Untersuchung der antifibrotischen Wirkung biokompatibler Beschichtungen von Cochlea-Implantat-Elektrodenträgern im Meerschweinchen-Modell mittels Histologie, Impedanzmessung und Elektrophysiologie

von Michaela Alisa Müller

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde

der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

Untersuchung der antifibrotischen Wirkung biokompatibler Beschichtungen von Cochlea-Implantat-Elektrodenträgern im Meerschweinchen-Modell mittels Histologie, Impedanzmessung und Elektrophysiologie

von
Michaela Alisa Müller
aus Starnberg
München 2025

Aus dem Veterinärwissenschaftlichen Department der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Lehrstuhl für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:
Univ.-Prof. Dr. Heidrun Potschka

Angefertigt in: der Hals-Nasen-Ohrenklinik und Poliklinik
der Technischen Universität München

Mentor: PD Dr. Thomas Stark

This work is licensed under CC BY 4.0. https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

**Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Heidrun Potschka

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Johann Maierl

Tag der Promotion: 26. Juli 2025

Inhaltsverzeichnis

1 EINLEITUNG 1

1.1 Die Anatomie und Physiologie des auditorischen Systems 3
1.2 Arten des Hörverlustes und Klassifizierung 7
1.3 Therapie des Hörverlustes 8
1.4 Geschichte des Cochlea-Implantates 10
1.5 Funktion und Aufbau des Cochlea-Implantates 11
1.6 Präoperative Diagnostik 14
1.7 Reaktion des Körpers auf eine Implantation 15
1.8 Reaktion des Körpers auf eine Cochlea-Implantation 17
1.9 Eindämmung der Fremdkörperreaktion 19
1.10 Elektrodenbeschichtungen und ihr Einfluss auf die Fremdkörperreaktion . 20
1.10.1 Anorganische Polymer Poly[bis(trifluoroethoxy) Phosphaten] (PTFEP) 21
1.10.2 Zwitterionische Beschichtungen 21
1.10.3 Leitfähige Hydrogel-Beschichtungen (CH-Beschichtung) 22
1.10.4 Polyvinylalkohol (PVA) Beschichtung 23
1.10.5 Silikonfaserbeschichtung 23
1.10.6 Dexamethason 23
1.11 Produktion von Spinnenseide 24
1.12 Medizinische Anwendung von Seidenproteinen 26
1.13 Motivation und Hypothese 27

2 METHODEN 29

2.1 Versuchsmodell Meerschweinchen 29
2.2 Das Studiendesign 30
2.3 Versuchsplan 31
2.3.1 ABR-Messungen 32
2.3.2 Impedanzmessungen 34
2.4 Cochlea-Implantation, Anästhesie und Analgesie 35
2.4.1 Analgesie 35
2.4.2 Anästhesie 35
2.4.3 Cochlea-Implantation 36
2.4.4 Euthanasie 37
2.5 Histologische Untersuchungen 38
2.5.1 Vorbereitung der Felsenbeine auf die Hämatoxylin - Eosin - Färbung 38
2.5.2 Hämatoxylin-Eosin-Färbung 39
2.5.3 Fluoreszenz 40
2.6 Datenauswertung und Programme 42
2.6.1 Histologie 43
2.6.2 Immunhistologie 45
2.6.3 Frequenzspezifische Hörmessung 46
2.6.4 Impedanzmessung 46
2.6.5 Statistik 46

3 ERGEBNISSE 48

3.1 Histologie 48
3.1.1 Implantatsentfernung 48
3.1.2 Hämatoxylin-Eosin-Färbung 49
3.1.3 Immunologie 55
3.1.4 Dicke der fibrösen Bindegewebekapsel um den Elektrodenkanal 58

3.2 Klick ABR- und frequenzspezifische Hörmessung 59
3.2.1 Klick evozierte ABR-Messung 60
3.2.2 Tiefe Frequenzen 61
3.2.3 Mittlere Frequenzen 62
3.2.4 Hohe Frequenzen 63
3.2.5 Zusammenfassung der Ergebnisse 64
3.3 Impedanzen 65
3.3.1 Impedanzwerte im Verlauf des Experimentalzeitraums 65
3.3.2 Gruppenunabhängiger Impedanzvergleich zwischen apikalen und basalen Kontakten 67
3.3.3 Gruppenvergleich der Messergebnisse von Tag 0 bis Woche 12 68
3.3.4 Impedanz-Messung vor und nach elektrischer Konditionierung 71

4 DISKUSSION 79

4.1 Diskussion der Methoden 79
4.1.1 Studiendesign 79
4.1.2 Cochleostomie 79
4.1.3 Implantatsentfernung 80
4.1.4 Tiermodell 80
4.1.5 Anfertigung von histologischen Schnitten 81
4.1.6 Gewebefixierung 82
4.1.7 Nicht bestimmbare Impedanzwerte 82
4.2 Ergebnisse 84
4.2.1 Fragmentierung der Spinnenseidenbeschichtung 84
4.2.2 Impedanzen 87
4.2.3 Histologie 92
4.2.4 Verlauf des Hörvermögens nach der Cochlea-Implantation 99

5 ZUSAMMENFASSUNG 101

6 SUMMARY 103

7 LITERATURVERZEICHNIS 105

8 ABBILDUNGSVERZEICHNIS 119

9 TABELLENVERZEICHNIS 120

10 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS 121

11 DANKSAGUNG 122

1 Einleitung

Das Gehör gehört zu den grundlegendsten Sinnen des Menschen und spielt eine entscheidende Rolle bei der Kommunikation und der Orientierung im täglichen Leben. Menschen, die gehörlos oder schwerhörig sind, erleben erhebliche Herausforderungen in ihrem Alltag. Sie können etwa ein sich näherndes Auto, zumindest, wenn es nicht von hinten kommt, nur visuell wahrnehmen. Bei Schwerhörigkeit oder Gehörlosigkeit ist es jedoch nicht möglich, durch Hören die Richtung zu bestimmen, aus der es herannaht. Ab einem bestimmten Schweregrad des Hörverlusts reicht, selbst bei überwiegend im Tieftonbereich vorhandenem Restgehör, ein Hörgerät nicht mehr aus. Da die Ursache für die Gehörlosigkeit meist an den nicht oder nicht mehr vorhandenen Haarzellen (Rezeptorzellen) liegt, kann die Erhöhung der Schalllautstärke durch ein Hörgerät zu keiner Hörwahrnehmung mehr führen. Cochlea-Implantate (CIs) bieten eine Lösung für dieses Problem, indem sie Schallwellen in elektrische Signale umwandeln, die geschädigten Haarzellen im Innenohr umgehen und somit den auditorischen Nerv direkt stimulieren. Auf diese Weise generieren sie eine Hörwahrnehmung im Gehirn. Das Cochlea-Implantat (CI) ermöglicht daher die Wiederherstellung des Hörvermögens bei Hörverlust oder schwerer Innenohrschwerhörigkeit. CIs wurden zum ersten Mal Ende der 1970er Jahre erfolgreich eingesetzt (Burian et al., 1979; Hochmair-Desoyer et al., 1981; Tong et al., 1979) und werden seither kontinuierlich verbessert. Heutzutage stellen sie eine Routinebehandlung, insbesondere bei angeborener Gehörlosigkeit dar. Früh implantierte Kinder (< 1 Jahr) zeigen eine überwiegend normale und altersgerechte Sprachentwicklung (Kral & O'Donoghue, 2010). Kinder mit Cochlea Implantaten können Regelschulen besuchen, eine Ausbildung oder ein Studium absolvieren sowie später eine Berufstätigkeit ausüben (Cejas et al., 2023). Ihr Leben unterscheidet sich meistens nicht von dem Leben normal hörender Personen.

Das Cochlea-Implantat besteht aus einer extern getragenen und einer implantierten Komponente, der Elektrode. Diese wird in das Innenohr eingeführt und übernimmt die Übertragung des in elektrische Impulse umgewandelten Schalls über mehrere Kontakte auf den Hörnerven.

Bei einer CI-Operation werden für den medizinischen Einsatz anerkannte Materialien in den Schädelknochen und Innenohr von Patienten implantiert. Diese Materialien sind zwar sehr gut verträglich (biokompatibel), aber dennoch körperfremd. Das menschliche Abwehrsystem erkennt solche Fremdkörper und reagiert mit einer sogenannten Fremdkörperreaktion (Veiseh & Vegas, 2019), die je nach Ort der Implantation oder individuellem Immunsystem mehr oder weniger stark ausgeprägt sein kann. Der Körper versucht, dieses Material durch eine Entzündungsreaktion abzubauen und aus dem Körper zu entferne. Daher wird bei Operationen mit implantierbaren Materialien, wie Herzschrittmachern, Herzklappen, Schrauben oder Brustimplantaten, darauf geachtet, Materialien zu verwenden, auf die der Körper und das Immunsystem möglichst wenig reagieren. Solche Materialien werden seit Langem in der Medizin eingesetzt, um Fremdkörperreaktionen zu verringern. Die elektrischen Kontakte auf dem CI-Träger, der in die Gehörschnecke des Innenohrs eingeführt wird, bestehen aus Platin, das vom Körper gut vertragen wird. Auch das Silikon des Elektrodenträgers auf dem die Platinkontakte sitzen ist sehr biokompatibel (Rebscher, 2008; Zare et al., 2021).

Dennoch können auch mit diesen bereits gut verträglichen Materialien sowohl akute als auch chronische Fremdkörperreaktionen auftreten (Veiseh & Vegas, 2019). Die akute Reaktion äußert sich in einer Entzündung mit Ausschüttung von Molekülen, die zu einer Apoptose (programmierter Zelltod) der restlichen Haarzellen und anderer Zellen führen können (Anderson et al., 2008; Sheikh et al., 2015). Die chronische Reaktion führt dann zu einem mehr oder weniger stark ausgeprägten Bindegewebewachstum mit Einkapselung des Implantates (Anderson et al., 2008; Sheikh et al., 2015). In schweren Fällen kann die Bindegewebebildung auch zu einer Verknöcherung führen (Ryu et al., 2015). Vor allem letzteres verursacht eine Erhöhung der Impedanz der Elektrodenkontakte, die die Effektivität der elektrischen Übertragung vom CI auf den Hörnerven verringern und den Stromverbrauch erhöhen zurückzuführen (Busby et al., 2002; Caswell-Midwinter et al., 2022; Saunders et al., 2002; Shepherd et al., 1994; Wilk et al., 2016). Die Erhöhung der Impedanz verringert den dynamischen Bereich des CIs, d.h. Lautstärke (Spannungserhöhung) kann nicht mehr an die vom Patienten benötigte Stärke (Lautstärke) angepasst werden, da sie schon am Anschlag ist (Wu et al., 2013). Der CI-Träger kann sein CI also unter Umständen nur eingeschränkt nutzen. Daher ist die Erforschung von Materialien, die die Fremdkörperreaktion verhindern oder erheblich reduzieren, von großem Interesse.

Im Rahmen der vorliegenden Studie wurde die Effektivität von Spinnenseidenprotein in Form eines Polymers als innovative Beschichtung für CI - Elektrodenträger in Hinblick auf die Reduktion der Fremdkörperreaktion untersucht. Eine Beschichtung von Brustimplantaten aus Silikon mit Spinnenseide hat bereits in anderen Untersuchungen vielversprechende Ergebnisse in dieser Hinsicht gezeigt (Zeplin et al., 2014). Das Hauptziel dieser Arbeit bestand daher darin, die potenziellen Auswirkungen der Spinnenseidenbeschichtung auf die Fremdkörperreaktionen nach der Cochlea-Implantation zu analysieren

Die Grundlage der Erforschung der durch CIs verursachten Fremdkörperreaktion bildet die Anatomie und Physiologie des Hörens. Daher werden diese Punkte zu Beginn des Kapitels ausführlich erläutert.

Des Weiteren werde ich die Funktion, den Aufbau und die Indikation von Cochlea- Implantaten sowie die Folgen und potenziellen Komplikationen einer CI-Implantation beschreiben. Ich möchte in diesem Zusammenhang jedoch nicht unerwähnt lassen, dass die Vorteile einer Cochlea-Implantation Gehörloser bzw. Gehörgeschädigter, besonders für die kindliche Sprachentwicklung, bei Weitem überwiegen. Anschließend werde ich herkömmliches, biokompatibles Material und neuartige Beschichtungen vergleichen.

1.1 Die Anatomie und Physiologie des Auditorischen Systems

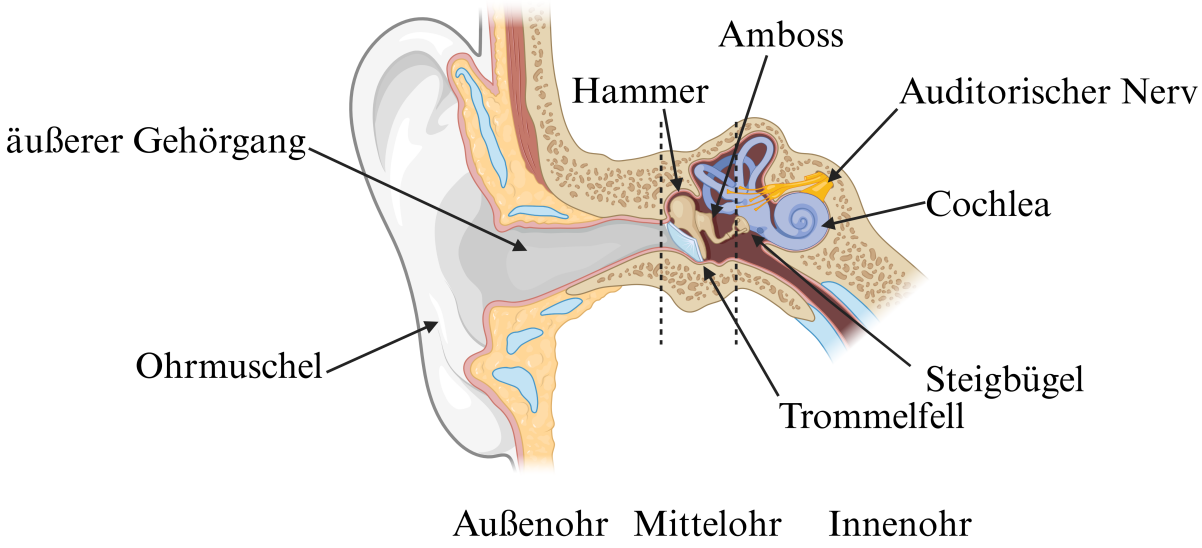


Abbildung 1: Anatomie des Außen-, Mittel- und Innenohrs

Das Außenohr umfasst die Ohrmuschel sowie den äußeren Gehörgang. Die Trennung zum Mittelohr, das aus den Gehörknöchelchen Hammer, Amboss und Steigbügel besteht, wird durch das Trommelfell gebildet. Der Steigbügel schließt über das ovale Fenster direkt an das Innenohr und der dazugehörenden Cochlea an. Created with BioRender.com.

Das Außenohr besteht aus der Ohrmuschel (Auricula auris), dem Ohrläppchen (Lobulus auriculae) und dem äußeren Gehörgang (Meatus acusticus externus). Zwischen Außenohr und Mittelohr liegt das Trommelfell (Membrana tympanica), das die beiden Bereiche voneinander trennt. Direkt an das Trommelfell schließt sich die Paukenhöhle (Cavitas tympani) an. In der Paukenhöhle befinden sich die Gehörknöchelchen, der Hammer (Malleus), der Amboss (Incus) und der Steigbügel (Stapes). Diese sind gelenkig miteinander verbunden und stellen eine Verbindung zwischen Mittelohr und Innenohr her. Die Fußplatte des Stapes liegt im ovalen Fenster der knöchernen flüssigkeitsgefüllten Cochlea. Die Gehörknöchelchen leiten den Schall von einem luftgefüllten Raum auf die Flüssigkeit, die Perilymphe, der Cochlea weiter (Abbildung 1).

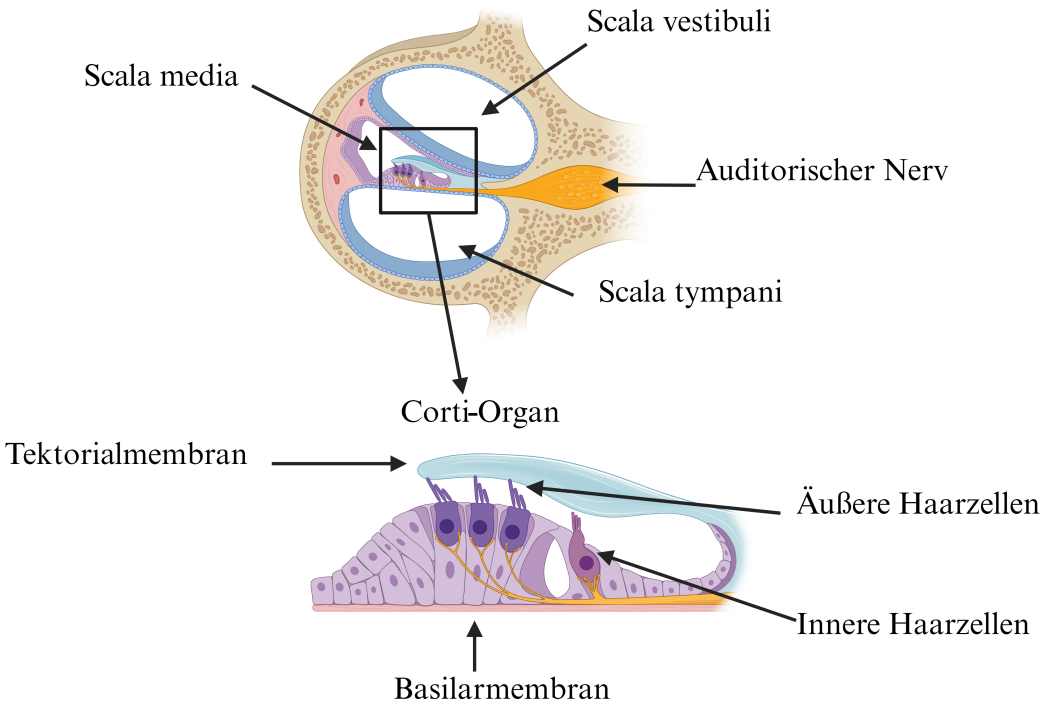


Abbildung 2: Detaillierte Beschreibung der Anatomie der Cochlea

Abbildung 2 zeigt die verschiedenen Abschnitte der Cochlea: die Scala vestibuli, die Scala media und die Scala tympani. In der Scala media befinden sich die reizweiterleitenden Haarzellen, die mit dem auditorischen Nerv verbunden sind. Dieser in Gelb dargestellte auditorische Nerv leitet die akustischen oder elektrischen Informationen über die Hörbahn zur Verarbeitung an das Gehirn weiter. Created with BioRender.com.

Die Cochlea besteht aus drei flüssigkeitsgefüllten Kompartimenten, der Scala tympani, Scala vestibuli und der Scala media (Abbildung 2). Die Scala tympani und die Scala vestibuli sind mit Perilymphe gefüllt. Die Perilymphe hat eine hohe Konzentration an Natriumionen (Na^+, 140 mmol/l) und eine niedrige Konzentration an Kalium (K^+) (Geiger, 2019). Diese Zusammensetzung entspricht der Konzentrationsverteilung extrazellulärer Flüssigkeiten. Scala tympani und Scala vestibuli kommunizieren an der Spitze der Cochlea, dem sogenannten Helicotrema. Die Scala media wird von Endolymphe ausgefüllt. Diese Flüssigkeit ist reich an K^+ (145mmol/l), hat wenig Na^+ (1,5 mmol/l) und ähnelt der intrazellulären Flüssigkeit (Geiger, 2019). Die Endolymphe wird von der Stria vaskularis sezerniert. Sie sitzt an der lateralen Wand und hält durch die Ionentransportmechanismen zwischen Endolymphe und Perilymphe das Endocochleäre Potenzial von etwa +80 mV aufrecht (Geiger, 2019). Um das Endocochleäre Potenzial aufrechtzuerhalten, sind der Endolymphraum (Scala media) und der Perilymphraum (Scala tympani und Scala vestibuli) durch Membranen voneinander getrennt. Diese werden unterschieden als Basilarmembran, welche Scala media und Scala tympani trennt und die Reissnersche Membran, die zwischen Scala media und Scala vestibuli liegt (Geiger, 2019).

Auf der Basilarmembran befindet sich das Corti-Organ, welches aus drei Reihen äußerer Haarzellen und einer Reihe innerer Haarzellen besteht (Abbildung 2) (Bear et al., 2007). Oberhalb der Haarzellen befindet sich die Tektorialmembran. Periphere Fortsätze des Ganglion spirale innervieren die Haarzellen. Die Axone des

Ganglion spirale formen den Auditorischen Nerv, der die Hörinformationen an das Gehirn überträgt (Geiger, 2019).

Geräusche und Töne werden in Form von Schallwellen mit unterschiedlichen Frequenzen (Hertz) und Lautstärken (Dezibel) weitergeleitet. Die Amplitude der Welle entspricht der Lautstärke des Geräusches oder Tons. Der Hörbereich des Menschen liegt zwischen 20 Hertz (Hz) und 20 kHz. Das menschliche Gehör funktioniert am besten in einem Frequenzbereich zwischen 2 kHz bis 5 kHz (Geiger, 2019). In diesem Frequenzbereich liegen auch die Frequenzen der menschlichen Sprache (Lazarus et al., 2007).

Über die Ohrmuschel werden die Schallwellen aufgefangen und über den äußeren Gehörkanal zum Trommelfell weitergeleitet. Die Ohrmuschel ermöglicht durch ihre gewundene Form bereits ein Richtungshören. Am Trommelfell werden die Schallwellen über die Gehörknöchelchen auf das ovale Fenster und die Perilymphe in der Cochlea übertragen. Bei der Übertragung der Schallwellen über das Trommelfell und die Gehörknöchelchen auf die Perilymphe, also vom Medium Luft auf das Medium Flüssigkeit, entsteht kein Energieverlust. Ursächlich hierfür sind die Gehörknöchelchen, welche bei dem Gehörvorgang als Verstärker agieren. Luft und Flüssigkeit haben unterschiedliche Impedanzen und ohne die verstärkende Wirkung der Gehörknöchelchen würde bei der Transduktion der Schallwellen auf die Perilymphe ein Energieverlust entstehen. Ein wesentlicher Faktor dabei sind unterschiedlich große Durchmesser des Stapes am ovalen Fenster und des Trommelfells, welches einen deutlich größeren Durchmesser hat. Dadurch ist der Druck der Luftwelle am ovalen Fenster ungefähr 20-mal stärker als am Trommelfell (Bear et al., 2007). Durch diese verstärkende Funktion kommt es zu keinem Energieverlust.

In der Cochlea bringt die Schallwelle, die sich von der Cochleabasis (Basis) entlang der Basilarmembran in Richtung der Cochleaspitze (Apex) ausbreitet, diese zum Schwingen (Wanderwelle). Für jede Frequenz gibt es einen Ort auf der Basilarmembran, an welcher die Schwingungsamplitude am größten ist (Von Bekesy, 1956). Das ist die sogenannte Tonotopie. Diese wird erzeugt, indem die Basilarmembran in ihrer Steifheit zum Apex hin abnimmt und am Apex breiter wird. Hochfrequente Töne besitzen ihr Amplitudenmaximum an der Basis der Cochlea, während niedrige Frequenzen ihr Amplitudenmaximum am Apex der Cochlea haben. Die tonotope Repräsentation der Frequenzen bleibt über alle Hörbahnstationen des Gehirns erhalten. An der Spitze der Haarzellen sitzen Stereozilien, welche durch Ankerproteine, sogenannte Tip-Links miteinander verbunden sind. Die Stereozilien werden bei einer Aufwärtsbewegung der Wanderwelle ausgelenkt, dadurch entsteht eine Dehnung an den Tip-Links, die zwischen den Stereozilien liegen und die Ionenkanäle öffnen sich (Bear et al., 2007). Die Kaliumionen strömen von der Endolymphe in das Innere der inneren Haarzellen. Hierdurch kommt es zu einer Depolarisation, Kalzium (Ca^{2+}) strömt in die inneren Haarzellen und schließlich wird der Neurotransmitter Glutamat freigesetzt (Bear et al., 2007) und abhängig von dessen Konzentration ein kleineres oder größeres Rezeptorpotenzial ausgelöst. Da Haarzellen sekundäre Sinneszellen sind, können sie selbst kein Aktionspotenzial auslösen. Das Glutamat bindet an die Rezeptoren der afferenten Hörnervenfasern und löst ein Exzitatorisches Postsynaptisches Potenzial (EPSP) aus, das dann über die Hörbahn zum Gehirn weitergeleitet wird.

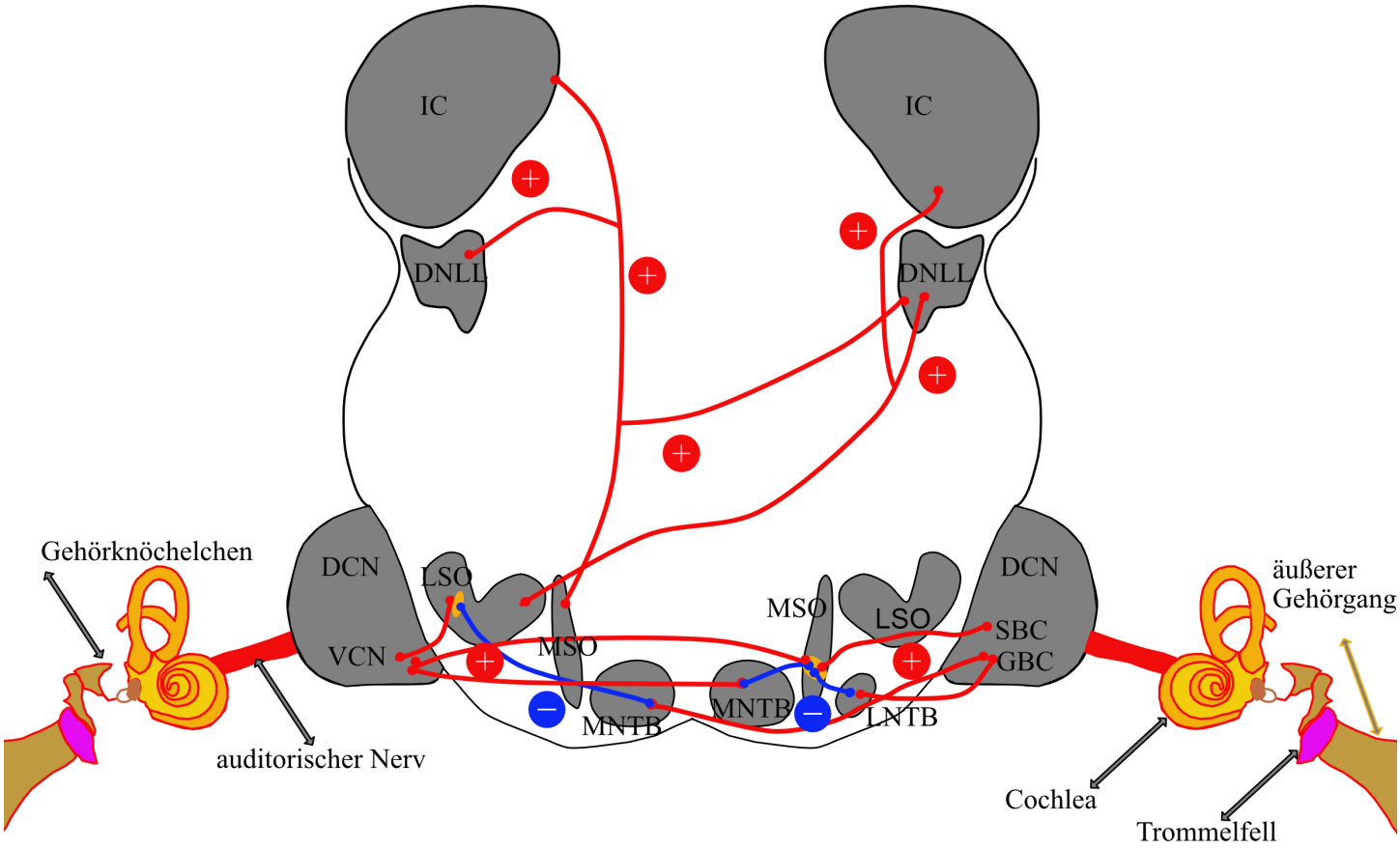


Abbildung 3: Auditorische Hörbahn (Außen-, Mittel-, Innenohr, auditorischer Hirnstamm und Mittelhirn)

Die Abbildung zeigt die wichtigsten Strukturen der auditorischen Hörbahn, einschließlich des ventralen Nucleus cochlearis (VCN), des dorsalen Nucleus cochlearis (DCN) sowie des oberen Olivenkerns (Nucleus Olivaris superior), der aus dem lateralen oberen Olivekern (LSO) und dem medialen oberen Olivekern (MSO) besteht. Weitere wichtige Strukturen sind der dorsale Nucleus lemniscus latreralis (DNLL) und der Colliculus inferior (IC). Erregende neuronale Leitungen sind durch rote Linien und inhibierende neuronale Verbindungen durch blaue Linien dargestellt. Übernommen und angepasst von Grothe und Pecka (2014).

Der auditorische Nerv leitet die Informationen in Form von Aktionspotenzialen an den Nucleus cochlearis (CN) weiter. Die zeitliche Information der Schallwelle bleibt erhalten, indem der auditorische Nerv und der CN ihre Aktionspotenziale immer zu einer bestimmten Phase der Sinuswelle generieren, dies ist auch bekannt als *Phase locking* (Bear et al., 2007). Hierbei wird vom ventralen Anteil des Nucleus cochlearis (VCN) die monaurale zeitliche Information kontralateral an den Lemniscus lateralis und von dort an den Colliculus inferior (IC) weitergeleitet. Der dorsale Nucleus cochlearis (DCN) leitet dann die monauralen Informationen kontralateral an den IC weiter. Die binauralen Informationen gelangen ipsilateral und kontralateral von dem VCN zu dem oberen Olivenkern (Nucleus olivaris superior) (Lindsey, 1975; Stotler, 1953). Der Nucleus olivaris superior projiziert die verarbeitete Information an den dorsalen Nucleus lemniscus lateralis (DNLL) und dann zum IC (Adams, 1979) (Abbildung 3). Im IC kommen monaurale und binaurale Informationen an und werden dann an den Thalamus und den primären auditorischen Cortex (A1) weitergeleitet (Grothe et al., 2010). Der auditorische Cortex sorgt dafür, dass wir das Gehörte bewusst wahrnehmen. Einfach ausgedrückt, wird der auditorische Eindruck vom Innenohr über den auditorischen Thalamus zum auditorischen Cortex im Temporallappen

weitergeleitet. Dort findet die bewusste Wahrnehmung des Gehörten statt. Der Cortex ist entscheidend, weil das CI ohne dessen Lernfähigkeit und Plastizität nicht so effektiv funktionieren könnte. Während das Ohr etwa 11.000 äußere und 3.500 innere Haarzellen enthält (Ashmore, 2008), verfügt das CI nur über 12 Kontakte. Dennoch gelingt es dem auditorischen Cortex, aus diesen begrenzten Informationen nahezu normale Hörwahrnehmung zu generieren.

Nachdem schematisch der Aufbau und die Funktionsweise des auditorischen Systems erläutert wurde, werden nun Arten des Hörverlustes beschrieben und kategorisiert, um zu zeigen, wo die Wirkungsweise des CIs ansetzt.

1.2 Arten des Hörverlustes und Klassifizierung

Da ein CI das Hören gehörloser oder schwerhöriger Menschen wieder herstellen kann, ist es essenziell, die Arten des Hörverlustes und die Klassifizierung zu erklären. Wird einer der Schallweiterleitungsmechanismen des Außenohrs, Mittelohrs, Innenohrs oder des Gehirns beeinträchtigt, kommt es zu einem Hörverlust mit unterschiedlicher Ausprägung. Es gibt drei Arten des Hörverlustes: sensorineuraler Hörverlust, Schallleitungsschwerhörigkeit und kombinierter Hörverlust.

Ein sensorineuraler Hörverlust entsteht durch Verlust des sensorischen Hörsinns (Haarzellen) oder des neuralen Hörsinns (auditorischer Nerv). Dieser Verlust kann angeboren, erblich, durch eine anormale Entwicklung in den fötalen Lebensphasen entstehen, oder erworben werden (Siegert et al., 2021). Bevor regelmäßig gegen die Rötelnerkrankung geimpft wurde, verursachte diese Erkrankung bei Übertragung während der Schwangerschaft unter anderem eine Gehörlosigkeit bei den Kindern (Siegert et al., 2021). Ein sensorineuraler Hörverlust wird erworben durch traumatische Ohrverletzungen, Meningitis, Lärmschädigung, Schädelbasis-/Felsenbein-Fraktur oder auch durch ototoxische Medikamente wie bestimmte Antibiotika (Aminoglykoside) oder Chemotherapeutika gegen Krebs (Cisplatin) (Siegert et al., 2021). Wenn die Haarzellen einmal beschädigt wurden, gibt es keine Möglichkeit, diesen Schaden durch Regeneration zu beheben. Die Haarzellen gehören zu den verletzlichsten Strukturen innerhalb der Cochlea (Liberman, 2017). Ein durch Lärm verursachter Hörverlust ist für 1⁄3 der erworbenen sensorineuralen Hörverluste verantwortlich (Duan et al., 2004). Zurzeit gibt es für einen sensorineuralen Hörverlust keine medizinischen oder operativen Behandlungen, welche gezielt die beschädigten Haarzellen wiederherstellen oder nachwachsen lassen können (Youm & Li, 2018).

