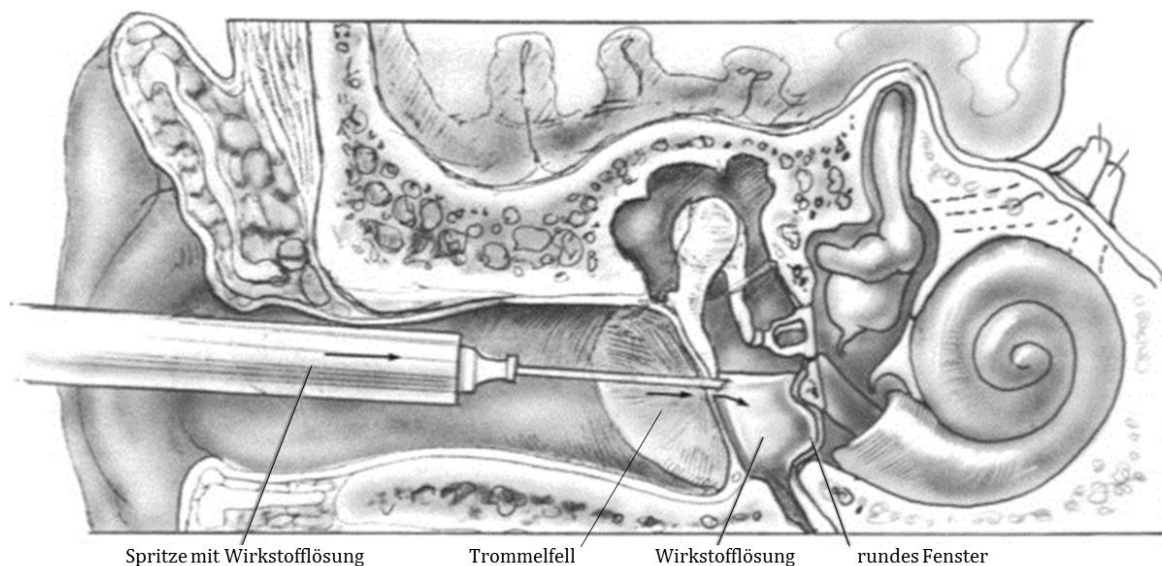


Abbildung 3: Intratympanale Injektion durch Perforation des Trommelfells in die Paukenhöhle. Wirkstofflösung füllt den Mittelohrraum und benetzt die Membran des runden Fensters. Die Abbildung wurde modifiziert nach Monsell et al. 2010 [35].

Des Weiteren ist ein enger Kontakt des Arzneimittelabgabesystems mit den Innenohrfenstern sowie eine lange Kontaktdauer unumgänglich, um ausreichende intracochleäre Wirkstoffkonzentrationen zu erreichen [36]. Durch anatomische Variationen des Ohrs können potentiell dem runden Fenster vorgelagerte falsche Schleimhautmembranen die Applikation

erschweren [22]. Werden diese nicht erkannt und entfernt, können unzureichende Wirkstoffkonzentration in der Cochlea erreicht werden. Die Permeabilität über die runde Fenstermembran ist durch die Größe, Löslichkeit und Ladung der applizierten Formulierung beziehungsweise des Wirkstoffs limitiert. Molekular gelöste Stoffe und nanopartikuläre DDS (Liposomen, Nanopartikel, Polymersome) können die runde Fenstermembran passieren, Darreichungsformen im Mikrometerbereich hingegen nicht [37]. Außerdem wird beschrieben, dass kationische Nanopartikel und lipophile Moleküle bevorzugt die runde Fenstermembran passieren [38,39]. Penetrationenhancer, Microneedles oder Mikroperforationen können den Wirkstofftransport positiv beeinflussen [40–43]. Abhängig von den Eigenschaften des Wirkstoffs kann ein stark variabler Konzentrationsgradient innerhalb der ST auftreten, ohne dessen Verteilung in höhere Windungen der Cochlea [44,45]. All diese Limitierungen sind schwer reproduzierbar zu überwinden, und daher werden nach der intratympanalen Verabreichung häufig sehr variable pharmakokinetische Profile in der Cochlea beobachtet [46].

Eine andere Strategie ist das operative Einbringen von Applikationssystemen direkt vor die Rundfenstermembran in die Rundfensternische. Mikrokatheter wie der Silverstein MicroWick™ oder der Round Window μ -Cath™ sollen eine höhere und gleichmäßigere Wirkstoffverteilung im Innenohr gewährleisten, müssen jedoch nach Therapieende wieder operativ entfernt werden [47,48]. Unter Verwendung von biologisch abbaubaren Polymeren (PLA, PLGA, PCL) entfällt die zusätzliche operative Entfernung. In einer klinischen Pilotstudie zeigte das intravitreale Implantat Ozurdex® gegen idiopathischen plötzlichen sensorischen Hörverlust vielversprechende Ergebnisse [49]. Ozurdex® ist ein PLGA-basiertes Arzneimittelabgabesystem, das DEX über mehrere Wochen freisetzt [50,51]. Größe, Form und Freisetzungskinetik müssen jedoch speziell an die Anforderungen des Innenohrs angepasst werden.

1.3.2 Intracochleäre Applikation

Die intracochleäre Verabreichung ermöglicht die Freisetzung von Arzneistoffen direkt in die Skalen der Cochlea. Der Hauptvorteil dieser Verabreichung ist der direkte Zugang zum Innenohr, wodurch die mit der intratympanalen Applikation verbundenen Probleme vermieden werden können (schnelle Elimination aus dem Mittelohr, begrenzte Permeabilität durch die runde Fenstermembran, hohe anatomische Variabilität). Der Patient muss jedoch während der anspruchsvollen invasiven Behandlung im Krankenhaus bleiben, und der Arzt riskiert, während der Operation Krankheitserreger einzuschleusen sowie strukturelle Verletzungen des Innenohrs [52]. Obwohl die Sicherheit bei der intracochleären Anwendung ein großes Problem darstellt, haben mehrere Studien gezeigt, dass dieser Applikationsweg in vieler Hinsicht vielversprechend ist [53–55]. Bei dem Wirkstoff DEX konnte, gegenüber einer intratympanalen Injektion, eine bessere Verteilung in der ST beobachtet werden, wodurch auch Haarzellen, die für die Wahrnehmung von Schallwellen niedriger Frequenzen verantwortlich sind, erreicht werden [56]. Zusätzlich wurden über einen längeren Zeitraum höhere Wirkstoffkonzentrationen gemessen [45]. Falls das Innenohr wegen des Einführens eines Cochlea-Implantats (CI) ohnehin geöffnet wird, stellt die Kombination mit einem zusätzlichen DDS eine sinnvolle Option dar [27]. Zudem besteht die Möglichkeit, den Elektrodenträger auch als Wirkstoffdepot zu verwenden. Dazu kann der Elektrodenträger mit einem Wirkstofffilm überzogen oder der Wirkstoff in das Material des Elektrodenträgers inkorporiert sein [57–60]. Ähnlich wie die im vorherigen Abschnitt beschriebenen Mikrokatheter, funktionieren osmotische Pumpen und Perfusionssysteme. Diese Applikationssysteme können über einen Zeitraum von mehreren Wochen kontinuierlich Arzneistoffe abgeben [61–63], jedoch lassen sich pharmakokinetische Parameter wie die Flussrate schlecht während der Therapie korrigieren [64]. Prenzler *et al.* verwendeten einen Katheter aus Material mit ähnlichen weichen Eigenschaften wie eine CI Elektrode. Der Katheter wurde unmittelbar vor dem Einsetzen des CIs verwendet, um die apikalen Windungen der ST mit Triamcinolonacetonid zu versorgen [65,66]. Aufgrund der kurzen Halbwertszeit von Corticosteroiden in der ST (DEX = 22,5 min; DEX-phosphat = 18,3 min [31]) nimmt die therapeutisch wirksame Konzentration jedoch schnell ab.

1.4 Zielstellung der Arbeit

Es besteht dringender Bedarf einer Verbesserung der Arzneimitteltherapie am Innenohr (unmet medical need). Hierbei spielt die Erforschung neuer DDSs für eine lokale Therapie am Innenohr eine entscheidende Rolle. Die Aktualität des Forschungsthemas spiegelt sich in der drastisch steigenden Anzahl von Veröffentlichungen in den letzten 20 Jahren wider (Abbildung 4).

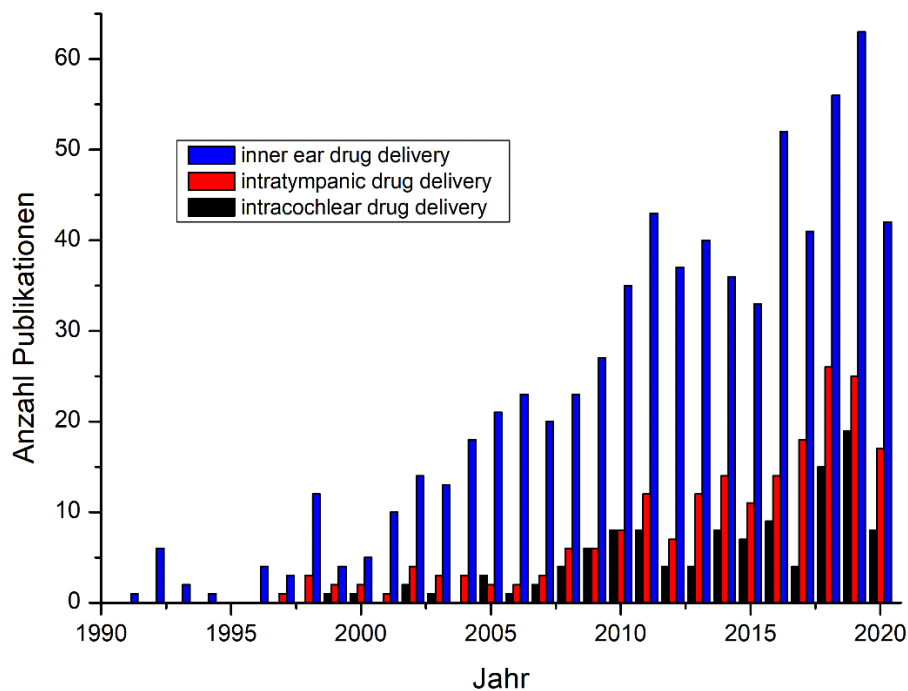


Abbildung 4: Ergebnis einer PubMed Recherche nach den Suchbegriffen „inner ear drug delivery“ (blau), „intratympanic drug delivery“ (rot) und „intracochlear drug delivery“ (schwarz).

Das erklärte Ziel der vorliegenden Arbeit war die Konzeption, Herstellung und Charakterisierung von biologisch abbaubaren Implantaten für die intracochleäre und intratympanale Applikation. Für die DDSs wurde PLGA als Matrix und DEX als Wirkstoff gewählt. Beide Substanzen gelten im Zusammenhang mit der lokalen Hörrehabilitation als bereits umfangreich untersucht [67–70]. Hierbei sollte die Wirkstoffabgabe konstant über einige Wochen erfolgen. Entscheidend für die Entwicklung der Implantate war die Eignung für den jeweiligen Applikationsweg.

Als Ausgangspunkt für eine intracochleäre Gabe diente das, in Kapitel 1.3.1 aufgeführte, Ozurdex®-Implantat. Für eine zielgerichtete Weiterentwicklung sollten die Eigenschaften von Ozurdex®, wie Größe, Form und mechanische Festigkeit speziell auf die Anforderungen des Innenohrs angepasst werden, um das neu entwickelte DDS in den geraden Bereich der ST

applizieren zu können. Dafür müssen umfangreiche Untersuchungen mittels dynamischer Differenzkalorimetrie und mechanischer Texturanalyse durchgeführt werden. Mathematische Simulationen sollten Aufschluss über die *in vivo* Wirkstofffreisetzung geben. Anschließend sollten die Implantate *ex vivo* operativ per Cochleostomie am Meerschweinchen appliziert werden. Die Unversehrtheit der Cochlea sowie des Implantats sollte mittels CT überprüft werden. Eine mögliche Kombination von Implantaten verschiedener Länge und Dicke mit diversen CIs sollte *postmortem* an menschlichen Schläfenbeinen untersucht werden.

Für die intratympanale Applikation sollten dünne Polymerscheibchen mittels Filmbildungsverfahren hergestellt werden, die direkt auf die runde Fenstermembran aufgebracht werden können. Aufgrund der Verwendung von organischen Lösungsmitteln müssen die Scheibchen während der Trocknung detailliert via Gaschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung und thermischer Analyse charakterisiert werden. Der Polymer- und Massenabbau der Scheibchen sollte während der Wirkstofffreisetzung näher untersucht werden. Im Weiteren sollte *ex vivo* die Durchführbarkeit einer Implantation auf die runde Fenstermembran beim Meerschweinchen überprüft werden.

2 KUMULATIVER TEIL

Tabelle 1: Allgemeine Informationen zu den Fachzeitschriften

ALLGEMEINE INFORMATIONEN ZU DEN FACHZEITSCHRIFTEN			
Titel	International Journal of Pharmaceutics: X	Drug Delivery and Translational Research	International Journal of Pharmaceutics
Impact Factor 2020	Noch nicht berechnet	4,617	5,875
5-Year Impact Factor 2020	Noch nicht berechnet	4,486	4,423
Herausgeber	Elsevier	Springer	Elsevier

Der folgende Abschnitt beinhaltet 3 Publikationen, welche als *Research Article* in internationalen Fachzeitschriften dem anerkannten *Peer Review* Verfahren unterzogen und bei in Tabelle 1 aufgeführten Journalen veröffentlicht wurden. Diese Artikel bilden den Schwerpunkt der im Rahmen der Promotion ausgeführten Experimente und fassen die erzielten Ergebnisse meiner Arbeit zusammen. Die Publikationen beschreiben die Herstellung, physikalisch-chemische Eigenschaften, sowie *in vitro* als auch *ex vivo* Charakterisierungen von DDSs zur lokalen Applikation am Innenohr.

Publikation I beschreibt die Entwicklung eines biologisch abbaubaren DDS für eine intracochleäre DEXgabe. Kurzkettiges PLGA diente als Grundlagenmatrix, welches mittels Schmelzextrusion zu sehr dünnen Implantaten (300 µm Durchmesser) verarbeitet wurde. Mit Hilfe von PEG als zusätzlichen Bestandteil konnte die Flexibilität und die Sprödebrüchigkeit, sowie die Freisetzungskinetik von DEX aus den Implantaten optimiert werden. Pharmakokinetische Simulationen im menschlichen Innenohr berechneten eine konstante Wirkstoffkonzentration in der Perilymphe über mehrere Wochen. Die *ex vivo* Implantation in die ST einer Meerschweinchen-Cochlea demonstrierte das gewünschte Gleichgewicht zwischen mechanischer Festigkeit und Flexibilität der PEG-haltigen Implantate. Anschließend wurden der Standort und die Unversehrtheit des Implantats durch CT sichtbar gemacht.

Aufbauend auf Publikation I wurden in **Publikation II** die biologisch abbaubaren Implantate *postmortal* über das runde Fenster in die ST appliziert. Hierbei ging es vor allem um die

Fragestellung, ob das DDS problemlos implantiert und mittels CT lokalisiert werden kann. Dafür wurden Implantate unterschiedlichster Dimensionen mit dem Röntgenkontrastmittel Bariumsulfat beladen. Die zeitabhängige Detektierbarkeit der Implantate wurde *in vitro* in phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) bestimmt, um den optimalen Zeitraum der Visualisierung nach einer Implantation in die menschliche Cochlea festzulegen. Besonderer Fokus dieser Studie war die Kombination mit neurosensorischen CIs. Da beim operativen Einsetzen eines CIs das runde Fenster ohnehin geöffnet wird, bietet sich eine zusätzliche Applikation eines DDSs an. Hierbei eigneten sich alle Implantatdimensionen für eine gleichzeitige Applikation

Publikation III beinhaltet die Herstellung und Charakterisierung eines weiteren PLGA-basierten DDSs für eine lokale Applikation am Innenohr. Im Gegensatz zu Publikation I und II erfolgte die Applikation intratympanal auf das runde Fenster. Polymerscheibchen wurden durch ein Filmgussverfahren mit Aceton und anschließender Ausstanzung angefertigt. Die optimale Trocknungszeit wurde durch thermogravimetrische Analyse (TGA) und dynamische Differenzkalorimetrie (DSC) evaluiert. Zusätzlich wurde der Massen- und Polymerabbau über die Zeit der Arzneimittelfreisetzung mittels Gel-Permeations-Chromatographie (GPC) gemessen. Eine kontrollierte Wirkstofffreisetzung von DEX über Wochen wurde in einem Freisetzungmodell des runden Fensters erreicht. Die *ex vivo* Implantation eines Polymerscheibchens auf das runde Fenster eines Meerschweinchens zeigte passende Größenverhältnisse des DDSs mit engen Oberflächenkontakt zur Membran des runden Fensters.