Neben einem sensorineuralen Hörverlust gibt es noch eine Schallleitungsschwerhörigkeit, welche im Außen- oder Mittelohr entstehen. Bei dieser Art des Hörverlustes gelangen die Schallwellen aus unterschiedlichen Gründen nicht mehr zum Innenohr und es kann keine Schallübertragung stattfinden. Eine Schallleitungsschwerhörigkeit kann durch eine Mittelohrentzündung (Otitis Media), eine chronisch-eitrige Entzündung des Mittelohrs, die durch Einwachsen von Plattenepithel aus dem äußeren Gehörgang in das Mittelohr entsteht (Cholesteatom), eine Trommelfellperforation, durch knöcherne Versteifung der Gehörknöchelchenkette oder durch Fehlbildung des Mittel- oder Außenohrs (Atresie) entstehen (Siegert et al., 2021).

Schallleitungsschwerhörigkeit hat Auswirkungen auf die prä - und postsynaptischen Strukturen der Synapsen (*endbulb of Held*) des auditorischen Nervs (Clarkson et al., 2016). Eine Schallleitungsschwerhörigkeit führt also nicht nur zu einem Anstieg der Hörschwelle, sondern verursacht auch dauerhafte Veränderungen im auditorischen Hirnstamm (Clarkson et al., 2016). Eine weitere Studie untersuchte die Hypothese, ob ein reduzierter auditorischer Input das Innenohr vor einem Schaden schützt. Eine künstliche Schallleitungsschwerhörigkeit wurde durch eine Trommelfellentfernung erzeugt. Dies verursachte einen Verlust an Synapsen der Haarzellen und einen Verlust efferenter Innervation, insbesondere der inneren Haarzellen der Cochlea (Liberman et al., 2015). Diese beiden Studien zeigen, dass sich eine anfängliche Schallleitungsschwerhörigkeit zu einem sensorineuralen Hörverlust weiter entwickeln kann. Treten sensorineuraler Hörverlust und Schallleitungsschwerhörigkeit gleichzeitig auf, liegt ein kombinierter Hörverlust vor.

Bei der Ermittlung des Hörverlustes wird die Hörschwelle in dB bestimmt, an der ein Patient einen Ton gerade noch wahrnehmen kann. Die Wahrnehmung ist abhängig von der Lautstärke und der Frequenz eines Tons. Alle drei Arten des Hörverlustes (sensorineural, konduktiver oder kombinierter Hörverlust) werden in 6 Stufen eingeteilt. Es gibt einen geringgradigen (20 – < 35 dB), mittelgradigen (35 – < 50 dB), hochgradigen (50 – < 65 dB), höchstgradigen (65 – < 80 dB) und einen an Gehörlosigkeit grenzenden (80 – < 95 dB) Hörverlust sowie eine nahezu vollständige Gehörlosigkeit (≥ 95 dB) (World Health Organization, 2021). Die Gehörlosigkeit wird als nahezu vollständig beschrieben, da in der Regel ein minimales Restgehör im tieffrequenten Bereich erhalten bleibt. Dieses geringe Restgehör ist jedoch in der Regel nicht ausreichend, um eine signifikante Wahrnehmung oder Nutzung von Geräuschen zu ermöglichen.

1.3 Therapie des Hörverlustes

Je nach Einstufungsgrad und Art des Hörverlustes werden unterschiedliche Therapien und Behandlungen empfohlen. Bis zu einem gewissen Grad der Schwerhörigkeit helfen moderne Hörgeräte.

Manche Patienten verfügen selbst bei hochgradigem Hörverlust im hochfrequenten Bereich noch über ein gutes Resthörvermögen im tieffrequenten Bereich, dessen Verstärkung durch ein herkömmliches Hörgerät jedoch nicht ausreicht, um ein ausreichendes Sprachverständnis zu erlangen. In solchen Fällen kann eine Elektrisch-Akustische-Stimulation (EAS) über ein CI mit einem integrierten Hörgerät infrage kommen. Hierbei wird der Bereich der Cochlea, der „gehörlos“ ist, mit dem CI elektrisch stimuliert. Gleichzeitig wird der Bereich der Cochlea, in dem noch Restgehör vorhanden ist, mit dem Hörgerät akustisch stimuliert (Von Ilberg et al., 1999). Das Hören wird von den EAS-CI Trägern häufig als „natürlicher“ im Vergleich zum reinen elektrischen Hören empfunden. Der Erhalt des Restgehörs durch eine wenig traumatische Implantation mit einem weichen, flexiblen Implantatträger ist hierfür sehr wichtig. Dies gilt auch für den möglichst dauerhaften Erhalt des Restgehörs nach der Operation. Deshalb sind bei diesen Implantaten die Elektrodenträger etwas kürzer, um nur den hochfrequenten Abschnitt der Cochlea zu stimulieren und die Zellstrukturen des tieffrequenten Abschnitts und das Resthörvermögen zu schützen (Gstoettner et al., 2009). Die Verwendung längerer CI-Elektrodenträger, die

bei Patienten mit hochgradigem Hörverlust oder Gehörlosigkeit eingesetzt werden, ermöglicht eine hörerhaltende Implantation. Es besteht dann jedoch ein leicht erhöhtes Risiko, das Resthörvermögen während der CI-Implantation zu beeinträchtigen oder zu verlieren, wodurch EAS-Implantate für diese Patientengruppe nur eingeschränkt geeignet sind (Lenarz et al., 2019, 2020; Suhling et al., 2016). Eine potenzielle Indikation hierfür wäre beispielsweise bei Patienten mit besonders langer Cochlea (Avci et al., 2014). EAS-Patienten profitieren von dem Erhalt des Resthörvermögens und schneiden bei „speech intelligibility tests“ in komplexen Hörsituationen besser ab als bilateral implantierte CI-Patienten (Dorman & Gifford, 2010; Imsiecke et al., 2021; Irving et al., 2014; Rader et al., 2013).

Bei einem hochgradigen, beidseitigen oder einseitigen sensorineuralen Hörverlust, bei gleichzeitig eingeschränktem Nutzen von Hörgeräten, ist das CI die bevorzugte Therapieoption (Lenarz, 2017). Ohne intakte Haarzellen wird keine Information an das Gehirn weitergeleitet und somit kein Höreindruck vermittelt. Diese Informationslücke schließt das CI und sendet die über ein Mikrofon aufgenommene akustische Information mittels elektrischer Stimulation an den Hörnerven bzw. die Spiralganglien (SGN), wo die Zellkörper des auditorischen Nerven sitzen, an das Gehirn weiter. Außerdem wird bei einem beidseitigen postlingualen an Taubheit grenzenden Hörverlust sowie bei einem Hörverlust, der mit Tinnitus einhergeht, implantiert (Szyfter et al., 2019). Falls ein eingeschränkter Nutzen von Hörgeräten bereits bei einem mittelgradigen Hörverlust vorkommt, werden diese Patienten ebenfalls als mögliche Kandidaten für eine Cochlea-Implantation eingestuft (Deep et al., 2019).

Für die Cochlea-Implantation muss der auditorische Hörnerv intakt sein, da dieser elektrisch stimuliert wird und das Signal an das Gehirn leitet. Ebendarum wird bei einer Schädigung des Hörnervs oder einem zentralen Hörverlust, d.h. die Ursache des Hörverlusts liegt in der zentralen Hörbahn, keine CI-Versorgung in Betracht gezogen (Dazert et al., 2020).
Es besteht die Möglichkeit eines Hirnstamm-Implantates, das in den CN, die erste Hörbahnstation, implantiert wird.

Des Weiteren gibt es aktive Mittelohr- und Knochenleitungsimplantate, mit denen ein Schallleitungshörverlust behandelt werden kann, die sich aber auch für Fälle von kombinierter Hörverlust eignen, das heißt eine Kombination von Schallleitungs- und sensorineuralem Hörverlust (Lassaletta et al., 2019).

Andere Ursachen und Krankheiten, die zu Hörverlust führen können, sind jedoch keine Indikation für eine Cochlea-Implantation, da sie durch alternative Therapien behandelt werden können und teilweise reversibel sind. Dazu zählen unter anderem eine akute Mittelohrinfektion und eine Trommelfellperforation bei akuter Mittelohrinfektion (Kral, 2017).

Bevor die Funktionsweise des CI näher erläutert werden, wird im nächsten Abschnitt die Geschichte des CIs dargestellt. Das Gehör ist einer der wichtigsten Sinne des Menschen und ein Verlust oder die Einschränkung der Hörfähigkeit beeinflusst das menschliche Leben immens. Eine Wiederherstellung der Hörfähigkeit bedeutet für viele Menschen ein Gewinn an Lebensqualität. Für gehörlos geborene Kinder bzw. Kinder, die ihr Gehör genetisch bedingt früh nach der Geburt verlieren, bedeutet eine frühe Implantation (< 1 Jahr) eine normale

Sprachentwicklung und damit die Möglichkeit, Regelschulen zu besuchen (Kral & O'Donoghue, 2010). Deshalb ist die Erforschung von geeigneten implantierbaren Materialeigenschaften des CIs von großer Bedeutung.

1.4 Geschichte des Cochlea-Implantates

Bereits 1957 wurden erste Versuche unternommen, das Hören wiederherzustellen. Djourno und Eyries (1957) konnten demonstrieren, dass durch elektrische Stimulation des Hörnervs ein Höreindruck vermittelt werden kann. Dieses Forschungsergebnis bildete den Grundstein für weitergehende Forschung auf dem Gebiet der Cochlea-Implantation. Das erste CI wurde 1961 von William House und John Doyle in Los Angeles implantiert (House, 1987; House, 1974, 1976). Dieses Implantat wurde durch das runde Fenster in die Cochlea eingeführt und hatte einen Kanal, d.h. nur einen elektrischen Kontakt. Bereits wenige Jahre später wurde das erste Implantat mit sechs Elektrodenkontakten bei einem vollständig gehörlosen Patienten über das Promontorium in den Modiolus eingeführt (Blair Simmons et al., 1965; Simmons, 1966). Einzelne Stimuli erzeugten zunächst nur eine Tonwahrnehmung; eine Sprachwahrnehmung wurde in dieser Studie allerdings nicht erzielt. House hatte einen wesentlichen Anteil daran, dass die CI-Forschung in die klinische Routine überführt wurde (House & Urban, 1973). Mit den ersten einkanaligen Implantaten war die Erfolgsquote beim Sprachverstehen noch sehr gering.

Angesichts dessen richtete sich der Fokus der Forschung in den nächsten Jahren auf mehrkanalige Implantate. 1977 wurde dann das erste Acht-Kanal-Cochlea-Implantat mit pulsatiler Stimulation implantiert (Clark et al., 1978). Es war das erste kommerzielle mehrkanalige Implantat mit dem Namen Cochlear/Nucleus. Die Entwicklung des Nucleus- Implantates ist sehr eng mit Graeme Clark aus Melbourne verbunden (Clark et al., 1977). Zur gleichen Zeit forschten Ingeborg und Erwin Hochmair ebenfalls an mehrkanaligen Implantaten. Sie entwickelten ein mikroelektronisches Mehrkanal-Implantat, welches flexibel war und 22–25 mm in die Cochlea eingeführt werden konnte (Burian et al., 1980; Hochmair-Desoyer et al., 1978).

Die ersten CIs hatten nur einen Kanal. Mit dieser Technik konnte nur an einem Frequenzort in der Cochlea stimuliert werden. Es war möglich verschiedene Frequenzen über die Periodizität, also das zeitliche Spektrum eines akustischen Signals anzubieten, was im besten Falle eine Unterstützung zum Lippenlesen ermöglichte. Dies war dennoch bereits eine erhebliche Erleichterung für die Patienten. Mitte der 90er-Jahre verdrängten die mehrkanaligen Implantate die einkanaligen. Zwei Studien von Cohen und Gantz hatten einen großen Einfluss auf diese Entwicklung (Cohen et al., 1993; Tyler et al., 1988). Diese Studien zeigten die Vorteile und Überlegenheit der mehrkanaligen Implantate auf. Mit Hilfe mehrkanaliger Implantate kann das gesamte Frequenzspektrum an verschiedenen Orten in der Cochlea stimuliert und somit ein besseres Sprachverstehen erzeugt werden.

1991 brachte MED-EL den Hinter-dem-Ohr-Audioprozessor (HdO) auf den Markt. Dieser HdO-Audioprozessor erreichte eine bessere Akzeptanz und ein besseres Sprachverstehen bei den Patienten (Hochmair-Desoyer et al., 1993). 1994 kam das COMBI 40 Implantat-System von MED-EL auf den Markt. Es setzte die CIS-Sprachkodierungsstrategie von Blake Wilson um und war somit das erste Implantat mit hoher

Übertragungsrate (Zierhofer et al., 1997). Blake Wilson leistete einen großen Beitrag zur Erforschung verschiedener Signalverarbeitungsstrategien für die Stimulation von CIs (Wilson & Dorman, 2012).

Der nächste Meilenstein bei der Erforschung der CIs war die bilaterale Implantation. Nur mit einer bilateralen Implantation ist eine Unterscheidung der interauralen Laufzeitdifferenz (ITD) und der interauralen Lautstärken (ILD) und damit das Richtungshören sowie ein Sprachverstehen in einer lauten Umgebung möglich. Prof. Joachim Müller und seine Mitarbeiter an der Julius-Maximilians-Universität in Würzburg untersuchten die Vorteile einer bilateralen CI-Implantation (Müller et al., 2002). Prof. Joachim Müller und Prof. Jan Helms implantierten 1996 das erste bilaterale CI und schließlich 1998 das erste bilaterale Implantat bei einem Kind (Dhanasingh & Hochmair, 2021a). Beide Patienten erhielten MED-EL-Implantate. Die Ergebnisse der ersten neun beidseitig implantierten Patienten werden in dem wissenschaftlichen Artikel von Müller et al. (2002) wiedergegeben. In dieser Studie wurde das Sprachverstehen von einseitig und beidseitig implantierten Patienten untersucht. Das Ergebnis der Studie zeigte, dass beidseitig implantierte Patienten in den Sprachtests bessere Resultate erzielen.

Dr. Christoph von Ilberg und seine Mitarbeiter an der J.W. Goethe-Universität in Frankfurt untersuchten die gleichzeitige akustische und elektrische Stimulation (EAS) in der Cochlea (Von Ilberg et al., 1999) und haben somit maßgeblich zu der Entwicklung des CI-EAS-Systems beigetragen. 2005 brachte MED-EL das erste EAS-System auf den Markt, welche dieses Verfahren nutzte (A. Dhanasingh & Hochmair, 2021b). Heutzutage sind die bilaterale CI-Implantation und die kombinierte EAS-Implantation operative Standardverfahren.

Für ihren Beitrag zur Entwicklung des modernen CIs bekamen Graeme. M. Clark, Ingeborg J. Hochmair und Blake S. Wilson 2013 den Lasker-DeBakey Clinical Medical Research Award überreicht.

Heutzutage liegt der Schwerpunkt der Forschung auf der Verbesserung des Elektrodendesigns, der Elektrodenlage, der Operationstechnik und der postoperativen Versorgung. All diese unterschiedlichen Ansatzpunkte haben das Ziel, das Sprachverstehen mit CIs und deren Langzeitverträglichkeit immer weiter zu steigern. Um diese verschiedenen Forschungsschwerpunkte besser zu verstehen, wird nachfolgend der Aufbau eines CIs dargestellt.

1.5 Funktion und Aufbau des Cochlea-Implantates

Bei einem mittelgradigen bis hochgradigen Hörverlust (siehe Abschnitt 1.2 und 1.3) kann ein CI das Hören wiederherstellen. Durch die elektrische Stimulation entlang des auditorischen Nervs wird unter Umgehung der Haarzellen die tonotope Information an das Gehirn weitergeleitet und ein Höreindruck vermittelt. Das CI hat zwei Funktionsbereiche: ein externer Audioprozessor, der mit dem Mikrofon und Batteriegehäuse verbunden ist und das Implantat, das aus einer hinter dem Ohr, unter der Haut, auf den Schädelknochen fixierten Spule und dem eigentlichen Implantat, das in die Cochlea inseriert wird, besteht (Abbildung 4).

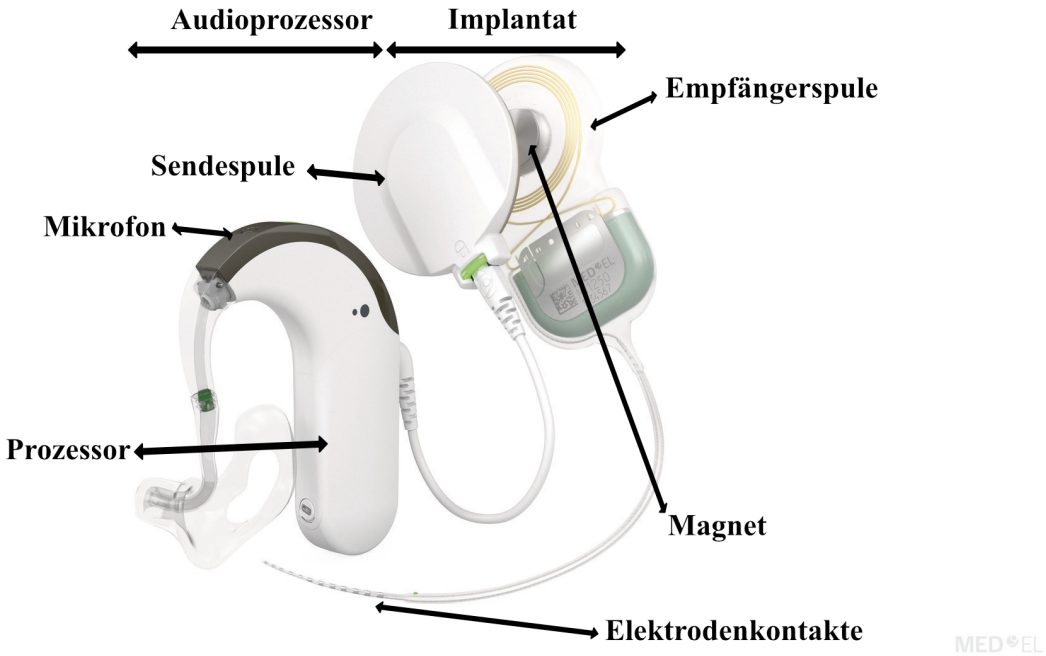


Abbildung 4: Grafische Darstellung des Aufbaus eines MED-EL SYNCHRONY EAS Systems mit SYNCHRONY 2 PIN Implantat und SONNET 2 EAS Audio Prozessor

Auf der Abbildung sind der Audioprozessor und das Implantat zu sehen. Der Audioprozessor besteht aus einem hinter dem Ohr getragenen Mikrofon, dem Prozessor, der Batterie und der Sendespule, die die akustisch aufgenommenen Informationen an die Empfängerspule weiterleitet. Das Implantat wird in den Schädelknochen eingesetzt und umfasst die Empfängerspule, den Magneten sowie die Elektrodenkontakte, die in der Scala tympani der Cochlea platziert sind. Übernommen und angepasst von MED-EL (n.d.).

Der Audioprozessor wird wie ein Hörgerät hinter dem Ohr getragen. Die Energieversorgung findet über Zink-Luft-Batterien oder Lithium-Ionen-Akkus statt, die entweder ausgetauscht oder aufgeladen werden (Zeng et al., 2008). So wird die Langlebigkeit der Energieversorgung gewährleistet; bei einem Energieausfall werden nur die Batterien ausgetauscht. Der Audioprozessor nimmt über das Mikrofon die Schallinformation auf, codiert die Signale und leitet diese an die Spule weiter (Deep et al., 2019). Kabellose Audioprozessoren inklusive eines Mikrofons, die direkt über einen Magneten unter der Haut mit der Spule verbunden sind (z.B. MED-EL Rondo 3), können kontaktlos aufgeladen und bequem am Kopf über den Magneten fixiert werden (MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH). Dies ist besonders komfortabel für Brillenträger und sportliche Aktivitäten. Auch die Kosmetik spielt eine Rolle, da der Prozessor unter den Haaren versteckt oder wahlweise mit einer bunten auswechselbaren Abdeckung als Schmuck oder als Statement getragen werden kann.

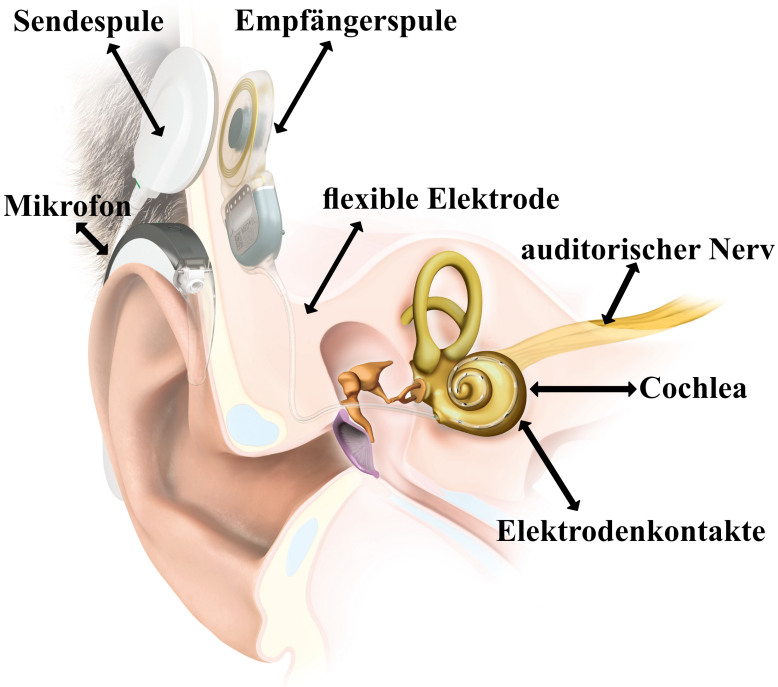


Abbildung 5: Grafische Darstellungen eines implantierten MED-EL CIs.

In dieser Abbildung ist das MED-EL SYNCHRONY EAS-System zu sehen, das aus dem SYNCHRONY 2 PIN-Implantat und dem SONNET 2 EAS-Audioprozessor besteht. Sie zeigt, wie die flexible Elektrode mit ihren Kontakten in die Cochlea eingeführt wird und dabei alle Bereiche abdeckt. Außerdem sind der äußere Teil des Systems, der den externen Audioprozessor umfasst (einschließlich Mikrofon, Batteriegehäuse und Sendespule), sowie der innere Teil des Implantats dargestellt, der aus der Empfängerspule, der flexiblen Elektrode und den Elektrodenkontakten besteht. Übernommen und angepasst von MED-EL(n.d.).

Die Spule ist über einen flexiblen Silikonträger, der die Platindrähte enthält und zur flexiblen Elektrode führt, mit den Kontakten verbunden. Die Elektrode wird durch das runde Fenster in die Cochlea eingeführt. Sie besteht aus Silikon, die über die Platindrähte verbundenen Kontakte auf der Oberfläche trägt (Rebscher, 2008). Die Anzahl der Kontakte beträgt je nach Hersteller der Elektrode zwischen 12 und 22, wobei diese die elektrischen Signale auf den auditorischen Nerv übertragen (Ertas et al., 2022). MED-EL bietet ein Cochlea-Implantatsystem mit 12 Kontakten, bei dem die Elektroden in Längen von 20 mm (FLEX20) bis 31,5 mm (FLEXSOFT) variieren. Im Vergleich dazu hat Cochlear ein System mit 22 Kontakten, jedoch sind die Elektroden kürzer, mit Längen von 14 mm bis 19,1 mm. Neben der Stimulationselektrode gibt es noch eine Referenzelektrode. Diese ist entweder eine separate Elektrode oder wird am metallischen Innengehäuse befestigt (Ramos et al., 2016). Zwischen den Stimulations- und Referenzelektrode kommt es zu einem Stromfluss.

Neben dem Aufbau des Implantates ist die Ton- bzw. Sprachkodierung entscheidend für die Funktionsweise des CIs. In der klinischen Anwendung werden bevorzugt zwei Strategien verwendet: die Kodierungsstrategie *Continuous Interleaved Sampling (CIS)* und die Strategie des *Fine Structure Processing (FSP)*. Die CIS-Strategie überträgt biphasische Pulse auf den auditorischen Nerv. Diese Strategie wurde eingeführt, um eine Kanalinteraktion zwischen den Elektroden zu vermeiden (Wilson et al., 1991). Bei dieser Strategie werden jedoch lediglich die Information der Einhüllenden von den Signalanteilen verwendet, während die Feinstruktur verworfen wird (Kan & Litovsky, 2015). Die Feinstruktur ist jedoch wichtig für die Tonhöhenwahrnehmung und das Richtungshören (Smith et al., 2002).

Daher wurde die Kodierungsstrategie FSP entwickelt. Diese nutzt nun zusätzlich zur Amplitudeninformation der Einhüllenden, die zeitliche Information der Feinstruktur (Ausili et al., 2020). Mit dieser Kodierungsstrategie soll das Musikhörerlebnis und das Richtungshören bei CI-Patienten verbessert werden und die Sprachsignale natürlicher klingen (Laback et al., 2015).

Das CI ist bis heute die erfolgreichste Neuroprothese (Kansaku, 2021), die standardmäßig eingesetzt wird und die Einzige, die einen der Sinne ersetzen kann. Die Wiederherstellung der Hörfähigkeit erlaubt es Menschen mit einem eingeschränkten Hörvermögen an einem normalen Leben teilzunehmen.

Zu Beginn dieses Kapitels (siehe Abschnitt 1.2) wurden die Gradienten des Hörvermögens und die verschiedenen Arten des Hörverlustes erläutert. Auch die Therapiemöglichkeiten zur Behandlung eines Hörverlusts wurden angesprochen (siehe Abschnitt 1.3). Im Folgenden werden die präoperative Diagnostik sowie die Faktoren, die den Erfolg einer Implantation beeinflussen, detailliert erläutert.

1.6 Präoperative Diagnostik

Vor jeder Cochlea-Implantation wird der Hörverlust des Patienten durch eine Reihe von audiologischen Tests und bildgebenden Verfahren untersucht, um die Funktionalität des auditorischen Nervs und der Cochlea zu bewerten (Lenarz et al., 2022). Zur Bestimmung der Hörschwelle wird eine BERA (Hirnstammaudiometrie) durchgeführt. Bei mittlerem bis starkem Hörverlust kommt zusätzlich ein Promontorialtest zum Einsatz, um die Funktion des Hörnervs zu überprüfen (Lenarz et al., 2022; Santarelli et al., 2015). Außerdem wird die Cochlea mit einem CT untersucht, um individuelle Besonderheiten oder krankhafte Veränderungen festzustellen (Würfel et al., 2014). Zeigen sich Hinweise auf eine Infektion, Otosklerose oder Fehlbildung, wird meist zusätzlich ein MRT gemacht, um den Hörnerv genauer darzustellen (Lenarz, 2017). Die Entscheidung für die Implantation basiert somit auf der Art und dem Ausmaß des Hörverlusts, sowie den Ergebnissen der diagnostischen Untersuchungen. Neben der Art und dem Schweregrad des Hörverlustes sind das Alter und der Zeitpunkt der Cochlea-Implantation wichtige Faktoren für eine erfolgreiche Behandlung (Lenarz et al., 2022).

Frühere Studien haben gezeigt, dass das optimale Alter für eine Cochlea-Implantation bei gehörlosen Kindern zwischen drei und vier Jahren liegt, da in diesem Zeitraum das auditorische System die größte Plastizität aufweist, was die kortikale Reifung begünstigt (Kral & Sharma, 2012). Eine weitere Untersuchung zeigte jedoch, dass die besten Hörergebnisse bei einer Implantation im Alter von ein bis drei Jahren erreicht werden (Niparko et al., 2010), und weitere Forschungsergebnisse deuten darauf hin, dass Kinder, die vor ihrem zweiten Geburtstag implantiert wurden, in Bezug auf Sprach- und Sprechfähigkeiten die besten Ergebnisse erzielen (Geers et al., 2007; Nicholas & Geers, 2013; Niparko et al., 2010; Tajudeen et al., 2010). Ab einem Alter von zwei Jahren zeigt sich bei früh- oder kongenital gehörlosen Kindern eine zunehmende Beeinträchtigung der Sprachentwicklung (Dazert et al., 2020).

Daher wird heute empfohlen, die Implantation vor dem ersten Lebensjahr durchzuführen (S. S. Wu et al., 2023), um die Plastizität des Gehirns optimal zu nutzen. Besonders betont wird dabei, dass der zeitliche Abstand zwischen der Implantation beider Ohren möglichst gering gehalten werden sollte (Gordon et al., 2011). Kinder,

die bereits vor dem ersten Lebensjahr ein Cochlea-Implantat erhalten, haben deutlich bessere Hörergebnisse und zeigen weniger oder keine Verzögerungen im Spracherwerb im Vergleich zu Kindern, die erst nach dem zweiten Lebensjahr implantiert werden (Kral & O'Donoghue, 2010). Dies deutete darauf hin, dass es eine kritische Zeitspanne geben muss, in der prälingual ertaubte Kinder behandelt werden sollten (Fryauf-Bertschy et al., 1997; Niparko et al., 2010).

Die Plastizität des Gehirns spielt auch bei prälingualem Hörverlust eine große Rolle. Akustische Stimuli sind entscheidend für die normale Reifung und Konnektivität des auditorischen Systems, und ein Mangel an diesen Reizen führt zu kortikalen Umstrukturierungen, die die Sprachentwicklung negativ beeinflussen (Kral & O'Donoghue, 2010; Kral & Sharma, 2012; Lee et al., 2001; Park et al., 2018; Polonenko et al., 2017; Sharma et al., 2002).

Die Mechanismen der Plastizität, die sowohl bei Kindern als auch bei Erwachsenen nach einem Hörverlust eine zentrale Rolle spielen, verdeutlichen die Bedeutung eines zeitgerechten Eingriffs. Bei postlingual ertaubten Erwachsenen führt eine zu lange Verzögerung zwischen dem Hörverlust und der Cochlea-Implantation zu einer Umstrukturierung des auditorischen Kortex (Sharma & Glick, 2016), der zunehmend für visuelle oder somatosensorische Reize genutzt wird, was das Hören erschwert (Campbell & Sharma, 2016; Chen et al., 2016). Diese Umstrukturierungen können, wie bei prälingual ertaubten Erwachsenen, die erst spät implantiert werden, zu Defiziten im Sprachverstehen führen (Buckley & Tobey, 2011; Doucet et al., 2006; Kral & Eggermont, 2007; Lazard et al., 2013, 2014; Su et al., 2004; Teoh et al., 2004).

Um das Potenzial der Cochlea-Implantation trotz der plastischen Veränderungen optimal zu nutzen, gewinnt die präoperative Planung und individuelle Anpassung der Implantation zunehmend an Bedeutung. So ermöglicht die präzise Vermessung der Cochlea mittels Mikrocomputertomografie (CT) und die Auswahl individueller Elektrodenlängen eine verbesserte Anpassung der Elektroden an die Anatomie der Cochlea (Avci et al., 2014), was zu besseren Sprachverständnis bzw. zu einem schnelleren Hörerfolg führen kann (Dessard et al., 2024). Diese Planung wird durch spezialisierte Programme wie OTOPLAN unterstützt, die eine detaillierte Vorbereitung der Operation ermöglichen (Dhanasingh, 2021).

Diese präzise Anpassung der Elektroden ist besonders wichtig, da längere oder vorgeformte Elektroden das Risiko einer Taubheit deutlich erhöhen können (Avci et al., 2014; Suhling et al., 2016). Die Anatomie der Cochlea, insbesondere die abnehmende Höhe der Scala tympani, erhöht das Risiko mechanischer Schäden, wenn eine Eindringtiefe von mehr als 18 mm überschritten wird (Lenarz et al., 2022). Ab diesem Punkt steigt die Wahrscheinlichkeit, dass die Elektrode die basale Membran berührt und Schäden verursacht. Diese Risiken variieren je nach Länge und Form der Cochlea, aber generell steigt das Risiko bei Eindringtiefen über 18 mm, vor allem bei der Verwendung längerer Elektroden (Lenarz et al., 2019, 2020).

1.7 Reaktion des Körpers auf eine Implantation

Während die sorgfältige Planung und Auswahl des Implantats für den chirurgischen Erfolg entscheidend sind, bleibt nicht zu vernachlässigen, dass auch die Reaktion des Körpers auf das Implantat eine zentrale Rolle

spielt. In diesem Kontext ist die Biokompatibilität der verwendeten Materialien von großer Bedeutung, da sie die Art der Abwehrreaktion des Körpers beeinflusst. Daher ist es wichtig, nicht nur die technischen und anatomischen Aspekte der Implantation zu berücksichtigen, sondern auch die biologischen Reaktionen, die durch die Einführung eines Fremdkörpers im Körper hervorgerufen werden.