Tabelle 2: Darlegung des prozentualen Eigenanteils an den Veröffentlichungen; A: eigener Anteil an der Planung, der Durchführung, der Auswertung der Experimente und der Anfertigung der dazugehörigen Abbildungen; B: eigener Anteil an der Anfertigung des Manuskripts

DARLEGUNG DES PROZENTUALEN EIGENANTEILS AN DEN NACHFOLGENDEN VERÖFFENTLICHUNGEN	
Publikation I	E. Lehner, D. Gündel, A. Liebau, S.K. Plontke, and K. Mäder: <i>Intracochlear PLGA based implants for dexamethasone release: Challenges and solutions</i> International Journal of Pharmaceutics X. 1 (2019) 100015. Eigenanteil: A= ca. 80 % B= ca. 60 %
Publikation II	E. Lehner, M. Menzel, D. Gündel, S.K. Plontke, K. Mäder, J. Klehm, H. Kielstein, A. Liebau: <i>Microimaging of a novel intracochlear drug delivery device in combination with cochlear implants in the human inner ear</i> Drug Deliv. Transl. Res. (2021) 7–10. Eigenanteil: A= ca. 60 % B= ca. 60 %
Publikation III	E. Lehner, A. Liebau, F. Syrowatka, W. Knolle, S.K. Plontke, K. Mäder: <i>Novel biodegradable Round Window Disks for inner ear delivery of dexamethasone</i> International Journal of Pharmaceutics 594 (2021) 120180 Eigenanteil: A= ca. 80 % B= ca. 80 %

2.1 Intracochlear PLGA based implants for dexamethasone release: Challenges and solutions

Link Artikel:

<https://doi.org/10.1016/j.ijpx.2019.100015>

Zitat:

E. Lehner, D. Gündel, A. Liebau, S.K. Plontke, and K. Mäder: *Intracochlear PLGA based implants for dexamethasone release: Challenges and solutions* International Journal of Pharmaceutics X 1 (2019) 100015.

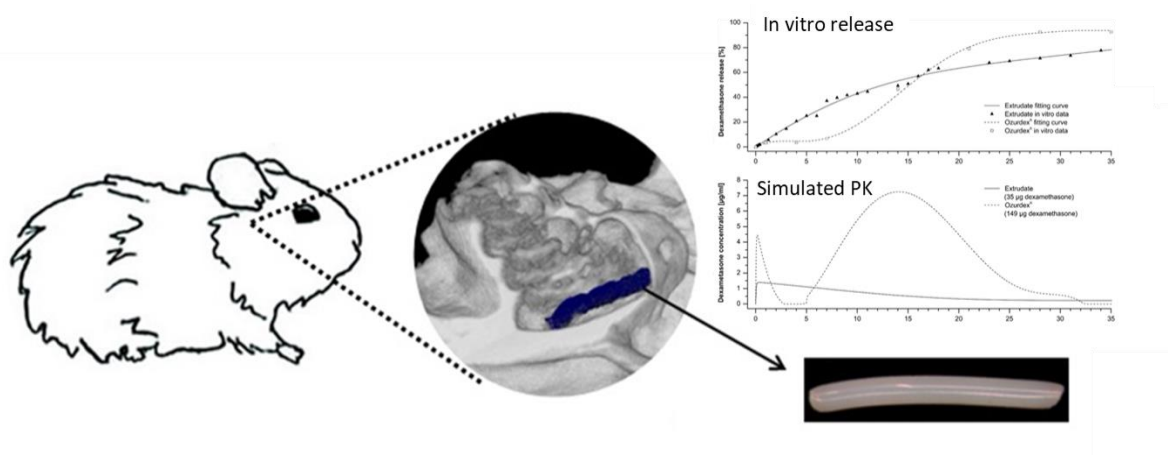


Abbildung 5: Grafische Zusammenfassung zu Lehner et al. [71].

2.2 Microimaging of a novel intracochlear drug delivery device in combination with cochlear implants in the human inner ear

Link Artikel:

<https://doi.org/10.1007/s13346-021-00914-9>

Zitat:

E. Lehner, M. Menzel, D. Gündel, S.K. Plontke, K. Mäder, J. Klehm, H. Kielstein, A. Liebau: *Microimaging of a novel intracochlear drug delivery device in combination with cochlear implants in the human inner ear*

Drug Delivery and Translational Research (2021) 7–10.

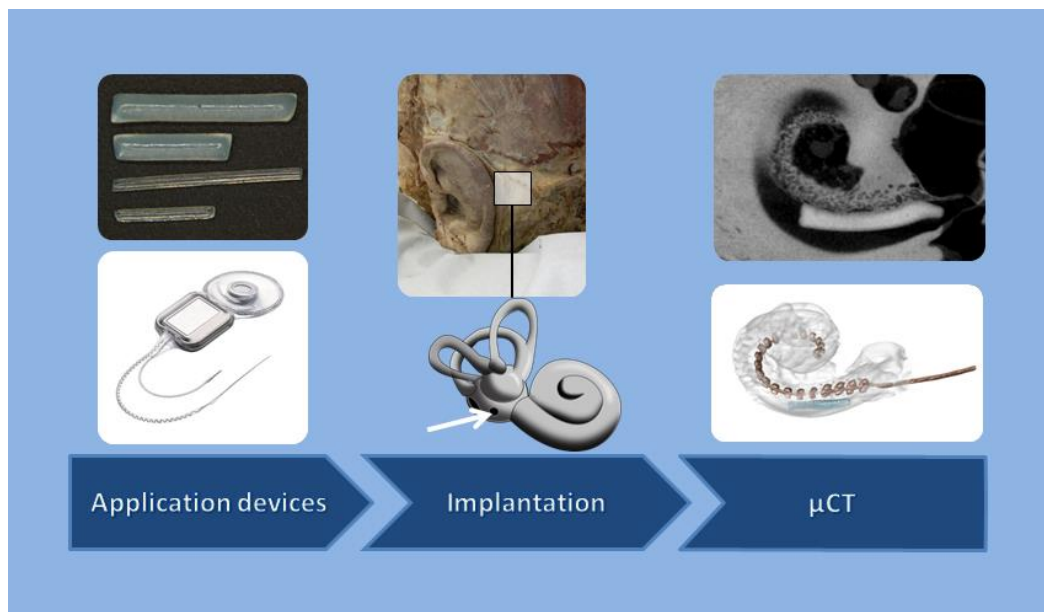


Abbildung 6: Grafische Zusammenfassung zu Lehner et al. [72]

2.3 Novel biodegradable Round Window Disks for inner ear delivery of dexamethasone

Link Artikel:

<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.120180>

Zitat:

E. Lehner, A. Liebau, F. Syrowatka, W. Knolle, S.K. Plontke, K. Mäder: *Novel biodegradable Round Window Disks for inner ear delivery of dexamethasone* International Journal of Pharmaceutics 594 (2021) 120180.

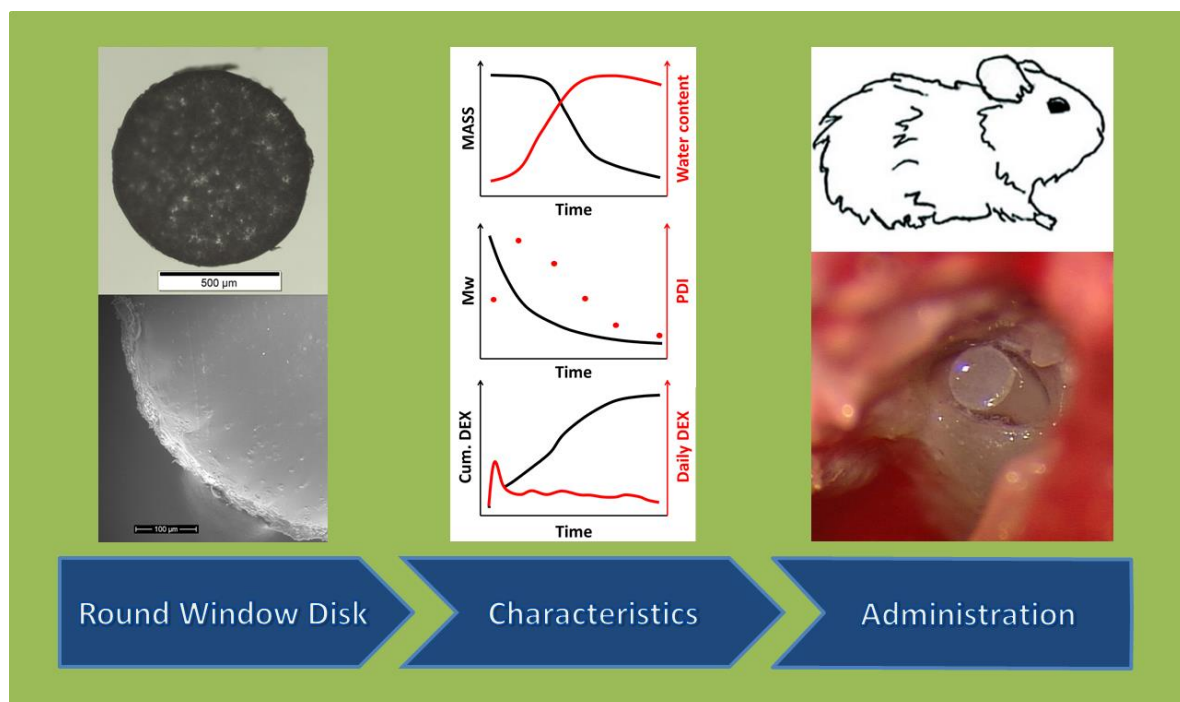


Abbildung 7: Grafische Zusammenfassung zu Lehner et al. [73].

3 DISKUSSION DES KUMULATIVEN TEILS

Die vorliegende Dissertation soll einen Beitrag für die Weiterentwicklung der personalisierten Medizin in der Hörrehabilitation liefern. Obwohl mittlerweile einige Jahre intensiv an der lokalen Therapie zur Erzielung therapeutisch effektiver Arzneistoffkonzentrationen im Innenohr geforscht wurde, spielen Implantate eine eher untergeordnete Rolle [28,33]. Das als Augenimplantat zugelassene Ozurdex® diente als guter Ausgangspunkt für die vorliegende Dissertation, jedoch müssen die generellen Eigenschaften des Implantats, wie beispielsweise Größe, mechanische Festigkeit und Freisetzungskinetik speziell auf den jeweiligen Applikationsweg angepasst werden.

Zu Beginn der Arbeit lag der Fokus auf der Formulierungsentwicklung für die intracochleären Implantate. Der Aspekt der biologischen Abbaubarkeit stand im Vordergrund. Viele der bereits publizierten DDSs ermöglichen eine kontrollierte Wirkstofffreisetzung, sind jedoch nicht biologisch abbaubar und müssen durch eine zweite Operation entfernt werden [74–78]. Das verwendete PLGA besteht zu gleichen Teilen aus den Monomeren Lactid und Glycolid, ist durch eine geringe molare Masse (10,4 kDa) charakterisiert und enthält freie Carboxylendgruppen. Diese Eigenschaften begünstigen einen autokatalytischen Abbau innerhalb von drei Monaten. Dementsprechend konnten verschiedene Wirkstoffe und Zusätze mit variierenden Konzentrationen auf ihre Eignung getestet werden. DEX in einer Konzentration von 10 % erwies sich in diversen Vorversuchen gegenüber Prednisolon, DEX-acetat und DEX-palmitat als idealer Wirkstoffkandidat. PEG 1500 wurde als etablierter Weichmacher in zwei Konzentrationen verwendet, um die Flexibilität zu verbessern [79]. Die Implantate dürfen bei der Applikation keine scharfen Kanten aufweisen und müssen sich der Form der ST anpassen, damit die intracochleäre Insertion so atraumatisch wie möglich abläuft. Die ausgewählten Zusammensetzungen (Tabelle 3) wurden mittels Schmelzextrusion in Extrudate mit einem Durchmesser von circa 300 µm verarbeitet (Abbildung 8).

Tabelle 3: Übersicht der hergestellten und charakterisierten Formulierungen.

ZUSAMMENSETZUNG DER EXTRUDATE				
Formulierung	PLGA % (m/m)	PEG 1500 % (m/m)	DEX % (m/m)	BaSO ₄ % (m/m)
A	90	-	10	-
B	80	10	10	-
C	75	15	10	-
D	80	10	-	10

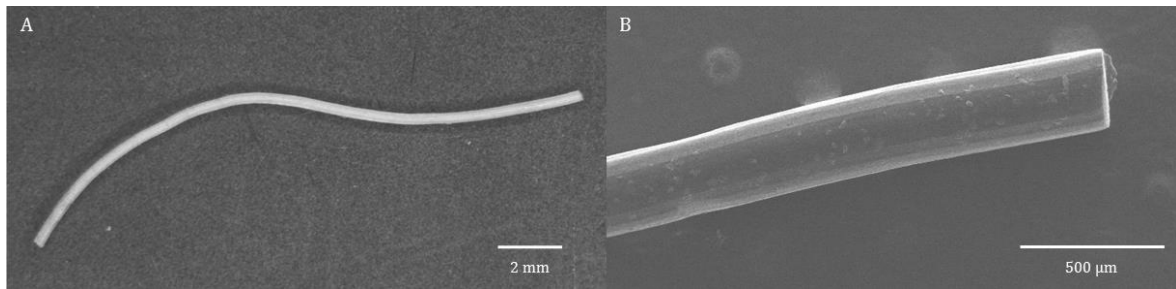


Abbildung 8: Stereomikroskopische (A) und REM (B) Aufnahmen von flexibler Formulierung B.

HPLC Messungen bestätigten einen homogenen Wirkstoffgehalt von 10 % in den DEX-haltigen Formulierungen. Mit Hilfe von Mikrotomschnitten und anschließender mikroskopischer Betrachtung konnte auch eine Veränderung der Partikelgrößenverteilung von DEX ausgeschlossen werden.

Die thermischen Eigenschaften der Extrudate und der Bestandteile wurden mittels DSC bestimmt. Aus den resultierenden Thermogrammen konnten Erkenntnisse über das elastische Verhalten der Extrudate gewonnen werden. Für eine Implantation im Innenohr sollte die Formulierung nicht sprödebrüchig sein, sondern im weichen gummielastischen Zustand vorliegen. Dafür muss die Glasübergangstemperatur (T_g) unterhalb der Raumtemperatur (RT) liegen. Die Thermogramme aller PEG-haltigen Formulierungen (B, C, D) wiesen eine T_g unter RT auf und zeigten keine Rekristallisation bei 51 °C (Abbildung 9A).

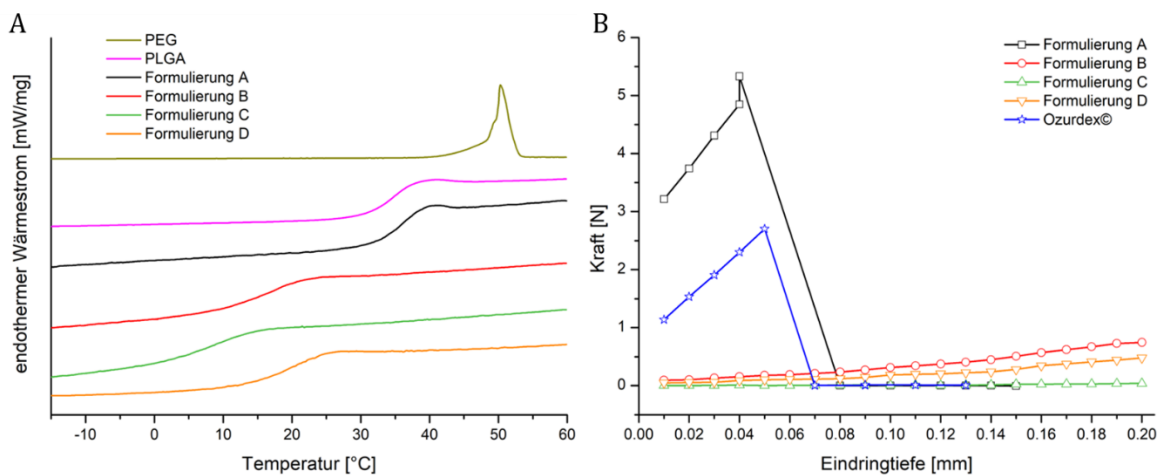


Abbildung 9: A) Thermogramme von PLGA, PEG und Extrudaten. Die Messungen wurden mit einer Heizrate von 5 K/min zwischen -20 und 60 °C durchgeführt. B) Kraft-Weg-Diagramme der Extrudate und Ozurdex®. Modifiziert nach [71].

Die verbesserte Flexibilität wurde durch Texturanalyse bestätigt. Während Ozurdex® und die PEG-freie Formulierung A einen schnellen Kraftanstieg zeigten und zerbrachen, blieben im Gegensatz dazu die PEG-haltigen Formulierungen über den gesamten Penetrationsweg intakt (Abbildung 9B).

Formulierung B wurde aufgrund der leicht erhöhten Festigkeit gegenüber Formulierung C für die CT-Studien bestimmt. Zur *ex vivo* Visualisierung der Extrudate wurde DEX durch das Röntgenkontrastmittel BaSO₄ ersetzt (Formulierung D). Formulierung B und D zeigten nur marginale Unterschiede in den Thermogrammen und Kraft-Weg-Diagrammen, und sollten sich somit in der Handhabung gleichen. Die Ergebnisse der bildgebenden CT und Mikro-CT Messungen von Formulierung D können deshalb auf die wirkstoffhaltige Formulierung B übertragen werden.

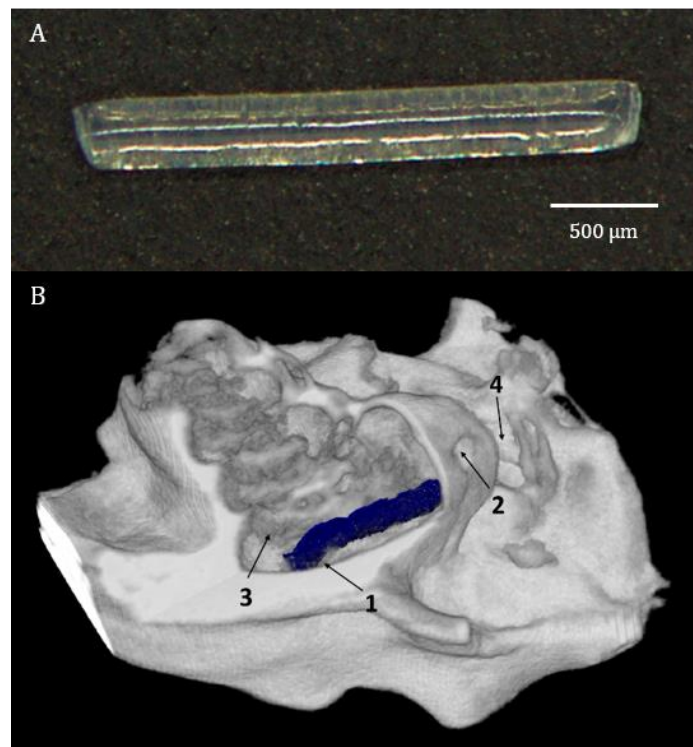


Abbildung 10: (A) Morphologie eines 0,3 mm × 3 mm Implantats der Formulierung D. (B) 3D-Rekonstruktion der Cochlea; 1 = Implantat mit gebogenem Ende; 2 = Cochleostomie; 3 = Basilarmembran; 4 = Rundfensternische. Modifiziert nach [71,72].

Die Implantation in die ST wurde an einer Meerschweinchen-Cochlea durchgeführt. Meerschweinchen-Cochleae eignen sich gegenüber Mäusen und Ratten aufgrund ihres größeren Volumens besonders für Implantations- und Verteilungsstudien [80]. Der Zugang zur Cochlea erfolgte durch eine Cochleostomie. Die basale Windung der Cochlea in der Nähe des runden Fensters wurde mit einem Diamantbohrer (0,4 mm) minimal geöffnet. Ein per Skalpell

zurechtgeschnittenes 0,3 mm × 3 mm Implantat (Abbildung 10A) konnte, bedingt durch die verbesserten mechanischen Eigenschaften, ohne subjektiven Widerstand eingesetzt werden. Aufgrund des geringen Durchmessers des Implantats konnte der kleinstmögliche Bohrer verwendet werden, was den operativen Eingriff äußerst minimalinvasiv gestaltet. Die anschließenden CT-Scans zeigten keine Beschädigung der Strukturen des Innenohrs. Jedoch ist das Implantat etwas gebogen und scheint die Basilmembran zu berühren, die die ST von den SM abgrenzt (Abbildung 10B). In zukünftigen Studien werden Implantate mit einer Länge von 2,0 mm verwendet, um etwaige Verletzungen zu vermeiden. Eine rein atraumatische Insertion kann nur mit histologischen Untersuchungen bestätigt werden.

Durch die Zugabe von PEG als externen Weichmacher konnte zusätzlich die anfängliche Wirkstofffreisetzung gesteigert werden (Abbildung 11) [81,82]. Das Freisetzungsprofil von Ozurdex® weist eine therapeutisch ungeeignete, verzögerte Freisetzung von mehreren Tagen auf [51]. Besonders zu Beginn ist eine schnelle Liberation unumgänglich, um die anfängliche Entzündungsphase zu dämpfen, die innerhalb weniger Stunden nach der Implantation eingeleitet wird [83–85]. Im Vergleich zu Ozurdex® wurden bei allen entwickelten DEX-Implantaten höhere anfängliche Freisetzungsraten erzielt. Obwohl Formulierung A und Ozurdex® keine weiteren Zusätze enthalten, unterscheidet sich das Freisetzungsprofil deutlich. Ein möglicher Grund ist die Verwendung von PLGA unterschiedlicher Hersteller (Resomer® RG 502 H von Evonik Industries; EXPANSORB® DLG 50-2A von Merck KGaA). Trotz ähnlichen molaren Massen ($M_w = \text{ca. } 10 \text{ kDa}$) und Glasübergängen ($T_g = 35 \text{ °C}$) wurde bei den EXPANSORB® Polymeren arbeitsgruppenintern ein deutlich lineareres Freisetzungsverhalten festgestellt. Bode *et al.* beschrieb ebenfalls ein sigmoidales Verhalten für DEX-haltige Extrudate aus PLGA RG 502 H [86]. Diese Beobachtungen müssten künftig mit Implantaten identischer Dimensionen, Beladungen und Freisetzungsbedingungen noch genauer untersucht werden.

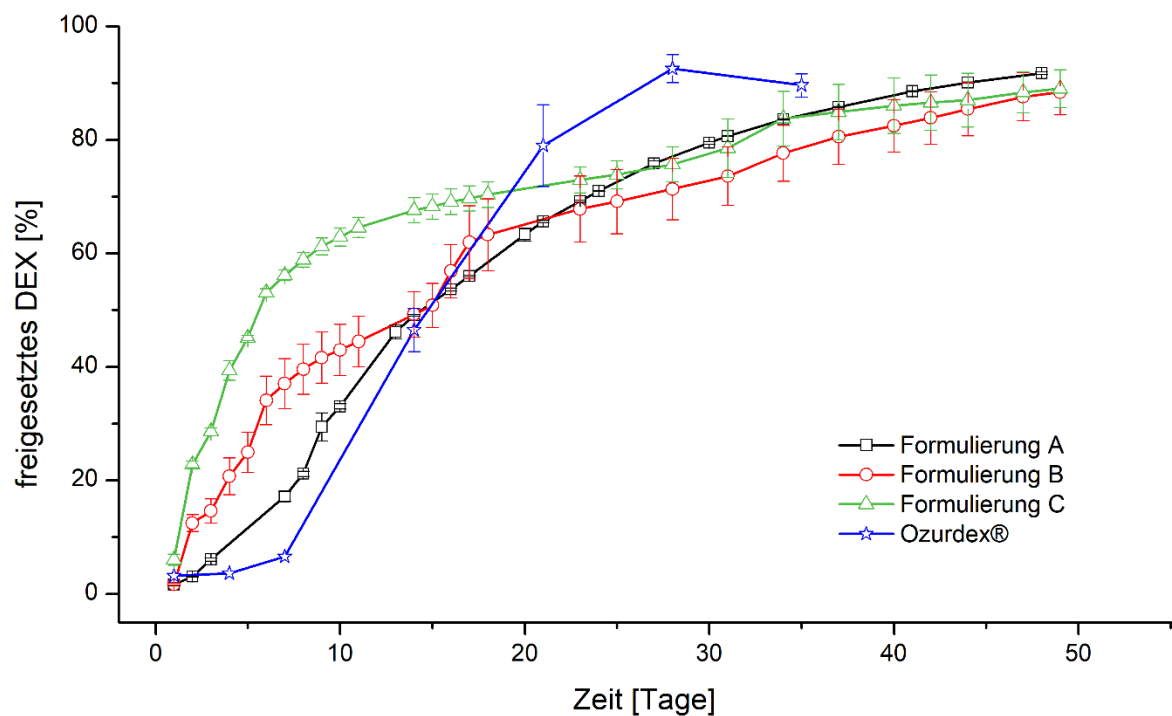


Abbildung 11: Kumulative Freisetzung von DEX aus PLGA-Extrudaten in PBS pH 7,4 im Vergleich zu Ozurdex®; Wirkstoffgehalt der Formulierungen A – C beträgt 10 %. Modifiziert nach [71].

Die gesteigerten Freisetzungsraten der PEG-haltigen Formulierung können auf verschiedene Gründe zurückgeführt werden. PEG beschleunigt die Benetzung und das Eindringen von Wasser in das Implantat [79]. Zusätzlich bildet PEG als hydrophiles Polymer Poren und vergrößert die spezifische Oberfläche [81]. Des Weiteren senkt PEG wie in Abbildung 9 gezeigt die T_g , was zu einer gesteigerten makromolekularen Kettenbeweglichkeit von PLGA und somit zu erhöhten Diffusionskoeffizienten von Wirkstoffen führt [82,87]. Durch die Verbesserung der Diffusion können auch die hydrophilen sauren Abbauprodukte von PLGA (Milchsäure und Glykolsäure) schneller den Implantatkern verlassen, wodurch der säurebedingte autokatalytische Abbau des Polymers zumindest teilweise verhindert wird.

Anhand pharmakokinetischer Simulationen konnte der Wirkstoffspiegel in der menschlichen Perilymphe abgeschätzt werden. Für die Simulation wurde Formulierung B gewählt, weil die *in vitro* Wirkstofffreisetzung eine konstante Kinetik ohne Verzögerungsphase zeigt. Außerdem überzeugte Formulierung B bereits in der Implantationsstudie. Als Vergleich wurde ein Stück Ozurdex® simuliert, welches die gleiche Maße wie Formulierung B besitzt. Im Gegensatz zu Ozurdex® erreicht Formulierung B über mehrere Wochen einen nahezu konstanten Wirkstoffspiegel (0,5 bis 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) mit einer erhöhten Initialkonzentration (Abbildung 12).

Von Jia *et al.* wurde gezeigt [83], dass DEX-Konzentrationen über 1,2 µg/ml nach 5 Tagen Inkubation beginnen, toxische Effekte auf äußere und innere Haarzellen hervorzurufen. Ozurdex® weist hingegen Intervalle einer Über- und Unterdosierung infolge der sigmoidalen *in vitro* Wirkstofffreisetzung auf (Abbildung 11). Die Ergebnisse der Simulationen unterstreichen das hohe Potenzial von Formulierung B, weil sie über mehrere Wochen nahezu konstante Wirkstoffspiegel im Innenohr vorhersagen. DEX-eluierende Silikonelektroden überzeugen zugegebenermaßen auch durch eine lange und konstante Wirkstofffreisetzung, jedoch mangelt es ihnen oft an einer erhöhten Initialfreisetzung [88]. Durch das optimierte Freisetzungsprofil von Formulierung B können die Entzündungsprozesse, welche nach der CI-Implantation innerhalb weniger Stunden beginnen, effektiv unterbunden werden [85].

Die Konzentration von DEX pro Implantat kann herstellungsbedingt beliebig reduziert werden, falls *in vivo* toxische Effekte auf die Haarzellen beobachtet werden. Aufgrund der Ergebnisse der Implantationsstudie wurde versucht, die Wirkstoffmenge zu erhöhen, damit kürzere Implantate mit einer Länge von 2 mm die identische Menge an DEX aufweisen. Ozurdex® als Beispiel, ist mit nahezu 60 % DEX beladen [89]. Diese theoretisch denkbare Erhöhung des Wirkstoffgehaltes war jedoch nicht zielführend. Die zusätzlichen Mengen DEX beeinflussten die Flexibilität der Extrudate negativ, wodurch diese bereits beim Extrusionsvorgang zerbrachen.

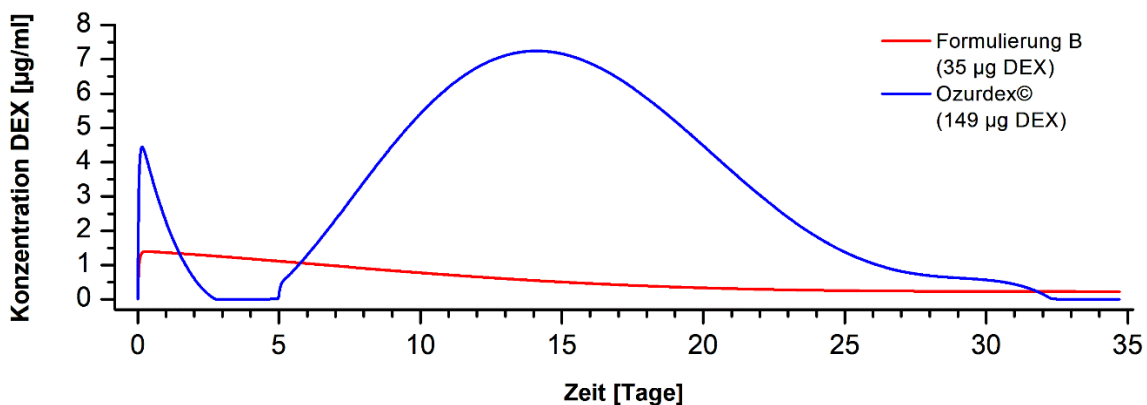


Abbildung 12: Simulation der Wirkstoffspiegel in der Perilymphe nach Implantation von Formulierung B und Ozurdex® in die menschliche Cochlea. Modifiziert aus [71].

Für die Weiterentwicklung von Formulierung B in Richtung klinischer Anwendung sind allgemeine Nachweise und Grenzen einer möglichen Implantation in die menschliche Cochlea erforderlich. Daher wurden in Publikation II vier verschiedene Abmessungen (Variation in Durchmesser und Länge) von Formulierung D durch die runde Fenstermembran in menschliche Innenohre von Leichen appliziert. Für anschließende Mikro-CT Messungen diente auch in dieser Visualisierungsstudie BaSO₄ als geeignetes Kontrastmittel.

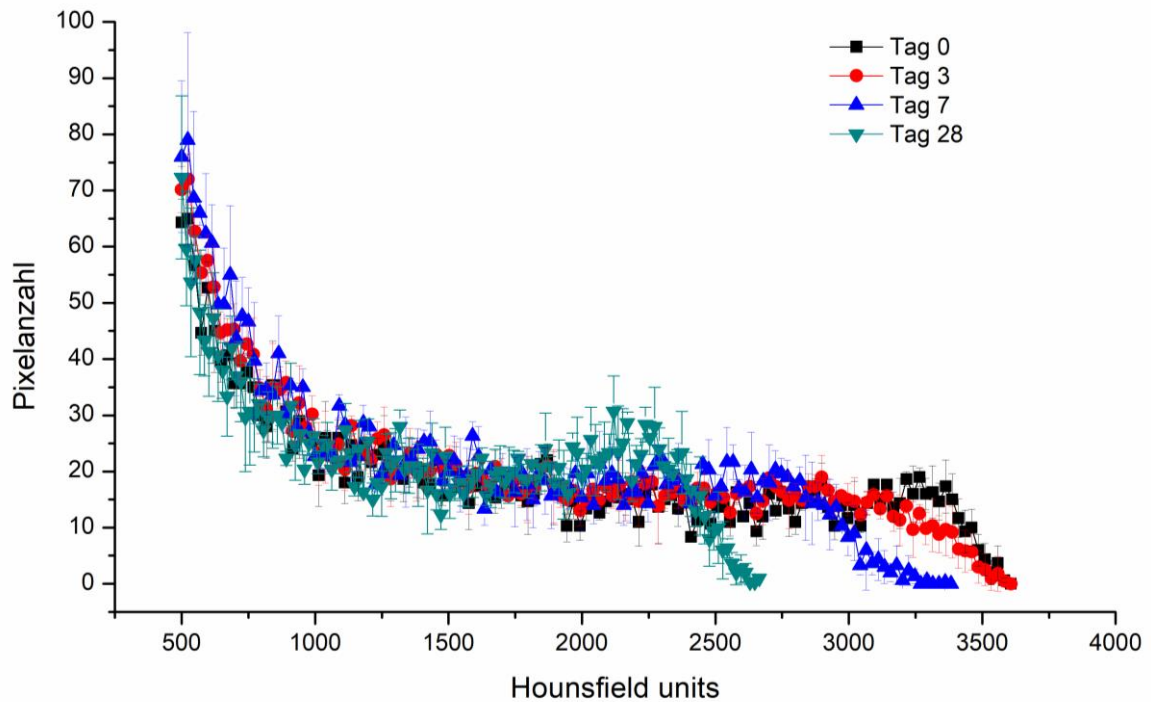


Abbildung 13: Histogramm der HU der 0,3 mm x 3 mm Implantate in PBS. Modifiziert nach [72].

Die Detektierbarkeit der Implantate wurde zuvor *in vitro* in PBS überprüft, um den optimalen Zeitpunkt für eine anschließende CT-Messung zu bestimmen. Die Implantate konnten über 28 Tage nachgewiesen werden, jedoch mit einer leichten Abnahme der Dichte in Hounsfield units (HU). Wie in Wilhelm *et al.* beschrieben [90], wurde im Apex cochleae das dichteste Gewebe mit einem Maximum von 2703 HU gemessen. Im Vergleich zum Apex zeigten die Implantate an den Tagen 0 und 3 mit einem Maximum zwischen 3000 und 3500 HU unverkennbar dichtere Eigenschaften (Abbildung 13). Somit liegt der optimale Zeitpunkt für die CT innerhalb der ersten drei Tage nach der Implantation. Danach kann es schwierig sein, die Implantate vom umliegenden Gewebe zu unterscheiden.