Daraus ergibt sich, dass sämtliche Implantate in der Medizin aus biokompatiblem Material bestehen sollten. Black (2005) definierte Biokompatibilität als die Eigenschaft eines Materials, in einer bestimmten Situation eine angemessene Immunreaktion im Körper auszulösen. Dies ist besonders wichtig, da Implantate häufig über längere Zeiträume mit dem umliegenden Gewebe in Kontakt stehen und optimalerweise eine kontrollierte Immunreaktion hervorrufen sollten. Diese Abwehrreaktion, auch Immunreaktion genannt, richtet sich normalerweise gegen fremde Proteine oder Materialien und kann im Fall von Autoimmunerkrankungen sogar körpereigene Strukturen betreffen.

Vor diesem Hintergrund ist die Verwendung von Silikon als Implantatmaterial besonders vorteilhaft. Silikone zeichnen sich durch ihre hohe Biokompatibilität und Biobeständigkeit aus. Diese Eigenschaften, kombiniert mit ihrer chemischen Stabilität, Hydrophobie und Hitzebeständigkeit (Zare et al., 2021), machen sie ideal für zahlreiche medizinische Anwendungen. Die Grundstruktur der Siloxane besteht aus einem Siliziumatom, einem Sauerstoffatom und zwei Methylatomen -($Si(CH_3)_2O$). Wiederholt man diese Struktur, entsteht Polydimethylsiloxan (PDMS), das heute das bekannteste Silikon ist (Kaoutzanis et al., 2019; Ratner et al., 2004). Schon 1946 beschrieb Dr. Frank H. Lahey den Einsatz von Silikon bei einer Operation am Gallengang (Lahey, 1946). Das Silikon wurde von der General Electric Company (GE) hergestellt und 1948 auch bei einer künstlichen Harnröhre von Dr. De Nicola verwendet (De Nicola, 1950). Heute wird Silikon in vielen medizinischen Anwendungen genutzt, z.B. bei Gelenkimplantaten, Kathetern, Drainagen, Shunts, Dialysegeräten, in Herz-Lungen-Maschinen und besonders in der plastischen Chirurgie (Ratner et al., 2004).

Trotz der hohen Biokompatibilität von Silikon reagiert der Körper jedoch oft mit einer sogenannten Fremdkörperreaktion auf implantierte Materialien. Dabei handelt es sich um eine Abwehrreaktion, bei der das Immunsystem das Implantat durch Phagozytose zu isolieren oder zu eliminieren versucht (Veiseh & Vegas, 2019). Diese Reaktion, die dem unspezifischen zellulären Immunsystem zugeordnet wird (Kyriakides et al., 2022), führt zur Einkapselung des Implantats und stellt eine natürliche Schutzmaßnahme des Körpers dar (Chandorkar et al., 2019).

Die Fremdkörperreaktion beginnt mit einer akuten Entzündungsreaktion. Zunächst bildet sich eine provisorische Hülle aus Proteinen um das Implantat (Anderson et al., 2008; Sheikh et al., 2015) und Neutrophile streben in das Entzündungsareal. Diese Proteinanlagerung entsteht durch Blutungen sowie durch die bloße Anwesenheit eines Fremdkörpers. Diese Phase geht in eine chronische Entzündungsreaktion über, bei der sich Makrophagen und Monozyten am Implantat anlagern (Anderson et al., 2008). Schließlich verschmelzen die Makrophagen zu einer vielkernigen Fremdkörperriesenzelle, einem Syncytium (Kyriakides et al., 2022). Makrophagen ziehen Fibroblasten an, die dann eine Struktur namens Extrazellulärmatrix bilden (Wight & Potter-Perigo, 2011). Zusammen mit den Fremdkörperriesenzellen und der Extrazellulärmatrix entsteht eine Kapsel aus

Bindegewebe, die als Fremdkörpergranulom bezeichnet wird (Anderson et al., 2008; Sheikh et al., 2015; Wynn & Vannella, 2016). Die Bildung der Kapsel stellt den Versuch des Körpers dar, das Material zu beseitigen.

Eine Fremdkörperreaktion kann die Funktion eines CIs durch die fibröse Bindegewebekapsel negativ beeinflussen.

1.8 Reaktion des Körpers auf eine Cochlea-Implantation

Bei der Reaktion des Körpers auf eine Cochlea-Implantation spielt die flexible Elektrode des CIs eine wichtige Rolle. Diese Elektrode, die während der Implantation in die Scala tympani der Cochlea eingesetzt wird, besteht ebenfalls aus dem biokompatiblen Material Silikon. Nach der Implantation kann es daher zu einer Entzündungsreaktion mit einer fibrotischen Reaktion um das Implantat kommen (Clark et al., 2014; Kamakura & Nadol, 2016). Die Fibrose, also die Bindegewebekapsel, die sich um die Elektrode herum auf Grund der chronischen Entzündung und der Fremdkörperreaktion bildet, wird im Folgenden fibröse Bindegewebekapsel genannt. Die fibröse Bindegewebekapsel besteht aus der extrazellulären Matrix, das von Fibrozyten gebildete Kollagen. Eine dünne fibröse Bindegewebekapsel um die Elektrode ist in den meisten Fällen nicht problematisch, ein überschießendes Wachstum (Fibrose) und, im Extremfall, eine Verknöcherung kann jedoch zu Problemen führen (Ryu et al., 2015).

Die Gewebereaktion wird durch das körperfremde Material (Silikon) und das Implantationstrauma, also das Einführen der Elektrode, ausgelöst. Während der Implantation kann es zu Verletzungen der knöchernen Lamina spiralis, der Basilarmembran oder der Stria vascularis kommen (Fayad et al., 2009; Li et al., 2007; Somdas et al., 2007). Einige Studien haben einen Zusammenhang zwischen Verletzung der lateralen Wand und dem Grad an Fibrose und der Knochenneubildung (=Neoossifikation) gezeigt. Diese Studien gehen davon aus, dass die Verletzungen der lateralen Wand die Auslöser für die Entzündungsreaktionen sind (Kamakura & Nadol, 2016; Shepherd et al., 1994). Bei der Verwendung von weichen, flexiblen Elektroden scheint eine Schädigung cochleärer Strukturen jedoch minimiert. Im Gegensatz dazu haben perimodiolare Elektroden ein größeres Beschädigungsrisiko vor allem in Hinsicht auf das Umklappen der Elektrodenspitze („kinking“) oder das Verletzen der Reissner’schen Membran sowie das Eindringen der Elektrodenspitze in die Scala vestibuli („transgression“) auf Grund der Vorkrümmung des CIs (Boyer et al., 2015; Jwair et al., 2021; Mady et al., 2017; Van de Heyning et al., 2022)

Bei einer Cochlea-Implantation kommt es zu keiner systemischen Entzündungsreaktion, da das Implantat und der Ort der Implantation, die Cochlea, sehr klein sind. Dennoch kann auch eine schwache lokale Entzündungs- bzw. Fremdkörperreaktion nachteilige Folgen haben, insbesondere in Bezug auf den Hörerhalt (d.h. noch verbliebene Haarzellen) (Kamakura et al., 2018), die Impedanz (Ishai et al., 2017) und die Reimplantation (Benatti et al., 2013; Nadol et al., 2014).

Eine Fibrose hat möglicherweise einen Einfluss auf die Vibration der Basilarmembran und könnte eine Ursache für einen verzögerten Hörverlust im Resthörvermögen des tieffrequenten Bereichs darstellen (Kiefer et al., 2006; Quesnel et al., 2016). Dieser Hörverlust kann zwischen drei Monaten und drei Jahren nach der

Implantation auftreten (Jurawitz et al., 2014; Kopelovich et al., 2014; Van Abel et al., 2015). Gerade bei einem Hörverlust im hochfrequenten Bereich mit Resthörvermögen im tieffrequenten möchte man mit CIs und kombinierten EAS-Implantaten die intakten Haarzellen im apikalen Bereich der Cochlea erhalten. Welche Vorgänge genau für diesen Hörverlust verantwortlich sind, ist bisher unbekannt. Mögliche Gründe könnten neben einer Fibrose auch die damit einhergehende Entzündungsreaktion (Rizer et al., 1988), oxidativer Stress oder eine Apoptose der Haarzellen sein (Eshraghi et al., 2005, 2006). Auch eine Exzitotoxizität, also ein Hörverlust infolge überschwelliger akustischer und elektrischer Stimulation, wird als mögliche Ursache diskutiert (Tanaka et al., 2014). Weitere potenzielle Ursachen könnten Veränderungen in der Zusammensetzung der cochleären Flüssigkeit (Kopelovich et al., 2014) oder eine Gefäßverletzung sein (Wright & Roland, 2013). Zudem kann eine Cochleostomie das Endosteum traumatisieren und einen Hydrops auslösen, was zu einem verzögerten Hörverlust im tieffrequenten Bereich führen kann (Ishiyama et al., 2016; Linthicum et al., 2017).

Eine sehr stark ausgeprägte Fibrose, die unter Umständen mit einer teilweisen bis vollständigen Verknöcherung einhergeht, kann eine erhöhte Impedanz erzeugen (Duan et al., 2004). Die Impedanz beschreibt den Widerstand zwischen der Stimulations- und der Referenzelektrode. Steigt die Impedanz, wird mehr Spannung benötigt, um die benötigte Stromstärke auf die Elektrode zu übertragen. Dieser Mehraufwand kann zu einer reduzierten Batterielaufzeit führen (Wilk et al., 2016). Gleichzeitig bedeutet es, dass der dynamische Bereich der Lautstärkeeinstellung durch die hohen Impedanzen stark vermindert ist (Wu et al., 2013). Für den CI-Träger heißt das, dass er die Lautstärke seines CIs nicht mehr uneingeschränkt nach seinen Bedürfnissen einstellen kann und somit eine Nutzungseinschränkung in Kauf nehmen muss.

Wie oben erwähnt, kann eine Fremdkörperreaktion auch zu einer Neoossifikation, also zur Neubildung von Knochengewebe führen. Eine Neoossifikation kann das Einführen der Elektrode im Falle einer Reimplantation (CI-Ausfall durch Beschädigung, Austausch auf Grund des Alters des CIs) erschweren (Alexiades et al., 2001). Das neue Gewebe in der Scala tympani kann den für die Implantation benötigten freien Raum einschränken und zu einer unvollständigen Implantationstiefe führen, sodass die Anzahl der benutzbaren Kontakte eingeschränkt wird (Reis et al., 2017).

Optimale Bedingungen für eine Reimplantation sind besonders wichtig, da CIs in Anbetracht der zunehmenden Lebenserwartung der Bevölkerung nach längerer Laufzeit ausgetauscht werden müssen (Ketterer et al., 2024). Die Studie untersuchte die Gründe für eine Reimplantation und stellte fest, dass technische Defekte der häufigste Grund dafür waren, gefolgt von medizinischen Gründen. Die Studie von Ketterer et al. (2024) umfasste Daten von 1993 bis 2020 und insgesamt 4036 Implantationen, bei denen 214 Patienten reimplantiert werden mussten. Bei einem technischen Defekt als Ursache für die Reimplantation betrug die durchschnittliche Dauer der CI-Nutzung bis zur Reimplantation 8,4 Jahre. Die meisten Reimplantationen aufgrund medizinischer Komplikationen wurden innerhalb der ersten 2 Jahre nach der Initialimplantation durchgeführt. Im Durchschnitt erfolgte die Reimplantation aufgrund technischer Defekte oder medizinischer Gründe 6,51 Jahre nach der Erstimplantation.

Eine Untersuchung aus dem Jahr 2021 mit 423 Patienten ergab, dass 6,3 % von ihnen reimplantiert werden mussten. Die Gründe für die Reimplantation bei Kindern waren entweder medizinisch bedingt (23,8 %) oder auf technische Defekte der Implantate zurückzuführen
(76,2 %) (Gumus et al., 2021).

In der Studie von Ketterer et al. (2024) wurde außerdem die Überlebensdauer von Cochlea-Implantaten verschiedener Hersteller verglichen. Die prozentuale Überlebensdauer nach 10 Jahren beträgt für Advanced Bionics 96,6 %, für Cochlear™ 96,6 % und für MED-EL 98,6 %. Nach 20 Jahren liegt die Überlebensrate bei Advanced Bionics bei 95,2 %, bei Cochlear™ bei 90,2 % und bei MED-EL bei 96,1 %. Die Autoren fanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Implantaten der drei Hersteller MED-EL, Cochlear™ und Advanced Bionics, stellten jedoch fest, dass die Implantate von MED-EL im Vergleich zu denen von Cochlear™ eine signifikant längere Überlebensdauer aufwiesen ($p = 0,01$) (Ketterer et al., 2024).

1.9 Eindämmung der Fremdkörperreaktion

Um die negativen Auswirkungen der beschriebenen Gewebereaktionen zu minimieren, gibt es seit der ersten Cochlea-Implantation verschiedene Strategien und Methoden, die darauf abzielen, die fibrotische Reaktion und die Knochenneubildung zu reduzieren. Diese Bemühungen sind entscheidend, um das Resthörvermögen zu erhalten und die nachteiligen Folgen einer Fremdkörperreaktion einzuschränken.

Seit 1993 arbeitet man mit einer schwach-traumatischen Insertionstechnik, um das Implantationstrauma und die hierdurch entstehenden Folgen zu minimieren (Hartl et al., 2019; Lehnhardt, 1993). Bei dieser Technik wird versucht, die Elektrode mit minimalem Druck und möglichst strukturschonend einzuführen. Bei unachtsamer Implantation kann durch das Einführen der Elektrode ein Druck erzeugt werden, welcher hohen Lautstärken entspricht (Hartl et al., 2018; Greene et al., 2016) und somit das Resthörvermögen schädigt (Ryan et al., 2016).

Sikka et al. (2017) konnte zeigen, dass eine Cochleostomie mehr Trauma verursacht als eine Rundfensterinsertion. Bei einer Cochleostomie wird das Implantat über ein ventral zum runden Fenster gebohrtes Loch in die Scala tympani der Cochlea eingeführt. Bei einer Insertion des CIs über die Membran des runden Fensters wird das Implantat durch das runde Fenster der Cochlea eingesetzt, was schonender ist. Im Vergleich zur klassischen Cochleostomie, bei der gebohrt wird, ist das Risiko, dass Knochenstaub und Blut in die Cochlea gelangen und dadurch Fibrose oder Knochenneubildung entstehen, bei dieser Technik zwar nicht ganz ausgeschlossen, aber deutlich geringer (Friedland & Runge-Samuelson, 2009; Khater & El-Anwar, 2017). Daher wird inzwischen außer in anatomisch komplizierten Fällen (Cochlea-Fehlbildungen) fast ausschließlich über das runde Fenster implantiert.

Der Einsatz von entzündungshemmenden Pharmaka wie z. B. Glucocorticoiden ist Gegenstand intensiver Forschung, da es die Fibrose reduzieren und das Resthörvermögen erhalten kann (Ardıç et al., 2023; Braun et al., 2011; Eshraghi et al., 2007; Hütten et al., 2014; Parys et al., 2022; Scheper et al., 2017; Skarżyńska et al., 2022; Wilk et al., 2016). Wilk et al. (2016) untersuchte die Auswirkung von Dexamethason auf die Impedanz und die

Fibrose. Das Resultat dieser Studie zeigte, dass Dexamethason die Impedanz sowie die Fibrose signifikant reduziert.

Weitere Ansätze umfassen die Untersuchung der Wirkung von Antioxidantien in Kombination mit Glucocorticoiden (Angeli et al., 2024) sowie von Vasodilatatoren in Kombination mit Antioxidantien (Scheper et al., 2020). Die Ergebnisse der klinischen Studie mit CI-Trägern von Scheper et al. (2020) deuten darauf hin, dass sich die präoperative Gabe von Antioxidantien und einem Vasodilatator positiv auf den Erhalt des Resthörvermögens auswirken könnte. Scheper et al. (2020) analysierte auch die Wirkung von *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF) auf die Degeneration von Spiralganglienzellen im Meerschweinchen. Eine gleichzeitige Gabe von BDNF und elektrischer Stimulation führt im Vergleich zum unbehandelten Ohr zu einer höheren Dichte an SGN (Scheper et al., 2020).

Diese Ergebnisse sind vielversprechend. Es wäre jedoch sehr vorteilhaft, die Beschichtung der Implantate so zu gestalten, dass eine Entzündungsreaktion möglichst ohne Medikamente eingedämmt oder verhindert werden kann. Die chemischen, physikalischen und strukturellen Eigenschaften der Beschichtung beeinflussen die Reaktion des Körpers auf das Implantat und sind entscheidend für die Steuerung dieser Reaktion (Anderson et al., 2008).

1.10 Elektrodenbeschichtungen und ihr Einfluss auf die Fremdkörperreaktion

Um die negativen Auswirkungen der Gewebereaktionen, die bei Cochlea-Implantationen auftreten können, zu minimieren, wurden im Laufe der Zeit verschiedene Strategien entwickelt. Diese reichen, wie in Abschnitt 1.9 beschrieben, von schonenden Implantationstechniken bis hin zum Einsatz von Medikamenten zur Reduzierung von Entzündungen. Besonders relevant ist dabei die Beschichtung der Implantate, die die Reaktion des Körpers auf das Implantat beeinflusst. In Kapitel 1.10 wird beschrieben, wie die Beschaffenheit der Elektrodenbeschichtungen die Immunreaktion moduliert. Dabei spielen die Proteine, die sich aus der Perilymphe an der Oberfläche der Implantate anlagern, eine entscheidende Rolle (Chen et al., 2020). Die Art und Menge dieser Proteine hängt stark von der Beschichtung des Implantats ab (Anderson et al., 2008), was die Bedeutung der Oberflächenbeschichtung für die Steuerung der Immunantwort unterstreicht.

In den letzten Jahren wurden daher zunehmend mehr CI-Elektrodenbeschichtungen untersucht, die gezielt darauf abzielen, die Immunantwort, die Entzündungsreaktion, die Fremdkörperreaktion und die Fibrose zu verringern. Innovative Beschichtungsmethoden, die das Potenzial zur Modulation dieser Reaktionen haben, sind besonders vielversprechend. Zu den untersuchten Beschichtungen gehören unter anderem das anorganische Polymer Poly[bis(trifluoroethoxy) Phosphaten] (PTFEP), zwitterionische Beschichtungen, leitfähige Hydrogel (CH)-Beschichtungen, Polyvinylalkohol (PVA)-Beschichtungen, Silikonfaser-
beschichtungen und Dexamethason-freisetzende Beschichtungen. Im Folgenden wird auf die Ergebnisse der jeweiligen Beschichtungsmethoden eingegangen.

1.10.1 Anorganische Polymer Poly[bis(trifluoroethoxy) Phosphaten] (PTFEP)

Im Rahmen einer Dissertationsarbeit wurde das anorganische Polymer Poly[bis(trifluoroethoxy) Phosphaten] (PTFEP) als Beschichtung von CIs untersucht (Fischer, 2015). Über einen Zeitraum von 16 Wochen wurde die Auswirkung der Beschichtung auf das Hörvermögen und die Immunreaktion im Meerschweinchen erforscht. Die Studie zeigte, dass die chronische lymphoplasmazelluläre Infiltration bei beschichteten Implantaten in der basalen Windung signifikant reduziert war. Ebenso war die Anzahl degenerierter Spiralganglienzellen (SGN) in den Rosenthalkanälen der basalen Windung geringer.

1.10.2 Zwitterionische Beschichtungen

Zwitterionische Beschichtungen sind eine weitere vielversprechende Entwicklung in der CI-Forschung. Diese Materialien enthalten sowohl kationische als auch anionische Gruppen in gleichen Mengen und werden aufgrund ihrer herausragenden hydrophilen und Anti-Fouling-Eigenschaften eingehend untersucht (Gao et al., 2010; Jiang & Cao, 2010; Yu et al., 2021). Durch Ion-Dipol-Wechselwirkungen mit Wassermolekülen können Zwitterionenmaterialien eine stabile Hydratschicht bilden. Diese Hydratschicht erhöht die Hydrophilie erheblich und reduziert die Anhaftung von Proteinen, Zellen und Bakterien (Yang et al., 2022; Zhou et al., 2020). Dadurch werden Reibung und Einführkräfte verringert sowie die Fremdkörperreaktion minimiert. Die Hauptarten dieser Beschichtungen umfassen Sulfobetainmethacrylat (SBMA), Carboxybetainmethacrylat (CBMA) und Polydopamin (PDA), welche jeweils einzigartige Vorteile bieten, die die Leistung und Langlebigkeit von CIs verbessern. Im Folgenden werden die spezifischen Vorteile und Arten der Beschichtung detailliert beschrieben:

1. Reduzierung von Reibung und Einführkräften: Im Jahr 2021 wurde festgestellt, dass zwitterionische Beschichtungen von CIs die Einführkräfte während der Implantation reduzieren (Bennion et al., 2021). Die Studie beinhaltete die Anwendung von Dünnschichtbeschichtungen aus zwitterionischem Sulfobetainmethacrylat (SBMA) auf Polydimethylsiloxan (PDMS, Silastic) Proben sowie auf Elektrodenträger von *Cochlear Slim Straight* und *Advanced Bionics Slim J-Elektroden*. Die Verwendung von SBMA-Beschichtungen führte zu einer Reduktion der Einführkräfte um ca. 40 % bei menschlichen Kadaver-Cochleae ($p<0,001$) (Bennion et al., 2021). Darüber hinaus verringerte die SBMA-Dünnschichtbeschichtung auf PDMS die Reibungskoeffizienten um >90 % im Hautgewebe von Meerschweinchen ($p<0,0001$) (Bennion et al., 2021).

2. Haltbarkeit: Zwitterionische Hydrogelbeschichtungen bewiesen unter verschiedenen Bedingungen, einschließlich vollständiger Trocknung und Rehydratation, ihre hohe Schmierfähigkeit und mechanischen Eigenschaften (Peel et al., 2024).

3. Antifouling-Eigenschaften: Zwitterionische Beschichtungen zeigten einen starken Antifouling-Effekt, indem sie auch nach sechsmonatiger subkutaner Inkubation ihre Eigenschaften beibehielten, was zu einer Reduktion von Entzündungen und Kapseldicke um das Implantat führte (Horne et al., 2023).

4. Reduzierung von Fibrose: Im Jahr 2023 wurde die anti-fibrotische Wirkung von Poly(carboxybetainemethacrylat) (pCBMA) Dünnfilm-Hydrogelen auf PDMS und CI-Elektrodenträger untersucht. Die Dicke der fibrotischen Kapsel war bei CI-Elektrodenträgern mit pCBMA-Beschichtung im

Vergleich zu unbeschichteten Implantaten um 50-70 % reduziert (Horne et al., 2023) . Eine weitere Studie von Chen et al. (2023) entwickelte eine zwitterionische Beschichtung aus Polysulfobetainmethacrylat (PSB) und Polydopamin (PDA) für CIs, welche die Fibrose reduzierte und das Resthörvermögen erhielt. Um die antifibrotische Wirkung der PSB-PDA-Beschichtung *in vivo* zu überprüfen, wurden unbeschichtete und PSB-PDA-beschichtete Elektrodenträger von MEDEL aus Silikon für 28 Tage unter die Haut von Ratten implantiert. Zur Erstellung eines CI-Rattenmodells zur Überprüfung des Resthörvermögens wurden Elektrodenträger von MEDEL aus Silikon bis zu einer Tiefe von 3 mm in die Scala tympani eingeführt.

5. antibakterielle Eigenschaften: Eine Forschergruppe untersuchte im Jahr 2023 die antibakteriellen Eigenschaften von zwitterionischen Beschichtungen mit Kupfer. Die PSB/PDA(Cu)-Beschichtung zeigte hervorragende antiinflammatorische, starke antibakterielle und ausgezeichnete antibiofilmische Eigenschaften gegen grampositive und gramnegative Bakterien (Chen et al., 2023). Die Studie umfasste In-vivo-Tests bei Mäusen. Die mit einer Beschichtung versehenen Proben wurden in die Haut auf dem Rücken der Mäuse implantiert. Danach wurden 100 µl einer bakteriellen Suspension (107 CFU/ml) in 0,9 % NaCl auf die Oberfläche der Proben aufgetragen.

Trotz ihrer Wirksamkeit mit Reduktion der Fremdkörperreaktion fehlt es den zwitterionischen Polymersystemen oft an Robustheit für den langfristigen Einsatz medizinischer Implantate (Horne et al., 2023). Die Bildungsrate ist niedrig, und die Vorbereitungszeit lang, während die bakterizide Kapazität unzureichend ist (Chen et al., 2023).

1.10.3 Leitfähige Hydrogel-Beschichtungen (CH-Beschichtung)

CH-Beschichtungen wurden erforscht, um die Leistung von CIs zu verbessern. Diese Beschichtungen sollen die elektrischen Eigenschaften optimieren, das mechanische Missverhältnis verringern und biologische Reaktionen wie Fremdkörperreaktionen und Entzündungen minimieren. Anhand aktueller Forschungsergebnisse wird beschrieben, wie leitfähige Hydrogel-Beschichtungen die Eigenschaften von CIs verbessern können.

1. Verbesserte elektrische Eigenschaften: Die CH-Beschichtungen erhöhen die Ladungsinjektionsgrenze signifikant und senken die Impedanz. Diese Verbesserungen bleiben über einen längeren Zeitraum erhalten, ohne sich zu verschlechtern (Dalrymple et al., 2020; Hassarati et al., 2014). Zwei-Komponenten-Beschichtungen, die leitfähige Polymere wie PEDOT mit Hydrogelen kombinieren, reduzieren ebenfalls die Elektrodenimpedanz und verbessern die Ladungsübertragung (Chikar et al., 2012).

2. Verbesserte mechanische Kompatibilität: CH-Beschichtungen bieten eine weiche Materialoberfläche, was das mechanische Missverhältnis zwischen dem Implantat und dem umliegenden Gewebe verringert. Dadurch wird ein angemessener Kontakt mit der Cochleawand aufrechterhalten (Hassarati et al., 2014).

3. Reduzierte Entzündungsreaktion: Beschichtungen, die entzündungshemmende Medikamente wie Dexamethason freisetzen, verringern das Wachstum von faserigem Gewebe und Entzündungen um das Implantat herum (Wrzeszcz et al., 2015; Xu et al., 2018).

1.10.4 Polyvinylalkohol (PVA) Beschichtung

In einer Studie von Tykocinski & Cowan (2005) wurde die Gewebereaktion und Biosicherheit von Elektrodenträgern untersucht, die mit Polyvinylalkohol (PVA) beschichtet waren. Das Ziel war es, die Eignung dieser Elektrodenträger zur Korrektur von vorgekrümmten Cochlea-Implantat-Elektrodenträgern zu überprüfen. Die Elektrodenträger wurden entweder subkutan oder in die Cochlea von Meerschweinchen implantiert und verursachten aufgrund der Dicke der Beschichtung und der Steifigkeit der Elektrodenträger ein starkes Implantationstrauma. Darüber hinaus wurde eine Reduzierung in der Dichte der Spiralganglienzellen in der basalen Windung der Scala tympani bei mit PVA beschichteten Elektrodenträgern festgestellt (Tykocinski & Cowan, 2005). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass PVA-Beschichtungen bei Cochlea-Implantat-Elektrodenträgern Gewebereaktionen und Implantationstrauma hervorrufen können.

1.10.5 Silikonfaserbeschichtung

Wie bereits in Abschnitt 1.7 beschrieben, zeichnen sich Silikone durch ihre hohe Biokompatibilität und Biobeständigkeit aus. Dank dieser Eigenschaften sowie ihrer chemischen Stabilität, Wasserabweisung (Hydrophobie) und Hitzebeständigkeit (Zare et al., 2021), eignen sich Silikone ideal für viele medizinische Anwendungen. Daher werden Silikonfaserbeschichtungen als vielseitige Methode eingesetzt, um die Oberflächenstruktur von CI-Elektroden zu verändern. Diese Beschichtungen erzeugen eine komplexe, mikrostrukturierte Oberfläche und erhöhen die Hydrophobie der Elektrode. Dies bringt mehrere Vorteile mit sich, wie z. B. die Hemmung des Wachstums und der Anhaftung von Fibroblasten, den Erhalt der Elektrodenimpedanz und das Ausbleiben toxischer Effekte (Dencker et al., 2017). In der Studie von Decker et al. (2017) wurden Silikonfaserbeschichtungen auf verschiedenen Substraten wie Graphitprobenhaltern, Glasdeckgläsern und CI-Elektrodenkontakten aufgebracht.

1.10.6 Dexamethason

Der Einsatz von entzündungshemmenden Medikamenten wie Glukokortikoiden kann die Bildung von Fibrose reduzieren und das Resthörvermögen erhalten (Ardıç et al., 2023; Braun et al., 2011; Eshraghi et al., 2007; Hütten et al., 2014; Parys et al., 2022; Scheper et al., 2017; Skarżyńska et al., 2022; Wilk et al., 2016). Eine vielversprechende Methode ist dabei die Integration von Dexamethason, einem Glukokortikoid, in das Silikonmaterial der CI-Elektroden. Dexamethason wirkt entzündungshemmend und seine kontinuierliche Freisetzung aus den Elektroden verringert das faserige Gewebewachstum um den Elektrodenträger herum, reduziert die Impedanzzunahme und zeigte konzentrationsabhängige Effekte. Wilk et al. (2016) zeigte, dass sowohl eine Konzentration von 1% als auch 10% (w/w) Dexamethason im Silikon des CI-Elektrodenträger effektiv ist, wobei die höhere Konzentration stärkere Effekte zeigte. Die experimentellen Ergebnisse wurden durch Implantationen in die Cochleae von Meerschweinchen über die runde Fenstermembran erzielt. Elektroden ohne Dexamethason dienten als Kontrollgruppe.

1.11 Produktion von Spinnenseide

Die bisher untersuchten Beschichtungen sind zwar biokompatibel und abbaubar, es handelt sich jedoch um künstliche Polymere. Ein großer Vorteil von Biopolymerbeschichtungen wie Spinnenseidenproteine im Vergleich zu künstlichen Polymeren ist, dass die Abbauprodukte aus einfachen Aminosäuren bestehen, die natürlicherweise im Körper vorkommen und nicht toxisch sind. Im Kapitel 1.11 wird näher auf die Herstellung und Eigenschaften von Spinnenseidenprotein eingegangen.

Natürliche Spinnenseide besteht aus verschiedenen Eiweißen, und je nachdem, wofür die Seide gebraucht wird – ob für Kokons, Netze oder Fäden zum Abseilen – ist die Zusammensetzung der Eiweiße unterschiedlich. Spinnen besitzen mehrere Drüsen, mit denen sie die Seide herstellen. Weibliche Radnetzspinnen können je nach Bedarf sieben verschiedene Arten von Seide produzieren (Gosline et al., 1986). Dazu gehören beispielsweise große und kleine Ampullenseide, flagelliforme Seide, Aggregat-Seide, Piriform-Seide, Tubiliform-Seide und Aciniform-Seide (vgl. Abbildung 6). Jede dieser Seidenarten hat ihre eigene Zusammensetzung und spezielle mechanische Eigenschaften. Beim Bau eines Radnetzes verwenden Spinnen fünf dieser sieben Seidenarten.

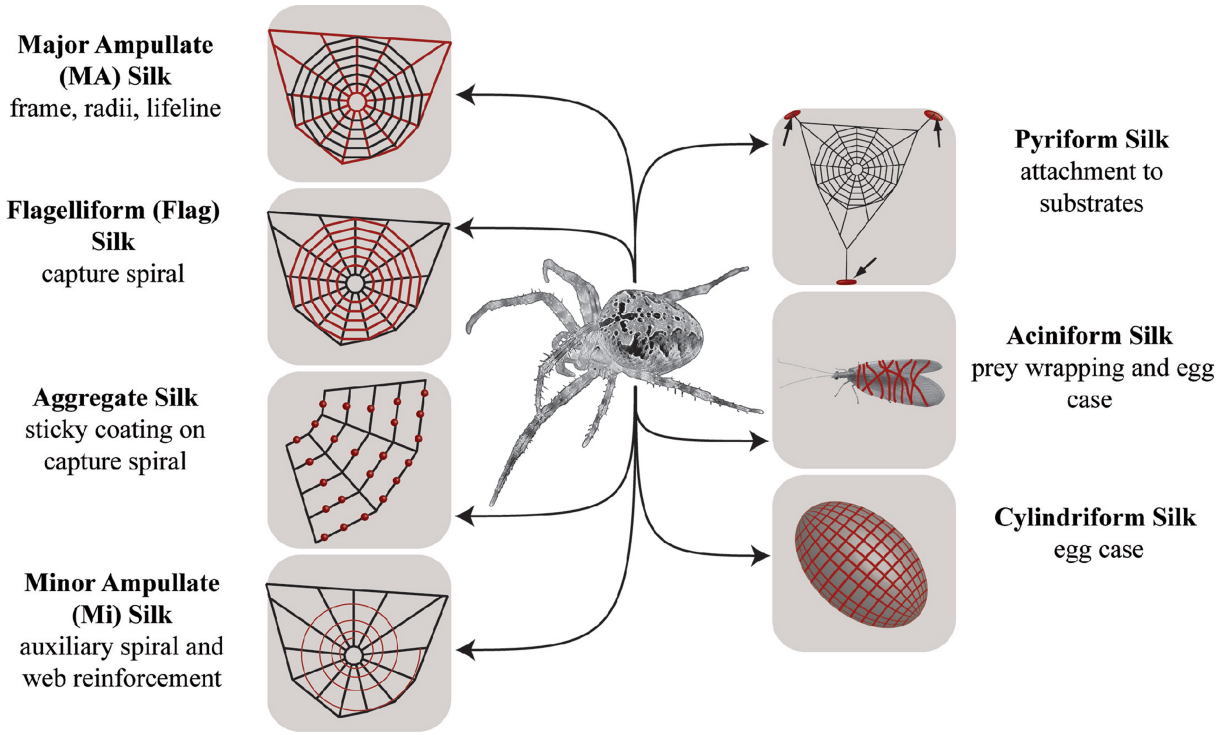


Abbildung 6: Spinnen-Seidenarten und ihre Funktion

In der Abbildung sind sieben verschiedene Seidenarten und ihre Funktionen dargestellt. Übernommen aus Eisoldt et al. (2011).