Bei der Implantationsstudie sollten folgende Fragestellungen beantwortet werden:

1. Besitzen alle Implantatdimensionen eine geeignete Flexibilität für eine intracochleäre Applikation?
2. Bleiben die Implantate während der Applikation intakt, selbst wenn ein zusätzliches CI eingesetzt wird?
3. Können die Implantate in Gegenwart von CI's identifiziert werden?
4. Verfügt die ST über ausreichend Volumen, um die eine Kombination aus CI und DDS zu ermöglichen?
5. Sind Schädigungen der sensiblen Cochlea zu beobachten?

Anhand von Abbildung 14 ist erkennbar, dass in der ST ausreichend Raum für die Applikation der Implantate zur Verfügung steht. In den Schläfenknochen Nr. 4 und Nr. 5 drangen die Implantate mit einem Durchmesser von 0,6 mm jedoch in die Basilarmembran ein, wodurch es zu einer mechanischen Beschädigung der inneren und äußeren Haarzellen kommt. Ein Skalenwechsel ist in den jeweiligen 3D-Rekonstruktionen deutlich zu erkennen. Im Gegensatz dazu schien die Länge der Implantate an sich das Risiko einer Schädigung der Basilarmembran nicht erhöht zu haben, da für die Implantate mit einem Durchmesser von 0,3 mm (Abb. 14 #1 und #2) kein allgemeiner Positionsunterschied beobachtet wurde. Außerdem adhären die Implantate an den Skalenwänden. In Bezug auf die Sicherheit wäre es vorteilhaft, wenn die Implantate im unteren Bereich der ST platziert werden könnten, der am weitesten von der Basilarmembran und damit dem Corti-Organ entfernt ist. Haarzellschädigungen, induziert durch mechanischen Stress und saure Abbauprodukte von PLGA, könnten infolgedessen reduziert werden.

In Abbildung 15 sind Kombinationen aus den verwendeten Implantaten und CI's verschiedener Hersteller abgebildet. Alle Implantate konnten trotz Artefakten durch metallische Komponenten in den CI's identifiziert werden. Die Bilder zeigen genügend Platz in der ST für eine zusätzliche Insertion jeder Implantatgröße neben ein bereits appliziertes CI. Dies ist auch in Abbildung 16 zu sehen, die eine 3D-Rekonstruktion der Cochlea #7 zeigt. Teilweise wurden Implantate tiefer in der Cochlea gefunden (Abb. 15 #9 und #10). Ursächlich hierfür könnte eine Anhaftung des Implantats an das bereits inserierte CI sein, wobei das CI möglicherweise während der Handhabung des Schläfenbeins bei den Mikro-CT Messungen weiter in die Cochlea geschoben wurde. Um diesen Sachverhalt genauer zu untersuchen, wäre bei erneuter Visualisierung eine Fixation des CI's mit Knochenzement notwendig, um eine Wanderung des CI's auszuschließen.

Obwohl alle Implantate in der Cochlea identifiziert werden konnten, fiel bei einer Kombination mit einem weiteren CI eine genaue Abgrenzung vom umliegenden Knochengewebe zum Teil schwer. Eine Erhöhung der BaSO₄ Konzentration könnte die Visualisierung verbessern, jedoch sollte dadurch die Flexibilität der Implantate nicht beeinträchtigt werden.

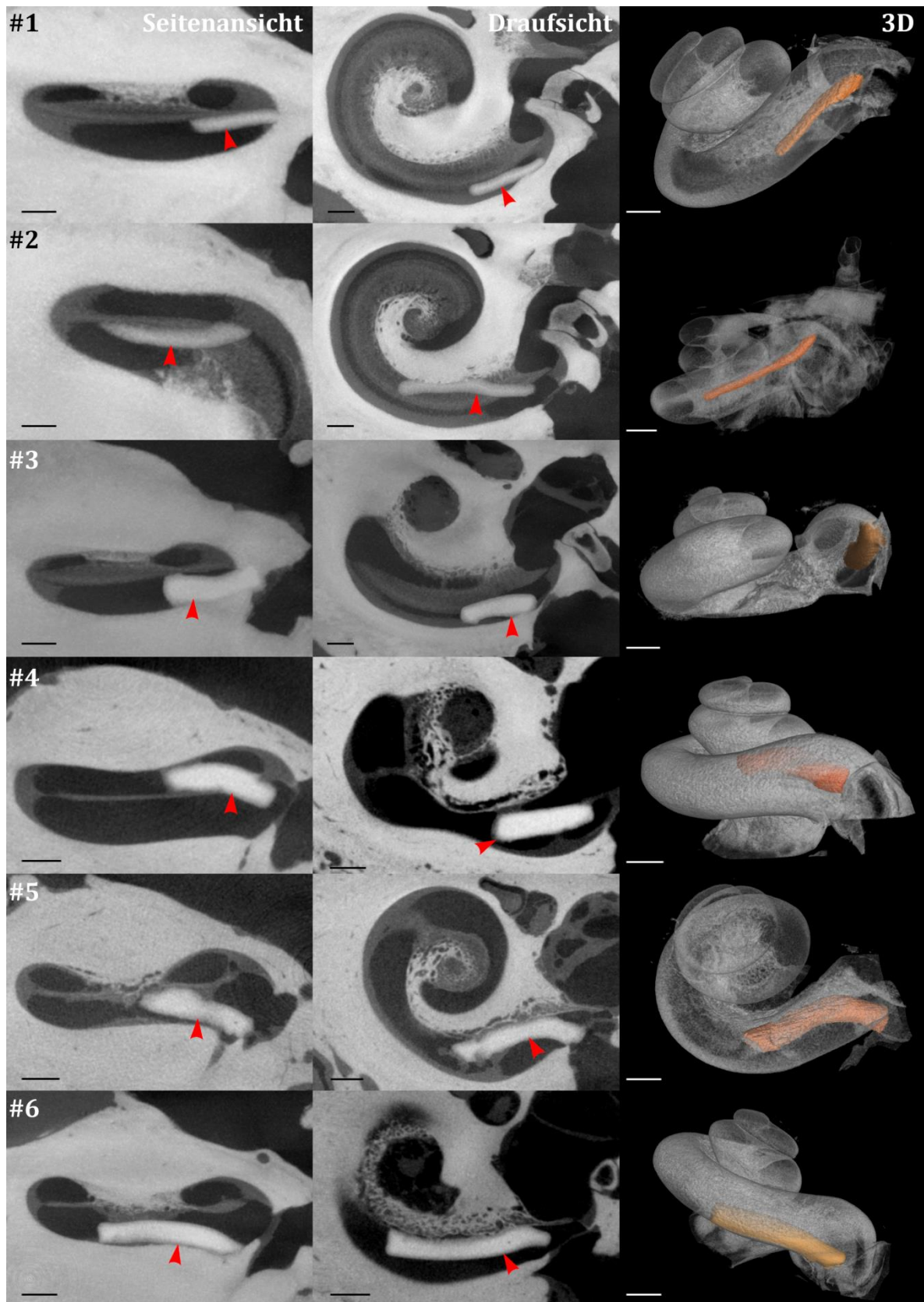


Abbildung 14: Seitenansicht, Draufsicht und 3D Rekonstruktionen von Formulierung D verschiedener Dimensionen (roter Pfeil; orange in 3D). #1: 0,3 mm x 3 mm; #2: 0,3 mm x 5 mm; #3 und #4: 0,6 mm x 3 mm; #5 und #6: 0,6 mm x 5 mm. Maßstabsleiste entspricht 1 mm. Modifiziert nach [72].

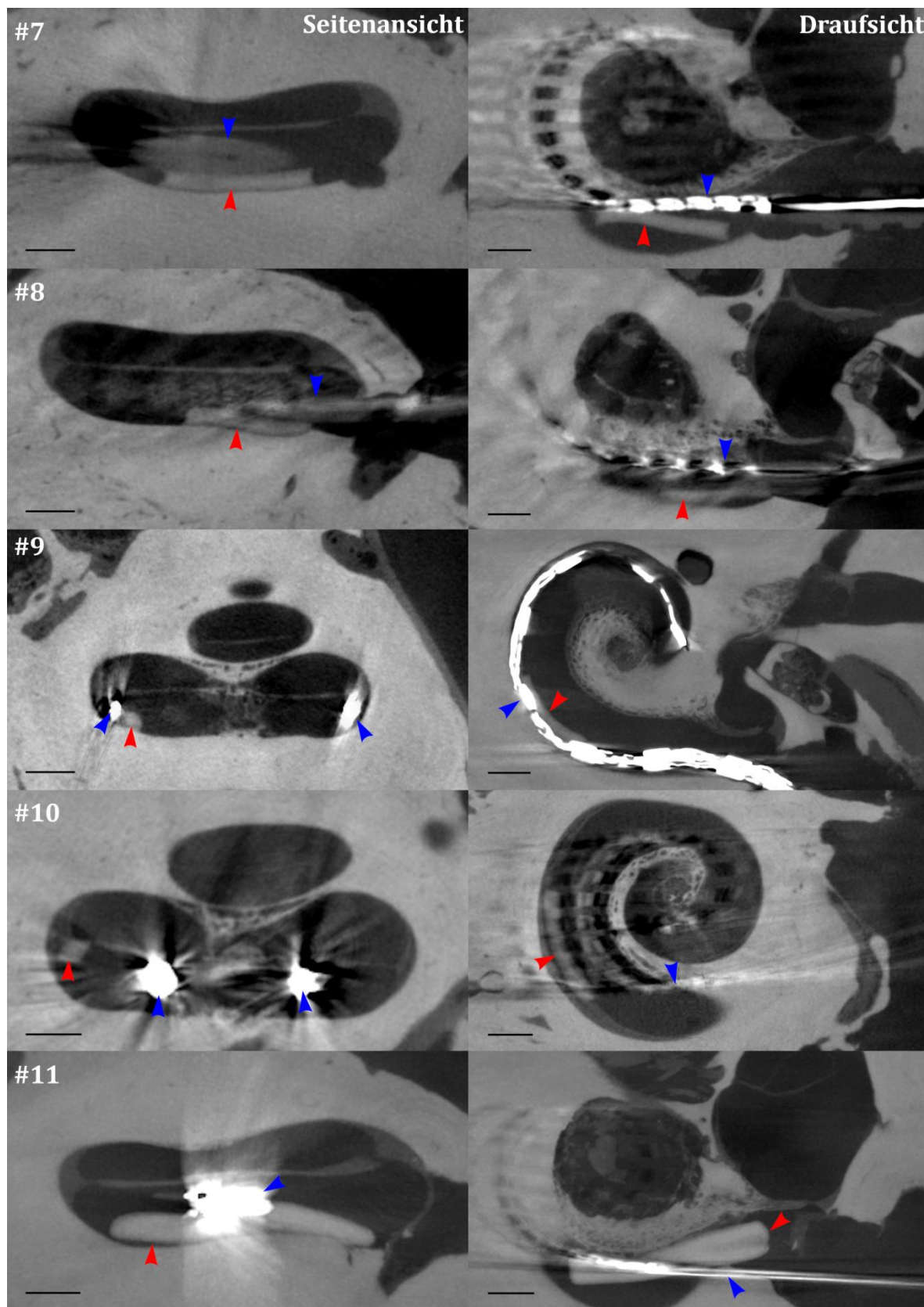


Abbildung 15: Seitenansicht, Draufsicht und 3D Rekonstruktionen von Formulierung D der Größe 0,3 mm x 3 mm (#7-10) oder 0,6 mm x 5 mm (#11) (roter Pfeil) und diversen CI's (blauer Pfeil). #7: Cochlear Contour Advance; #8: Advanced Bionics HiFocus Mid-Scala; #9: MED-EL FLEXSOFT; #10 und #11: Cochlear Slim Modiolar. Maßstabsleiste entspricht 1 mm. Modifiziert nach [72].

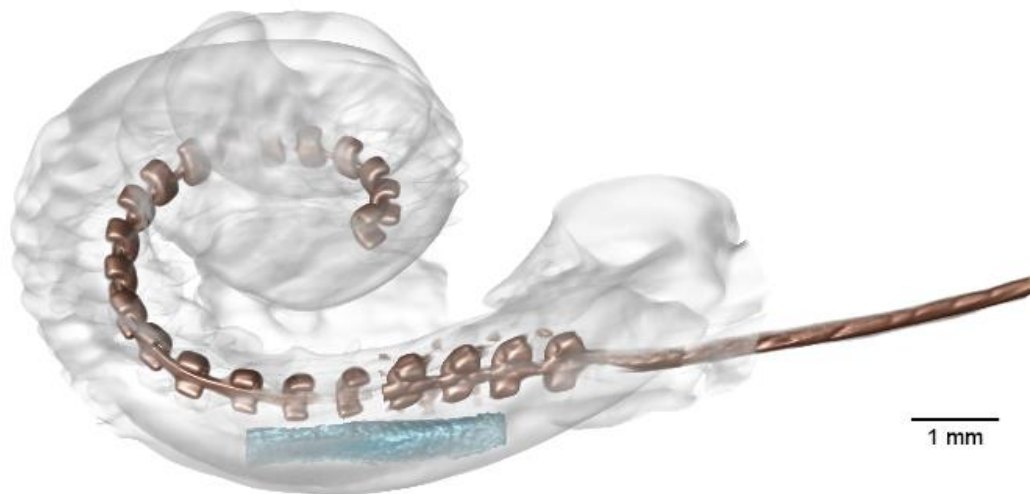


Abbildung 16: 3D-Rekonstruktion der Cochlea #7 zur Visualisierung eines $0,3\text{ mm} \times 3\text{ mm}$ Implantats von Formulierung D (hellblau) und einer Cochlear Contour Advance-Elektrode (braun). Aus [72].

Die oben genannten Fragestellungen konnten in dieser Studie beantwortet werden. Erstmals konnte die allgemeine Eignung einer gleichzeitigen Verabreichung von biologisch abbaubaren DDSs mit unterschiedlichen CI's gezeigt werden. Die verschiedenen Implantate eigneten sich allesamt zur intracochleären Applikation und blieben währenddessen intakt. Dennoch sollte der Durchmesser von den Implantaten in zukünftigen Studien auf $300\text{ }\mu\text{m}$ beschränkt werden. Sowohl histologische Untersuchungen als auch *in vivo* Studien sind erforderlich, um eine exakte Auskunft über den Grad der Beschädigung zu erhalten. Informationen über die Quellung und den Abbau der Implantate könnten wiederholte Messungen zu diversen Zeitpunkten liefern, solange die Implantate noch ausreichend detektiert werden können. Hierbei muss allerdings über einen Austausch von BaSO_4 zu einem anderen Kontrastmittel nachgedacht werden. Bariumionen sind toxisch und verursachen selbst nach peroraler Aufnahme einen schweren Hörverlust [91]. Ethiodiertes Öl (Lipiodol® Ultra-Fluid [92]) könnte bei besserer Verträglichkeit gleichartig hochwertige Ergebnisse liefern [93].

Die gewonnenen Erkenntnisse legen die Möglichkeit einer flexiblen medikamentösen Therapie unabhängig vom verwendeten CI dar. CI's, bei denen der Wirkstoff in das Material inkorporiert ist, können nicht flexibel untereinander ausgetauscht werden. Deswegen könnte eine unabhängige Kombination von DDS und Medizinprodukt zur personalisierten Medizin in der Hörrehabilitation beitragen.

Die Herstellung und Charakterisierung des DDSs zur intratympanalen Applikation wird in Publikation III beschrieben. Im Gegensatz zu den zylinderförmigen intracochleären Implantaten muss das DDS annähernd die Dimensionen der runden Fenstermembran besitzen. Hierfür stellen flache Scheibchen die optimale Geometrie dar. Durch ein modifiziertes Filmgussverfahren mit anschließender Vakuumtrocknung konnten Polymerscheibchen (Round Window Disks; RWDs) mit 10 % DEX hergestellt werden. Die Schichtdicke der RWDs wurde durch Variation des Acetongehalts auf 0,2 mm eingestellt. Eine Erhöhung des DEX-Gehalts war bei diesem DDS ebenfalls nicht möglich. DEX rekristallisierte durch das Verdunsten von Aceton an der Oberfläche der Polymerfilme während der Trocknung. Auch der Versuch Aceton durch Dichlormethan zu ersetzen, konnte zu keiner Erhöhung des Wirkstoffgehalts führen.

Die optimale Trocknungszeit wurde durch TGA und DSC ermittelt (Abbildung 17). Nach 14-tägiger Trocknung konnte der Acetongehalt auf 1,8 % und der Wassergehalt auf 0,4 % gesenkt werden. Kleinere Mengen Aceton werden zumindest nach dermalen Applikation gut vertragen [94]. Zelltoxizitätsstudien an House Ear Institute-Organ of Corti 1 (HEI-OC1) Zellen, die aus dem Hörorgan einer transgenen Maus abgeleitet sind, könnten Aufschluss über die potentielle schädliche Wirkung des restlichen Acetons in den RWDs geben. Aufgrund der guten Mischbarkeit mit Wasser und einer dementsprechend schnellen Verdünnung sollten die negativen Effekte gering ausfallen. Die Reduktion von gebundenen Wasser bewirkt eine Verlangsamung des Polymerabbaus während der Lagerung [95,96]. Wasser wird benötigt um die Polymerketten an den Esterfunktionen zu spalten. Eine zusätzliche Abnahme der Menge flüchtiger Bestandteile konnte durch Verlängerung der Trocknungszeit nicht beobachtet werden.

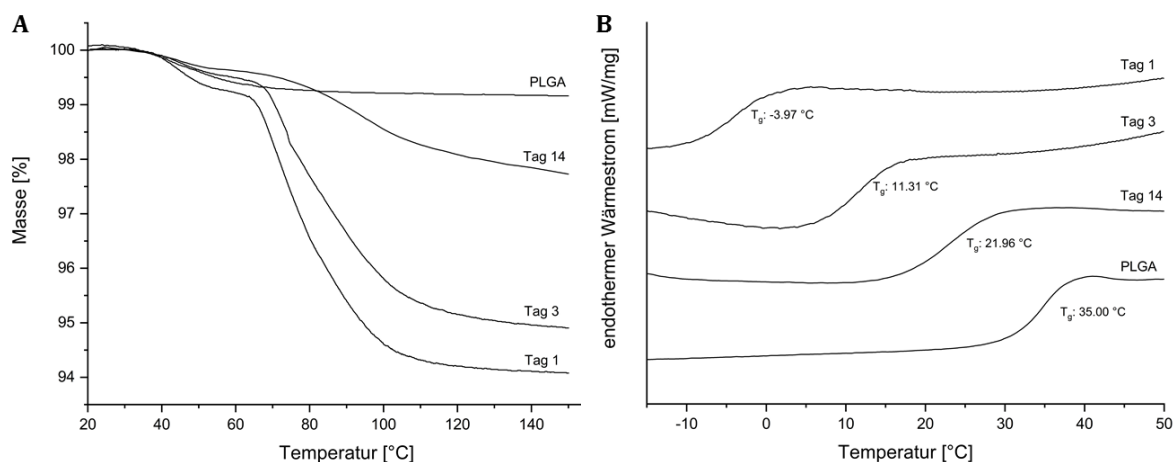


Abbildung 17: TGA (A) und DSC (B) Kurven zu verschiedenen Zeitpunkten der Vakuumtrocknung. Modifiziert nach [73].

Darüber hinaus hatte das verbleibende Lösungsmittel in den Polymerfilmen einen starken Einfluss auf die T_g . Mit fortschreitender Trocknungszeit stieg die T_g deutlich an. Dies spielte beim Stanzprozess eine wichtige Rolle, um RWDs aus dem Polymerfilm zu gewinnen, weil für eine optimale Verarbeitung die T_g im Bereich der Raumtemperatur liegen sollte. Lag die T_g unterhalb der Raumtemperatur, schien der Polymerfilm zu weich und klebte am Stanzwerkzeug. Wenn sich andererseits die T_g oberhalb der Raumtemperatur befand, hatte der Polymerfilm harte und spröde Eigenschaften, so dass er beim Stanzvorgang zerbrach. Denkbar wäre eine zusätzliche Vakuumtrocknung nach dem Stanzvorgang mit leicht erhöhter Temperatur. Das Temperaturprogramm muss allerdings sorgfältig kontrolliert werden, um eine thermische Verformung der RWDs zu vermeiden.

Im Anschluss an die Trocknung wurden aus dem Polymerfilm RWDs mit folgenden Eigenschaften ausgestanzt.

- Durchmesser: 800 μm
- Schichtdicke: 200 μm
- Masse: 130 μg

Mikroskopische Aufnahmen mit Polarisationsfilter belegten die homogene Verteilung von DEX in den RWDs (Abbildung 18A). DEX-Kristalle mit Partikelgrößen im Bereich von 2 bis 10 μm konnten mit einer 500-fachen Vergrößerung identifiziert werden (Abbildung 18B) und liegen somit, wie der Ausgangsstoff, im mikronisierten Bereich. Herstellungsbedingt wäre eine Vergrößerung der Partikelgröße durchaus möglich gewesen. Durch die Verwendung von Aceton als Lösungsmittel für PLGA könnte auch DEX gelöst werden, welches beim Verdunsten des Acetons zu größeren Kristallen rekristallisiert. Eine mögliche polymorphe Umwandlung wurde durch Röntgenpulverdiffraktometrie ausgeschlossen. In Abbildung 18C zeigten die REM Aufnahmen eine glatte Oberfläche mit abgerundeten Stanzkanten. Allerdings wurden teilweise Fragmentierungen an den Stanzkanten beobachtet. Trotz Temperierung des Stanzwerkzeugs konnten diese Fragmentierungen nicht umgangen werden. Mit Hilfe des Laser-Präzisionsschneidens könnten diese vollends vermieden werden. Für den Labormaßstab stellt das Verfahren jedoch keine Option dar.

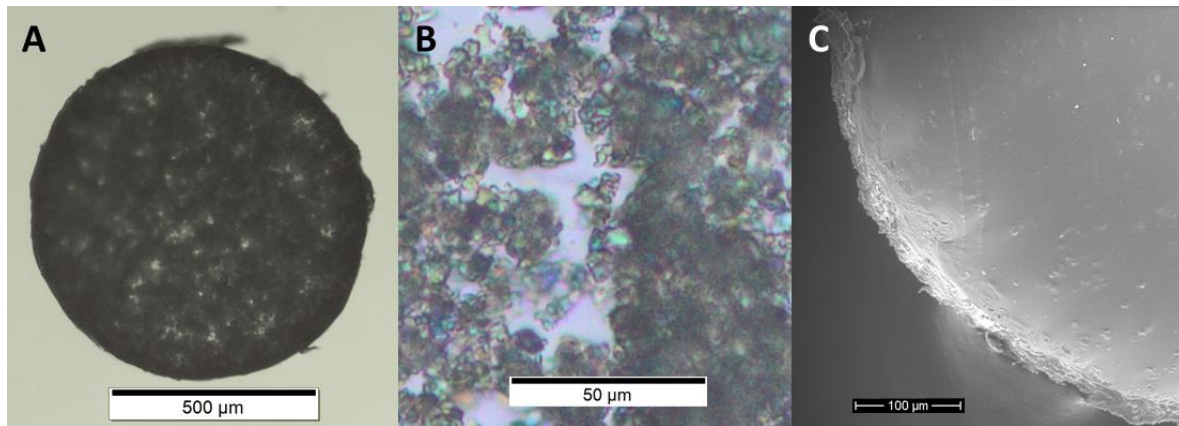


Abbildung 18: A) Mikroskopische Aufnahme der RWD mit einem Durchmesser von 800 μm . (B) Vergrößerter Bereich der RWD mit angehäuften DEX-Kristallen (ca. 5 μm). (C) REM Aufnahme der homogenen Oberfläche und Kanten. Aus [73].

Für weiterführende *in vivo* Studien müssen die RWDs einen Sterilisationsprozess durchlaufen. Aufgrund der thermolabilen Eigenschaften der biologisch abbaubaren Polymere ist die Strahlensterilisation im Moment die wichtigste Methode, mit der auf dem Arzneimittelmarkt befindliche Implantate und Mikropartikel behandelt werden [97]. Bedingt durch die hohe Strahlendosis (25 kGy) werden oft Veränderungen der molaren Masse beobachtet [98,99]. Die zahlenmittlere (M_n) und gewichtsmittlere (M_w) molare Masse sowie der PDI wurden mittels GPC untersucht. Die RWDs zeigten nur eine geringfügige Änderung der molaren Masse und des PDI bezogen auf das unverarbeitete Polymer (Abbildung 19). Diese Erkenntnisse bestätigen die Ergebnisse aus der Dissertation von Frau Pfeifer. Frau Pfeifer beschrieb eine starke Reduktion der molaren Masse bei langkettigen PLGA, wohingegen die molare Masse bei kurzketziges PLGA unverändert blieb [100]. RWDs aus PLGA mit einer molaren Masse von circa 10 kDa können demnach bedenkenlos sterilisiert werden. Hingegen muss ein Austausch zu langkettigen PLGA sorgfältig durchdacht werden, damit RWDs nach der Sterilisation eine gleichbleibend gute Qualität aufweisen.

Der *in vitro* Abbau der RWDs ist in Abbildung 20 dargestellt. Die Massenabnahme beschreibt den Erosionsvorgang, der durch eine physikalische Entfernung von wasserlöslichen Mono- und Oligomeren definiert ist. Hingegen bezeichnet die Degradation den Polymerabbau durch eine hydrolytische Spaltung der Esterbindung, veranschaulicht durch die Abnahme der molaren Masse [101]. Eine Wasserpenetration in die RWDs ist für beide Prozesse unbedingt erforderlich.

Die RWDs zeigten innerhalb der ersten sieben Tage nur eine geringe Massenreduktion. Auffallend war eine anfängliche starke Verringerung der molaren Masse, obwohl die RWDs in dieser Zeit nur wenig Wasser aufgenommen hatten. Die resultierenden kürzeren

Polymerketten führten zu einer höheren Hydrophilie des Systems und forcierten eine weitere Wasserabsorption. Nach 21 Tagen musste die Charakterisierung des Abbaus beendet werden, weil die RWDs bei minimalem Kontakt in etliche Teile zerbrachen. Prinzipiell können die Ergebnisse dieser Abbaustudie auch auf die Implantate bezogen werden. Die Degradation könnte jedoch langsamer vonstattengehen, weil durch den Einbau von PEG saure Abbauprodukte schneller aus den Implantaten in das umgebende Medium diffundieren können und somit die säurebedingte autokatalytische Hydrolyse des Polymers verlangsamt wird.

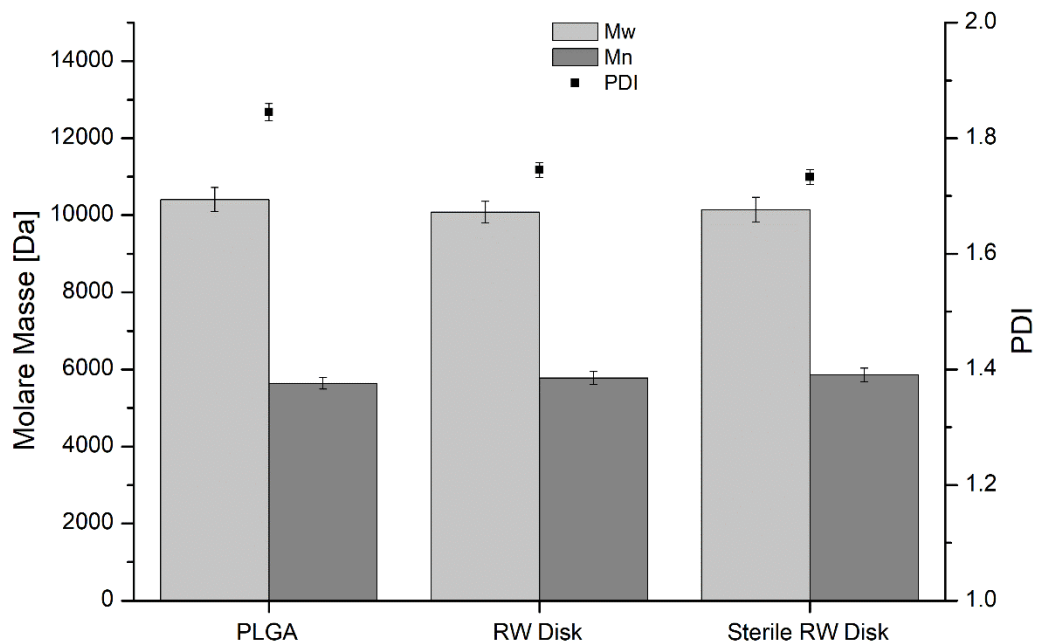


Abbildung 19: GPC Analysen zeigen den Einfluss der Herstellung und Sterilisation der RWDs auf die molare Masse und den PDI des Polymers. Modifiziert aus [73].

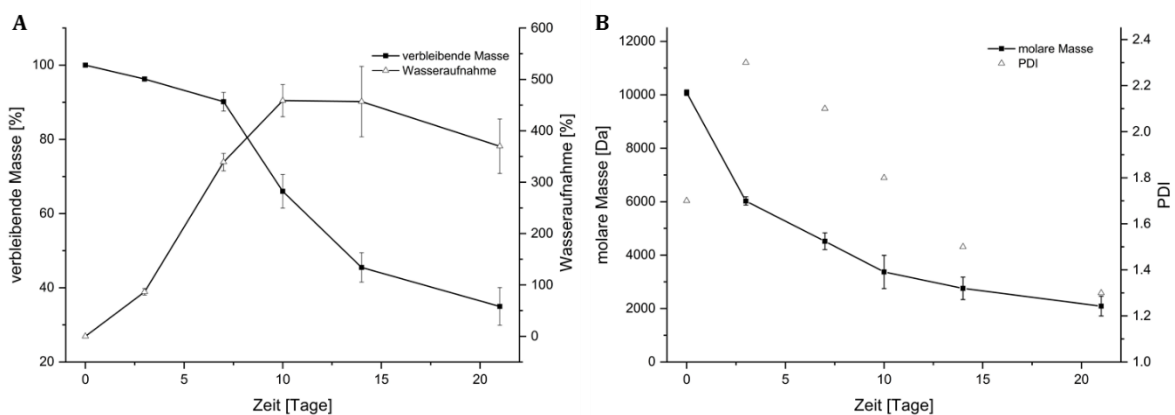


Abbildung 20: Fortschritt des Massenverlusts und der Wasseraufnahme von RWDs (A) in Korrelation mit dem Abbau der molaren Masse und der Veränderung des PDI (B) während 21-tägiger Inkubation in PBS. Modifiziert aus [73].

Die *in vitro* Freisetzung von DEX aus den RWDs wurde durch Benutzung eines Rundfenstermembran-Modells gemessen. Unabhängig vom Sterilisationsvorgang zeigen die RWDs eine kontrollierte Freisetzung über fast 50 Tage (Abbildung 21). Daraus lässt sich vermuten, dass der Sterilisationsprozess für die intracochleären Implantate ebenfalls geeignet ist. Gleich den intracochleären Implantaten liegen die Wirkstoffkonzentrationen stets im therapeutischen Bereich [83,102,103]. Die Vermutung, dass die Wirkstofffreisetzung aus PLGA vom Typ EXPANSORB® DLG 50-2A ohne Zusatz von Freisetzungsbeschleunigern annähernd eine Kinetik 0. Ordnung zeigt, wurde bestätigt. Eine membrankontrollierte Freisetzung konnte, durch Bestimmung des Zeitpunktes bis sich ein Konzentrationsausgleich eingestellt hatte, ausgeschlossen werden. Eine unerwünschte Adsorption von DEX an der Membran konnte durch dieses Experiment nicht nachgewiesen werden.

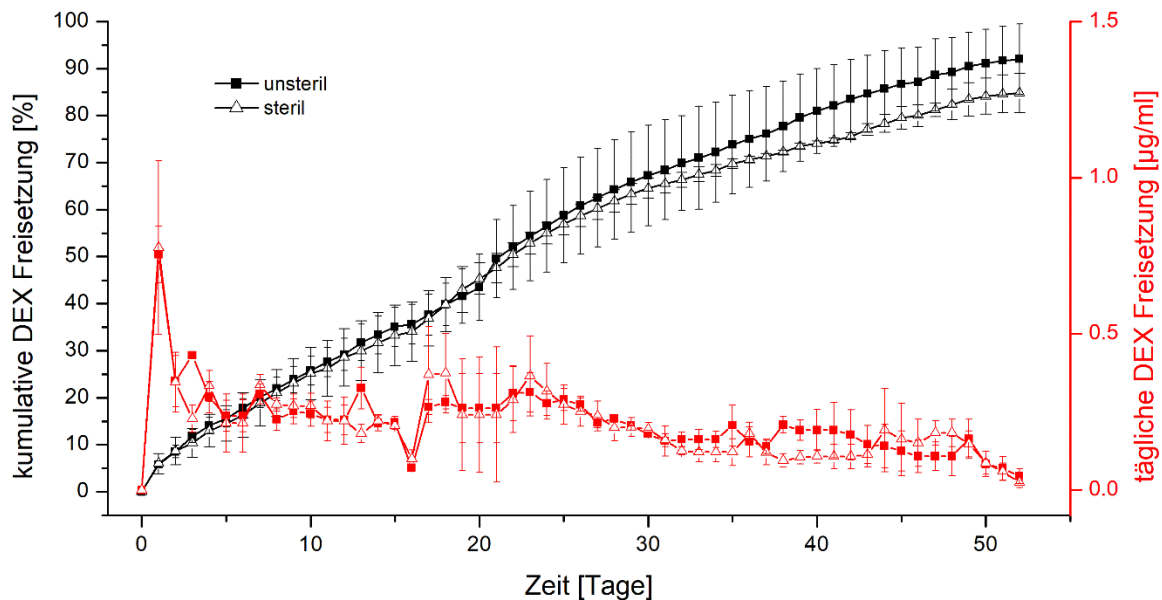


Abbildung 21: Kumulative (schwarz) und tägliche Freisetzung (rot) von DEX aus unsterilen (Quadrate) und sterilen (Dreiecke) RWDs in PBS. Modifiziert nach [73].

Das verwendete *in vitro* Freisetzungsmodell liefert jedoch nur begrenzte Vorhersagen über die tatsächlich erhaltenen *in vivo* Wirkstoffkonzentrationen in der Perilymphe. Die Polyethylenterephthalatmembran ist nicht annähernd so komplex wie die native runde Fenstermembran. Auch das Volumenverhältnis zwischen Perilymphe und PBS muss kritisch betrachtet werden. Durch ein vermindertes Flüssigkeitsvolumen *in vivo* sind die Freisetzungsvorgänge deutlich verlangsamt.