Die große Ampullendrüse (Major Ampullate, MA) der Spinnen produziert die sogenannte Dragline-Seide, die für die Speichen, den Rahmen und den Abseilfaden des Spinnennetzes verwendet wird (Vollrath & Porter, 2006). Da der Begriff „Dragline“ in der Materialwissenschaft gebräuchlich ist, wird er im Folgenden weiterhin verwendet.

Dragline-Seide ist die bislang am umfassendsten untersuchte Spinnenseidenart. Sie zeichnet sich durch ihre außerordentliche Zugfestigkeit sowie hohe Flexibilität aus (Gosline et al., 1986). Bei der Spinne *Nephila clavipes* besteht Dragline-Seide aus zwei Proteintypen, dem Major Ampullate Spidroin 1 und 2 (MaSp1, MaSp2) (Garb et al., 2019; Liu et al., 2008). Bei der Spinne *Araneus diadematus* setzt sich die Dragline-Seide aus den Proteinen ADF-3 (Araneus diadematus Fibroin 3) und ADF-4 (Araneus diadematus Fibroin 4) zusammen (Guerette et al., 1996).

Die natürliche Gewinnung von Spinnenseide gestaltet sich aufgrund des aufwendigen Prozesses und der geringen Ertragsmengen als schwierig. Zudem ist das „Melken" von Spinnen zeitintensiv, und eine Kolonienhaltung ist aufgrund ihres stark territorialen und kannibalistischen Verhaltens nicht praktikabel (Fox, 1975). Das war lange Zeit der Hauptgrund, warum dieses vielversprechende Material nicht im großen Maßstab eingesetzt wurde. Erst durch die Entwicklung gentechnologischer Verfahren zur Herstellung rekombinanter Spinnenseidenproteine in größeren Mengen und mit konstanter Qualität wurde eine breitere Anwendung ermöglicht. Der Arbeitsgruppe um Thomas Scheibel an der Technischen Universität München gelang dies erstmals (Schmidt et al., 2007). Sie bauten die hoch-repetitive Gen-Sequenz für das Seidenprotein in das Bakterium Escherichia coli ein, welches dann große Mengen Seide produzierte. Die führte zur Gründung der Firma AMSilk GmbH (https://www.amsilk.com/home/). Die Methode zur Herstellung von rekombinanter Spinnenseide wurde patentiert.

Die meisten inzwischen auch kommerziell erhältlichen rekombinanten Spinnenseidenproteine basieren auf der Sequenz von *Nephila clavipes* oder *Araneus diadematus*. Bei der biotechnologischen Seidenproduktion werden die Proteine in Bakterien wie *Escherichia coli* exprimiert. Dabei wird die Erbinformation der Spinne unter Verwendung der bakteriellen „codon usage" Methode in synthetische Gene verändert.

Außer Bakterien werden auch andere Organismen wie Pflanzen, Hefezellen, Insektenzellen oder Säugetierzellen gentechnologisch verändert und stellen dann die Spinnenseidenproteine her (Ramezaniaghdam et al., 2022). Spinnen und Bakterien benutzen unterschiedliche „codon usage", weswegen es bei der Herstellung von rekombinanten MA-Seidenproteinen zu einer geringen Protein-Ausbeute kommen kann (Arcidiacono et al., 1998). Eben darum werden die „codon usage" der Spinnen-DNA an den jeweiligen Wirt angepasst (Eisoldt et al., 2011). Als Wirt dienen Bakterien (Escheria coli), Zellen von Säugetieren (Hamster und Rinder) und Insektenzellen (*Spodoptera frugiperda, Bombyx mori*)(Vendrely & Scheibel, 2007). Dabei wird zunächst die genetische Information der Spinnenseide gewonnen, die DNA entschlüsselt und eine Reverse Translation durchgeführt. Die neu gewonnene DNA wird in ein DNA-Plasmid eingeführt und auf einen Wirt übertragen. Zum Schluss wird die Spinnenseide produziert und gereinigt (Borkner et al., 2014). So kann innerhalb von drei bis vier Tagen Seidenprotein gewonnen werden (Eisoldt et al., 2011). Die so gewonnene Spinnenseide wird heutzutage in Hinsicht auf die unterschiedlichsten medizinischen Anwendungen untersucht und zum Teil eingesetzt.

1.12 Medizinische Anwendung von Seidenproteinen

Die biotechnologische Herstellung von rekombinanter Spinnenseide hat in den letzten Jahren entscheidende Fortschritte gemacht und ermöglicht nun die Produktion größerer Mengen dieses wertvollen Materials. Dadurch eröffnen sich vielfältige Einsatzmöglichkeiten, insbesondere im medizinischen Bereich. Im folgenden Kapitel wird näher beleuchtet, wie Seidenproteine aufgrund ihrer herausragenden Eigenschaften zunehmend für klinische Anwendungen untersucht und genutzt werden.

Seidenproteine werden von einer Vielzahl an Insekten und Spinnen produziert, wobei in der klinischen Anwendung vorwiegend die Seide der Seidenraupe *Bombyx mori* zum Einsatz kommt, da diese vergleichsweise leichter herstellbar ist. Mehrere Studien belegen die positiven Effekte von *Bombyx mori*-Seidenproteinen auf die Fremdkörperreaktion. Eine Untersuchung von Etienne et al. (2009) untersuchte die Implantation von Fibroin-basierten Seiden-Gelen, die aus dem Seidenmaterial von *Bombyx mori* gewonnen wurden. In dieser Studie, in der die Gele subkutan implantiert wurden, zeigte sich innerhalb von sieben bis 14 Tagen nach der Operation eine Entzündungsreaktion, charakterisiert durch das Auftreten von Eosinophilen, Neutrophilen und Makrophagen. Nach vier Wochen war die Immunreaktion jedoch deutlich abgeschwächt, und nach einem Zeitraum von 12 Wochen waren keine entzündlichen Zellen mehr nachweisbar.

Wie bereits dargelegt, ist die Gewinnung natürlicher Spinnenseide in großen Mengen aufgrund des territorialen und kannibalistischen Verhaltens von Spinnen nicht praktikabel (Xu et al., 2018). Im Gegensatz dazu kann rekombinante Spinnenseide biotechnologisch in großen Mengen hergestellt werden. Insbesondere Dragline-Seide weist gegenüber der Seide von *Bombyx mori* erhebliche Vorteile auf, wie eine höhere Steifigkeit, Elastizität und Reißfestigkeit (Belbéoch et al., 2021). Darüber hinaus zeichnet sich Spinnenseide durch ihre ausgezeichnete Biokompatibilität, biologische Abbaubarkeit, Stabilität, Dehnbarkeit sowie eine fehlende Immunogenität und Allergenität aus (Borkner et al., 2014). Die mechanische Zähigkeit von Spinnenseide übertrifft die von synthetischen Materialien wie Nylon oder Kevlar um das Drei- bis Zwanzigfache (Gosline et al., 1999). Bereits in der Antike wurde Spinnenseide aufgrund ihrer entzündungshemmenden und antiallergenen Eigenschaften als Wundverband bei Hautverletzungen eingesetzt (Lewis, 1996; Liebsch et al., 2018; Newman, 1995). Moderne Studien zeigen zudem, dass rekombinante Spinnenseide in der Lage ist, Entzündungsreaktionen zu mildern und die Kapselbildung sowie die extrazelluläre Matrixbildung nach der subkutanen Implantation von beschichteten Silikonstücken zu verringern (Zeplin et al., 2014). Jüngste Untersuchungen weisen darüber hinaus darauf hin, dass Spinnenseidenbeschichtungen die Besiedelung mit pathogenen Bakterien erheblich reduzieren können (Sommer et al., 2021), was Spinnenseide zu einem vielversprechenden Material für Beschichtungen macht.

In Anknüpfung an diese vielversprechenden Eigenschaften wurden in weiteren Studien die biomechanischen Eigenschaften und die Immunogenität von Spinnenseidennetzen untersucht. So widmet sich die Studie von Schäfer-Nolte et al. (2014) der Verwendung von Spinnenseidennetzen als Faszienersatz in einem *in vivo* Rattenmodell. Hierbei wurde Dragline-Seide der Gattung *Nephila spp.* verwendet, um die Wirksamkeit dieser natürlichen Materialien im Vergleich zu kommerziellen Produkten wie Surgisis und Ultrapro zu evaluieren. Die Ergebnisse zeigten, dass Spinnenseide den kommerziellen Materialien hinsichtlich

Biokompatibilität und mechanischen Eigenschaften überlegen ist. Diese Erkenntnisse stehen im Einklang mit den Ergebnissen von Zeplin et al. (2014). In dieser Studie wurden nicht vorbehandelte Minisilikonimplantate mit einem beschichteten Silikonimplantat verglichen wobei die Implantate subkutan platziert wurden und als Modell für Silikon-Brustimplantate dienten. Die Beschichtung bestand aus dem rekombinanten Spinnenseidenprotein eADF4(C16), wie von Huemmerich et al. (2004) beschrieben. Die Ergebnisse zeigten, dass die Tiere, die mit den Spinnenseiden-beschichteten Implantaten ausgestattet waren, eine signifikant geringere Fremdkörperreaktion sowie eine reduzierte Kapselbildung aufwiesen. Darüber hinaus waren einige Entzündungsmarker bis zu sechs Monate nach der Implantation noch verringert (Zeplin et al., 2014).

Zusätzlich untersuchte Borkner et al. (2017) die Auswirkung einer Beschichtung mit rekombinanter Spinnenseide auf die Zelladhäsion. Zu diesem Zweck wurden Katheter aus drei unterschiedlichen Polymeren, nämlich Polyurethan, Polytetrafluoroethylen und Silikon, beschichtet und anschließend analysiert. Dabei kam eine Variante des Spinnenseidenproteins eADF4(C16)-RGD zum Einsatz, das das zellbindende Peptid RGD enthielt (Huemmerich et al., 2004). Die Ergebnisse zeigten, dass auf den mit rekombinanter Spinnenseide beschichteten Kathetern kaum oder gar keine der getesteten Zellen hafteten (Borkner et al., 2017).

Insbesondere die Ergebnisse der Studien von Zeplin et al. (2014) und Borkner et al. (2017) sind für die vorliegende Disseration vielversprechend, da beide Studien Silikon-Implantate analysierten, das Material, aus dem auch CIs bestehen. Diese Studienergebnisse erlauben die Annahme, dass eine Spinnenseidenbeschichtung auch bei CIs in Bezug auf eine Reduktion der Entzündungsreaktion sowie Verkapselung durch Bindegewebe Erfolg versprechend sein könnte.

1.13 Motivation und Hypothese

Auf Basis der in den Abschnitten 1.10 bis 1.12 beschriebenen Forschungsergebnisse über Polymerbeschichtungen und Spinnenseide als Beschichtungsmaterial ergibt sich für diese Arbeit folgende Arbeitshypothese:

CIs mit einer Spinnenseidenbeschichtung weisen eine geringere Entzündungsreaktion, einen besseren Hörerhalt sowie niedrigere Impedanzwerte auf als CIs ohne Beschichtung.

Durch die Beschichtung der Elektrodenträger eines CIs mit Spinnenseide wird eine geringere Reaktion des Körpers auf das Implantat erwartet. In dieser Arbeit werden Implantate mit einer Spinnenseide-Beschichtung (Gruppe +Bs) und Implantate mit einer herkömmlichen Beschichtung (Gruppe –Bs) verglichen. Auf Grund der höheren Biokompatibilität von Spinnenseide sollte sowohl die akute und als auch die chronische Entzündungsreaktion nach der Implantation reduziert sein und über einen längeren Zeitraum hinweg anhalten. Durch die geringere Entzündungsreaktion soll es zudem zu einer weniger ausgeprägten fibrotische Reaktion des Gewebes auf das Implantat in der Scala tympani kommen und die Knochenneubildung verhindert werden. Eine weniger ausgeprägte fibrotische Reaktion ohne Knochenneubildung bedeutet gleichzeitig eine langfristig niedrigere Impedanz der Platinkontakte der Elektroden und somit einen vergrößerten dynamischen- und Lautstärkebereich und eine längere Batterienutzungszeit. Vor allem die Reduzierung der akuten und chronischen

Entzündungsreaktion durch die Beschichtung könnte den Hörerhalt nach einer Cochlea-Implantation weiter verbessern.

Die in dieser Arbeitshypothese untersuchten Parameter werden im Folgenden aufgelistet: Vergleich der unbeschichteten Cochlea-Implantat-Elektroden (Gruppe –Bs) - mit Spinnenseide beschichteten Cochlea-Implantat-Elektroden (Gruppe +Bs) über einen Experimentalzeitraum von 13 Wochen (Langzeituntersuchung):

1. Reduktion der Fremdkörper- und Entzündungsreaktion nach Cochlea-Implantation
2. Reduktion Elektrodenkontakt-Impedanzen
3. Hörerhalt nach Cochlea-Implantation

Die methodische Vorgehensweise der Beweisführung dieser Hypothese wird im Kapitel 2 erläutert.

2 Methoden

Für dieses Forschungsprojekt wurde eine Versuchsreihe mit Meerschweinchen entwickelt. Das Tierversuchsvorhaben (Aktenzeichen: 55.2-1-54-2532-98-13) wurde gemäß § 8 des Deutschen Tierschutzgesetzes durch die Regierung von Oberbayern genehmigt. Die Unterbringung der Tiere erfolgte entsprechend der Umsetzung der EU-Richtlinie 2010/63/EU. Nachfolgend wird der Versuchsaufbau, die Vorgehensweise und das Tiermodell definiert und erläutert.

2.1 Versuchsmodell Meerschweinchen

Als Tiermodell wurden 14 albinotische Meerschweinchen (Stamm: Dunkin Hartley, Crl: HA, Geschlecht: weiblich) der Firma Charles River (WIGA) GmbH in Sulzfeld verwendet.

Das Meerschweinchen ist ein etabliertes Tiermodell in der Hörforschung. Es wird für Anatomie- und Physiologiestudien bei Untersuchung zu Tinnitus, Hörverlust und Otitis Media eingesetzt. Greene et al. (2018) fanden zudem heraus, dass Meerschweinchen ein geeignetes Tiermodell für die Erforschung von räumlichem Hören darstellen. Die Hörfähigkeiten von Meerschweinchen erstrecken sich über einen Frequenzbereich von drei Kilohertz (kHz) bis 22 kHz, was sie in der Lage versetzt, hochfrequente Töne effektiv wahrzunehmen. Im Vergleich dazu hören Menschen in einem tieferfrequenten Bereich, der von 250 Hz bis 8 kHz reicht (Heffner & Heffner, 2007). Kleinere Tiere weisen in der Regel ebenfalls eine ausgezeichnete Hörleistung im hochfrequenten Bereich auf, wobei sie für das räumliche Hören primär die interaurale Laufzeitdifferenz nutzen. Hystricomorphe Nagetiere wie das Meerschweinchen und der Chinchilla hören jedoch auch in einem tieffrequenten Bereich (Heffner & Heffner, 1991). Eine Ausnahme unter den Nagetieren bildet die mongolische Wüstenrennmaus (*Meriones unguiculatus*) sowie andere Rennmausarten wie die Dickschwanzrennmaus (*Pachyuromys duprasii*) (Plassmann & Kadel, 1991), die in der Lage sind, noch tiefere Frequenzen wahrzunehmen (Grothe & Pecka, 2014; Heffner & Heffner, 1988; Ryan, 1976). Aufgrund der schwierigeren Zugänglichkeit zur Cochlea bei der mongolischen Wüstenrennmaus wird das Meerschweinchen jedoch häufiger in experimentellen Studien eingesetzt.

Der Zugang zur Meerschweinchencochlea ist einfach, die Bulla ist groß und die Anatomie des Außen-, Mittel- und Innenohrs dem der Menschen sehr ähnlich. Die Cochlea des Meerschweinchens weist 3 ½ Windungen auf, die des Menschen nur 2 ½ Windungen. Aus diesen genannten Gründen wurde das Meerschweinchen als Tiermodell für die Cochlea-Implantat-Studie ausgewählt.

Die in diesem Versuchsvorhaben eingesetzten Tiere wogen bei der Ankunft zwischen 290 und 350 Gramm (g). Nach der Ankunft wurden den Tieren eine Adaptionszeit von mindestens 7 Tagen gewährt. Die Meerschweinchen wurden in den Tierhaltungsräumen des Zentrums für Präklinische Forschung des Klinikums rechts der Isar an der Technischen Universität München untergebracht. Die Räume waren klimatisiert und wurden bei einer gleichmäßigen Temperatur gehalten. Die Tiere hatten einen Hell-Dunkel-Rhythmus von 12 Stunden mit einer Dämmerungsphase. Bis zu sechs Tiere wurden in einer Großtierbox gehalten.

Die Tiere bekamen Grünpellets (Fa. Altromin Spezialfutter GmbH & Co. KG, Lage), Wasser (täglicher Wechsel) sowie Heu ad libitum. Als Rückzugsmöglichkeit dienten Häuschen, Heu sowie spezielles Holzgranulat. Das Holzgranulat wurde ein- bis zweimal pro Woche gewechselt. Der Gesundheitszustand der Tiere wurde mithilfe eines Score Sheets über den kompletten Versuchszeitraum engmaschig überwacht. Nach der Cochlea-Implantation wurden die Tiere über sieben Tage zweimal täglich untersucht. Über die restliche Zeitspanne kontrollierten die Tierpfleger oder die Experimentatorin die Tiere einmal täglich. Folgende Aspekte wurden über den Versuchszeitraum beurteilt: Körpergewicht, Spontanverhalten, Verhalten auf Provokation, äußere Erscheinungen, Rektaltemperatur, Stecker und neurologische Symptomatik. Um die postoperativen Schmerzen zu lindern und um eine Infektion vorzubeugen, wurden den Meerschweinchen über einen Zeitraum von drei Tagen Analgetika sowie Antibiotika (Enrofloxacin, Baytril® 2,5 % orale Losung, Bayer Healthcare AG, Leverkusen,10 mg/kg pro Tag) peroral verabreicht. Detaillierte Information zu den verwendeten Analgetika sind unter Kapitel 2.4.1 aufgeführt. Bei Abweichungen gab es genau definierte Vorgaben, nach welchen die Tiere hätten behandelt werden müssen. Während der gesamten Studiendauer kam es zu keinen Komplikationen und Versuchsabbrüchen.

2.2 Das Studiendesign

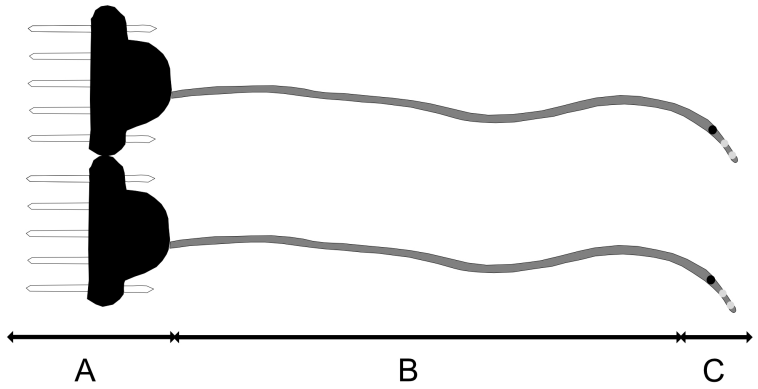


Abbildung 7: Cochlea-Implantat

Die Abbildung zeigt einen 5-Pin-Stecker (A) und ein Elektrodenarray (B), das mit einem schwarzen Marker gekennzeichnet ist. Am freien Ende des Implantats befinden sich ein apikaler und ein basaler Elektrodenkontakt (C). In dieser Studie wurde eine bilaterale Implantation durchgeführt, weshalb das Implantat aus zwei miteinander verbundenen Cochlea-Implantaten besteht (MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH, Innsbruck, R. Hessler) (abgewandelt nach Mueller 2024).

Für diese Studie wurde ein neuartiges Design für eine beidseitige CI-Implantation entwickelt. Die Tiere erhielten in einem Ohr ein Implantat mit einer etwa 1 µm dünnen Spinnenseidenbeschichtung (Gruppe +Bs) und im anderen Ohr ein unbeschichtetes Implantat (Gruppe –Bs). Die CIs waren speziell angefertigte Modelle von Roland Hessler, die eigens für die beidseitige CI-Implantation bei Meerschweinchen entwickelt wurden (Abbildung 7). Aufgrund der Vertraulichkeitsvereinbarungen kann ich keine detaillierten Informationen zur Spinnenseidenbeschichtung offenlegen, die relevanten Daten sind mir jedoch bekannt.

Während der Versuchsphase war die Studienleiterin verblindet in Bezug auf die Zuweisung der Spinnenseidenbeschichtung zu den Implantaten. Die Implantate waren lediglich mit einer Nummer und entweder einem Punkt oder einem Strich als Markierung versehen. Um sicherzustellen, dass die Verteilung von Punkt und Strich über die Ohren gleichmäßig war und der Einfluss der Chirurgin, wie etwa mögliche Präferenzen oder besseres Können bei einem bestimmten Ohr, ausgeschlossen werden konnten, wurden jeweils 7 linke und rechte Ohren mit Punkt und Strich implantiert.

Für jede Experimentalgruppe (–Bs/+Bs) wurde eine Stichprobe von 13 Implantaten hinsichtlich der Histologie und Impedanzmessung analysiert (+Bs: n = 13, –Bs: n = 13). Für die Hörmessungen mittels ABR (auditorisch evozierte Hirnstammpotenziale) lag die Stichprobengröße bei +Bs: n = 13 und –Bs: n = 12. Detaillierte Erläuterungen zur Stichprobengröße sind im Kapitel 3 (Ergebnisse) aufgeführt. Im nächsten Abschnitt werden die Zeitpunkte der einzelnen Versuchsabschnitte näher erläutert.

2.3 Versuchsplan

Zeit	
- 7 Tage	Ausgangsmessung Hörschwelle gesundes Ohr (Baseline ABR)
Tag 0	Cochleostomie und Implantation des Implantates (bilateral) sowie Impedanzmessung
Woche 1	ABR- und Impedanzmessung
Woche 2	ABR- und Impedanzmessung
Woche 3	Impedanzmessung
Woche 4	Impedanzmessung
Woche 5	ABR- und Impedanzmessung
Woche 9	ABR- und Impedanzmessung
Woche 12	ABR- und Impedanzmessung sowie Euthanasie und Cochlea-Entnahme

Abbildung 8: Versuchsplan über einen Zeitraum von 13 Wochen

ABR-Messungen wurden in der ersten, zweiten, fünften, neunten und zwölften Woche durchgeführt. Die Impedanzen wurden in der ersten, zweiten, dritten, vierten, fünften, neunten und zwölften Woche gemessen. Sieben Tage vor der Implantation, am Tag Null, wurde eine Baseline-ABR-Messung durchgeführt. Am Ende der zwölften Woche, nach Abschluss der Versuchsreihen, erfolgte eine Euthanasie, bei der die Cochlea und das Implantat entfernt wurden.

Die Versuchsdauer erstreckte sich insgesamt über 13 Wochen. Um den Hörerhalt nach der Cochlea-Implantation überprüfen zu können, wurde sieben Tage vor der Operation eine Ausgangsmessung der Hörschwelle mittels Auditory Brainstem Response (ABR) als Referenz durchgeführt. Am Tag 0, also 7 Tage nach der ABR-Referenzmessung, wurden die Tiere beidseitig implantiert und anschließend sofort eine initiale Impedanzmessung der Kontakte durchgeführt. Dies hatte zum Ziel, den post-operativen Verlauf der

Elektrodenkontakt-Impedanzen über den Versuchszeitraum von 12 Wochen zu messen und die zwei Gruppen zu vergleichen. Weitere ABR- und Impedanzmessungen wurden in den Wochen 1, 2, 5, 9 und 12 durchgeführt (vgl. Abbildung 8).

Zusätzliche Impedanzmessungen fanden in den Wochen drei und vier statt. Am Ende des Experiments in der zwölften Woche wurden die Tiere euthanasiert und die Cochlea zur histologischen Untersuchung auf Fremdkörper- und Entzündungsreaktionen nach der Cochlea-Implantation entnommen (vgl. Abbildung 8).

2.3.1 ABR-Messungen

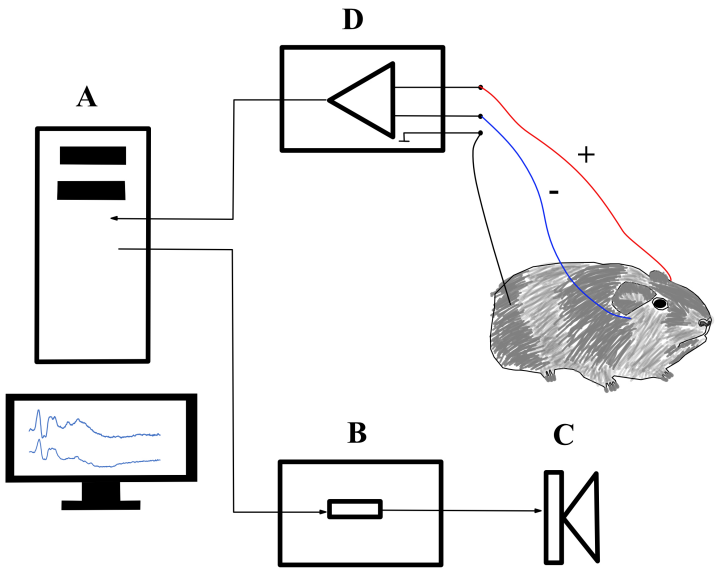


Abbildung 9: Schematische Darstellung der ABR-Messung

(A) Computer mit Multi-I/O-Karte (ME 4680 PCI) und Bildschirm, (B) Abschwächer (g.PAH), (C) Elektroakustischer Wandler (MF1-M), (D) Biosignalverstärker (g.BSamp). Die drei Silberdrahtelektroden wurden subkutan in der Medianen am Vertex (= Positivelektrode), am Mastoid (= Negativelektrode) und in der Kniefalte (= Referenzelektrode, Masse) platziert (abgewandelt nach Fischer 2015).

Um zu untersuchen, wie sich die Beschichtungen im Vergleich zu unbeschichteten CIs auf das Hörvermögen der Tiere auswirken, wurden Hirnstammaudiometrie-Messungen (ABR) durchgeführt. Hierbei werden akustisch evozierte neuronale Potenziale der Hörbahn in Form von Wellen bei verschiedenen Lautstärken und Frequenzen erzeugt und die Hörschwelle der Tiere zu definierten Messzeitpunkten bestimmt. Für die Erzeugung der neuronalen Antwort werden den Tieren unterschiedliche akustische Signale als Reinton (Frequenz in kHz) oder Breitbandrauschen (Klick) präsentiert. Diese Signale werden zusätzlich mit unterschiedlichen Lautstärken (Dezibel, dB) wiedergegeben. Die Hörschwelle ist der dB-Wert einer Frequenz oder eines Klicks, bei dem gerade noch eine neuronale Antwort möglich ist.

Die präsentierten akustischen Stimuli wurden durch eine Software (ABR by H.-J. Steinhoff 2013, Version 1.1) generiert. Anschließend wurden die Stimuli über die Multi-I/O-Karte (ME 4680 PCI, Meilhaus Electronic GmbH, Alling), sowie einen Abschwächer g.PAH und einen elektroakustischen Wandler MF1 (TDT, Alachua) in einen 1,8 cm langen Schallschlauch aus Silikon direkt an das Trommelfell weitergegeben (Abbildung 9). Der

Schallschlauch aus Silikon wurde in den äußeren Gehörgang eingeführt und schloss lückenlos mit dem elektroakustischen Wandler MF1 und dem Trommelfell ab.

Durch die akustischen Stimuli wurden neuronale Antworten in bestimmten Bereichen der Hörbahn erzeugt. Der Computer zeichnet diese neuronalen Antworten in Form von Wellen auf. Dabei repräsentieren die Amplituden der Wellen spezifische Bereiche der Hörbahn. Welle I ist die neuronale Antwort des auditorischen Nervs, Welle II die des CN, Welle III die des Nucleus olivaris superior, Welle IV die des Lemniscus lateralis, und Welle V spiegelt die Antwort der Colliculi inferiores wider. Um die akustisch evozierten Potenziale zu detektieren wurden drei Silberdrahtelektroden (Ø = 0,6 mm) subkutan in der Medianen am Vertex (= Positivelektrode), am linken Mastoid (= Negativelektrode) und in der linken Kniefalte (= Referenzelektrode, Masse) platziert (Abbildung 9). Die Silberdrahtelektroden wurden mit dem Biosignalverstärker (g.B Samp, g.tec, Graz, Verstärkung 100 dB, untere Grenzfrequenz: 2 Hz, obere Grenzfrequenz: 1.000 Hz, Notch-Filter: off) verbunden und das detektierte Signal weiter zur Multi-I/O-Karte (ME 4680 PCI, Meilhaus Electronic GmbH, Alling) des Computers geleitet (Abbildung 9). Die Multi-I/O-Karte zeichnete Biosignalabschnitte in einer Länge von 15 ms, mit einer Samplerate von 20 kHz auf. Um das Signal/Rausch-Verhältnis zu verbessern, wurden über 500 reizsynchrone Biosignalabschnitte gemittelt.

Damit die Messungen nicht durch Umgebungsgeräusche verfälscht werden, wurden die ABR-Aufnahmen in einer akustisch gedämmten Kammer mit Faraday Abschirmung durchgeführt (G+H Schallschutz, Germany). Die Tiere wurden in linker oder rechter Seitenlage positioniert, sodass ihre Ohrmuscheln direkt unterhalb des elektroakustischen Wandlers lagen. Der akustische Stimulus bestand aus Klicks mit einer Pulsbreite von 100 μs sowie aus Reintönen mit unterschiedlichen Frequenzen (1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 16, 24 und 32 kHz).

Tabelle 1: Bezugsschalldruckpegel

In dieser Tabelle sind die gemessenen Bezugsschalldruckpegel (in dB) für die jeweiligen Frequenzen aufgeführt. Es ist zu beobachten, dass mit zunehmender Frequenz die Bezugsschalldruckpegel abnehmen.

Stimulus kHz	Klick	1	1,5	2	3	4	6	8	12	16	24	32
Bezugsschalldruckpegel dB (SPL_{pre})	85	88,5	93	93	84	82	81	82	74	70	51	45

Die Pulsbreite der Tonimpulse der Reintöne war $t_p = 4/f$. Die Reintöne und Klicks wurden von 0 bis 80 dB in 5 dB Schritten bei einer Reizfolgefrequenz von 30 Hz präsentiert. In dieser Arbeit wurde die postoperative Verschiebung der Hörschwelle in Bezug auf die präoperativen Werte für jedes Meerschweinchen individuell zu definierten Messzeitpunkten gemessen. Daher werden nur die Hörschwellenverschiebungen und nicht die absoluten Hörschwellen angegeben. Dadurch konnte eine einheitliche Kalibrierung des dB (SPLpre)-Wertes entfallen. In Tabelle 1 sind die akustisch gemessenen Bezugsschalldruckpegel für die 0-dB-Einstellung bei den verschiedenen Reintonfrequenzen und Klicks dargestellt. Als Hörschwelle wurde die letzte Reizstufe zwischen 0 und 80 dB, bei welcher ein Summationspotenzial in der Mittelkurve sichtbar ist, definiert.

2.3.2 Impedanzmessungen

Die Impedanz beschreibt den elektrischen Widerstand des CIs und stellt das Verhältnis zwischen Stromstärke und Spannung dar.