Die Implantation einer RWD auf das runde Fenster einer Meerschweinchen-Cochlea wurde *ex vivo* getestet. Die RWD konnte mit Hilfe einer otologischen Wollstein Nadel unversehrt appliziert und positioniert werden (Abbildung 22). Der Flüssigkeitsfilm zwischen der RWD und

der runden Fenstermembran sorgte für eine Fixierung. Ob diese ausreichend für den Zeitraum der Wirkstofffreisetzung ist, muss in einem Tierexperiment überprüft werden. Fibrinkleber oder polymerbasierte Klebstoffe könnten die Anhaftung unterstützen und, insbesondere bei einer abbaubedingten Fragmentierung der RWDs, verlängern.

Tendenziell besteht die Möglichkeit die Größe der RWDs für den humanen Gebrauch zu vergrößern. Eine Anpassung an die ovale Form der runden Fenstermembran könnte durch passendes Stanzwerkzeug ermöglicht werden. Eine große Variabilität der Dimensionen der runden Fenstermembran [20] und eine mögliche Quellung der RWD müssen jedoch berücksichtigt werden [79].

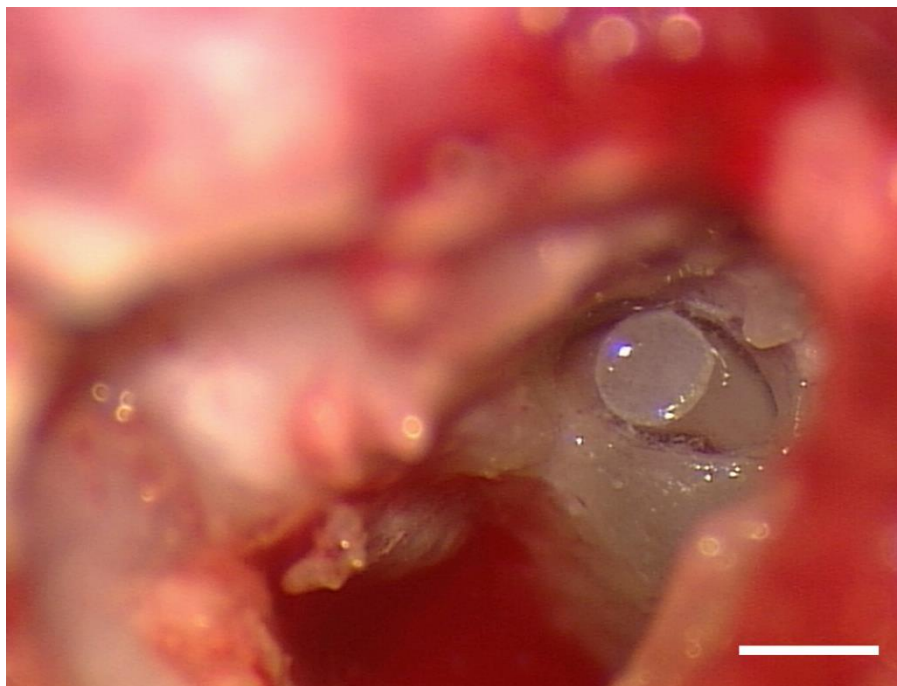


Abbildung 22: RWD (Durchmesser $800\ \mu\text{m}$) appliziert auf die runde Fenstermembran eines Meerschweinchens. Maßstabsleiste entspricht 1 mm. Modifiziert nach [73].

4 ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK

Die Entwicklung von biokompatiblen DDSs zur lokalen Therapie am Innenohr erfordert eine detaillierte Untersuchung um die pharmazeutische Sicherheit, insbesondere Qualität, Wirksamkeit und Unbedenklichkeit zu gewährleisten. Im Rahmen der vorliegenden Dissertation wurden zwei neuartige DDSs, Implantate zur intracochleären und Scheibchen zur runden Fenster Applikation, entwickelt und umfangreich charakterisiert. Neben physikochemischen Parametern und *in vitro* Studien ist eine Implantation am Zielorgan unumgänglich, um Aussagen über die Handhabung, Applikation und Stabilität der potenziellen DDSs treffen zu können.

Im Folgenden werden die wichtigsten Ergebnisse der für die Dissertation relevanten Publikationen zusammengefasst.

1. Im Fokus der Publikation I stand die Herstellung und Charakterisierung der Implantate zur intracochleären Applikation. Als Polymermatrix wurde PLGA ausgewählt, welches mit DEX (10 %) und verschiedenen PEG-Massenverhältnissen gemischt wurde. Mit Hilfe der Schmelzextrusion wurden Extrudate mit einem sehr geringen Durchmesser von circa 300 µm hergestellt, die mit einem Skalpell zu patientenindividuellen Implantaten auf die gewünschte Länge gekürzt werden können. Die Verwendung von PEG als zusätzlichen Hilfsstoff erwies sich in zweierlei Hinsicht als vorteilhaft.
 - 1) PEG fungierte als äußerer Weichmacher und verbesserte somit die mechanischen Eigenschaften. Die geforderte Flexibilität für eine intracochleäre Verabreichung konnte durch DSC und Texturanalyse nachgewiesen werden. In der folgenden Implantationsstudie am Meerschweinchen bestätigte sich die angestrebte Flexibilität durch die erfolgreiche Verabreichung eines BaSO₄-beladenen Implantats der Größe 0,3 mm x 3 mm.
 - 2) Zusätzlich beschleunigte PEG die Wirkstofffreisetzung, sodass eine unerwünschte initiale Verzögerungsphase ausblieb. Eine Simulation der Pharmakokinetik im menschlichen Innenohr kalkulierte einen konstanten Wirkstoffspiegel in der Perilymphe, der innerhalb weniger Stunden erreicht wird und über mehrere Wochen anhält.

2. Nach erfolgreicher Einsetzung eines 0,3 x 3 mm Implantats in die Cochlea eines Meerschweinchens, stand in der zweiten Publikation eine *postmortale* Applikation am Menschen im Mittelpunkt. Zu Beginn dieser Studie wurde mit einer CT die Sichtbarkeit von BaSO₄-beladenen Implantaten über 28 Tage untersucht, um den optimalen Zeitpunkt einer Mikro-CT Visualisierung nach erfolgter Implantation am Menschen zu bestimmen. Innerhalb der ersten drei Tage war der Röntgenkontrast der Implantate deutlich stärker als die literarisch angegebenen Werte für die knöchernen Areale der Cochlea.

Für die folgenden Implantationen wurden vier verschiedene Dimensionen der Implantate ausgewählt, um zu klären, ob eine Beschädigung der ST beobachtet werden kann, wenn der Durchmesser der Implantate von 300 µm auf 600 µm erhöht wird. Zusätzlich wurde die Länge von 3 auf 5 mm erhöht, um festzustellen, ob die Implantate bereits die Windung der Cochlea erreichten. Implantate aller getesteten Dimensionen konnten erfolgreich ohne Fragmentierung in die ST des menschlichen Innenohrs appliziert werden. Implantate mit einem Durchmesser von 600 µm hatten jedoch ein erhöhtes Risiko, die Basilarmembran zu beschädigen. Daher sollte der Durchmesser von Implantaten in zukünftigen Studien auf 300 µm beschränkt werden. Obwohl bei der Mikro-CT-Bildgebung für die längeren Implantate keine Anzeichen einer Schädigung der Cochlea-Strukturen festgestellt wurden, muss die Länge möglicherweise auf 3 mm beschränkt werden, um mechanischen Stress auf die Außenwand der Windung zu vermeiden.

Ein weiterer Schwerpunkt dieser Publikation war die erstmalige Kombination der hergestellten Implantate mit verschiedenen medizinisch eingesetzten CIs. Mikro-CT Aufnahmen zeigten ausreichend Raum in der ST für eine zusätzliche Implantation aller Implantatdimensionen trotz bereits eingesetzten CI. In diesem Fall müssen keine Restriktionen der Implantatgröße in Betracht gezogen werden, weil das Einsetzen eines CIs bereits starke Irritationen durch mechanischen Stress im Innenohr hervorruft.

Die Erkenntnisse dieser Publikation zeigen die Möglichkeit für eine flexible medikamentöse Therapie unabhängig vom verwendeten CI auf, sodass diese Art der Arzneimittel-Medizinprodukte-Kombinationstherapie zur personalisierten Medizin in der Hörrehabilitation beitragen kann.

3. Die Herstellung und Charakterisierung eines weiteren PLGA-basierten DDSs zur lokalen Behandlung des Innenohrs war das Ziel von Publikation III. Für eine extracochleäre Applikation musste die Geometrie des DDSs an das runde Fenster des Innenohrs angepasst werden. Mittels eines Filmgussverfahrens mit Aceton und darauffolgender Ausstanzung konnten Polymerscheibchen mit einem Durchmesser von 800 μm und einer Höhe von 200 μm hergestellt werden. Wie in Publikation I beschrieben, wurde eine Beladung von 10 % DEX gewählt. Der Lösungsmittelgehalt konnte durch eine 14-tägige Trocknung unter Vakuum auf ein Minimum reduziert werden. Die Polymerscheibchen zeigten eine starke Wasseraufnahme innerhalb weniger Tage, was zu einem schnellen Massen- und Molmassenabbau führte. *In vitro* Freisetzungstudien belegten eine konstante Wirkstofffreisetzung ohne anfängliche Verzögerungszeit über einen Zeitraum von 52 Tagen, insbesondere ohne Zugabe von weiteren Hilfsstoffen, wie zum Beispiel PEG als Freisetzungsbeschleuniger. Darüber hinaus wurde gezeigt, dass die Bestrahlung mit Elektronenstrahlen ein geeignetes Verfahren für eine Sterilisation ist ohne die molare Masse und die Arzneimittelfreisetzung zu beeinflussen. Bei einer *ex vivo* Implantation auf das runde Fenster eines Meerschweinchens überzeugte das Polymerscheibchen durch leichte Handhabung und geeignete Dimensionen, was infolgedessen zu einem engen Oberflächenkontakt mit dem runden Fenster führte. Die entwickelten biologisch abbaubaren Polymerscheibchen könnten ein neues und vielversprechendes DDS sein, um über einen längeren Zeitraum eine lokale Wirkstoffabgabe an das Innenohr zu gewährleisten.

Anschließend lässt sich sagen, dass im Rahmen der vorliegenden Arbeit zwei äußerst vielversprechende biologisch abbaubare DDSs entwickelt und charakterisiert wurden. Eine Beladung von 10 % DEX zeigt in beiden Freisetzungsexperimenten therapeutisch aussichtsreiche Wirkstoffkonzentrationen im Innenohr. Des Weiteren erfüllten beide DDSs die Kriterien für eine gute Handhabung während der Implantation ohne Veränderung ihrer jeweiligen Form.

Als Ausblick sind nachfolgend verschiedene Themen aufgeführt, welche aufbauend auf dieser Dissertation untersucht werden können. Hierbei stehen die entwickelten intracochleären Extrudate im Vordergrund, die eine direkte Wirkstoffgabe in das Innenohr ermöglichen.

Um das *in vitro* gezeigte Freisetzungsverhalten zu bestätigen, müssen die Implantate *in vivo* im Meerschweinchen getestet werden. Ein bereits genehmigter Tierversuchsantrag soll demnächst realisiert werden. Hierbei soll die Dynamik in der Wirkstoffabgabe der Implantate unter *in vivo* Bedingungen, sowie die damit verbundene Pharmakokinetik des abgegebenen DEX in der Perilymphe geklärt werden. Es sind histologische Aufarbeitungen der Cochlea zur Beurteilung der Auflösung des DDS und zum Ausschluss einer schädigenden Wirkung durch die Bestandteile des Implantats sowie durch die Implantation geplant. Zusätzlich soll das Hörvermögen vor und nach Abschluss der Wirkstoffapplikationsphase getestet werden. Eine lokale Messung des pH-Wertes scheint aufgrund der sauren Abbauprodukte von PLGA sinnvoll. SNARF-4 als pH-sensitiver Fluoreszenzfarbstoff könnte sich für quantitative Bestimmungen des pH-Werts eignen [105].

Des Weiteren sollten andere Wirkstoffklassen in Betracht gezogen werden. Kürzlich veröffentlichte Studien zeigen vielversprechende Ergebnisse mit dem sekundären Pflanzenstoff Artemisinin aus Blättern und Blüten des Einjährigen Beifußes gegen Gentamicin induzierten Hörverlust [106]. Eine weitere interessante Wirkstoffklasse sind Proteinwirkstoffe, die jedoch thermisch und mechanisch labil sind. Die Herstellung der Extrudate mittels Schmelzextrusion könnte sich als besonders herausfordernd erweisen. Nichtsdestotrotz wurden Proteine wie Neurotrophin 3 und der Wachstumsfaktor BDNF bereits als effektive Wirkstoffkandidaten beschrieben, die eine Regeneration der Haarzellen anregen [107,108].

Die Veränderung der Polymermatrix stellt einen weiteren interessanten Forschungspunkt dar. Um eine invasive Implantation des Extrudates ohne Einsetzung eines CIs zu rechtfertigen, sollte eine verlängerte Dauer der Wirkstoffabgabe über mindestens sechs oder zwölf Monate in Erwägung gezogen werden. Hierfür würden sich insbesondere biologisch abbaubare Matrices aus PEG-PLGA Copolymeren oder diversen Phospholipiden eignen.

5 LITERATURVERZEICHNIS

- [1] WHO, Deafness and hearing loss, (n.d.). <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/deafness-and-hearing-loss> (accessed November 18, 2020).
- [2] P. von Gablenz, E. Hoffmann, I. Holube, Prävalenz von Schwerhörigkeit in Nord- und Süddeutschland, *HNO*. 65 (2017) 663–670. <https://doi.org/10.1007/s00106-016-0314-8>.
- [3] B. Vohr, Overview: Infants and children with hearing loss - Part I, *Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev.* 9 (2003) 62–64. <https://doi.org/10.1002/mrdd.10070>.
- [4] B. Cone-Wesson, B.R. Vohr, Y.S. Sininger, J.E. Widen, R.C. Folsom, M.P. Gorga, S.J. Norton, Identification of Neonatal Hearing Impairment: Infants with hearing loss, *Ear Hear.* 21 (2000) 488–507. <https://doi.org/10.1097/00003446-200010000-00012>.
- [5] M.A. Kenna, Acquired Hearing Loss in Children, *Otolaryngol. Clin. North Am.* 48 (2015) 933–953. <https://doi.org/10.1016/j.otc.2015.07.011>.
- [6] J.S. ern Yong, D.Y. Wang, Impact of noise on hearing in the military, *Mil. Med. Res.* 2 (2015) 6. <https://doi.org/10.1186/s40779-015-0034-5>.
- [7] K. Bijsterveld, Listening to machines: Industrial noise, hearing loss and the cultural meaning of sound, *Interdiscip. Sci. Rev.* 31 (2006) 323–337. <https://doi.org/10.1179/030801806X103370>.
- [8] I.I. Bogoch, R.A. House, I. Kudla, Perceptions about hearing protection and noise-induced hearing loss of attendees of rock concerts, *Can. J. Public Heal.* 96 (2005) 69–72. <https://doi.org/10.1007/bf03404022>.
- [9] H.D. Humes, Insights Into Ototoxicity Analogies to Ne phrotoxicity, n.d. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1999.tb00278.x>.
- [10] P.W. Johnston, Factors associated with deafness in young children., *Public Health Rep.* 82 (1967) 1019–1024. <https://doi.org/10.2307/4593184>.
- [11] L. Lucas, R. Katiri, P.T. Kitterick, The psychological and social consequences of single-sided deafness in adulthood, *Int. J. Audiol.* 57 (2018) 21–30. <https://doi.org/10.1080/14992027.2017.1398420>.
- [12] S.F. Erler, D.C. Garstecki, Hearing loss- and hearing aid-related stigma: Perceptions of women with age-normal hearing, *Am. J. Audiol.* 11 (2002) 83–91. [https://doi.org/10.1044/1059-0889\(2002/020\)](https://doi.org/10.1044/1059-0889(2002/020)).
- [13] D. David, P. Werner, Stigma regarding hearing loss and hearing aids: A scoping review., *Stigma Heal.* 1 (2016) 59–71. <https://doi.org/10.1037/sah0000022>.
- [14] S. Hoth, Audiometry, in: *Springer Handb. Med. Technol.*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2011: pp. 191–244. https://doi.org/10.1007/978-3-540-74658-4_12.
- [15] P. Dallos, A.N. Popper, Fay, Richard R., *The Cochlea*, 1996. <https://books.google.de/books?hl=de&lr=&id=2Z3eBwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP10&dq=anatom+y+cochlea&ots=wK0Yk83Gcd&sig=il5Sp6su4GPKFFtuwXvanItcJKk#v=onepage&q=anatomy>.
- [16] Y. Shinomori, D.S. Spack, D.D. Jones, R.S. Kimura, Volumetric and dimensional analysis of the guinea pig inner ear, *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* 110 (2001) 91–98. <https://doi.org/10.1177/000348940111000117>.

- [17] M. Igarashi, K. Ohashi, M. Ishii, Morphometric Comparison of Endolymphatic and Perilymphatic Spaces in Human Temporal Bones, *Acta Otolaryngol.* 101 (1986) 161–164. <https://doi.org/10.3109/00016488609132823>.
- [18] R. Klinke, Physiologie des Gleichgewichtssinnes, des Hörens und des Sprechens, in: *Einführung Die Physiol. Des Menschen*, Springer Berlin Heidelberg, 1976: pp. 263–287. https://doi.org/10.1007/978-3-662-00530-9_13.
- [19] M. li Duan, C. Zhi-qiang, Permeability of round window membrane and its role for drug delivery: our own findings and literature review, *J. Otol.* 4 (2009) 34–43. [https://doi.org/10.1016/S1672-2930\(09\)50006-2](https://doi.org/10.1016/S1672-2930(09)50006-2).
- [20] F. Atturo, M. Barbara, H. Rask-Andersen, Is the Human Round Window Really Round? An Anatomic Study With Surgical Implications, *Otol. Neurotol.* 35 (2014) 1354–1360. <https://doi.org/10.1097/MAO.0000000000000332>.
- [21] A.F. Ghiz, A.N. Salt, J.E. DeMott, M.M. Henson, O.W. Henson, S.L. Gewalt, Quantitative anatomy of the round window and cochlear aqueduct in guinea pigs, *Hear. Res.* 162 (2001) 105–112. [https://doi.org/10.1016/S0378-5955\(01\)00375-6](https://doi.org/10.1016/S0378-5955(01)00375-6).
- [22] K.S. Alzamil, F.H. Linthicum, Extraneous round window membranes and plugs: Possible effect on intratympanic therapy, *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* 109 (2000) 30–32. <https://doi.org/10.1177/000348940010900105>.
- [23] J. Devare, S. Gubbels, Y. Raphael, Outlook and future of inner ear therapy, *Hear. Res.* 368 (2018) 127–135. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2018.05.009>.
- [24] Y. Li, S. Kanzaki, S. Shibata, M. Nakamura, M. Ozaki, H. Okano, K. Ogawa, Comparison of inner ear drug availability of combined treatment with systemic or local drug injections alone, *Neurosci. Res.* 155 (2020) 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2019.07.001>.
- [25] S.K. Plontke, A.N. Salt, Local drug delivery to the inner ear: Principles, practice, and future challenges, *Hear. Res.* 368 (2018) 1–2. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2018.06.018>.
- [26] S. Nyberg, N. Joan Abbott, X. Shi, P.S. Steyger, A. Dabdoub, Delivery of therapeutics to the inner ear: The challenge of the blood-labyrinth barrier, *Sci. Transl. Med.* 11 (2019) 935. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aa0935>.
- [27] S.K. Plontke, G. Götze, T. Rahne, A. Liebau, Intracochlear drug delivery in combination with cochlear implants: Current aspects, *HNO.* 65 (2017) 19–28. <https://doi.org/10.1007/s00106-016-0285-9>.
- [28] B. Szeto, H. Chiang, C. Valentini, M. Yu, J.W. Kysar, A.K. Lalwani, Inner ear delivery : Challenges and opportunities, *Laryngoscope Investig. Otolaryngol.* 5 (2020) 122–131. <https://doi.org/10.1002/lio2.336>.
- [29] J. Hao, S.K. Li, Inner ear drug delivery: Recent advances, challenges, and perspective, *Eur. J. Pharm. Sci.* 126 (2019) 82–92. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.05.020>.
- [30] A.K. Mirly, J.E. Brockett, Sudden Sensorineural Loss in Primary Care: An Often-Missed Diagnosis, *Physician Assist. Clin.* 3 (2018) 235–244. <https://doi.org/10.1016/j.cpha.2017.12.001>.
- [31] A.N. Salt, J.J. Hartsock, R.M. Gill, F. Piu, S.K. Plontke, Perilymph pharmacokinetics of markers and dexamethasone applied and sampled at the lateral semi-circular canal, *J. Assoc. Res. Otolaryngol.* 13 (2012) 771–783. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2015.06.023>. Gut-Liver.

- [32] S.K. Plontke, A.A. Mikulec, A.N. Salt, Rapid clearance of methylprednisolone after intratympanic application in humans. comment on: Bird pa, begg ej, zhang m, et al. intratympanic versus intravenous delivery of methylprednisolone to cochlear perilymph. *Otol Neurotol* 2007;28:1124-30, *Otol. Neurotol.* 29 (2008) 732–733. <https://doi.org/10.1097/MAO.0b013e318173fcea>.
- [33] K. Mäder, E. Lehner, A. Liebau, S.K. Plontke, Controlled drug release to the inner ear: Concepts, materials, mechanisms, and performance, Elsevier B.V., 2018. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2018.03.006>.
- [34] Otonomy fails phase 3, adding another twist to ear disease saga | FierceBiotech, (n.d.). <https://www.fiercebiotech.com/biotech/otonomy-fails-phase-3-adding-another-twist-to-ear-disease-saga> (accessed June 1, 2021).
- [35] E.M. Monsell, S.P. Cass, L.P. Rybak, J.M. Nedzelski, Chemical Treatment of the Labyrinth, in: *Otol. Surg.*, Elsevier Inc., 2010: pp. 493–505. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-4665-3.00041-X>.
- [36] H. Hahn, B. Kammerer, A. DiMauro, A.N. Salt, S.K. Plontke, Cochlear microdialysis for quantification of dexamethasone and fluorescein entry into scala tympani during round window administration, *Hear. Res.* 212 (2006) 236–244. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2005.12.001>.
- [37] L. Li, T. Chao, J. Brant, B. O'Malley, A. Tsourkas, D. Li, Advances in nano-based inner ear delivery systems for the treatment of sensorineural hearing loss, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 108 (2017) 2–12. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.01.004>.
- [38] M. V. Goycoolea, L. Lundman, Round window membrane. Structure function and permeability: A review, *Microsc. Res. Tech.* 36 (1997) 201–211. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0029\(19970201\)36:3<201::AID-JEMT8>3.0.CO;2-R](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0029(19970201)36:3<201::AID-JEMT8>3.0.CO;2-R).
- [39] H. Liu, S. Chen, Y. Zhou, X. Che, Z. Bao, S. Li, J. Xu, The effect of surface charge of glycerol monooleate-based nanoparticles on the round window membrane permeability and cochlear distribution, *J. Drug Target.* 21 (2013) 846–854. <https://doi.org/10.3109/1061186X.2013.829075>.
- [40] W. Li, J.J. Hartsock, C. Dai, A.N. Salt, Permeation enhancers for intratympanically-applied drugs studied using fluorescent dexamethasone as a marker, *Otol. Neurotol.* 39 (2018) 639–647. <https://doi.org/10.1097/MAO.0000000000001786>.
- [41] A. Aksit, S. Rastogi, M.L. Nadal, A.M. Parker, A.K. Lalwani, A.C. West, J.W. Kysar, Drug Delivery and Translational Research Drug delivery device for the inner ear: ultra-sharp fully metallic microneedles, *Drug Deliv. Transl. Res.* (2020). <https://doi.org/10.1007/s13346-020-00782-9>.
- [42] C.M. Kelso, H. Watanabe, J.M. Wazen, T. Bucher, Z.J. Qian, E.S. Olson, J.W. Kysar, A.K. Lalwani, Microperforations significantly enhance diffusion across round window membrane, *Otol. Neurotol.* 36 (2015) 694–700. <https://doi.org/10.1097/MAO.0000000000000629>.
- [43] N.J. Creber, H.T. Eastwood, A.J. Hampson, J. Tan, S.J. O'Leary, Adjuvant agents enhance round window membrane permeability to dexamethasone and modulate basal to apical cochlear gradients, *Eur. J. Pharm. Sci.* 126 (2019) 69–81. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.08.013>.
- [44] S.K. Plontke, R. Mynatt, R.M. Gill, S. Borgmann, A.N. Salt, Concentration gradient along the scala tympani after local application of gentamicin to the round window membrane, *Laryngoscope.* 117 (2007) 1191–1198. <https://doi.org/10.1097/MLG.0b013e318058a06b>.
- [45] H. Hahn, A.N. Salt, T. Biegner, B. Kammerer, U. Delabar, J.J. Hartsock, S.K. Plontke, Dexamethasone levels and base-to-apex concentration gradients in the scala tympani perilymph after intracochlear delivery in the guinea pig, *Otol. Neurotol.* 33 (2012) 660–665. <https://doi.org/10.1097/MAO.0b013e318254501b>.

- [46] F. Valente, L. Astolfi, E. Simoni, S. Danti, V. Franceschini, M. Chicca, A. Martini, Nanoparticle drug delivery systems for inner ear therapy: An overview, *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 39 (2017) 28–35. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2017.03.003>.
- [47] S.K. Plontke, R. Zimmermann, H.P. Zenner, H. Löwenheim, Technical note on microcatheter implantation for local inner ear drug delivery: Surgical technique and safety aspects, *Otol. Neurotol.* 27 (2006) 912–917. <https://doi.org/10.1097/01.mao.0000235310.72442.4e>.
- [48] H. Silverstein, J. Thompson, S.I. Rosenberg, N. Brown, J. Light, Silverstein MicroWick, *Otolaryngol. Clin. North Am.* 37 (2004) 1019–1034. <https://doi.org/10.1016/j.otc.2004.04.002>.
- [49] S.K. Plontke, A. Glien, T. Rahne, K. Mäder, A.N. Salt, Controlled release dexamethasone implants in the round window niche for salvage treatment of idiopathic sudden sensorineural hearing loss, *Otol. Neurotol.* 35 (2014) 1168–1171. <https://doi.org/10.1097/MAO.0000000000000434>.
- [50] Allergan, OZURDEX® (dexamethasone intravitreal implant) For Intravitreal Injection, Packag. Inser. (2014).
- [51] R. Bhagat, J. Zhang, S. Farooq, X.-Y. Li, Comparison of the Release Profile and Pharmacokinetics of Intact and Fragmented Dexamethasone Intravitreal Implants in Rabbit Eyes, *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* 30 (2014) 854–858. <https://doi.org/10.1089/jop.2014.0082>.
- [52] S. Weder, C. Shaul, A. Wong, S. O’Leary, R.J. Briggs, Management of Severe Cochlear Implant Infections—35 Years Clinical Experience, *Otol. Neurotol.* 41 (2020) 1341–1349. <https://doi.org/10.1097/mao.0000000000002783>.
- [53] J.T. Borenstein, Intracochlear drug delivery systems, *Expert Opin. Drug Deliv.* 8 (2011) 1161–1174. <https://doi.org/10.1517/17425247.2011.588207>.
- [54] O.Y. Chin, R.C. Diaz, *State-of-the-art methods in clinical intracochlear drug delivery*, Lippincott Williams and Wilkins, 2019. <https://doi.org/10.1097/MOO.0000000000000566>.
- [55] E. Pierstorff, S. Chen, M.P. Chaparro, J.M. Cortez, Y.J. Chen, S.Y. Ryu, S.M. Tsai, M.M. Baum, W.W. Yang, F. Kalinec, T. Smith, S. Ludwig, W.H. Slattery, A polymer-based extended release system for stable, long-term intracochlear drug delivery, *Otol. Neurotol.* 39 (2018) 1195–1202. <https://doi.org/10.1097/MAO.0000000000001977>.
- [56] J. Hawkins, Human ear - Transmission of sound within the inner ear | Britannica, (n.d.). <https://global.britannica.com/science/ear/Transmission-of-sound-within-the-inner-ear> (accessed February 23, 2021).
- [57] J. Schwieger, S. Hügl, A. Hamm, T. Lenarz, A. Hoffmann, T. Rau, V. Scheper, BDNF-producing human mesenchymal stem cells in an alginate-matrix: neuroprotection and cochlear implant coating stability in vitro, in: *Forsch. Heute – Zukunft Morgen*, Georg Thieme Verlag KG, 2018: p. 10577. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1641059>.
- [58] R. Briggs, S. O’Leary, C. Birman, K. Plant, R. English, P. Dawson, F. Risi, J. Gavrilis, K. Needham, R. Cowan, Comparison of electrode impedance measures between a dexamethasone-eluting and standard Cochlear™ Contour Advance® electrode in adult cochlear implant recipients, *Hear. Res.* 390 (2020) 107924. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2020.107924>.
- [59] G. Paasche, L. Bögel, M. Leinung, T. Lenarz, T. Stöver, Substance distribution in a cochlea model using different pump rates for cochlear implant drug delivery electrode prototypes, *Hear. Res.* 212 (2006) 74–82. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2005.10.013>.

- [60] V. Scheper, A. Hoffmann, M.M. Gepp, A. Schulz, A. Hamm, C. Pannier, P. Hubka, T. Lenarz, J. Schwieger, Stem Cell Based Drug Delivery for Protection of Auditory Neurons in a Guinea Pig Model of Cochlear Implantation, *Front. Cell. Neurosci.* 13 (2019) 177. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00177>.
- [61] F. Forouzandeh, X. Zhu, A. Alfadhel, B. Ding, J.P. Walton, D. Cormier, R.D. Frisina, D.A. Borkholder, A nanoliter resolution implantable micropump for murine inner ear drug delivery, *J. Control. Release.* 298 (2019) 27–37. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.01.032>.
- [62] J.N. Brown, J.M. Miller, R.A. Altschuler, A.L. Nuttall, Osmotic pump implant for chronic infusion of drugs into the inner ear, *Hear. Res.* 70 (1993) 167–172. [https://doi.org/10.1016/0378-5955\(93\)90155-T](https://doi.org/10.1016/0378-5955(93)90155-T).
- [63] Z. Chen, S.G. Kujawa, M.J. McKenna, J.O. Fiering, M.J. Mescher, J.T. Borenstein, E.E. Leary Swan, W.F. Sewell, Inner ear drug delivery via a reciprocating perfusion system in the guinea pig, *J. Control. Release.* 110 (2005) 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2005.09.003>.
- [64] A.M. Ayoob, J.T. Borenstein, The role of intracochlear drug delivery devices in the management of inner ear disease, *Expert Opin. Drug Deliv.* 12 (2015) 465–479. <https://doi.org/10.1517/17425247.2015.974548>.
- [65] N.K. Prenzler, R. Salcher, M. Timm, L. Gaertner, T. Lenarz, A. Warnecke, Intracochlear administration of steroids with a catheter during human cochlear implantation: a safety and feasibility study, *Drug Deliv. Transl. Res.* 8 (2018) 1191–1199. <https://doi.org/10.1007/s13346-018-0539-z>.
- [66] N.K. Prenzler, R. Salcher, T. Lenarz, L. Gaertner, A. Warnecke, Dose-Dependent Transient Decrease of Impedances by Deep Intracochlear Injection of Triamcinolone With a Cochlear Catheter Prior to Cochlear Implantation–1 Year Data, *Front. Neurol.* 11 (2020) 258. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00258>.
- [67] D.K. Kim, Nanomedicine for Inner Ear Diseases: A Review of Recent in Vivo Studies, *Biomed Res. Int.* 2017 (2017). <https://doi.org/10.1155/2017/3098230>.
- [68] A.N. Salt, J. Hartsock, S. Plontke, C. LeBel, F. Piu, Distribution of Dexamethasone and Preservation of Inner Ear Function following Intratympanic Delivery of a Gel-Based Formulation, *Audiol. Neurotol.* 16 (2011) 323–335. <https://doi.org/10.1159/000322504>.
- [69] H. Silverstein, J.E. Isaacson, M.J. Olds, P. Todd Rowan, S. Rosenberg, Dexamethasone inner ear perfusion for the treatment of meniere's disease: A prospective, randomized, double-blind, crossover trial, *Am. J. Otol.* 19 (1998) 196–201. <https://europepmc.org/article/med/9520056> (accessed January 25, 2021).
- [70] S.S. Chandrasekhar, R.Y. Rubinstein, J.A. Kwartler, M. Gatz, P.E. Connelly, E. Huang, S. Baredes, Dexamethasone pharmacokinetics in the inner ear: Comparison of route of administration and use of facilitating agents, *Otolaryngol. Neck Surg.* 122 (2000) 521–528. <https://doi.org/10.1067/mhn.2000.102578>.
- [71] E. Lehner, D. Gündel, A. Liebau, S. Plontke, K. Mäder, Intracochlear PLGA based implants for dexamethasone release: Challenges and solutions, *Int. J. Pharm. X.* 1 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.ijpx.2019.100015>.
- [72] E. Lehner, M. Menzel, D. Gündel, S.K. Plontke, K. Mäder, J. Klehm, H. Kielstein, A. Liebau, Microimaging of a novel intracochlear drug delivery device in combination with cochlear implants in the human inner ear, *Drug Deliv. Transl. Res.* (2021) 7–10. <https://doi.org/10.1007/s13346-021-00914-9>.