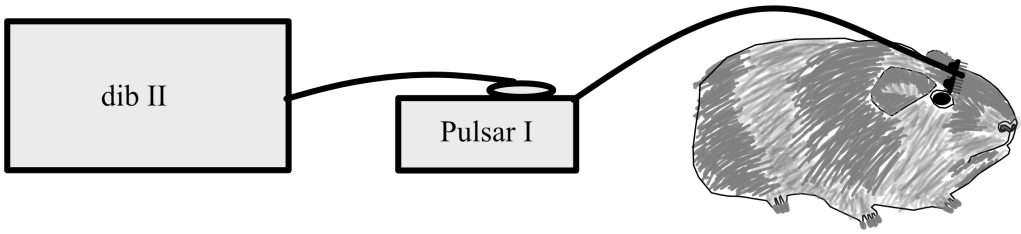


Abbildung 10: Impedanzmessung

Das Messsystem umfasste die MAESTRO-Software Version 4.4.1 (MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH, Innsbruck), eine Diagnostic Interfacebox dib II (Universität Innsbruck, Otto Peter) sowie einem „Implant in the box“ (Pulsar I^{100}-Implantat ohne Elektrodenarray, MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH, Innsbruck) (abgewandelt nach Fischer 2015).

Die Impedanzmessung wurde mit einer Forschungsversion des Messsystem MED-EL MAESTRO durchgeführt. Das Programm MED-EL MAESTRO wird in der klinischen Version zur Anpassung von CIs eingesetzt. Inzwischen gibt es eine neuere Version, MAESTRO 10 (2024)**.** Das Messsystem bestand aus der MAESTRO-Software Version 4.4.1 (MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH, Innsbruck), einer Diagnostic Interfacebox dib II (Universität Innsbruck, Otto Peter) und einem „Implant in the box“ (Pulsar I^{100}- Implantat ohne Elektrodenarray, MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH, Innsbruck) (Abbildung 10). Das Implantat (Pulsar I^{100}) wurde nacheinander mit dem apikalen und basalen Elektrodenkontakt des Meerschweinchen-Implantates verbunden. Werte wurden über das MAESTRO-Programm aufgezeichnet (Abbildung 10).

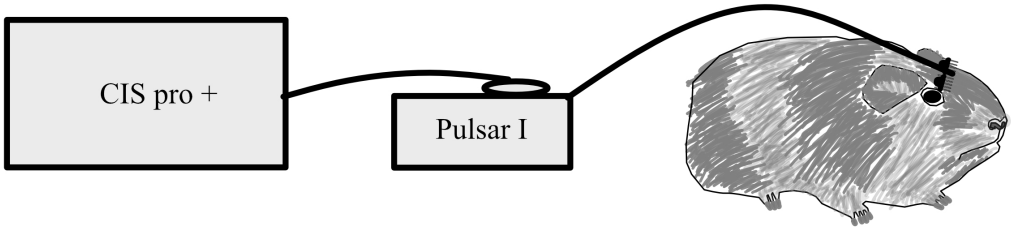


Abbildung 11: Elektrodenkonditionierung

Der apikale Kontakt des CIs wurde mit dem „Implant in the box“ (Pulsar I^{100}- Implantat ohne Elektrodenarray, MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH, Innsbruck) verbunden. Über das Implantat, sowie einen Sprachprozessor CIS pro+ (MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH, Innsbruck) wurde eine elektrische Stimulation über einen Zeitraum von 15 Minuten durchgeführt. Anschließend erfolgte eine erneute Impedanzmessung (abgewandelt nach Fischer 2015).

Pro Zeitpunkt wurden zwei Impedanzmessungen durchgeführt, und zwar eine vor und eine nach einer 15-minütigen elektrischen Stimulation der Kontakte. Dadurch findet eine Konditionierung der Kontakte statt. Hierfür wurde nach der ersten Impedanzmessung der apikale Kontakt mit dem „Implant in the box“ (Pulsar I^{100}-

Implantat ohne Elektrodenarray, MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH, Innsbruck) verbunden und über das Implantat sowie einen Sprachprozessor CIS pro+ (MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH, Innsbruck) stimuliert (Abbildung 11). Nach 15 Minuten fand eine erneute Impedanzmessung statt. Für die Stimulation wurden folgende Werte ausgewählt: Pulsbreite von 35,42 µs, Pulsrate von 750/s und eine Stromstärke von 452,1 µA.

Die Zeitdauer von 15 Minuten wurde gewählt, da ein Abfall der Impedanz bereits nach dieser kurzen Zeit in der Studie von Newbold beobachtet werden konnte (Newbold et al., 2014).

2.4 Cochlea-Implantation, Anästhesie und Analgesie

Die Tiere befanden sich zu jedem Messzeitpunkt (ABR-Messung, Impedanzmessung) der Versuchsreihe in Allgemeinanästhesie und es wurde großer Wert daraufgelegt, dass die Tiere zu keinem Zeitpunkt Schmerzen oder Leiden erfahren mussten. Die folgenden Punkte beschreiben den Operationsverlauf (Cochlea-Implantation) sowie die Anästhesie und Analgesie der einzelnen Messungen und Implantationen.

2.4.1 Analgesie

Das prä- und postoperative Schmerzmanagement sowie die Infektionsprophylaxe bei der Cochlea-Implantation bestand aus einer oralen Applikation von Meloxicam, Metamizol und Enrofloxacin.

Das nichtsteroidale Antiphlogistikum Meloxicam (Metacam® 1,5 mg/ml Suspension zur oralen Eingabe, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim, 0,2 mg/kg) und das antipyretische Analgetikum Metamizol (Vetalgin® N ad us.vet., Injektionslosung, 500 mg/ml, MSD Animal Health GmbH, Luzern, 50-100 mg/kg) erhielten die Tiere 30 Minuten vor der Implantation. Mit der präoperativen Applikation sollte der Schmerz durch die intramuskuläre Injektion des Anästhetikums gelindert und somit das Stressniveau der Tiere so gering wie möglich gehalten werden. Zur Infektionsprophylaxe erhielt das Meerschweinchen präoperativ peroral das Antibiotikum Enrofloxacin (Baytril® 2,5 % orale Losung, Bayer Healthcare AG, Leverkusen, 10 mg/kg).

Nach der CI-Implantation wurde die Tiere über drei Tage hinweg einmal täglich mit dem nicht-steroidale Antiphlogistikum Meloxicam (Metacam® 1,5 mg/ml Suspension zur oralen Eingabe, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim, 0,1 mg/kg) behandelt. Zusätzlich erhielten die Tiere das antipyretische Analgetikum Metamizol (Vetalgin® N ad us.vet., Injektionslosung, 500 mg/ml, MSD Animal Health GmbH, Luzern, 50-100 mg/kg) drei Mal täglich. Die postoperative Infektionsprophylaxe erfolgte durch die Verabreichung von Enrofloxacin in einer Dosierung von 10 mg/kg über drei Tage (Baytril® 2,5 % orale Losung, Bayer Healthcare AG, Leverkusen).

2.4.2 Anästhesie

Für die Anästhesie der Tiere wurde eine vollständig antagonisierbare Kombination von Medetomidin, Midazolam und Fentanyl (MMF) gewählt. MMF wird von Meerschweinchen einwandfrei toleriert und die Narkose ist wegen der Antagonisierung gut steuerbar. Aufgrund der sich über den Versuchszeitraum wiederholter

Anästhesien wurde eine Inhalationsnarkose mit Isofluran nicht in Betracht gezogen. Eine Inhalationsnarkose mit Isofluran geht mit starken Blutdruckabfall und Atemdepression einher. Demzufolge wird bei einer wiederholten Anästhesie bei Meerschweinchen eine MMF-Narkose empfohlen (Schmitz et al., 2017).

Die Initialdosis bestand aus einer Kombination von Medetomidin (Sedator® 1 mg/ml Injektionslösung, Eurovet Animal Health B.V., Bladel, 0,2 mg/kg), Midazolam (Midazolam 5 mg/5 ml Injektionslösung, Hexal AG, Holzkirchen, 1 mg/kg) und Fentanyl (Fentadon®, 50 µg/ml, Eurovet Animal Health B.V., Bladel, 0,025 mg/kg). Zur Aufrechterhaltung der Anästhesie wurden 2⁄3 der Initialdosis alle 45 Minuten intramuskulär verabreicht.

Nach der Initialdosis wurde das Operationsfeld zur lokalen Schmerzausschaltung mit 0,2 ml Lokalanästhetikum (Ultracain® 1 % Suprarenin® 5 ml, Injektionslösung, Sanofi Aventis Deutschland GmbH, Frankfurt am Main) subkutan infiltriert.

Sobald das chirurgische Toleranzstadium erreicht war, konnte ich mit dem ersten Schnitt beginnen. Das chirurgische Toleranzstadium ist folgendermaßen gekennzeichnet: gleichmäßiges Atemmuster, Bulbus leicht rotiert, Kornealreflex vorhanden, Lidreflex nicht mehr vorhanden und Zwischenzehenreflex unvollständig vorhanden.

Während der gesamten Anästhesiedauer wurde die Narkosetiefe der Tiere anhand der Prüfung von Lid-, Ohr-, vorderer und hinterer Zwischenzehen- sowie Stellreflex bestimmt und kontinuierlich überprüft. Da der Lidreflex im chirurgischen Toleranzstadium nicht mehr vorhanden ist, wurde ein Austrocknen der Cornea durch das Auftragen von Bepanthen®-Salbe (Bepanthen® Augen- und Nasensalbe, Bayer Vital GmbH, Leverkusen) verhindert. Ein Heizkissen und eine Rektalsonde sorgten für eine konstante Körpertemperatur (37,5 °C - 38,5 °C) und verhinderten eine Unterkühlung. Um den Kreislauf über die gesamte Anästhesiedauer stabil zu halten, wurden zu Beginn der Anästhesie 5 ml Ringer-Lactat-Lösung (Infusionslösung zur intravenösen Anwendung, AlleMan Pharma GmbH, Rimbach) subkutan appliziert.

Am Ende der Implantation und nach jeder Messung wurde die Narkose mit einer Kombination von Atipamezol (Antisedan® 5 mg/ml Injektionslösung, Elanco Animal Health, Bad Homburg, 1 mg/kg), Naloxon (Naloxon 0,4 mg/ml® Injektionslösung, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, 0,03 mg/kg) und Flumazenil (Flumazenil 0,1 mg/ml Injektionslösung, Hexal AG, Holzkirchen, 0,1 mg/kg) subkutan antagonisiert. Die Tiere erholten sich nach der Antagonisierung recht schnell und wurden anschließend wieder in die Tierhaltungsräume verbracht.

2.4.3 Cochlea-Implantation

Für die bilaterale Cochlea-Implantation wurde die Methode der Cochleostomie ausgewählt. Um eine Infektion des Tieres mit postoperativen Komplikationen zu vermeiden, wurde das Operationsfeld vor der ersten Schnittsetzung am linken und am rechten Ohr sowie am Schädeldach ausrasiert und mit Jodlösung (Braunol®, B. Braun Melsungen AG, Melsungen) desinfiziert. Nun wurde in einem weiteren Schritt das Operationsfeld für die Implantation vorbereitet. Hierfür wurde beidseits retroaurikulär eine Inzision vom temporalen

Schädelknochen, bis zur Bulla gesetzt. Diese Inzision wurde beidseits mit einer Präparationsschere und einem Raspatorium erweitert und die knöcherne Oberfläche der Bulla freigelegt. Mit der Spitze eines Skalpells wurde auf der Oberfläche der linken und rechten Bulla ein kleines Loch geschaffen. Dieses wurde dann bis zur Sicht auf das runde Fenster mit dem Skalpell erweitert. Um eine postoperative Infektion vorzubeugen, wurden zu diesem Zeitpunkt 2 Tropfen (ca. 50 µl) Enrofloxacin (Baytril® - das Original 2,5 % - Injektionslösung, Bayer Vital GmbH, Leverkusen) in die Bulla getropft. Sobald das runde Fenster gut sichtbar war und die basale Windung der Cochlea eindeutig identifiziert werden konnte, wurde ca. 1 mm ventral des runden Fensters ein Loch in die basale Windung der Cochlea gebohrt (Cochleostomie). Hierfür wurde ein Diamantbohrer (Durchmesser des Bohrkopfes 0,7 mm) verwendet. Die o.g. Vorgehensweise wurde an beiden Ohren identisch durchgeführt. Die Experimentatorin begann das operative Vorgehen stets am linken Ohr.

Nach der Cochleostomie wurde die Schädeldecke für die Aufnahme des mehrpoligen Steckers vorbereitet. Mit einem Skalpell wurde auf dem Os parietale ein sagittaler Hautschnitt ausgeführt. Nachdem das Kalottendach frei präpariert und mit einem scharfen Löffel angeraut wurde, wurden auf dem Schädel zwei Löcher für die Stahlschrauben (Durchmesser: 1,0 mm) gebohrt. Die Stahlschrauben dienen der stabilen Befestigung des Steckers. Sobald die Stahlschrauben fest in den beiden Löchern verschraubt waren, wurde der mehrpolige Stecker (Abbildung 7) auf der Schädelplatte platziert und anschließend mit Zahnprothesen-Kunststoff (Paladur®, Heraeus Kulzer GmbH, Hanau) fixiert. Beim Auftragen des reizenden Zahnprotesen-Kunststoffes wurde großer Wert daraufgelegt, dass der Kunststoff nicht mit der Muskulatur und der Haut in Berührung kommt.

Nun musste noch eine Verbindung zwischen dem mehrpoligen Stecker und der beidseitigen Cochleostomie geschaffen werden. Hierfür wurde ein Venenverweilkatheter genutzt. Dieser schaffte eine Verbindung zwischen Cochleostomie und Stecker. Der Venenverweilkatheter wurde subkutan von der Bullostomie in Richtung mehrpoliger Stecker geführt. Anschließend wurde der Elektrodenträger (vgl. Abbildung 7) durch den Katheter in Richtung Bullostomie geschoben und nachfolgend zuerst in die linke - und anschließend in die rechte basale Windung der Cochlea eingeführt. Um ein Herausrutschen des Implantates zu verhindern, wurde diese mit einem Tropfen Gewebekleber (Histoacryl®, B.Braun, AESCULAP AG, Tuttlingen) an der Bulla befestigt. Nach Überprüfung der korrekten Position der Implantate wurden die Wunden mit Einzelknopfheften (ETHICON® VICRYLTM 4-0 resorbierbar/polyfil, Johnson & Johnson AG, Diegem) verschlossen und die umliegende Haut und Fell von Verschmutzungen gereinigt.

2.4.4 Euthanasie

Die Tiere wurden drei Monate nach Versuchsbeginn mit einer intraperitonealen Injektion von Pentobarbital (Narcoren®, 16 g/100ml Injektionslösung, Merial GmbH, Halbergmoos,100 mg/kg, intrakardial) euthanasiert. Um das Felsenbein und die darin enthaltene Cochlea auf die anschließende Histologie vorzubereiten, war es von großer Bedeutung, das Felsenbein möglichst schnell zu entnehmen und in Formalin zu fixieren. Nach dem Tod kommt es zu autolytischen Prozessen. Der Körper wird nicht mehr mit Sauerstoff versorgt und es kann rasch zu einem Zelltod und zur Degradation kommen. Daher sind ein zügiges Arbeiten und

das rasche Entnehmen der Organe nach der Euthanasie besonders wichtig. Formalin sorgt für eine Erhaltung von Proteinen, Kohlenhydraten und der Zellstruktur (Thavarajah et al., 2012).

Für die Entnahme musste zuerst der Silikonschlauch des Implantates freigelegt und am Übergang zum Mittelohr mit einem Scherenschnitt durchtrennt werden. Nun wurden die restlichen Haut- und Muskelschichten des Felsenbeins sowie des Os temporale, Os parietale und Os occipitale entfernt. Nachdem das Schädeldach entfernt wurde, konnte das Felsenbein mit einer Zange herausgenommen werden. Für die weitere histologische Aufarbeitung wurde das Mittelohr mit einer kleinen Öffnung versehen und das Felsenbein 24 Stunden in 4-prozentigem Formalin aufbewahrt.

2.5 Histologische Untersuchungen

Nach Abschluss der Versuchsreihe wurden die Cochlea der Tiere histologisch aufbereitet und untersucht. Damit konnte der Grad der Entzündungs- und Fremdkörperreaktion der Cochlea ermittelt und Unterschiede der beiden Experimentalgruppen bewertet werden. In den folgenden Unterpunkten 2.5.1 bis 2.5.3 werden die Prozessschritte dieser Untersuchung erläutert.

2.5.1 Vorbereitung der Felsenbeine auf die Hämatoxylin - Eosin - Färbung

Nach der Gewebefixierung in 4-prozentigem Formalin wurde das Felsenbein zur Entkalkung für 21 Tage in EDTA-Citronensäure-PBS-Lösung (0,35 Prozent) platziert. EDTA bindet die freigewordenen Calciumionen. Je nach Größe des Gewebes benötigt der Entkalkungsprozess unterschiedliche Zeitspannen. In der vorliegenden Studie wurde aufgrund der Erfahrungen in vorangegangenen Studien einen Zeitraum von 21 Tagen gewählt. Die EDTA-Citronensäure-PBS-Lösung wurde täglich gewechselt. Während der 21 Tage wurde das umliegende entmineralisierte Gewebe fortlaufend geprüft und bei vorangeschrittener Entkalkung vorsichtig mit einer Präparierschere nach Metzenbaum entfernt. Nach Abschluss der 21 Tage war so bereits ein Großteil des Bulla-Gehäuses entfernt. Nun wurden das restliche entmineralisierte Bulla-Gehäuse und der Knochen mit einer Präparierschere nach Metzenbaum abgelöst. Im Anschluss daran wurde das Implantat aus der Cochlea entfernt und in 70-prozentigen Alkohol zur weiteren Untersuchung überführt. Die Cochlea wurde anschließend in eine phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS-Lösung) gelegt und für 60 Minuten auf einem Schwingtisch geschwenkt. Das Schwenken gewährleistet einen gleichmäßigen Kontakt aller Strukturen mit der PBS-Lösung und spülte das Gewebe von der restlichen EDTA-Citronensäure-PBS-Lösung ab.

Die Fixierung, Entwässerung, das Klären (Clearing) und die Paraffin-Infiltration wurde in einem Automaten nach einem standardisierten Programm über Nacht durchgeführt. Das Clearing hat hierbei die Aufgabe, den Alkohol zu verdrängen und fungiert als Lösungsmittel für Paraffin. Nach 12 Stunden wurde die Cochlea entlang der Schneckenlängsachse in einen Einbettförmchen gelegt, mit verflüssigtem Paraffin (ca. 52-60 °C) übergossen. Das verflüssigte Paraffin füllte alle Hohlräume, verfestigte sich bei Raumtemperatur und kreierte so einen schneidbaren Block aus Paraffin. Von diesem Paraffinblock wurden mit einem Mikrotom (Schnittdicke: 5,0 µm, mittlere modiolare Schnittebene entlang der Schneckenlängsachse) Schnitte der Cochlea

angefertigt und im Wasserbad bei 37 °C geglättet. Jeweils vier aufeinanderfolgende Schnitte wurden auf einen Objektträger (Superfrost® Plus, 25 x 75 x 1,0 mm, Thermo Scientific, Gerhard Menzel GmbH, Braunschweig) platziert und für die weiteren Untersuchungen bereitgehalten.

2.5.2 Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Mithilfe einer Hämatoxylin-Eosin-Färbung wurden die Strukturen des Gewebes farblich dargestellt. Durch diese Färbung konnten pathologische Veränderungen beurteilt werden. Hämalaun wird auf den Schnitten in einer blauen Färbung dargestellt und bindet hauptsächlich an Zellkernen. Mit Eosin wird eine rote Färbung von Cytoplasma, Bindegewebe und Kollagen erreicht. Die HE-Färbung wird weltweit an Formalin fixiertem Gewebe eingesetzt und gehört im klinischen Alltag zu den Routinefärbungen. Mit dieser Färbemethode wird eine gut reproduzierbare Übersichtsfärbung erzielt.

Anfänglich wurde für das histologische Verfahren innerhalb der Cochlea-Schnittserie jeder zehnte Objektträger ausgewählt. Hiermit wurde ein schneller Überblick über die Qualität der Schnitte und die vorläufigen Ergebnisse erzielt. Nach abschließender Beurteilung der ersten Schnitte wurden weitere drei Schnitte aus dem mittleren modiolaren Abschnitt und drei aus dem Bereich der Insertion und der Cochleostomie ausgewählt.

Bei allen Schnitten wurde dasselbe Färbeverfahren angewendet. Für eine HE-Färbung mussten die Schnitte zuerst entparaffiniert werden. Dieser Prozess begann, indem Paraffin über Nacht in einem Brutschrank bei 58 °C in seinen flüssigen Zustand überführt wurde. Am darauffolgenden Morgen wurden die Schnitte zuerst mit Xylol geklärt. Daraufhin wurden die Schnitte in einer absteigenden Alkoholreihe dehydriert und anschließend für 1 Minute in Aqua dest. aufbewahrt.

Die Schnitte wurden nun mit Hämatoxylin-Eosin (HE-Färbung) gefärbt und durchliefen danach über eine aufsteigende Alkoholreihe eine Rehydrierung (Tabelle 2). Schließlich folgte eine Klärung mit Xylol. Zum Schluss wurden die Schnitte mit Einschlussmittel Roti®-Histokitt II (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe) und einem Deckglas abgedeckt. Weitere Details des Färbeverfahrens können der Tabelle 2 entnommen werden.

Tabelle 2: Hämatoxylin-Eosin-Färbeprotokoll

Das Hämatoxylin-Eosin-Färbeprotokoll umfasst mehrere Schritte: Zunächst werden die Gewebeschnitte durch eine absteigende Alkoholreihe rehydratisiert. Anschließend erfolgt die Färbung des Gewebes mit Hämatoxylin, gefolgt von einer Färbung mit Eosin. Zum Abschluss wird das Gewebe erneut dehydriert und mit einem Histokitt überzogen.

Klärung und Dehydratation		**Hämatoxylin-Eosin- Färbung**		**Eindeckeln**	
Zeit	**1. Alkoholreihe**	**Zeit**	**2. Färbung**	**Zeit**	**3. Alkoholreihe**
5 min	Xylol	6 min	Hämatoxylin	5 min	Ethanol 70 %
5 min	Xylol	variabel	Wässern	5 min	Ethanol 70 %
5 min	Xylol	1 min	Eosin	5 min	Ethanol 96 %
5 min	Xylol	10 Sekunden	Wässern	5 min	Ethanol 96 %
5 min	Ethanol 100 %			5 min	Ethanol 100 %
5 min	Ethanol 100 %			5 min	Ethanol 100 %
5 min	Ethanol 96 %			5 min	Xylol
5 min	Ethanol 96 %			5 min	Xylol
5 min	Ethanol 70 %			5 min	Xylol
5 min	Ethanol 70 %			5 min	Xylol
					Roti®-Histokitt II

2.5.3 Fluoreszenz

Mithilfe der Immunfluoreszenz wurde die Degeneration von Spiralganglienzellen (SGN) festgestellt. GAP-43-Antikörper werden in der Immunologie als Marker für beschädigte Nervenzellen verwendet. GAP-43 ist ein wachstumsassoziiertes Protein, das vor allem während der Entwicklung, bei der Regeneration und in den Wachstumskegeln von Axonen exprimiert ist. Neben GAP-43-Antikörpern wurden MAP2 und T7 als Antikörper verwendet. MAP2 ist ein Mikrotubuli-assoziiertes Protein, das für die Detektion von Neuronen eingesetzt wird. T7 ist ein Oligopeptid, welche aus der Bakteriophage T7 gewonnen wird. T7 oder Tag 7 wird zur Detektion von Proteinen verwendet und diente in unserer Studie der Detektion von Spinnenseidenproteinen. DAPI bindet an Adenin-Thymin-Regionen in der DNA und wird somit zur Darstellung der Zellkerne eingesetzt.

Tabelle 3: Immunhistologisches Protokoll der Fluoreszenz

Das immunhistologische Protokoll für Fluoreszenz umfasste mehrere Schritte: Zunächst wurden die Schnitte durch eine absteigende Alkoholreihe dehydriert. Zur Epitopdemaskierung kam ein Citratpuffer zum Einsatz. Die Inkubation der Primärantikörper (GAP-43, MAP2, T7) erfolgte über einen Zeitraum von drei Tagen. Im Anschluss wurde eine 12-stündige Inkubation der Sekundärantikörper durchgeführt. Abschließend wurden die Schnitte mit einem Fluoreszenz-Einbettmedium (Vectashield) überzogen.

Färbelösung	Zeit
1. Xylol	5 Minuten
2. Xylol	5 Minuten
3. Xylol	5 Minuten
4. Xylol	5 Minuten
5. Ethanol 100%	5 Minuten
6. Ethanol 100%	5 Minuten
7. Ethanol 75%	5 Minuten
8. Ethanol 75%	5 Minuten
9. Ethanol 70%	5 Minuten
10. Ethanol 70%	5 Minuten
11. Ethanol 100%	5 Minuten

Färbelösung	Zeit
1. Citratpuffer	2 x 10 Minuten bei 95 Grad
2. Wässern mit destilliertem Wasser	variabel
3. PBS	10 Minuten
4. Blockierungslösung	30 Minuten
5. GAP-43, MAP2, T7	3 Tage bei 4 Grad
6. Waschen mit Blockierungslösung	3 x 15 Minuten
7. Alexa Fluor 488, Cy3, DAPI	12 Stunden bei 4 Grad
8. Waschen mit Blockierungslösung	3 x 15 Minuten
9. Waschen mit PBS	1 x 10 Minuten
10. Eindeckeln mit Vectashield	

Tabelle 4: Liste der verwendeten Primär- und Sekundärantikörper

In dieser Tabelle sind die verwendeten Primär- und Sekundärantikörper aufgeführt. Zusätzlich werden die jeweiligen LOT-Nummern sowie die eingesetzten Verdünnungen angegeben.

Antikörper	Firma	LOT-Nummer	Antikörper Wirt	Reaktivität	Verdünnung
GAP-43	Abcam	16053	Rabbit		1:750
MAP2	Origene	TA336617	chicken		1:500
T7	Thermo Fischer Scientific	PA1-32390	goat		1:1000
Alexa Fluor 488	Dianova	711-546-152	donkey	anti-rabbit	1:300
Cy3	Dianova	703-166-155	donkey	anti-chicken	1:200
Alexa Fluor 488	Mol Probes invitrogen	A11055	donkey	anti-goat	1:400
DAPI	Thermo Fisher Scientific	62248			1:1000

Bei einem Immunfluoreszenz basiertem Proteinnachweis binden Antikörper, die mit fluoreszierenden Farbstoffen markiert sind, an Antigenen. In dieser Studie wurden drei Primärantikörper (GAP-43, MAP2, T7) eingesetzt. Die Sekundärantikörper (Alexa Fluor 488, Cy3, DAPI), die mit einem Farbstoff markiert sind, wurden spezifisch für die jeweiligen Primärantikörper ausgewählt. Unter einem Mikroskop fluoresziert der an den Primärantikörper gebundene Sekundärantikörper mit folgenden gekoppelten Farbstoffen: Alexa Fluor 488 grün, Cy3 orange-rot und DAPI blau. Details zu den Primär- und Sekundärantikörpern sowie zu deren Verdünnungen können aus der Tabelle 3 (Immunhistologisches Protokoll der Fluoreszenz) und Tabelle 4 (Liste der Primär - und Sekundärantikörper) entnommen werden.

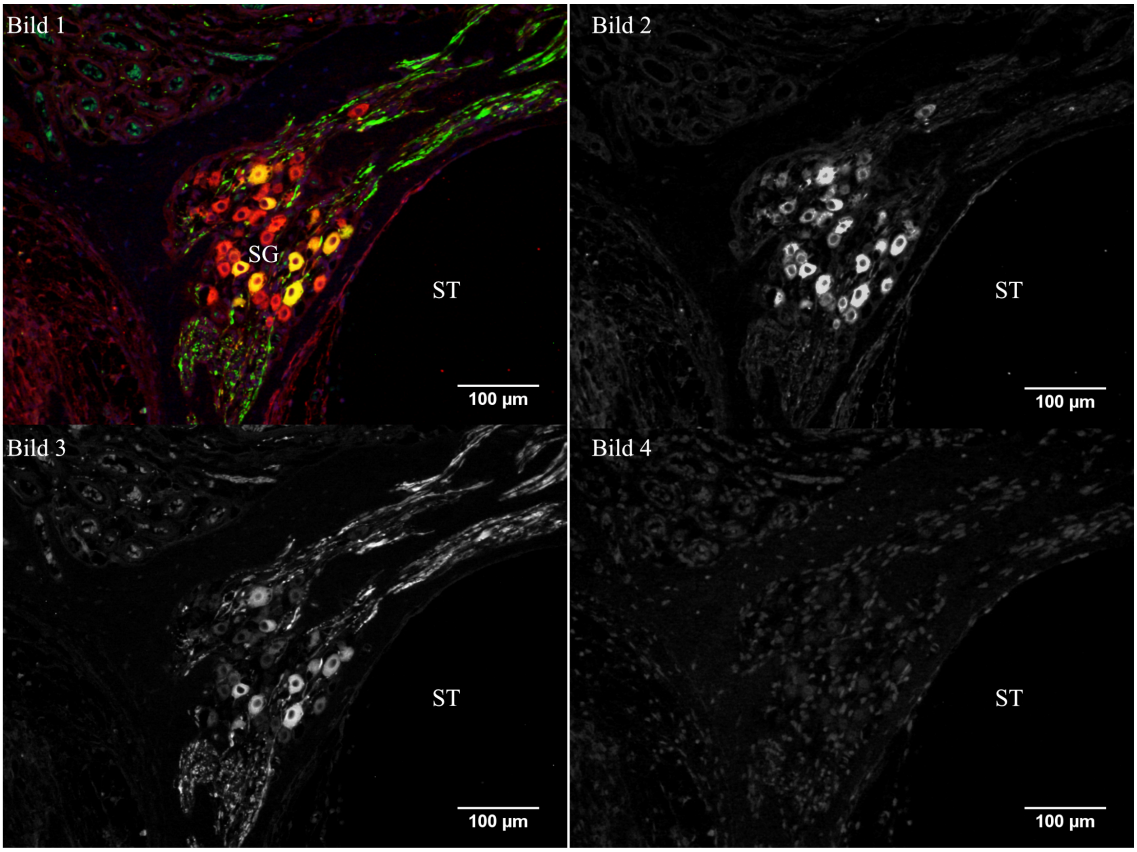


Abbildung 12: Darstellung der gebundenen Fluoreszenz Antikörper

Das Bild 1 zeigt eine gemeinsame Darstellung aller Antikörper. Die gelben Neuronen wurden durch GAP-43 detektiert, während die roten Neuronen unveränderte Zellen darstellen. Bild 2 zeigt die hellen Neurone, die durch MAP2 detektiert wurden. Bild 3 illustriert die Bindung von GAP-43 an die veränderten Neuronen. Bild 4 präsentiert den Fluoreszenzmarker DAPI. Die Abkürzungen „ST“ und „SG“ stehen für Scala tympani und Spiralganglienzellen

Für die Immunfluoreszenz mit MAP2 und GAP-43 wurden jeweils fünf mittel-modiolare Schnitte ausgewählt. Für T7 wurden jeweils zwei Schnitte aus dem Insertionsbereich ausgewählt. Die Schnitte wurden für die Entparaffinierung über 24 Stunden in den Brutschrank bei 58 °C verbracht. Anschließend wurden die Schnitte dehydriert. Für die Epitop-Demaskierung wurde ein Citratpuffer verwendet. Die Inkubation der Primärantikörper betrug drei Tage. Nach einem weiteren Waschgang wurden die Sekundärantikörper (Alexa Fluor 488, Cy3, DAPI) für weitere 12 Stunden inkubiert. Zum Schluss wurden die Schnitte mit Vectashield eingedeckelt und unter einem Fluoreszenzmikroskop beurteilt.

Die Bilder der Primärantikörper wurden anschließend mit einem Computerprogramm (Adobe Photoshop) ausgewertet. Hierfür wurden die Bilder übereinandergelegt und die degenerierten Spiralganglienzellen beurteilt. Abbildung 12 (Darstellung der gebundenen Primärantikörper) verdeutlicht die Vorgehensweise und zeigt beispielhaft das Vorkommen von degenerierten Spiralganglienzellen.

2.6 Datenauswertung und Programme

Für die statistische Auswertung der erhobenen Daten wurde das Computerprogramm SPSS (IBM Corp., Released 2022, IBM SPSS Statistics for Windows, Version 29.0, Armonk, NY: IBM Corp.) verwendet. Zur grafischen Darstellung der Daten kam GraphPad Prism (Version 10.4.1 für Windows 64-Bit, GraphPad Software,

Boston, Massachusetts, USA) zum Einsatz. Schematische Zeichnungen und Abbildungen wurden mit Affinity Designer (Version 1, Serif) oder BioRender erstellt. Die Überprüfung des Textes auf grammatikalische und Rechtschreibfehler erfolgte mithilfe von ChatGPT.

Neben dem histologischen Bewertungsansatz stützt sich diese Arbeit auch auf die Auswertung physiologischer erhobener Daten aus Impedanz und Hörmessungen. Im Folgenden werden diesbezüglich verwendete Datenauswertungsverfahren definiert.

2.6.1 Histologie

Tabelle 5: Auswertungsschema der Entzündungsreaktion in der Scala tympani

Histologische Parameter	Grad 0	Grad 1	Grad 2	Grad 3
chronisch-lymphoplasmatische Entzündung	0	1–25	26–50	>50
Fremdkörperriesenzellen	0	1–5	6–10	>10
Knochenneubildung	Nicht vorhanden	gering	moderat	hoch
Blutgefäßneubildung	Nicht vorhanden	vorhanden	-	-
fibröse Bindegewebekapsel	Nicht vorhanden	schwach	stark	-
lockeres Bindegewebe	Nicht vorhanden	minimal	<1Quadrant	>1 Quadrant

Im Rahmen der histologischen Evaluierung wurde zuerst eine makroskopische und qualitative Bewertung, der äußerlich sichtbaren Strukturen des Außen- und Mittelohrs, durchgeführt. Ab dem Zeitpunkt der Euthanasie der Tiere und der Cochlea-Entnahme fand zuerst eine makroskopische und qualitative Bewertung der äußerlich sichtbaren Strukturen statt. Einer der ersten Parameter waren Indizien für eine Wundheilungsstörung im Bereich der Bullostomie. Im weiteren Verlauf während des Entkalkungsprozesses fand eine zusätzliche Bewertung der Bullahöhle und insbesondere die Beschaffenheit der Schleimhaut, statt. Vorkommen von Exsudat, farblichen Abweichungen und entzündungsbedingten Reaktionen wurden innerhalb der Paukenhöhle gewertet. Mit dem fortschreitenden Entkalkungsprozess wurden immer mehr Strukturen sichtbar, sodass weitere Einflussgrößen, wie der fehlerfreie Sitz des Implantates innerhalb der Cochleostomie, der Grad der extracochleären bindegewebigen Proliferation der Cochleostomie, sowie Andeutungen eines Implantatdrahtbruches, makroskopisch und qualitativ beurteilt werden konnten. Damit neugebildetes Gewebe innerhalb der Cochlea verbleibt, sollte die Extraktion des Implantates aus der Scala tympani ohne jeglichen Widerstand erfolgen. Nach der histologischen Aufbereitung und der Anfertigung der Schnitte wurde zusätzlich eine semiquantitative Beurteilung von bestimmten Strukturen der Cochlea vorgenommen.

Für die Auswertung der Strukturen der Cochlea wurden Schnitte angefertigt und jeweils drei Schnitte aus dem mittel-modiolaren Abschnitt und drei Schnitte aus dem Bereich der Cochleostomie unter einem Lichtmikroskop semiquantitativ evaluiert. Der Schwerpunkt der Auswertung wurde auf Indikationen für eine

chronische/akute Entzündung und Reaktion des Gewebes auf das Implantat gelegt. Hierfür wurde die Scala tympani der Cochlea in 4 Quadranten unterteilt und nach den folgenden Kriterien beurteilt:

- Anzeichen einer mononuklearen Infiltration mit Makrophagen, Lymphozyten sowie Plasmazellen
- Auftreten von Fremdkörperriesenzellen
- Knochenneubildung (Osteogenese)
- Ausdehnung des lockeren Bindegewebes
- Ausdehnung der fibrösen Bindegewebekapsel um die Elektrode
- Gefäßneubildung

Diese Parameter wurden nach einem bestimmten Schema ausgewertet. Die Graduierung stützt sich auf eine thematisch ähnliche Studie (Fischer, 2015) und kann aus Tabelle 5 entnommen werden. Die Einteilung der Quadranten wird in Abbildung 13 (Einteilung der Scala tympani in die einzelnen Quadranten) dargestellt. Quadrant 1 wird von dem oberen Anteil der lateralen Wand der Scala tympani sowie von der Basilarmembran begrenzt. Rosenthalkanal und medialer Anteil der Lamina spiralis definieren den Quadranten 2. Quadrant 3 und 4 befinden sich jeweils unterhalb von Quadranten 1 und 2.

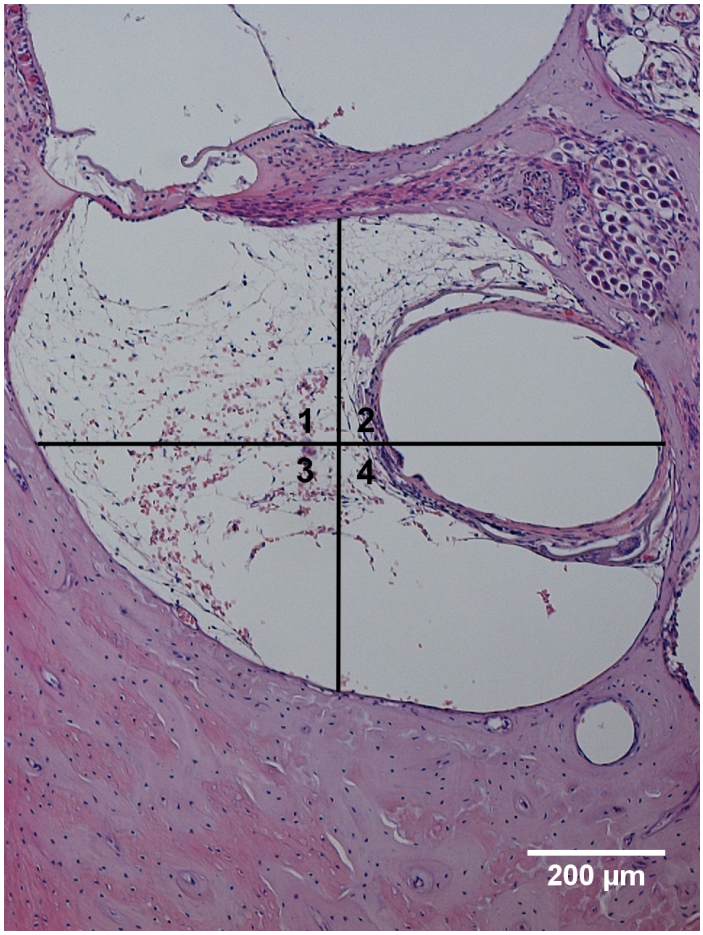


Abbildung 13: Einteilung der Scala Tympani in die einzelnen Quadranten.

Die Einteilung der Quadranten basiert auf den Angaben in der wissenschaftlichen Arbeit von O'Leary et al. (2013).

2.6.2 Immunhistologie

Mithilfe des GAP-43-Antikörper wurden beeinträchtigte Spiralganglienzellen dargestellt (vgl. Abbildung 12). Dabei wurden fünf Schnitte aus dem mittleren modiolaren Bereich untersucht und evaluiert. Der mittlere modiolare Bereich wurde in apikale, mittlere und basale Bereiche unterteilt. Zudem wurden die Spiralganglienzellen der Rosenthalkanäle, der einzelnen Bereiche ausgezählt und in drei Stufen eingeteilt, die der folgenden Graduierung unterlagen:

- GAP-43 unbeeinträchtigte Neuronen (= kein positives GAP-43 Signal)
- GAP-43 beeinträchtigte Neuronen (= schwach positives GAP-43 Signal)
- GAP-43 stark beeinträchtigte Neuronen (= stark positives GAP-43 Signal)

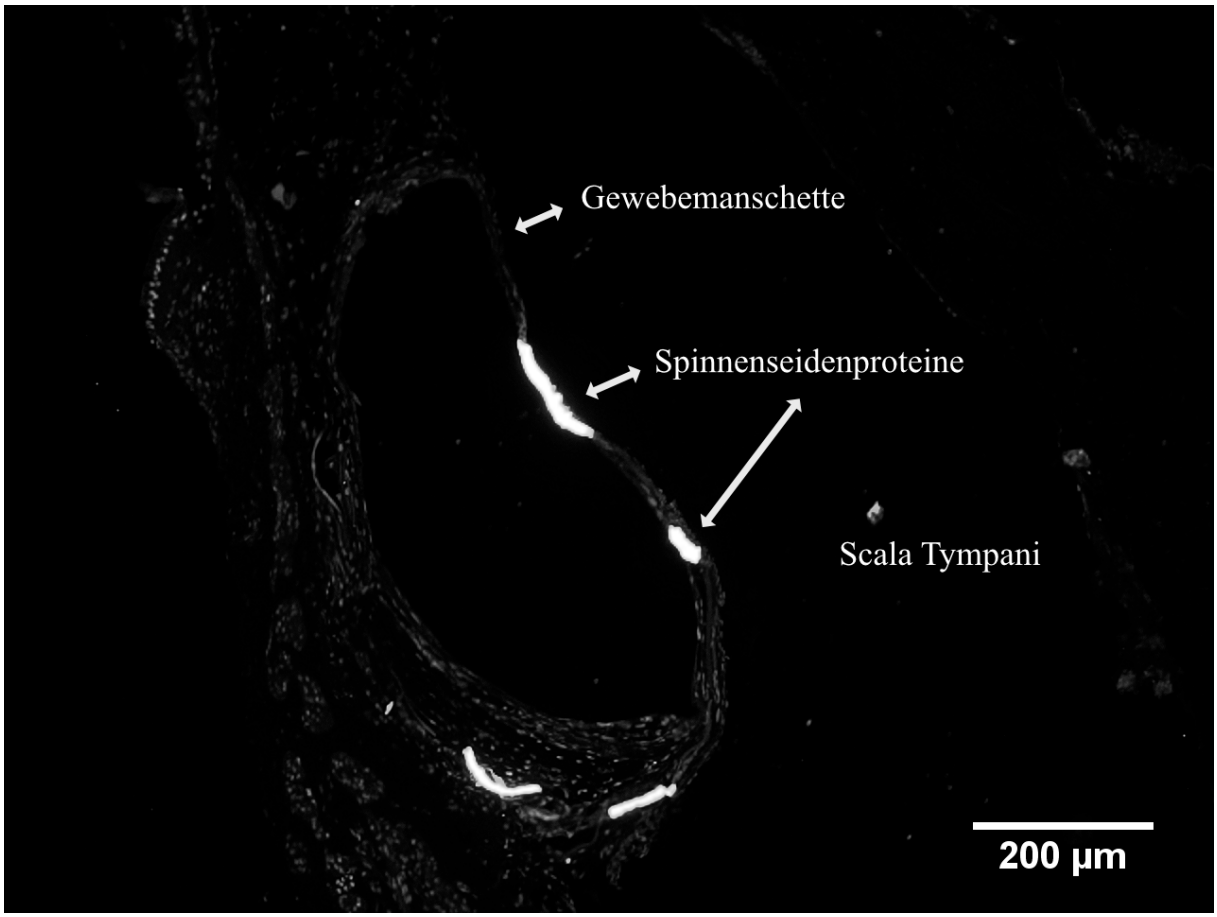


Abbildung 14: T7-Tag bindet an die Spinnenseideproteine

Die Abbildung zeigt die verbleibenden Teile der Spinnenseidenhülle in hellem Weiß sowie die fibröse Bindegewebekapsel, die das Implantat umgibt.

Ein schwach positives GAP-43-Signal zeichnet sich durch eine niedrige Fluoreszenzintensität aus. Im Vergleich zu einem starken Signal ist es deutlich schwächer, was darauf hindeutet, dass weniger GAP-43 gebunden ist. Anschließend wurde für jede Stufe und jeden mittleren-modiolaren Bereich der prozentuale Anteil der Spiralganglienzellen ausgerechnet. Neben dem GAP-43-Antikörper wurde zusätzlich der T7-Tag-Antikörper eingesetzt, um das Spinnenseidenprotein nachzuweisen (Abbildung 14). Hierfür wurden zwei Schnitte aus dem Bereich der Cochleostomie ausgewählt.

2.6.3 Frequenzspezifische Hörmessung

Sieben Tage vor der Implantation der CIs wurde eine Basis-Hörmessung (ABR-Messung) von jedem Tier und jedem Ohr durchgeführt. Diese diente als Referenzwert für alle folgenden Messungen. In die Auswertung kamen nur Tiere, die in allen Frequenzen eine Hörschwelle von über 40 dB erreichten. Tiere, die diese Hörschwelle nicht erreichten, wurden aus der Studie ausgeschlossen. Die Hörschwelle der Tiere wurde für Clickreize und 11 verschiedene Frequenzen bestimmt. Anschließend wurde die absolute Hörschwellenverschiebung für jedes Tier an den unterschiedlichen Zeitpunkten im Versuchsverlauf definiert. Die absolute Hörschwellenverschiebung beschreibt die Veränderung der Hörschwelle im Versuchsverlauf im Vergleich zum Referenzwert. Für eine bessere Darstellung der Hörschwellenverschiebung wurden die Hörmessungen für jedes Tier in vier Gruppen aufgeteilt: tiefe Frequenzen (1-3 kHz), mittlere Frequenzen (4-12 kHz), hohe Frequenzen (16-32 kHz) und Clickreiz. Aufgrund der beidseitigen Implantation gibt es somit pro Tier und Messzeitpunkt 8 Werte.

2.6.4 Impedanzmessung

Für jedes Tier und jedes Implantat wurden zu jedem Messzeitpunkt zwei Messungen sowohl am apikalen als auch am basalen Kontakt durchgeführt. Diese beiden Messungen umfassten jeweils einen Ausgangswert und einen Folgewert. Der Folgewert wurde nach einer fünfzehnminütigen Stimulationsphase an beiden Kontakten erfasst. Während der fünfzehnminütigen Stimulation wurde nur der apikale Kontakt stimuliert; jedoch wurden Werte für beide Kontakte erfasst. Somit ergaben sich insgesamt 8 Messwerte (vier Messwerte pro Implantat) pro Tier und Zeitpunkt während der Impedanzmessungen. Als Ausgangspunkt für die Impedanzmessungen wurde der Messwert am Tag 0, direkt nach der Cochlea-Implantation verwendet. Dieser Wert diente als Basiswert, um die Impedanzveränderungen und die relativen Abweichungen im Verlauf des Versuchszeitraums zu berechnen (= Impedanzverschiebung).

Ein unabhängiger Gruppenvergleich der Werte, die bei der ersten Messung am Tag 0 erhoben wurden, ermöglicht Rückschlüsse auf die Impedanzerhöhung an den individuellen Kontakten. Ferner wurde der Einfluss der fünfzehnminütigen elektrischen Konditionierung auf die Impedanzwerte analysiert, indem die Werte beider Gruppen erneut miteinander verglichen wurden.

Neben den Impedanzveränderungen wurden auch nicht bestimmbare Impedanzwerte für beide Gruppen pro Tier und Kontakt zu den verschiedenen Messzeitpunkten erfasst. Ein nicht bestimmbarer Impedanzwert ist gekennzeichnet durch zu hohe, nicht mehr messbare Impedanzwerte, welche von den Messsystemen nicht mehr erfasst werden konnten.

2.6.5 Statistik

Die Versuche wurden im Rahmen einer Orientierungsstudie durchgeführt, da zum Zeitpunkt des Versuchsantrags noch keine ausreichenden Vorinformationen zu den neuen Beschichtungen vorlagen. Daher war eine Fallzahlplanung für eine konfirmatorischen Studie nicht möglich. Die Gruppengröße wurde auf zwölf Tieren

pro Gruppe festgelegt, wobei jeweils zwei Reservetiere eingeplant wurden, um trotz möglicher Ausfälle eine Mindestgruppengröße von zwölf Tieren zu gewährleisten ((12 pro Gruppe + 2 Reserve) =14 Tiere).

Basierend auf Impedanzmessungen aus früheren Studien zu ähnlichen Implantaten mit Silikonoberfläche konnte mit einem Zwei-Gruppen-Vergleich mittels Mann-Whitney-U-Test anhand dieser Fallzahl eine Effektgröße von 1,349 mit einer Power von 80% und einem zweiseitigen Signifikanzniveau $\alpha = 5\ \%$ nachgewiesen werden. Unter der Annahme einer gleichen Streuung (SD=2,88) entspricht dies einem absoluten Mittelwertunterschied von 3.886 Einheiten.

Während des Versuchs wurde durchgehend eine Gruppengröße von mindestens zwölf Tieren eingehalten. Die genaue Gruppengröße wird in Kapitel 3 („Ergebnisse“) beschrieben. Zur besseren Verständlichkeit wurden im Fließtext die Mittelwerte für die Hör- und Impedanzmessungen sowie die HE-Färbung angegeben. Die immunhistologischen Untersuchungen werden im Fließtext mit den Medianwerten beschrieben. In der Verlaufskurve der absoluten Hörschwellenverschiebungen (Klick, tiefe Frequenzen, mittlere Frequenzen, hohe Frequenzen) und der Impedanzmessungen sind die Mittelwerte und Standardabweichungen grafisch dargestellt. Die grafische Darstellung der Ergebnisse der Hämatoxylin-Eosin-Färbung und der Ausmessung der Dicke der fibrösen Bindegewebekapsel erfolgte in Form von Boxplots mit Minimum, Maximum, Median sowie unterem und oberem Quartil. Die Detektion der Spiralganglienzellen wurde prozentual wiedergegeben.

Für die statistische Auswertung der Studiendaten wurde das Computerprogramm IBM SPSS genutzt. Die Daten wurden anhand eines Kolmogorov-Smirnov- und Shapiro-Wilk-Tests auf Normalverteilung getestet. Anschließend wurden die entsprechenden statistischen Tests ausgewählt. Die nicht bestimmbaren Impedanzwerte wurden mit einem exakten Test nach Fisher gewertet. Bei der Auswertung der Impedanzdaten vor und nach einer 15-minütigen Stimulation sowie bei dem Vergleich der Impedanzdaten von dem basalen und apikalen Kontakt wurde ein nicht parametrischer zweiseitiger Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test für verbundene Stichproben ausgewählt. Die Hörmessungen, die Ergebnisse der Hämatoxylin-Eosin-Färbung sowie die Impedanzverschiebung und die absoluten Impedanzwerte wurden mit einem Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben, zweiseitige asymptomatische Signifikanz berechnet. Für die Ergebnisse der immunhistologischen Untersuchungen und die Dicke der fibrösen Bindegewebekapsel wurde ein ANOVA-Test ausgewählt.

Bei allen Auswertungen wurde ein Wert, welcher kleiner als 0,05 ist, als signifikant bezeichnet.

3 Ergebnisse

Im folgenden Abschnitt werden die analysierten physiologischen und histologischen Daten der verschiedenen Messzeitpunkte dargestellt, die im Rahmen der Studie erhoben wurden. Für jede Experimentalgruppe (–Bs/+Bs) wurde hinsichtlich der Histologie und Impedanzmessung eine Stichprobe von 14 Tieren und 26 Implantaten verwendet (+Bs: n=13,
–Bs: n=13). Jedes Tier war Teil beider Experimentalgruppen, da jeweils in einem Ohr das Implantat +Bs und im anderen Ohr das Implantat –Bs eingesetzt wurde. Die Differenz zwischen der Anzahl der Tiere und Implantate erklärt sich dadurch, dass ein Implantat der Gruppe –Bs außerhalb der Cochlea in der Bulla gefunden und somit aus der Studie ausgeschlossen wurde. Zusätzlich wurde während der histologischen Schnittpräparation festgestellt, dass ein CI der Gruppe +Bs anstatt in die Scala tympani in die Scala media implantiert war, weshalb auch dieses Implantat aus der Studie ausgeschlossen wurde. In der Gruppe –Bs wurde außerdem bei einem Meerschweinchen eine Trommelfellruptur festgestellt. Diese hätte die Hörschwellen beeinflusst und zu niedrigeren Werten geführt; daher wurde dieses Ohr von den physiologischen Hörmessungen ausgeschlossen. Daraus resultiert eine Stichprobe für die Hörmessungen von +Bs: n=13 und –Bs: n=12.

3.1 Histologie

Die Datenauswertung der Histologie umfasst die Entfernung des Implantates, die Hämatoxylin-Eosin-Färbung sowie die Immunfluoreszenz der angefertigten Histologieschnitte der Cochlea der Meerschweinchen.

3.1.1 Implantatsentfernung

Bei der Entfernung des Implantates wurde keine Wundheilungsstörung beobachtet. Die Nähte waren komplett verheilt und die ursprüngliche Eröffnungsstelle auf dem Schädel war mit Fell bedeckt. Die Schleimhaut in der Bullahöhle schien adspektorisch intakt zu sein und zeigte keine Anzeichen von Entzündungsreaktionen. Von 28 Implantaten waren 26 durch die Cochleostomie bis zum Markierungspunkt oder Strich in der basalen Windung implantiert (Abbildung 15).

Die Elektroden konnten ohne Widerstand aus der Scala tympani der Cochlea herausgezogen werden. Bei zwei Implantaten, eines aus der Gruppe +Bs und eines aus der Gruppe –Bs, wurde festgestellt, dass ein Bindegewebewachstum unmittelbar an der Insertionsstelle der Cochleostomie auftrat. Dies wurde nicht vertieft betrachtet, da der Fokus der Studie auf Bindegewebewachstum und Entzündungsprozessen innerhalb der Cochlea lag.

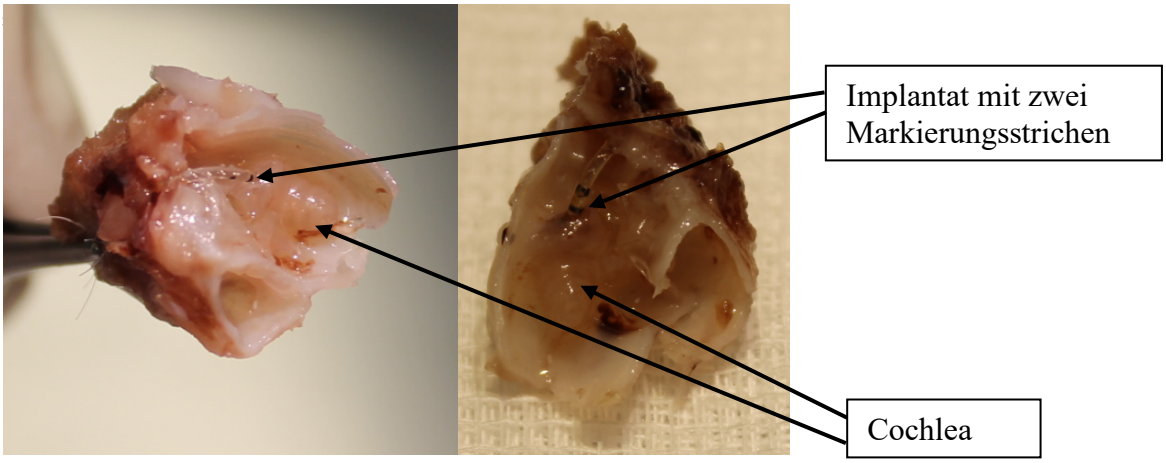


Abbildung 15: Histologie des Cochlea-Entkalkungsprozess

Auf den Bildern ist deutlich zu erkennen, dass das Implantat bis zur schwarzen Markierung in der Cochlea inseriert wurde und bis zum zweiten Markierungsstrich reicht. Die Cochlea ist intakt, und es ist kein Bindegewebe außerhalb der Cochlea zu erkennen. Beide Aufnahmen entstanden während des Entkalkungsprozesses.

3.1.2 Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Jeweils drei Schnitte aus dem mittelmodiolaren Abschnitt der Cochlea und drei Schnitte aus dem Bereich der Cochleostomie wurden unter einem Lichtmikroskop analysiert und semiquantitativ ausgewertet (Abbildung 16, Abbildung 17). Dabei wurde der Grad der Entzündungs- und Fremdkörperreaktion ermittelt (Abbildung 18, Tabelle 6).

Der Schwerpunkt der Graduierung lag auf Anzeichen einer chronischen oder akuten Entzündung sowie der Reaktion des Gewebes auf das Implantat. Die Einzelheiten der Auswertung und Graduierung sind im Abschnitt 2.6.1 nachzulesen.

Die Daten der Auswertung der HE-Schnitte beziehen sich auf die basale Windung der Cochlea. Da das Implantat in diese Windung eingesetzt wurde, ist die Reaktion des Gewebes überwiegend dort lokalisiert. Auf den Schnitten ist ein runder oder ovaler Ring aus Bindegewebe mit Kollagenfasern (fibröse Bindegewebekapsel) erkennbar. Dies ist der Querschnitt des Kanals, in dem die Elektrode lag (Abbildung 13, Abbildung 16, Abbildung 17, Abbildung 19).

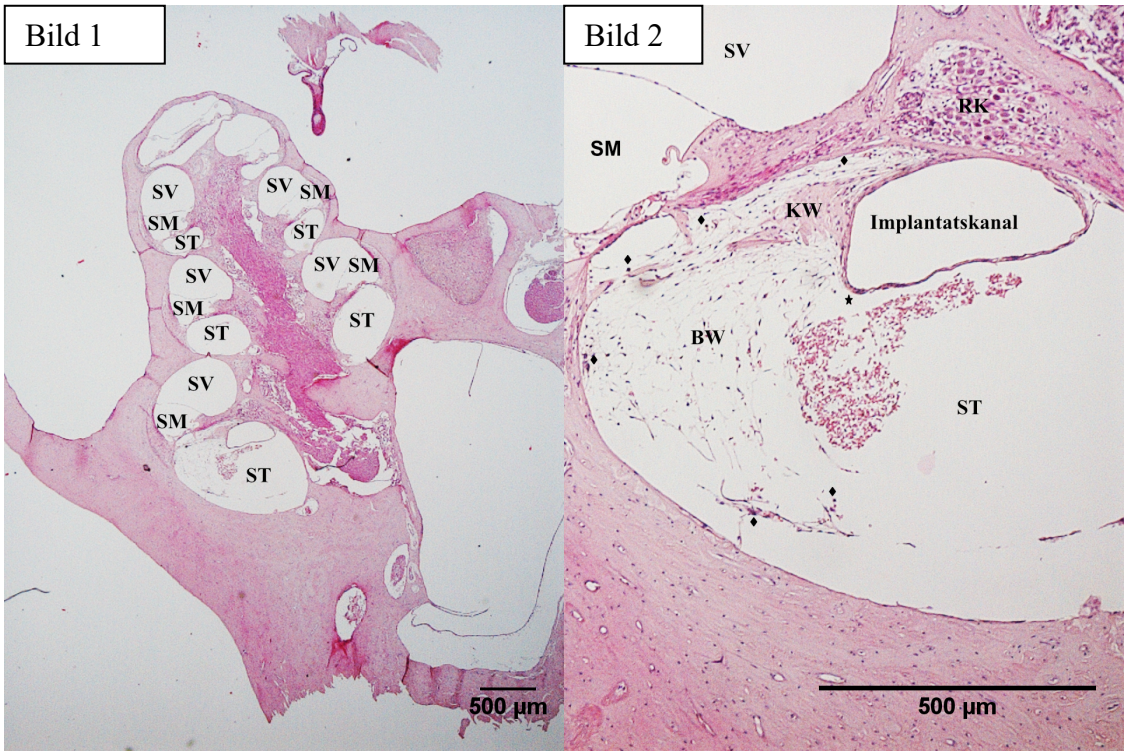


Abbildung 16: HE-Färbung Gruppe –Bs.

Bild 1: Übersichtsaufnahme der Cochlea in der mittel-modiolaren Ebene. Bild 2: Darstellung der Scala tympani mit der fibrösen Bindegewebekapsel. Abkürzungen: ST= Scala tympani, SM= Scala media, SV= Scala vestibuli, RK= Rosenthalkanal, BW=Bindegewebe, KW=Knochengewebe, Raute=Entzündungszellen (Plasmazellen, Lymphozyten und Makrophagen), Stern=Fremdkörperriesenzelle.

In der Umgebung des Bindegeweberings kam es bei einigen Implantaten zur Knochenneubildung. Unmittelbar an der fibrösen Bindegewebekapsel ist lockeres Bindegewebe sichtbar, das von einer Infiltration mononuklearer Zellen, hauptsächlich Lymphozyten und Monozyten, geprägt ist.

Die Intensität und Dichte des lockeren Bindegewebes wiesen bei allen Tieren, unabhängig von der Experimentalgruppe, erhebliche Unterschiede auf. Insgesamt waren die Reaktionen auf das Implantat gruppenübergreifend individuell sehr unterschiedlich. Im Folgenden werden, entsprechend der Auswertung, die Grade der chronisch lymphoplasmatischen Entzündung, der Fremdkörperriesenzellen, der Knochenneubildung, der Blutgefäßneubildung (Abbildung 19), der fibrösen Bindegewebekapsel und des lockeren Bindegewebes für die beiden Gruppen +Bs und –Bs differenziert dargestellt. Die Einteilung der Grade ist in Abschnitt 2.6.1, Tabelle 5, dokumentiert.

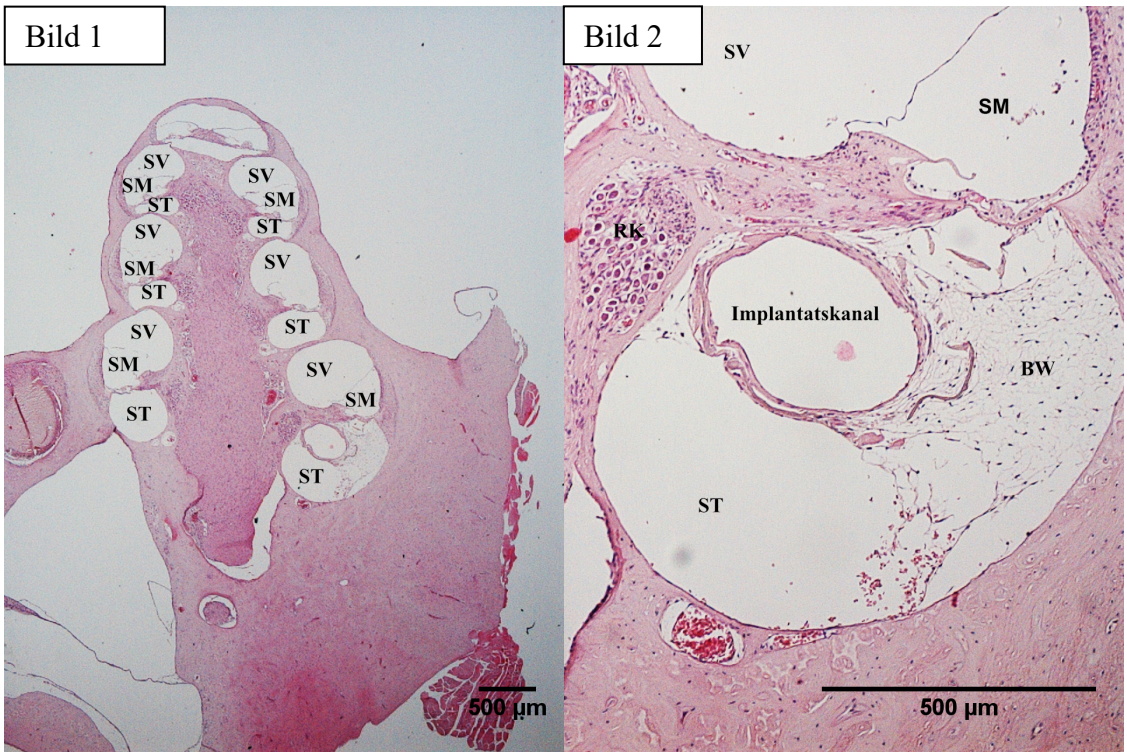


Abbildung 17: HE–Färbung Gruppe +Bs.

Bild 1: Übersichtsaufnahme der Cochlea in der mittel–modiolaren Ebene. Bild 2: Darstellung der Scala tympani mit Elektrodenkanal und der fibrösen Bindegewebehülle. Das Implantat wurde vor der histologischen Aufbereitung entfernt. Abkürzungen: ST= Scala tympani, SM= Scala media, SV= Scala mestibuli, RK= Rosenthalkanal, BW=Bindegewebe.

Bei den untersuchten Parametern fibröse Bindegewebekapsel und Knochenneubildung gab es zwischen den beiden Gruppen einen signifikanten Unterschied (fibröse Bindegewebekapsel: p=0,001; Knochenneubildung: p=0,002). Für alle anderen untersuchten Parameter konnte hingegen kein signifikanter Unterschied festgestellt werden (Tabelle 6).