- [73] E. Lehner, A. Liebau, F. Syrowatka, W. Knolle, S.K. Plontke, K. Mäder, Novel biodegradable Round Window Disks for inner ear delivery of dexamethasone, *Int. J. Pharm.* 594 (2021) 120180. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.120180>.
- [74] V. Tandon, W.S. Kang, T.A. Robbins, A.J. Spencer, E.S. Kim, M.J. McKenna, S.G. Kujawa, J. Fiering, E.E.L. Pararas, M.J. Mescher, W.F. Sewell, J.T. Borenstein, Microfabricated reciprocating micropump for intracochlear drug delivery with integrated drug/fluid storage and electronically controlled dosing, *Lab Chip.* 16 (2016) 829–846. <https://doi.org/10.1039/c5lc01396h>.
- [75] E.S. Kim, E. Gustenhoven, M.J. Mescher, E.E. Leary Pararas, K.A. Smith, A.J. Spencer, V. Tandon, J.T. Borenstein, J. Fiering, A microfluidic reciprocating intracochlear drug delivery system with reservoir and active dose control, *Lab Chip.* 14 (2014) 710–721. <https://doi.org/10.1039/c3lc51105g>.
- [76] W.F. Sewell, J.T. Borenstein, Z. Chen, J. Fiering, O. Handzel, M. Holmboe, E.S. Kim, S.G. Kujawa, M.J. McKenna, M.M. Mescher, B. Murphy, E.E. Leary Swan, M. Peppi, S. Tao, Development of a Microfluidics-Based Intracochlear Drug Delivery Device, *Audiol. Neurotol.* 14 (2009) 411–422. <https://doi.org/10.1159/000241898>.
- [77] M. Gehrke, J. Sircoglou, D. Gnansia, G. Tourrel, J.F. Willart, F. Danede, E. Lacante, C. Vincent, F. Siepmann, J. Siepmann, Ear Cubes for local controlled drug delivery to the inner ear, *Int. J. Pharm.* 509 (2016) 85–94. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.04.003>.
- [78] M. Gehrke, J. Verin, D. Gnansia, G. Tourrel, M. Risoud, C. Vincent, F. Siepmann, J. Siepmann, Hybrid Ear Cubes for local controlled dexamethasone delivery to the inner ear, *Eur. J. Pharm. Sci.* 126 (2019) 23–32. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.04.045>.
- [79] X. Wang, S.S. Venkatraman, F.Y.C.C. Boey, J.S.C.C. Loo, L.P. Tan, Controlled release of sirolimus from a multilayered PLGA stent matrix, *Biomaterials.* 27 (2006) 5588–5595. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.07.016>.
- [80] M. Thorne, A.N. Salt, J.E. DeMott, M.M. Henson, O.W. Henson, S.L. Gewalt, Cochlear fluid space dimensions for six species derived from reconstructions of three-dimensional magnetic resonance images, *Laryngoscope.* 109 (1999) 1661–1668. <https://doi.org/10.1097/00005537-199910000-00021>.
- [81] T.W.J. Steele, C.L. Huang, E. Widjaja, F.Y.C. Boey, J.S.C. Loo, S.S. Venkatraman, The effect of polyethylene glycol structure on paclitaxel drug release and mechanical properties of PLGA thin films, *Acta Biomater.* 7 (2011) 1973–1983. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.02.002>.
- [82] L.P. Tan, S.S. Venkatraman, P.F. Sung, X.T. Wang, Effect of plasticization on heparin release from biodegradable matrices, *Int. J. Pharm.* 283 (2004) 89–96. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.06.022>.
- [83] H. Jia, F. François, J. Bourien, M. Eybalin, R. V Lloyd, T.R. Van De Water, J.L. Puel, F. Venail, Prevention of trauma-induced cochlear fibrosis using intracochlear application of anti-inflammatory and antiproliferative drugs, *Neuroscience.* 316 (2016) 261–278. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.12.031>.
- [84] Y. Takumi, S.Y. Nishio, K. Mugridge, T. Oguchi, S. Hashimoto, N. Suzuki, S. Iwasaki, C. Jolly, S.I. Usami, Gene expression pattern after insertion of dexamethasone-eluting electrode into the guinea pig cochlea, *PLoS One.* 9 (2014). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110238>.
- [85] L. Astolfi, V. Guaran, N. Marchetti, E. Olivetto, E. Simoni, A. Cavazzini, C. Jolly, A. Martini, Cochlear implants and drug delivery: In vitro evaluation of dexamethasone release, *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater.* 102 (2014) 267–273. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33004>.

- [86] C. Bode, H. Kranz, A. Fivez, F. Siepmann, J. Siepmann, Often neglected: PLGA/PLA swelling orchestrates drug release: HME implants, *J. Control. Release.* 306 (2019) 97–107. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.05.039>.
- [87] V. Karavelidis, D. Giliopoulos, E. Karavas, D. Bikiaris, Nanoencapsulation of a water soluble drug in biocompatible polyesters. Effect of polyesters melting point and glass transition temperature on drug release behavior, *Eur. J. Pharm. Sci.* 41 (2010) 636–643. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2010.09.004>.
- [88] M. Wilk, R. Hessler, K. Mugridge, C. Jolly, M. Fehr, T. Lenarz, V. Scheper, Impedance Changes and Fibrous Tissue Growth after Cochlear Implantation Are Correlated and Can Be Reduced Using a Dexamethasone Eluting Electrode, *PLoS One.* 11 (2016) e0147552. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147552>.
- [89] C.H. Meyer, A. Klein, F. Alten, Z. Liu, B. V. Stanzel, H.M. Helb, C.K. Brinkmann, RELEASE AND VELOCITY OF MICRONIZED DEXAMETHASONE IMPLANTS WITH AN INTRAVITREAL DRUG DELIVERY SYSTEM, *Retina.* 32 (2012) 2133–2140. <https://doi.org/10.1097/IAE.0b013e31825699e5>.
- [90] T. Wilhelm, T. Stelzer, S. Wiegand, C. Güldner, A. Teymoortash, T. Günzel, R. Hagen, Toxic inner ear lesion following otitis media with effusion: a comparative CT-study regarding the morphology of the inner ear, *Eur. Arch. Oto-Rhino-Laryngology.* 272 (2014) 3635–3643. <https://doi.org/10.1007/s00405-014-3425-4>.
- [91] N. Ohgami, S. Hori, K. Ohgami, H. Tamura, T. Tsuzuki, S. Ohnuma, M. Kato, Exposure to low-dose barium by drinking water causes hearing loss in mice, *Neurotoxicology.* 33 (2012) 1276–1283. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2012.07.008>.
- [92] Lipiodol Ultra-Fluid, 2017. www.bfarm.de, (accessed March 3, 2021).
- [93] J. Sosna, E. Havivi, W. Khan, L. Appelbaum, A. Nyska, A.J. Domb, Computed tomography of Lipiodol-loaded biodegradable pasty polymer for implant visualization, *Contrast Media Mol. Imaging.* 9 (2014) 246–251. <https://doi.org/10.1002/cmml.1560>.
- [94] H. Hansen, S.B. Wilbur, *Toxicological Profile for Acetone*, 1994.
- [95] J. Siepmann, K. Elkharraz, F. Siepmann, D. Klose, How autocatalysis accelerates drug release from PLGA-based microparticles: A quantitative treatment, *Biomacromolecules.* 6 (2005) 2312–2319. <https://doi.org/10.1021/bm050228k>.
- [96] D. Klose, F. Siepmann, K. Elkharraz, J. Siepmann, PLGA-based drug delivery systems: Importance of the type of drug and device geometry, *Int. J. Pharm.* 354 (2008) 95–103. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2007.10.030>.
- [97] U. Weidenauer, Gamma-Sterilisation von Arzneimitteln, *Dtsch. Apotheker Zeitung.* (n.d.). <https://www.deutsche-apotheker-zeitung.de/daz-az/2010/daz-16-2010/gamma-sterilisation-von-arzneimitteln>.
- [98] C. Zlomke, M. Barth, K. Mäder, Polymer degradation induced drug precipitation in PLGA implants – Why less is sometimes more, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 139 (2019) 142–152. <https://doi.org/10.1016/J.EJPB.2019.03.016>.
- [99] W. Friess, M. Schlapp, Sterilization of gentamicin containing collagen/PLGA microparticle composites, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 63 (2006) 176–187. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2005.11.007>.
- [100] M. Pfeifer, *Untersuchungen zur Sterilisation von bioabbaubaren Depot-Injektionsformen*, 2010.

- [101] A. Göpferich, Mechanisms of polymer degradation and erosion, *Biomaterials*. 17 (1996) 103–114. [https://doi.org/10.1016/0142-9612\(96\)85755-3](https://doi.org/10.1016/0142-9612(96)85755-3).
- [102] E. Bas, J. Bohorquez, S. Goncalves, E. Perez, C.T. Dinh, C. Garnham, R. Hessler, A.A. Eshraghi, T.R. Van de Water, Electrode array-eluted dexamethasone protects against electrode insertion trauma induced hearing and hair cell losses, damage to neural elements, increases in impedance and fibrosis: A dose response study, *Hear. Res.* 337 (2016) 12–24. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2016.02.003>.
- [103] A. Liebau, O. Pogorzelski, A.N. Salt, S.K. Plontke, Hearing Changes after Intratympanic Steroids for Secondary (Salvage) Therapy of Sudden Hearing Loss: A Meta-Analysis Using Mathematical Simulations of Drug Delivery Protocols, *Otol. Neurotol.* 39 (2018) 803–815. <https://doi.org/10.1097/MAO.0000000000001872>.
- [104] C. Bode, H. Kranz, A. Fivez, F. Siepmann, J. Siepmann, Often neglected: PLGA/PLA swelling orchestrates drug release: HME implants, *J. Control. Release.* 306 (2019) 97–107. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.05.039>.
- [105] A. Schädlich, S. Kempe, K. Mäder, Non-invasive in vivo characterization of microclimate pH inside in situ forming PLGA implants using multispectral fluorescence imaging, *J. Control. Release.* 179 (2014) 52–62. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.01.024>.
- [106] X. Li, Y. Wang, F. Xu, F. Zhang, Y. Xu, L. Tang, T.J. Webster, Artemisinin loaded mPEG-PCL nanoparticle based photosensitive gelatin methacrylate hydrogels for the treatment of gentamicin induced hearing loss, *Int. J. Nanomedicine.* 15 (2020) 4591–4606. <https://doi.org/10.2147/IJN.S245188>.
- [107] S. Delmaghani, A. El-Amraoui, Inner Ear Gene Therapies Take Off: Current Promises and Future Challenges, *J. Clin. Med.* 9 (2020) 2309. <https://doi.org/10.3390/jcm9072309>.
- [108] C.L. Budenz, B.E. Pflugst, Y. Raphael, The use of neurotrophin therapy in the inner ear to augment cochlear implantation outcomes, *Anat. Rec.* 295 (2012) 1896–1908. <https://doi.org/10.1002/ar.22586>.

6 ANHANG

Liste der Veröffentlichungen

Publikationen

1. E. Lehner, M. Menzel, D. Gündel, S.K. Plontke, K. Mäder, J. Klehm, H. Kielstein, A. Liebau: *Microimaging of a novel intracochlear drug delivery device in combination with cochlear implants in the human inner ear.* Drug Delivery and Translational Research, 2021, 7–10.
2. E. Lehner, A. Liebau, F. Syrowatka, W. Knolle, S.K. Plontke, K. Mäder: *Novel Biodegradable Round Window Disks for Inner Ear Delivery of dexamethasone.* International Journal of Pharmaceutics 594, 2021, 120180.
3. Y.A. Brito Barrera, G. Hause, M. Menzel, C.E.H. Schmelzer, E. Lehner, K. Mäder, C. Wölk, T. Groth: *Engineering osteogenic microenvironments by combination of multilayers from collagen type I and chondroitin sulfate with novel cationic liposomes.* Materials Today Bio, 2020, 7, 100071.
4. E. Lehner, D. Gündel, A. Liebau, S.K. Plontke, and K. Mäder: *Intracochlear PLGA based implants for dexamethasone release: Challenges and solutions.* International Journal of Pharmaceutics X. 1, 2019, 100015.
5. K. Mäder, E. Lehner, A. Liebau, S.K. Plontke: *Controlled drug release to the inner ear: Concepts, materials, mechanisms, and performance.* Hearing Research, 2018, 368, 49–66.

Posterbeiträge

1. E. Lehner, A. Liebau, S.K. Plontke, K. Mäder: *Characterization and ex vivo implantation of biodegradable intracochlear implants*
Controlled Release Society Annual Meeting & Exposition – Valencia, Spain 2019
2. E. Lehner, A. Liebau, S.K. Plontke, K. Mäder: *The influence of PEG in intracochlear model implants on the pH value and the molecular weight during degradation*
Controlled Release Society Local Chapter Meeting – Leipzig 2019
3. E. Lehner, A. Liebau, S.K. Plontke, K. Mäder: *Dexamethasone-loaded hot-melt extrudates for intracochlear application*
11th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology – Granada, Spain 2018
4. E. Lehner, A. Liebau, S.K. Plontke, K. Mäder: *In vitro dexamethasone release of intracochlear model implants*
Controlled Release Society Local Chapter Meeting – Halle (Saale) 2018

Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle herzlich bei all jenen bedanken, welche mich während der Anfertigung dieser Dissertation unterstützt und motiviert haben.

In erster Linie gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. Karsten Mäder für die Gewährleistung aller Freiheitsgrade im Zusammenhang mit diesem interdisziplinären und spannenden Thema. Seine kompetente Unterstützung bei jeglichen Fragestellungen war stets Gold wert.

Ich danke Herrn Prof. Dr. Stefan Plontke für den wertvollen medizinischen Input und die resultierenden Publikationen. Insbesondere danke ich ihm, dass ich an den Operationen an den humanen Schläfenbeinen teilnehmen durfte.

Ganz herzlich möchte ich mich bei Herrn Dr. Arne Liebau für die Tierpräparationen und die Hilfe bei den Publikationen bedanken.

Ebenfalls danken möchte ich Herrn Dr. Daniel Gündel für die Messungen am PET-CT.

Mein Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. Wolfgang Binder und Frau Susanne Tanner für die GPC Messungen.

Darüber hinaus danke ich Herrn Prof. Dr. Kurt Merzweiler und Herrn Dr. Christoph Wagner für die Arbeit am Röntgendiffraktometer.

Weiterhin bedanke ich mich bei Frau Dr. Sandra Krause für Messungen und Auswertungen am GC-MS.

Herrn Frank Syrowatka danke ich für die elektronenmikroskopischen Aufnahmen meiner Proben.

Des Weiteren möchte ich mich bei Dr. Wolfgang Knolle für die Elektronenstrahlsterilisation meiner Formulierungen bedanken.

Der gesamten Arbeitsgruppe pharmazeutische Technologie danke ich für die angenehme Zeit über die vielen Jahre, besonders:

- Dr. Hendrik Metz für die kritischen, stets gut gemeinten Kommentare.
- Dr. Stefan Hoffmann und Dr. Martin Windorf für die Unterstützung in der Anfangsphase der Promotion.

- Dr. Henrike Lucas für die Beantwortung meiner zahlreichen Fragen und der Organisation auf allen Ebenen.
- Dr. Johannes Stelzner für die angenehme Zeit, beruflich wie auch privat.
- Dr. Tom Wersig für all die wunderschönen Momente im Studium, während der Promotion sowie privat.
- Christin Zlomke für die Einführung in die bioabbaubaren Polymere und den angenehmen Praktikumsalltag.
- Jonas Steiner für die Zeit als eingespielten Praktikumpartner und die Diskussionen über Fußball.
- Manuela Woigk für ihre kompetenten Ratschläge im Zusammenhang mit HPLC's
- Kerstin Schwarz und Ute Menzel für die unzählbaren analytischen Messungen
- Claudia Bertram für Ihr offenes Ohr und die Übernahme der bürokratischen Angelegenheiten

Meinen Eltern danke ich für die uneingeschränkte Unterstützung während des Studiums und der Promotion. Euer stetes Interesse an meiner Forschung, sowie die Möglichkeit bei euch zur Ruhe zu kommen, halfen mir während meiner Promotionszeit sehr.

Insbesondere danke ich Sarah und meinem Sohn Moritz für ihre uneingeschränkte Liebe und Unterstützung.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Eric Lehner
Geburtsdatum	24. Januar 1989
Geburtsort	02763 Zittau
Staatsangehörigkeit	Deutsch

Ausbildung und Berufserfahrung

seit 01/2021	Wissenschaftlicher Mitarbeiter an der MLU Halle-Wittenberg, Medizinische Fakultät, Klinik für Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde, Kopf- und Halschirurgie
01/2015 – 12/2020	Wissenschaftlicher Mitarbeiter an der MLU Halle-Wittenberg, Institut für Pharmazie, Abteilung Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie
03/2015	3. Staatsexamen / Approbation zum Apotheker
05/2014 – 10/2014	Praktisches Jahr Teil 2: Apotheke im Magistralen-Carré, Halle (Saale)
11/2013 – 04/2014	Praktisches Jahr Teil 1: Abteilung Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie
11/2013	2. Staatsexamen
08/2011	1. Staatsexamen
10/2009 – 09/2013	Pharmaziestudium an der Martin-Luther-Universität, Halle (Saale)
07/2007 – 05/2009	Freiwillig verlängerter Grundwehrdienst Kempten, Mittenwald, Hof
06/2007	Abitur am Oberland-Gymnasium-Seifhennersdorf

Halle (Saale), den 13.12.2021
Ort, Datum

Unterschrift

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich gemäß § 5 der Promotionsordnung der Naturwissenschaftlichen Fakultät I (Biowissenschaften) der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift selbstständig und ohne fremde Hilfe angefertigt habe. Weiterhin habe ich keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet und die daraus wörtlich und inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht.

Die Dissertation wurde ausschließlich der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen-Fakultät I der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg vorgelegt und an keiner anderen universitären Einrichtung weder im In- noch im Ausland zur Erlangung des Doktorgrades eingereicht.

Halle (Saale), den 13.12.2021

Ort, Datum

Unterschrift