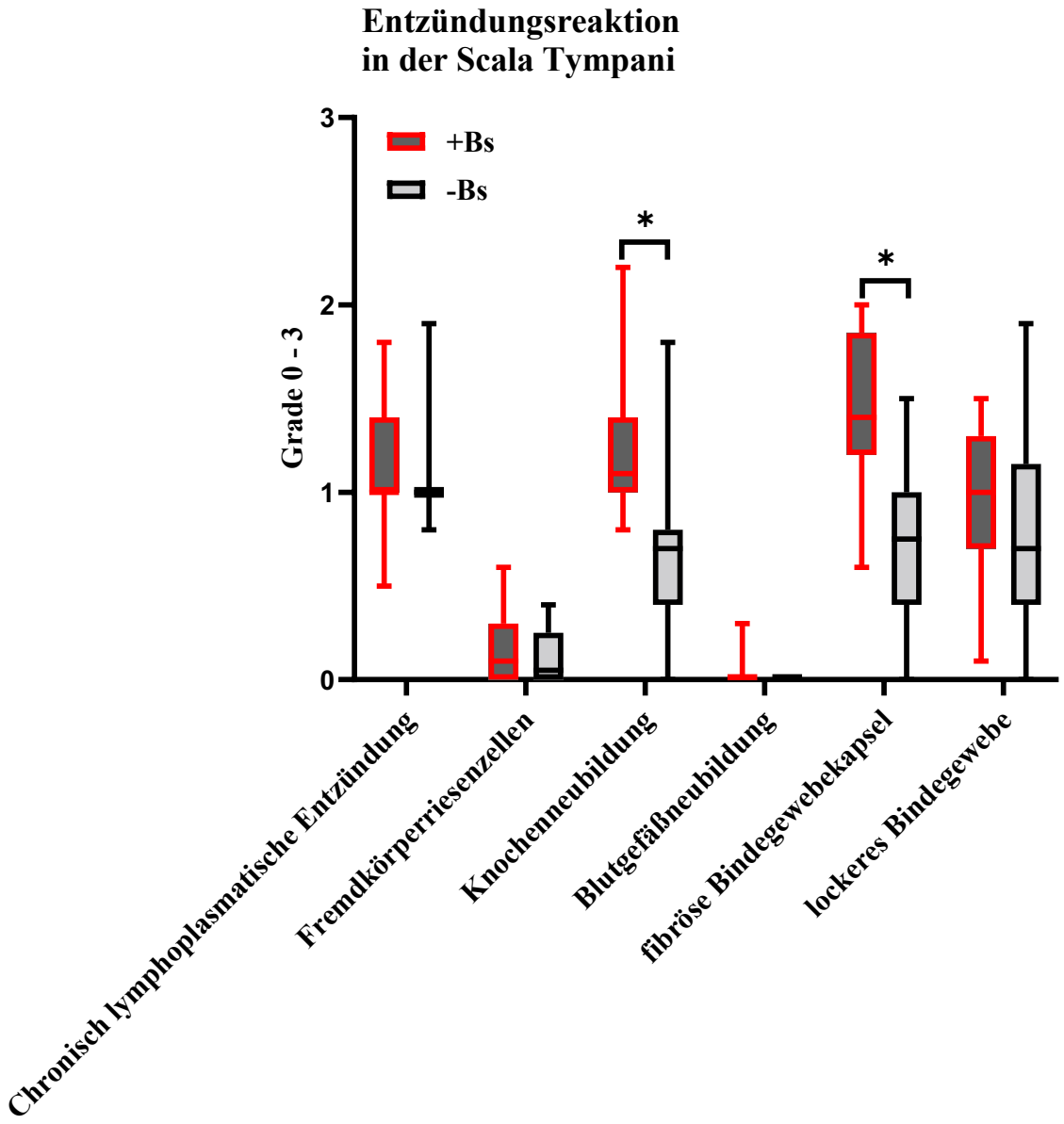


Abbildung 18: Darstellung der Grade der histologischen Auswertung

Der Boxplot zeigt die Verteilung der einzelnen untersuchten Parameter, einschließlich Minimum, Maximum, Median sowie unterem und oberem Quartil. Die Gruppe „+Bs“ weist über alle Parameter hinweg größere Mediane auf. Ein signifikanter Unterschied wurde bei den untersuchten Parametern „fibröse Bindegewebekapsel“ (Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben, zweiseitige asymptotische Signifikanz, p = 0,001) und „Knochenneubildung“ (Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben, zweiseitige asymptotische Signifikanz, p = 0,002) festgestellt, was in der Grafik durch einen Stern (*) gekennzeichnet ist. Die Mittelwerte, Standardabweichungen und die restlichen p-Werte der untersuchten histologischen Parameter sind in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: Mittelwerte und Standardabweichung der untersuchten histologischen Parameter sowie die p-Werte.
Die p-Werte wurden mithilfe eines Mann-Whitney-U-Tests für unabhängige Stichproben berechnet, wobei die zweiseitige asymptotische Signifikanz berücksichtigt wurde.

Histologische Parameter	+Bs	–Bs	p-Wert
chronisch - lymphoplasmatische Entzündung	1,15 ± 0,36	1,06 ± 0,259	0,24
Fremdkörperriesenzellen	0,17± 0,215	0,12 ± 0,15	0,60
Knochenneubildung	1,27 ± 0,39	0,69 ± 0,51	**0,002**
Blutgefäßneubildung	0,04 ± 0,10	0,00 ± 0,00	0,17
fibröse Bindegewebekapsel	1,46 ± 0,41	0,74 ± 0,44	**0,001**
lockeres Bindegewebe	0,99 ± 0,45	0,78 ± 0,60	0,21

In den folgenden Abschnitten werden die einzelnen Ergebnisse der Datenauswertung der Hämatoxylin-Eosin-Färbung im Detail beschrieben.

3.1.2.1 Chronisch lymphoplasmatische Entzündungsreaktion

Der Mittelwert (MW=1,15) der Gruppe +Bs war größer als der der Gruppe –Bs (MW=1,06) (Tabelle 6, Abbildung 18). Die statistische Auswertung ergab jedoch keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Generell wurden über alle Schnitte hinweg wenige Entzündungsanzeichen festgestellt. Folgende Anzahl von Schnitten wurde den jeweiligen Graduierungsstufen zugewiesen:

a) Gruppe +Bs: Grad 3 (= > 50 Zellen) 4 Schnitte, Grad 2 (=26-50 Zellen) 13 Schnitte, Grad 1 (=1-25 Zellen) 79 Schnitte
b) Gruppe –Bs: Grad 3 (= > 50 Zellen) 4 Schnitte, Grad 2 (=26-50 Zellen) 2 Schnitte, Grad 1 (=1-25 Zellen) 84 Schnitte

3.1.2.2 Fremdkörperriesenzellen (FBGC)

Bei einer Gesamtanzahl von 102 untersuchten Schnitten der Gruppe +Bs, gab es lediglich 16 Schnitte mit einer „Grad 1“ (=1-5 Zellen) Beurteilung und einen Schnitt mit einer „Grad 2“ (=6-19 Zellen) Beurteilung.

In der Gruppe –Bs wurden insgesamt 96 Schnitte untersucht und dabei 10 Schnitte detektiert, die unter Grad 1 fallen. Die statistische Auswertung des histologischen Parameters „FBGC“ zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen (p=0,6) (Tabelle 6).

3.1.2.3 Knochenneubildung

Bei der Knochenneubildung wurde zwischen beiden Gruppen deutliche Unterschiede und ein signifikanter Unterschied von p=0,002 festgestellt (Tabelle 6, Abbildung 18).

Die Gruppe +Bs hatte einen Mittelwert von MW=1,27 und insgesamt 27 Schnitte mit einer Grad 2 (=moderat) Beurteilung und 10 Schnitte mit einer Grad 3 (=hoch) Beurteilung. Die Gruppe –Bs hatte bei diesen beiden Graden eine geringere Anzahl betroffener Schnitte. Bei Grad 2 (=moderat) kam diese Gruppe auf 11

Schnitte und bei Grad 3 (=hoch) lediglich auf einen Schnitt. Dies spiegelte sich auch im Mittelwert wider, der bei der Gruppe –Bs bei MW=0,69 und somit unter dem Wert der Gruppe +Bs lag. Bei Grad 1 (=gering) wiesen beide Gruppen ähnliche Werte auf (Gruppe –Bs: 40 Schnitte; Gruppe +Bs: 44 Schnitte).

3.1.2.4 Blutgefäßneubildung

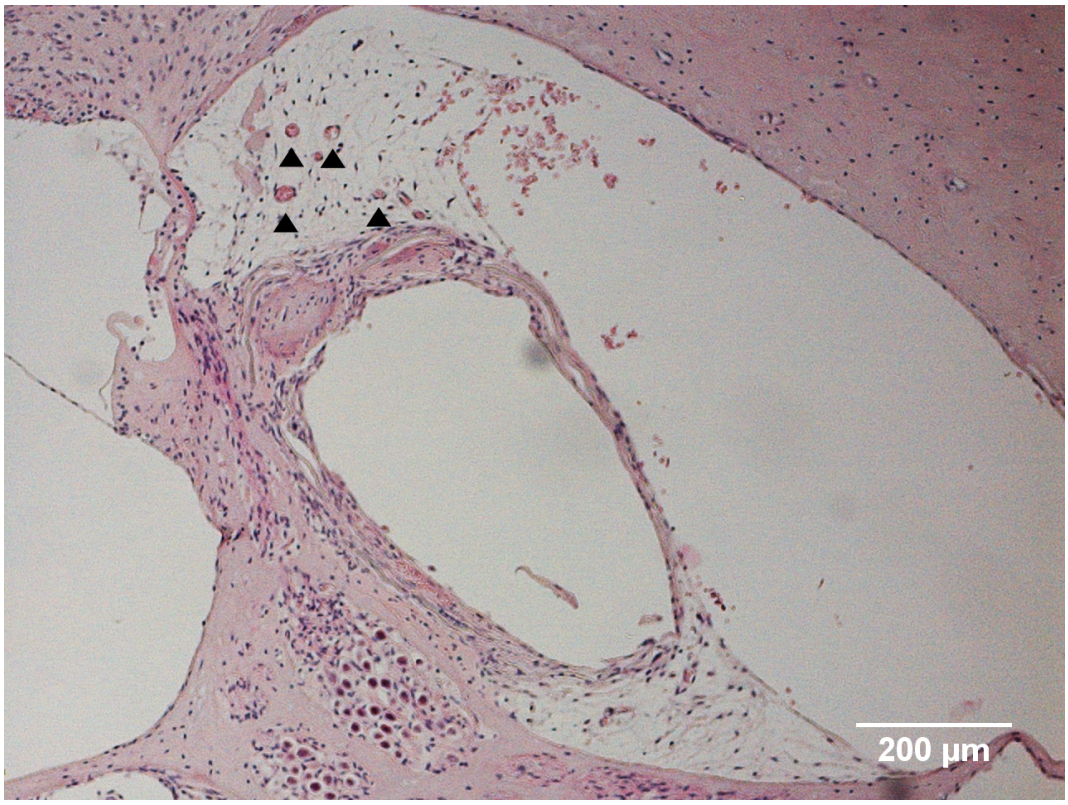


Abbildung 19: Blutgefäßneubildung

Das Dreiecksymbol in der Abbildung weist auf neu gebildete Blutgefäße hin.

Zu einer Blutgefäßneubildung kam es nur in der Gruppe +Bs (Abbildung 19). Dort waren 4 Schnitte betroffen. In der Gruppe –Bs gab es keine Blutgefäßneubildung.

3.1.2.5 Fibröse Bindegewebekapsel um die Elektrode

Die fibröse Bindegewebekapsel um das Implantat war in der Gruppe +Bs stärker ausgeprägt als in der Referenzgruppe –Bs. In der Gruppe +Bs lag der Mittelwert bei 1,46, während er in der Gruppe –Bs nur 0,74 erreichte. Der Unterschied zwischen den Gruppen war statistisch signifikant (p=0,001) (Tabelle 6, Abbildung 18).

In der Gruppe +Bs gab es lediglich 9 Schnitte, auf denen keine fibröse Bindegewebekapsel zu sehen war. Insgesamt war auf 93 Schnitten eine fibröse Bindegewebekapsel erkennbar. Dabei wurden 39 Schnitte mit einem Parameter von Grad 1 und 54 Schnitte mit einem Parameter von Grad 2 bewertet. –Bs hatte 33 Schnitte mit einer Grad 0 Beurteilung und insgesamt 63 Schnitte, auf denen eine fibröse Bindegewebekapsel erkennbar war. Von den 63 Schnitten wurden 6 Schnitte in Grad 2 eingestuft. Dies bedeutet, dass nicht nur die Gesamtanzahl an

betroffenen Schnitten in der Gruppe +Bs häufiger vertreten war, sondern auch, dass eine Grad 2 Beurteilung bei einer größeren Anzahl an Schnitten vorgefunden wurde.

3.1.2.6 Lockeres Bindegewebe

Bei der Beurteilung des lockeren Bindegewebes gab es zwischen den beiden Gruppen keinen signifikanten Unterschied (p=0,21). Der Mittelwert von Gruppe +Bs lag bei MW= 0,99 und bei der Vergleichsgruppe bei einem Wert von MW=0,78. In der Gruppe +Bs gab es insgesamt 58 Schnitte, bei welchen kein lockeres Bindegewebe erkennbar war und 44 mit lockerem Bindegewebe. Die Gruppe –Bs verzeichnete 39 Schnitte mit lockerem Bindegewebe und 57 ohne. Bei Grad 3 waren es in der Gruppe +Bs 18 Schnitte und in der Gruppe –Bs 12 Schnitte (Tabelle 6).

3.1.3 Immunologie

Die Auswirkung der Immunreaktion auf die Spiralganglienzellen (SGN) der Cochleae, die mit beschichteten Elektroden implantiert waren, im Vergleich zu denen mit einer Silikonoberfläche, wurde mithilfe von unterschiedlichen Antikörpern untersucht (siehe Abschnitt 2.5.3). Die mit dem Antikörper GAP-43 markierten SGNs zeigten eine Beeinträchtigung und befanden sich im Reparaturmodus. Darüber hinaus konnten die Spinnenseidenproteine der Beschichtung ebenfalls immunhistologisch nachgewiesen werden.

3.1.3.1 Nachweis von Spiralganglienzellen (SGN) mit GAP-43

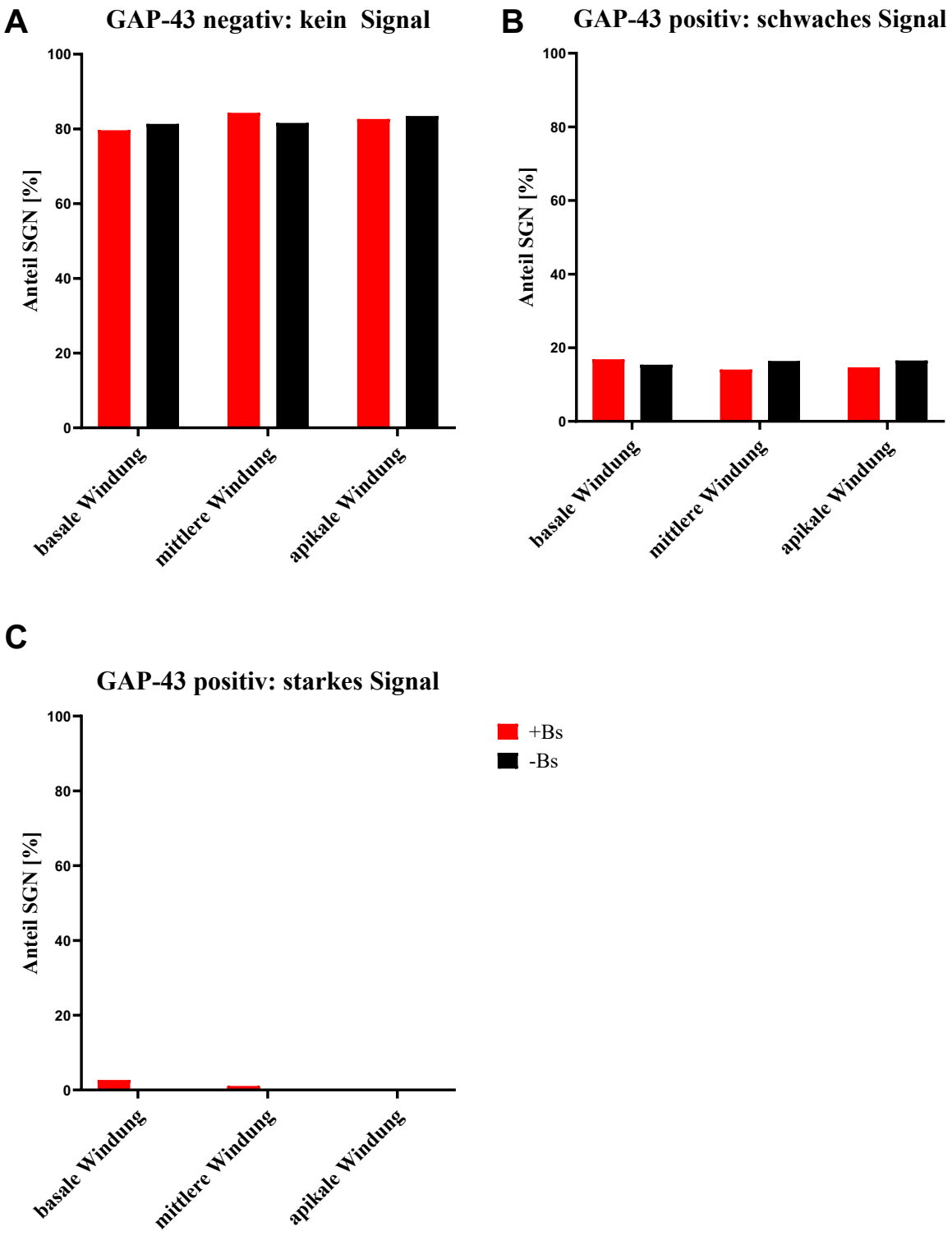


Abbildung 20: Prozentualer Anteil an GAP-43-negativen und GAP-43-positiven SGN

(A) Der Anteil an GAP-43 negativen SGN (=unbeeinträchtigte SGN) überwiegt bei beiden Gruppen und in allen Cochlea-Windungsabschnitten. (C) In den basalen und mittleren Cochlea-Windungen Gruppe –Bs kann ein geringer Anteil an GAP-43 positiven SGN mit einem starken Signal (= GAP-43 stark beeinträchtige SGNs) nachgewiesen werden. Es besteht jedoch kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen (ANOVA). Details sind in Tabelle 7 dargestellt.

Tabelle 7: Ergebnisse der immunhistologischen Auswertung von GAP-43
Die Tabelle zeigt die Medianwerte und den Interquartilsabstand (IQR) sowie die p-Werte (ANOVA) der GAP-43-Signalstärken (schwaches und starkes GAP-43-Signal) für beide Gruppen, angeordnet nach den Abschnitten der Cochlea-Windungen.

		GAP-43 negativ: kein Signal	GAP-43 positiv: schwaches Signal	GAP-43 positiv: starkes Signal
Basale Windung	+Bs	79,66 (74,40/84.52)	16,88 (13,55/21,52)	2,70 (,00/3,87)
	–Bs	81,33 (70,14/95,53)	15,40 (4,47/29,86)	, 00 (,00/1,39)
	p-Wert	**0,663**	**0,914**	**0,052**
Mittlere Windung	+Bs	84,31 (72,04/89,15)	14,08 (10,72/27,10)	1,10 (,00/1,84)
	–Bs	81,62 (79,52/94,27)	16,40 (5,38/20,06)	, 00 (,00/1,58)
	p-Wert	**0,404**	**0,486**	**0,280**
Apikale Windung	+Bs	82,67 (74,76/89,41)	14,67 (9,77/24,33)	, 00 (,00/2.24)
	–Bs	83,48 (79,56/93,63)	16,52 (6,37/19,46)	, 00 (,00/,96)
	p-Wert	**0,288**	**0,358**	**0,283**

Die Datenauswertung ergab, dass insgesamt und gruppenunabhängig wenige GAP-43 positive Neurone nachgewiesen wurden (Abbildung 20). Es konnte kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden (p-Wert =0,052).

In der Gruppe +Bs befanden sich die meisten GAP-43 negativen Neuronen in dem mittleren Windungsabschnitt der Cochlea. In der Gruppe –Bs hingegen befanden sich die meisten GAP-43 negativen SGN im apikalen Bereich. Der größte Anteil der GAP-43 positiven SGN konnte im basalen Windungsabschnitt der Gruppe +Bs nachgewiesen werden.

3.1.3.2 Nachweis von Spinnenseidenproteinen in der Gruppe +Bs

Insgesamt waren Spinnenseidenproteine bei 12 der 13 untersuchten Tiere der Gruppe +Bs nachweisbar. Dies entspricht einer Rate von 92,3 %. In einer weiteren Analyse wurde der Anteil der Spinnenseide an der gesamten fibrösen Bindegewebekapsel beurteilt. Bei 53,85 % der Tiere (sieben von 13) hatte die Spinnenseide einen Anteil von insgesamt einem Viertel der fibrösen Bindegewebekapsel. Bei zwei Tieren war der Anteil der Spinnenseide an der fibrösen Bindegewebekapsel entweder die Hälfte oder drei Viertel. Des Weiteren gab es ein Tier, bei dem keine Spinnenseide nachgewiesen werden konnte und zwei Tiere mit kaum feststellbaren Spuren von Spinnenseide.

Interessanterweise waren bei den meisten Tieren, auf deren Cochleaschnitten Spinnenseide nachgewiesen werden konnte, jeweils mehrere Bruchstücke aus Spinnenseide vorhanden. Lediglich drei Tiere wiesen in ihren Schnitten nur ein Spinnenseidenstück auf.

3.1.4 Dicke der fibrösen Bindegewebekapsel um den Elektrodenkanal

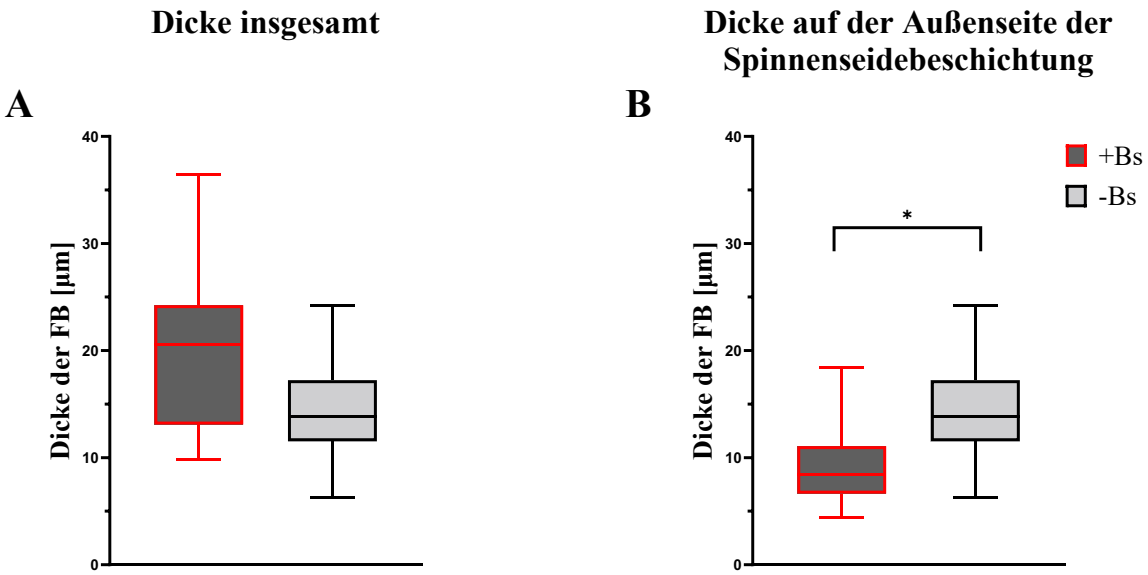


Abbildung 21: Dicke der fibrösen Bindegewebekapsel (FB) um den Elektrodenkanal

Der Boxplot zeigt das Minimum, Maximum, den Median sowie das untere und obere Quartil der einzelnen untersuchten Parameter. (B) Die Ergebnisse zur Dicke der Gewebemanschette auf der Außenseite der Spinnenseidenbeschichtung weisen auf einen signifikanten Unterschied (Stern*) zwischen den beiden Gruppen hin (ANOVA, p=0,004). Das Bindegewebe auf der Außenseite der Beschichtung in der +Bs-Gruppe ist dünner als das Bindegewebe auf der Silikonoberfläche der –Bs-Gruppe. (A) Die geplotteten Daten zeigen die Gesamtdicke der +Bs-Gruppe, einschließlich der Dicke der Spinnenseide sowie des darunter und darüber liegenden Gewebes.

Tabelle 8: Dicke der fibrösen Bindegewebekapsel

In dieser Tabelle sind die Medianwerte, der Interquartilsabstand (IQR), die Mittelwerte mit Standardabweichung, das Minimum und Maximum sowie die P-Werte (ANOVA) aufgeführt.

Dicke in µm	+Bs	–Bs	
Median der fibrösen Bindegewebekapsel insgesamt	20,62 (13,09/24,24)	13,84 (11,54/17,24)	
Mittelwert der fibrösen Bindegewebekapsel insgesamt	23,71 ± 6,78 (Min: 14,47, Max: 36,17)	18,42 ± 5,76 (Min: 8,23, Max: 27,56)	
p-Wert			0,054
Median des BG-Wachstums auf der Außenseite der Spinnenseidenbeschichtung	8,43 (6,64/11,07)		
Mittelwert des BG-Wachstums auf der Außenseite der Spinnenseidenbeschichtung	11,67 ± 4,68 (Min: 4,53, Max: 21,95)		
p-Wert			**0,004**

Bei den Ergebnissen der Ausmessung der Dicke der Gewebemanschette um den Elektrodenkanal zeigte sich zwischen den beiden Gruppen ein signifikanter Unterschied. Die Dicke der Gruppe +Bs betrug 20,62 µm (Median). In der Gruppe –Bs betrug die Dicke 13,84 µm (Tabelle 8).

Bei der Vermessung der Bindegewebekapsel auf den Schnitten der Gruppe +Bs wurde die Gesamtdicke gemessen, also nicht nur Bindegewebe, sondern auch die Reste der noch vorhandenen Spinnenseide, welche bei der Gruppe –Bs naturgemäß nicht vorhanden war. Diese Auswertungsmethode kann zu einer Verzerrung der Ergebnisse führen. Deswegen wurde eine zweite Analyse durchgeführt, bei welcher nur die Anteile der Gewebemanschette oberhalb der Spinnenseide berücksichtigt wurden, d.h. auf der Außenseite der Spinnenseidenbeschichtung in Richtung des Lumens der Scala tympani (Abbildung 19).

Auch diese Ergebnisse ergaben einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen ($p=0,004$, Tabelle 8, Abbildung 21). Die Dicke des Bindegewebes auf den Resten der Spinnenseidenbeschichtung betrug 8,43 µm. Im Vergleich dazu wies die Gruppe –Bs eine fibröse Bindegewebekapsel von 13,84 µm auf.

3.2 Klick ABR- und frequenzspezifische Hörmessung

Neben der Ermittlung der histologischen Parameter wurden auch elektrophysiologische Daten in Bezug auf den Hörerhalt untersucht. Die Klick-ABR- und frequenzspezifischen Hörmessungen dienten der Ermittlung des Hörerhalts nach der Cochlea-Implantation. Neben einer Ausgangsmessung wurden die Tiere in Woche eins, zwei, fünf, neun und zwölf auf ihr Hörvermögen getestet (siehe Abschnitt 2: Methoden für Details). Die audiometrische Messung hatte das Ziel, den potenziellen Einfluss der Beschichtung auf das Hörvermögen zu untersuchen. Im Folgenden werden die Ergebnisse der Klick- und Frequenz-Messungen im zeitlichen Verlauf der Versuchsreihe detailliert beschrieben.

3.2.1 Klick evozierte ABR-Messung

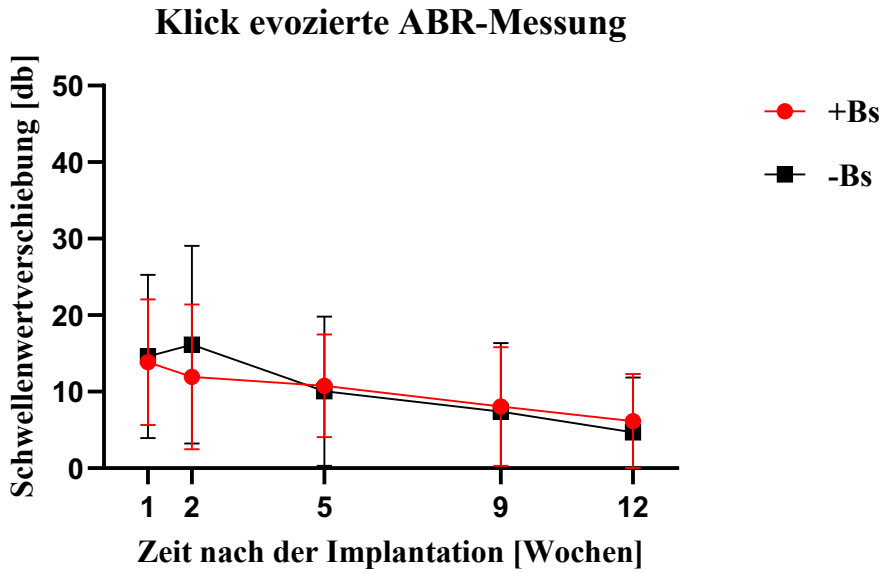


Abbildung 22: Klick-evozierte ABR-Messung

Verlauf der Schwellenwertverschiebung (Mittelwerte und Standardabweichung) von Gruppe +Bs und Gruppe –Bs über einen Zeitraum von zwölf Wochen. Gruppengröße +Bs: n=13, Gruppengröße –Bs: n=12. Die Klick-evozierten ABR-Messungen zeigten bei beiden Gruppen eine stetige Verringerung der Schwellenwertverschiebungen bis zur zwölften Woche. Insgesamt waren die Schwellenwertverschiebungen beider Gruppen nicht signifikant unterschiedlich (Mann-Whitney-U-Test, p = 0,317).

In der ersten Woche zeigte die Gruppe –Bs im Vergleich zur Ausgangsmessung eine etwas größere Hörschwellenwertverschiebung (Mittelwert: 14,62 dB) als die Gruppe +Bs (Mittelwert: 13,85 dB) (Abbildung 22). In der zweiten Woche stiegen die Werte der Gruppe –Bs von 14,62 dB auf 16,15 dB an. Die Schwellenwerte der Gruppe +Bs verringerten sich hingegen (11,92 dB). Ab der fünften Woche reduzierten sich die Schwellenwerte weiter von 11,92 dB auf 10,77 dB. Auch die Schwellenwerte der Gruppe –Bs sanken ab der fünften Woche (von 16.15 dB auf 10,08 dB).

In Woche fünf, neun und zwölf wurde ein gleichbleibender Trend festgestellt. Mit jedem neuen Messzeitpunkt zeigte sich in beiden Gruppen im Vergleich zur Ausgangsmessung eine geringere Schwellenwertverschiebung (Gruppe +Bs: Woche fünf (10,77 dB), Woche neun (8,08 dB), Woche zwölf (6,15 dB); Gruppe –Bs: Woche fünf (10,08 dB) Woche neun (7,38 dB) Woche zwölf (4,69 dB). Außerdem verzeichnete die Gruppe +Bs in diesem Messzeitraum kontinuierlich größere Werte als die Gruppe –Bs.

3.2.2 Tiefe Frequenzen

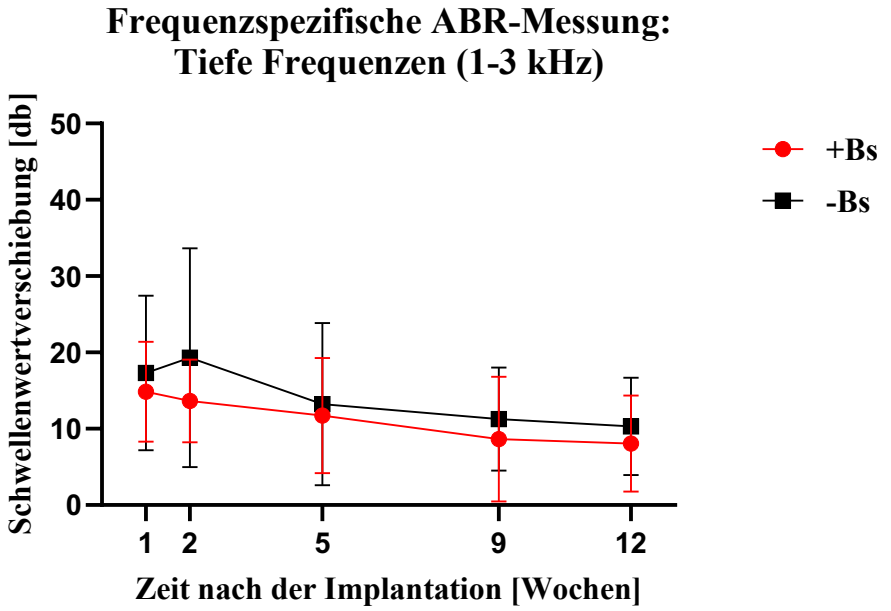


Abbildung 23: Tiefe Frequenzen

Verlauf der Schwellenwertverschiebung (Mittelwerte und Standardabweichung) von Gruppe +Bs und Gruppe –Bs über einen Zeitraum von zwölf Wochen, Gruppengröße +Bs: n=13, Gruppengröße –Bs: n=12. Es besteht kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen (Mann-Whitney-U-Test, p = 0,317).

In der zweiten Woche (13,65 dB) kam es bei der Gruppe +Bs im Vergleich zur ersten Woche (14,85 dB) zu einer Verringerung der Schwellenwertverschiebung. Im Gegensatz dazu erreichte die Schwellenwertverschiebung der Gruppe –Bs in der zweiten Woche größere Werte (19,33 dB) als in der ersten Woche (17,31 dB). Ab der zweiten Woche verkleinerten sich bei beiden Gruppen die Werte (Abbildung 23).

Nach einer Schwellenwertverschiebung von 14,85 dB in der ersten Woche reduzierte sich die Schwellenwertverschiebung der Gruppe +Bs bis zur neunten Woche auf 8,65 dB. Die Gruppe –Bs wies nach der ersten Woche eine Schwellenwertverschiebung von 17,31 dB auf. Bis zur neunten Woche verringerte sich dieser Wert stetig bis auf 11,25 dB. In der zwölften Woche zeigte sich in beiden Gruppen eine weitere Verringerung der Schwellenwertverschiebung. In der Gruppe +Bs sank der Wert auf 8,08 dB, in der Gruppe –Bs auf 10,31 dB. Die Messergebnisse der Gruppe +Bs zeigten über den gesamten Zeitverlauf tendenziell geringere Schwellenwertverschiebungen als die der Gruppe –Bs. Jedoch gab es zwischen den zwei Experimentalgruppen keine statistisch signifikanten Unterschiede (p=0,317).

3.2.3 Mittlere Frequenzen

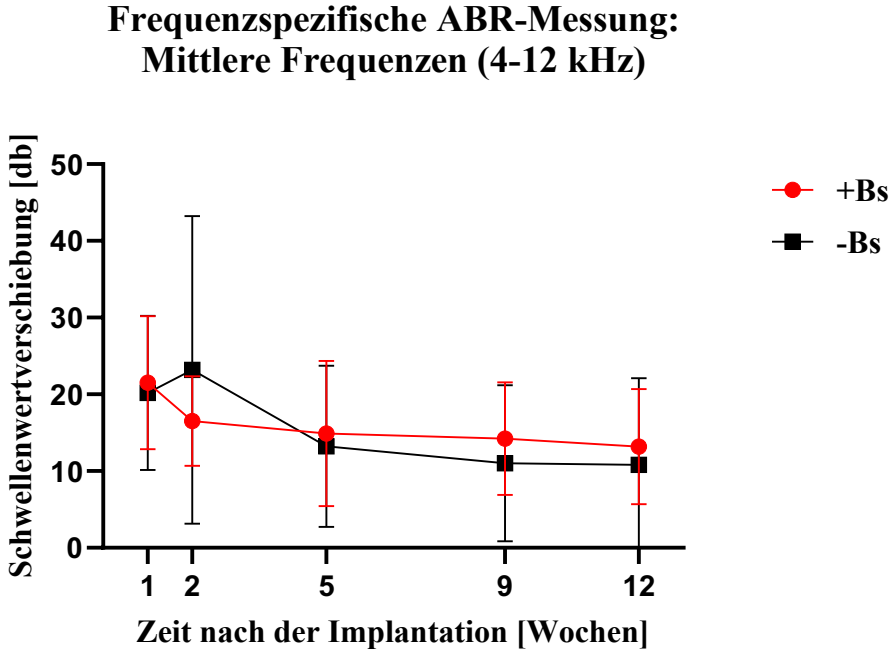


Abbildung 24: Mittlere Frequenzen

Verlauf der Schwellenwertverschiebung (Mittelwerte und Standardabweichung) von Gruppe +Bs und –Bs über einen Zeitraum von zwölf Wochen, Gruppengröße +Bs: n=13, Gruppengröße –Bs: n=12. Es besteht kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen (Mann-Whitney-U-Test, p = 0,317).

In der ersten (21,54 dB), fünften (14,90 dB), neunten (14,23 dB) und zwölften Woche (13,17 dB) wurden in der Gruppe +Bs größere Schwellenwertverschiebungen nachgewiesen als in der Gruppe –Bs. Lediglich in Woche zwei (23,17 dB) wurden in dieser Experimentalgruppe größere Werte gemessen als in der Gruppe +Bs (16,54 dB).

Die Schwellenwertverschiebungen der Gruppe –Bs verringerten sich bis zur zwölften Woche stetig. Nach einer anfänglichen Hörschwellenverschiebung erholte sich das Hörvermögen der Gruppe +Bs bis zur fünften Woche. Danach erreichten die Schwellenwertverschiebungen dieser Gruppe ein Plateau und es konnten keine weiteren Veränderungen festgestellt werden (Abbildung 24).

Wie im tiefen Frequenzbereich zeigten sich zwischen den zwei Experimentalgruppen auch im mittleren Frequenzbereich keine statistisch signifikanten Unterschiede in Bezug auf die Schwellenwertverschiebung (p=0,1).

3.2.4 Hohe Frequenzen

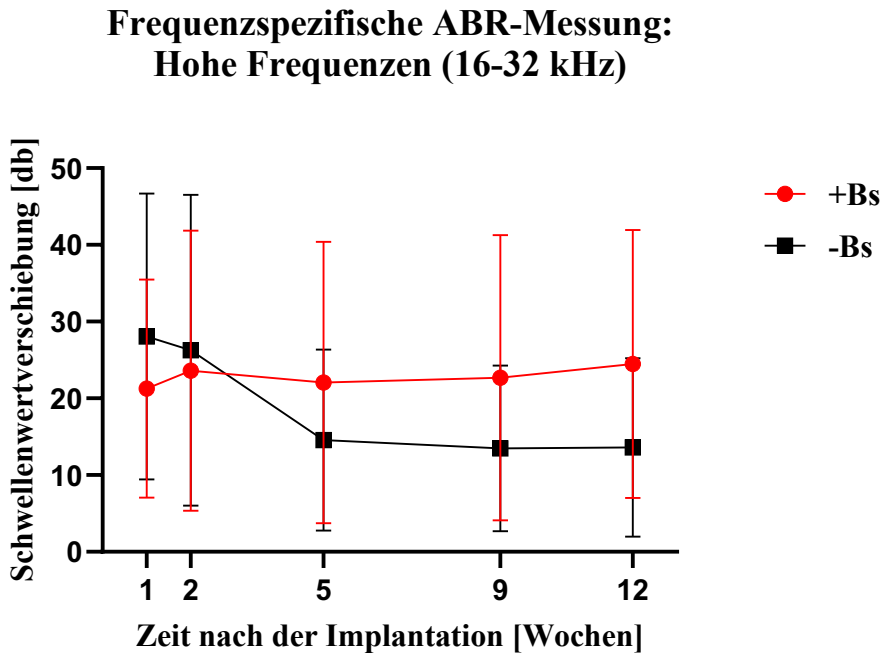


Abbildung 25: Hohe Frequenzen

Verlauf der Schwellenwertverschiebung (Mittelwerte und Standardabweichung) der Gruppe +Bs und –Bs über einen Zeitraum von zwölf Wochen, Gruppengröße +Bs: n=13, Gruppengröße –Bs: n=12. Es besteht kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen (Mann-Whitney-U-Test, p = 0,317).

Bei den hohen Frequenzen konnte, ähnlich wie bei den Messungen der mittleren Frequenzen und der Klickmessungen, ab Woche fünf ein Trend festgestellt werden: Die Gruppe +Bs wies ab diesem Zeitpunkt kontinuierlich größere Schwellenwertverschiebungen als die Gruppe –Bs auf (Abbildung 25).

Demgegenüber verzeichnet die Gruppe –Bs in den ersten beiden Wochen größere Hörschwellenverschiebungen (Woche eins: 28,06 dB; Woche zwei: 26,25 dB) als die Gruppe +Bs (Woche eins: 21,28 dB; Woche zwei: 23,59 dB). Die Schwellenwertverschiebungen der Gruppe +Bs verringerten sich nach Woche zwei von 23,59 dB auf 22,05 dB (Woche fünf) und auf 22,69 dB (Woche neun). In Woche zwölf wurde innerhalb dieser Gruppe der größte Wert gemessen (24,49 dB)

Im hohen Frequenzbereich verkleinerten sich die Schwellenwertverschiebungen der Gruppe –Bs bis zur neunten Woche um 13,47 dB. Ab der neunten Woche kehrte sich der Trend um und die Schwellenwertverschiebung blieb bis zur zwölften Woche annähernd gleich (13,47 dB auf 13,61 dB). Insgesamt zeigten sich zwischen den zwei Experimentalgruppen keine statistisch signifikanten Unterschiede in Bezug auf Schwellenwertverschiebungen (Mann-Whitney -U-Test für unabhängige Stichproben, zweiseitige asymptomatische Signifikanz p=0,317).

3.2.5 Zusammenfassung der Ergebnisse

Tabelle 9: P-Werte der statistischen Auswertung der ABR-Hörmessung

Die Mittelwerte pro Tier und Messzeitpunkt für die einzelnen Frequenzbereiche wurden anhand der ABR-Hörmessungen berechnet. Diese Mittelwerte bildeten die Grundlage für die Durchführung eines Mann-Whitney-U-Tests für unabhängige Stichproben mit zweiseitiger asymptotischer Signifikanz (p-Wert < 0,05); Tierzahl pro Gruppe: +Bs n=13, –Bs n=12

	Klick	Tiefe Frequenzen (1–3 kHz)	Mittlere Frequenzen (4–12 kHz)	Hohe Frequenzen (16–32 kHz)
p-Wert	0,317	0,317	0,317	0,317

Die Mittelwerte der Hörschwellenverschiebungen nehmen mit zunehmender Frequenz von tiefen zu hohen Tönen zu. Generell ergaben die Messungen in einem Frequenzbereich von 16 bis 32 kHz bei beiden Gruppen die größten Hörschwellenverschiebungen (Abbildung 25). Die Gruppe +Bs verzeichnete im hohen Frequenzbereich in der zweiten und zwölften Woche die größten Werte, wohingegen die Gruppe –Bs ihren größten Wert bereits in der ersten Woche erreichte (Abbildung 25).

Nach der Cochlea-Implantation wurden innerhalb der ersten beiden Wochen sowohl bei den gemessenen Einzelfrequenzen als auch bei den Klicks die größten Hörschwellenverschiebungen festgestellt. Allerdings zeigten die Ergebnisse der Klickmessungen über den gesamten Versuchszeitraum hinweg auch innerhalb der ersten beiden Wochen kaum messbare Schwellenwertverschiebungen (Abbildung 22). Nach der anfänglichen geringen Steigerung der Klick-Hörschwellenverschiebungen verringerten sich die Werte der Gruppe –Bs bereits ab der zweiten Woche (Abbildung 22). Im Gegensatz dazu kam es in der Gruppe +Bs nach einer Steigerung der Hörschwellenverschiebung im Verlauf der ersten zwei Wochen erst ab der fünften Woche zu einer Verringerung.

Die Hörschwellenverschiebungen der mittleren Frequenzen der Gruppe –Bs reduzierten sich von der ersten bis zur zwölften Woche stetig. Die Schwellenwertverschiebungen der Gruppe +Bs erreichten sowohl bei den Klicks als auch im mittleren Frequenzbereich ab der fünften Woche ein Plateau (Abbildung 24).

Gruppenunabhängig verringerten sich die Werte der Hörschwellenverschiebungen im hohen- und tiefen Frequenzbereich bis zur neunten Woche. In der zwölften Woche kam es in diesem Frequenzbereich zu einem erneuten Anstieg der Hörschwellenverschiebungen.

Zusammenfassend zeigte der Gruppenvergleich der Messungen einen gleichbleibenden Trend auf: Die Gruppe +Bs demonstrierte bei den Klickmessungen sowie im mittleren und höheren Frequenzbereich größere Hörschwellenverschiebungen als die Gruppe –Bs.

Der tiefe Frequenzbereich bildet jedoch eine Ausnahme. In diesem Frequenzbereich wurden bei der Gruppe +Bs, über den kompletten Versuchszeitraum geringere Hörschwellenwertverschiebungen als bei der Gruppe –Bs gemessen (Abbildung 23). Jedoch ergab die statistische Auswertung zu allen Messzeitpunkten keinen signifikanten Unterschied zwischen den zwei Versuchsgruppen (Tabelle 9).

3.3 Impedanzen

Um herauszufinden, ob die Beschichtung der CIs die Elektrodenkontakt-Impedanzen beeinflusst, wurden im Laufe der Versuchsreihe zu definierten Zeitpunkten, und jeweils vor bzw. nach einer 15-minütigen elektrischen Stimulation (elektrische Konditionierung) Impedanzmessungen durchgeführt.

Im Folgenden werden zuerst die absoluten Impedanzwerte (gemessenen Impedanzwerte) und die Impedanzverschiebung (Differenz von Tag 0), vor der elektrischen Konditionierung (siehe Kapitel 3.3.1, 3.3.2, 3.3.3) im zeitlichen Verlauf näher betrachtet. Anschließend erfolgt eine Analyse der Impedanzwerte vor und nach der elektrischen Konditionierung (siehe Kapitel 3.3.4).

3.3.1 Impedanzwerte im Verlauf des Experimentalzeitraums

Die beidseitige Implantation resultiert in einer Gesamtzahl von 13 Implantaten pro Versuchsgruppe. Da jedes Implantat über zwei Kontakte (apikal/basal) verfügt, ergibt sich eine Gesamtanzahl von 26 Kontakten pro Versuchsgruppe (+Bs/–Bs). Insgesamt ergibt dies eine Gesamtzahl von 52 Kontakten, die zu acht verschiedenen Messzeitpunkten untersucht wurden.

Tabelle 10: Impedanzwerte

Der Vergleich der Impedanzwerte über den Versuchszeitraum zwischen +Bs und –Bs wurde mit einem exakten Fisher-Test durchgeführt, wobei eine einseitige Signifikanz angenommen wurde (p-Wert < 0,05). In der Tabelle sind die Anzahl der messbaren und nicht messbaren Werte der apikalen und basalen Kontakte zu den jeweiligen Messzeitpunkten dargestellt. Die Anzahl der messbaren/nicht messbaren Werte entspricht der Anzahl der zu den jeweiligen Messzeitpunkten gemessenen Implantate.

			Tag 0	Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4	Woche 5	Woche 9	Woche 12
apikal	**+Bs**	messbar	12	13	11	12	10	8	7	7
		nicht messbar	1	0	2	1	3	5	6	6
	–Bs	messbar	13	13	13	11	10	8	7	5
		nicht messbar	0	0	0	2	3	5	6	8
		p-Wert	**0,5**	**1**	**0,24**	**0,5**	**0,678**	**0,656**	**0,652**	**0,348**
basal			**Tag 0**	**Woche 1**	**Woche 2**	**Woche 3**	**Woche 4**	**Woche 5**	**Woche 9**	**Woche 12**
	+Bs	messbar	13	13	12	11	8	8	5	6
		nicht messbar	0	0	1	2	5	5	8	7
	–Bs	messbar	12	13	13	11	10	9	7	5
		nicht messbar	1	0	0	2	3	4	6	8
		p-Wert	**0,5**	**1**	**0,5**	**0,407**	**0,336**	**0,5**	**0,348**	**0,5**

Im Verlauf des Versuchszeitraums kam es bei einer Anzahl von Kontakten zu nicht bestimmbaren Impedanzwerten. Dies bedeutet, dass die Impedanzenwerte aufgrund des Anstiegs des Widerstands (kOhm) nicht mehr gemessen werden konnten. Bei den Impedanzmessungen gab es in beiden Gruppen über den Versuchszeitraum zunehmend nicht bestimmbare Impedanzwerte der messbaren Kontakte zu verzeichnen. Um das Ganze zu veranschaulichen, werden die Kontakte im Fließtext nach Gruppe und Lokalisation unterteilt.

Im gesamten Versuchszeitraum wurden in der Gruppe +Bs am basalen Kontakt 28 nicht bestimmbare Impedanzwerte registriert, verglichen mit 24 nicht messbaren Kontakten am apikalen Kontakt. Im Gegensatz

dazu wies die Gruppe –Bs eine gleichmäßige Verteilung der nicht bestimmbaren Impedanzwerte an beiden Kontakten auf, mit insgesamt 24 nicht bestimmbaren Werten.

Tabelle 10 zeigt die Anzahl der Messungen nicht bestimmbarer Impedanzwerte zu den verschiedenen Messzeitpunkten. Die Analyse dieser Werte ergab jedoch keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

In den folgenden Abschnitten (3.3.1.1 – 3.3.1.4) werden die nicht messbaren Impedanzwerte an den jeweiligen Kontakten und Messzeitpunkten detailliert beschrieben

3.3.1.1 Apikaler Kontakt - Gruppe +Bs

Bei insgesamt sieben Implantaten kam es während des Versuchszeitraumes zu nicht bestimmbaren Impedanzwerten des apikalen Kontakts (7/13). Ein Implantat zeigte bereits am Tag der Implantation einen vorübergehenden Ausfall (1/13). Alle weiteren nicht bestimmbaren Impedanzwerte traten erstmals ab der zweiten Woche auf. Die nicht messbaren Werte von zwei Implantaten in der zweiten Woche waren ebenfalls auf vorübergehend nicht bestimmbare Impedanzwerte zurückzuführen, was bedeutet, dass diese beiden Implantate zu späteren Zeitpunkten im Versuchsverlauf wieder messbar waren. Ab der dritten Woche konnte insgesamt ein dauerhaft nicht bestimmbarer Impedanzwert festgestellt werden (1/13). In der vierten Woche wurden drei nicht bestimmbare Impedanzwerte registriert (3/13). Hierbei handelte es sich um zwei dauerhaft, nicht bestimmbare Impedanzwerte und einen vorübergehenden Ausfall. Die fünfte Woche verzeichnete zunehmend nicht bestimmbare Impedanzwerte, zwei vorübergehend und drei dauerhaft (5/13). In der neunten Woche wurden zwei vorübergehende und vier dauerhaft nicht bestimmbare Impedanzwerte detektiert (6/13). Ab der zwölften Woche kam es zu keinen weiteren Veränderungen, sodass in der letzten Woche bei 7 von 13 Implantaten Widerstände gemessen werden konnten (6/13, Tabelle 10).

3.3.1.2 Apikaler Kontakt Gruppe –Bs

In der Gruppe –Bs konnten in der ersten und zweiten Woche an allen Implantaten Werte gemessen werden (0/13). In Woche drei wurde an zwei Kontakten ein dauerhaft nicht messbarer Impedanzwert festgestellt (2/13). In Woche vier wurde ein weiterer dauerhaft nicht bestimmbarer Wert festgestellt (3/13). In Woche fünf waren zwei weitere dauerhaft nicht bestimmbare Impedanzwerte zu verzeichnen (5/13), in der Woche neun ein weiterer (6/13). In der letzten Messwoche war insgesamt an acht Kontakten keine Messung möglich (8/13, Tabelle 10).

3.3.1.3 Basaler Kontakt Gruppe +Bs

Bei den basalen Kontakten wurden in der Gruppe +Bs sieben nicht bestimmbare Impedanzwerte und sechs messbare Kontakte detektiert (7/13). Vom Tag der Implantation bis zur ersten Woche konnten an allen Kontakten Impedanzen gemessen werden (0/13). In der zweiten Woche wurde ein nicht bestimmbarer Impedanzwert verzeichnet (1/13). In der dritten Woche waren bei jeweils zwei Tieren keine Werte messbar (2/13). Diese basalen Kontakte waren dauerhaft bis zur zwölften Woche nicht mehr messbar. In der vierten Woche kamen drei weitere

dauerhaft nicht messbare Kontakte hinzu, sodass zu diesem Zeitpunkt fünf von dreizehn Kontakten betroffen waren (5/13). In der neunten Woche traten ein vorübergehender Ausfall sowie zwei weitere dauerhafte nicht bestimmbare Impedanzwerte auf, wodurch insgesamt acht von zwölf Kontakten nicht mehr messbar waren (8/12). Der vorübergehend ausgefallene Kontakt lieferte jedoch in der zwölften Woche wieder messbare Werte, sodass zu diesem Zeitpunkt fünf von zwölf Kontakten funktionsfähig waren (7/12, Tabelle 10).

.

3.3.1.4 Basaler Kontakt Gruppe –Bs

Am Tag der Implantation kam es bei einem Tier zu einem Kontaktverlust (1/13). Bei den darauffolgenden Messzeitpunkten konnten jedoch wieder Widerstände gemessen werden. In den ersten beiden Wochen der Versuchsreihe traten keine weiteren nicht bestimmbaren Impedanzwerte auf, sodass alle 13 Implantate messbare Werte lieferten (0/13). Ab der dritten Woche wurden an zwei Kontakten dauerhafte, nicht bestimmbare Impedanzwerte festgestellt (2/13). In der vierten Woche kamen dauerhafte, nicht bestimmbare Impedanzwerte an einem weiteren Implantat hinzu (3/13). Im Verlauf der Versuchsreihe nahmen die dauerhaften, nicht bestimmbaren Impedanzwerte am basalen Kontakt kontinuierlich zu. In der fünften Woche waren vier Implantate betroffen (4/13), in der neunten Woche sechs (6/13), und in der finalen Woche konnten an acht Implantaten keine Werte mehr ermittelt werden (8/13).

3.3.2 Gruppenunabhängiger Impedanzvergleich zwischen apikalen und basalen Kontakten

Tabelle 11: Gruppenunabhängiger Impedanzvergleich zwischen apikalen und basalen Kontakten

Berechnung des p-Wertes mit einem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test für verbundene Stichproben, zweiseitige asymptotische Signifikanz (p-Wert < 0,05); Anzahl der Impedanzpaare: n = 156 (apikal und basal).

	Anzahl	Rangsumme
Basal < Apikal	69	4563,5
Basal > Apikal	86	7526,5
Basal = Apikal	1	
Gesamt	156	
p-Wert	**0,008**	

Die Auswertung des gruppenunabhängigen Impedanzvergleichs wurde durchgeführt, um Unterschiede zwischen dem basalen und dem apikalen Kontakt in Bezug auf die Impedanzwerte vor der elektrischen Stimulation zu ermitteln. Im Verlauf des Versuchszeitraums wurden insgesamt 156 Impedanzpaare (apikal und basal) gemessen. Diese Zahl umfasst die Gesamtanzahl der gemessenen Impedanzen bei beiden Versuchsgruppen über alle Messzeitpunkte hinweg. Von diesen Messungen zeigten 86 Messwerte am apikalen Kontakt niedrigere Impedanzwerte im Vergleich zum basalen Kontakt, während bei 69 Messungen am basalen Kontakt niedrigere Impedanzwerte festgestellt wurden. Bei einer Messung waren die Impedanzwerte für den basalen und den apikalen Kontakt identisch.

Die Analyse der Summenrangplätze ergab, dass der basale Kontakt eine positive Rangsumme von 7526,5 aufwies, was deutlich höher ist als die Rangsumme des apikalen Kontakts mit 4563,5 (vgl.Tabelle 11).

Insgesamt wurden am basalen Kontakt signifikant häufiger höhere Impedanzwerte beobachtet. Der statistische Test zeigte einen signifikanten Unterschied (p = 0,008) zwischen den Impedanzwerten des basalen Kontakts, der sich intracochleär direkt an der Cochleostomie befand, und den apikalen Kontakten.

3.3.3 Gruppenvergleich der Messergebnisse von Tag 0 bis Woche 12

Nachdem festgestellt wurde, dass größere Impedanzwerte am basalen Kontakt signifikant häufiger auftraten, wurden die Messergebnisse des Gruppenvergleichs hinsichtlich der Impedanzverschiebung zwischen dem basalen und apikalen Kontakt vor der elektrischen Stimulation genauer untersucht. Die Impedanzverschiebung stellt die Veränderung der absoluten Impedanzwerte im Verlauf des Versuchszeitraums im Vergleich zur Ausgangsmessung (Tag 0) dar. Um den Anstieg der Impedanzwerte im Vergleich zur Ausgangsmessung zu ermitteln, wurden die Impedanzwerte der Wochen 1, 2, 3, 4, 5, 9 und 12 von den Werten des Ausgangstags abgezogen. So konnten wir sehen, wie sich die Impedanzwerte zu den verschiedenen Messzeitpunkten verändert haben.

3.3.3.1 Impedanzverschiebung im Verlauf des Experimentalzeitraums

In der Grafik (Abbildung 26) sind die Impedanzverschiebungen an den Kontakten als Differenz zum Tag 0-Wert sowie deren prozentuale Anstiege von der ersten bis zur zwölften Woche zu sehen. Insgesamt ergaben sich für keinen der im Folgenden gezeigten Werte signifikante Unterschiede zwischen den zwei Experimentalgruppen.

3.3.3.1.1 Apikaler Kontakt

Die Gruppe +Bs wies in der ersten, zweiten, vierten, neunten und zwölften Woche geringere Impedanzverschiebungen als die Gruppe –Bs auf. Lediglich in der dritten und fünften Woche zeigten sich bei der Gruppe +Bs größere Impedanzverschiebungen als bei der Gruppe –Bs. In der neunten und zwölften Woche war der Unterschied der Impedanzverschiebungen zwischen beiden Gruppen am deutlichsten (Abbildung 26). In der Gruppe +Bs wurden in der neunten- und der zwölften Woche Mittelwerte von 1,24 kOhm und 1,28 kOhm gemessen. Im Vergleich dazu verzeichnete die Gruppe –Bs in der neunten- und zwölften Woche größere Impedanzverschiebungen (Woche neun: 4,17 kOhm, Woche zwölf: 3,23 kOhm) (Tabelle 12).

In Bezug auf den prozentualen Anstieg der absoluten Werte im Vergleich zur Ausgangsmessung wurden die größten Verschiebungswerte der beiden Gruppen zu unterschiedlichen Zeitpunkten nachgewiesen. In der Gruppe +Bs wurde der größte prozentuale Anstieg der absoluten Werte in der fünften Woche (79,47 %) ermittelt. Dagegen wurde in der Gruppe –Bs der größte prozentuale Anstieg in der neunten Woche (96,56 %) identifiziert (Tabelle 12). Die Impedanzverschiebungen beider Gruppen erreichten in der 9. bzw. in der zwölften Woche wieder ihre Ausgangswerte, wobei dies bei der Gruppe +Bs etwas deutlicher war.

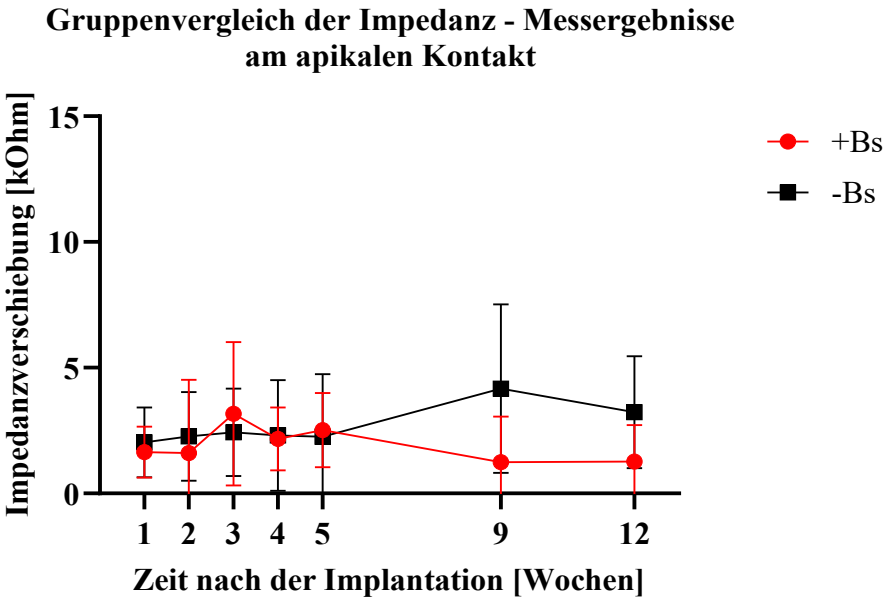


Abbildung 26: Impedanzverschiebungen am apikalen Kontakt

Die Abbildung zeigt die Mittelwerte der Impedanzverschiebungen mit den entsprechenden Standardabweichungen für die untersuchten Gruppen. Zum Ende der Versuchsreihe zeigt die Gruppe +Bs eine geringere Impedanzverschiebung im Vergleich zur Gruppe –Bs. Der Unterschied ist jedoch statistisch nicht signifikant (Mann-Whitney-U-Test, p = 0,259).

3.3.3.2 Basaler Kontakt

Am basalen Kontakt zeigte die Gruppe +Bs in der vierten (Mittelwert: 4,15 kOhm) und fünften Woche (4,52 kOhm) geringere Impedanzverschiebungen als die Gruppe –Bs. In der ersten, zweiten, dritten, neunten und zwölften Woche zeigte die Gruppe +Bs hingegen größere Impedanzverschiebungen als die Gruppe –Bs (Tabelle 12, Abbildung 27).

Die absoluten Werte der Impedanzverschiebung der Gruppe +Bs wurden bis zur dritten Woche stetig größer, sie sanken in der vierten Woche von 9,17 kOhm auf 8,8 kOhm, um dann bis zur zwölften Woche wieder anzusteigen. Die Gruppe +Bs zeigte den größten prozentualen Anstieg mit 153,74 % in der zwölften Woche. Im Vergleich dazu stiegen die Werte der Impedanzverschiebungen der Gruppe –Bs bis zur zwölften Woche kontinuierlich an. Wie die Gruppe +Bs verzeichnete auch die Gruppe –Bs in der zwölften Woche von 158,96 % den größten Anstieg (Tabelle 12). Keine der beiden Gruppen erreichte gegen Ende des Versuchszeitraums die Ausgangswerte.

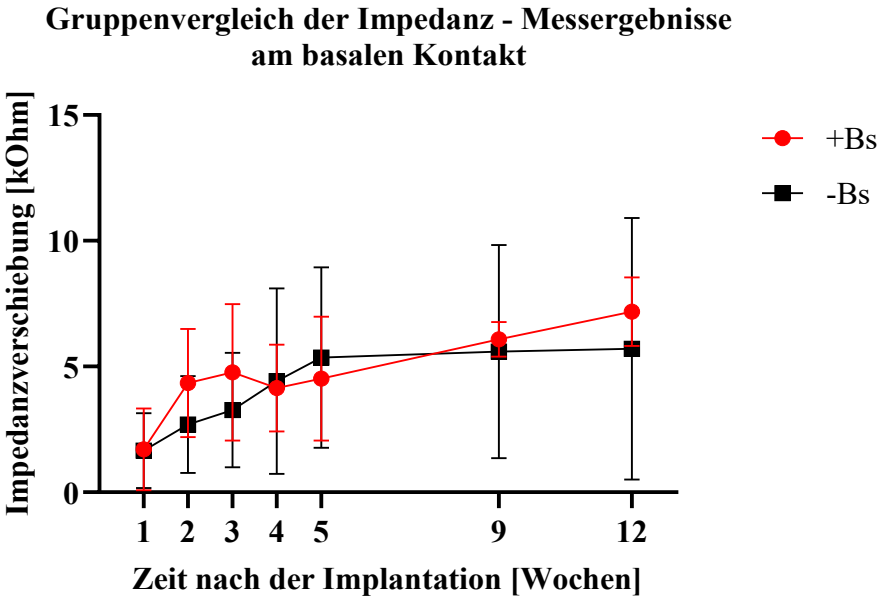


Abbildung 27: Impedanzverschiebung am basalen Kontakt

Die Abbildung zeigt die Mittelwerte der Impedanzverschiebungen am basalen Kontakt, einschließlich der Standardabweichungen. Gegen Ende der Versuchsreihe weist die Gruppe –Bs geringere Impedanzverschiebungen im Vergleich zur Gruppe +Bs auf. Dieser Unterschied ist jedoch nicht statistisch signifikant (Mann-Whitney-U-Test, $p = 0{,}059$).

Tabelle 12: Gruppenvergleich Messergebnisse der Impedanzverschiebung von Tag 0 bis Woche 12

Die Tabelle enthält Mittelwerte, 25%- und 75%-Perzentile der absoluten Impedanzwerte sowie der Differenzen zu Tag 0 und den prozentualen Anstieg ab Tag 0, sowohl für den apikalen als auch für den basalen Kontakt.

		Gruppe		Tag 0	Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4	Woche 5	Woche 9	Woche 12
Basaler Kontakt	Absolute Werte [kΩ]	+Bs	MW	4,49	6,21	8,80	9,17	8,80	9,18	11,37	12,26
			25 % Perzentil	3,55	5,19	6,97	8,13	7,27	7,75	10,73	11,24
			75 % Perzentil	5,10	6,64	10,13	10,07	10,38	10.16	12,02	13.64
		–Bs	MW	3,89	5,66	6,57	7,07	8,15	8.77	9,20	9,47
			25 % Perzentil	3,57	4,75	5,61	5,44	5,47	4.94	5,57	5,54
			75 % Perzentil	4,38	7,04	8,03	8,55	10,20	12.09	12,76	13.75
	Differenz von Tag 0 [kΩ]	+Bs	MW		1,71	4,34	4,77	4,15	4,52	6,08	7,19
			25 % Perzentil		0,72	2,87	3,11	2,38	2,45	5,39	6,13
			75 % Perzentil		2,41	5,78	5,15	5,36	5,14	6,68	8,25
		–Bs	MW		1,66	2,69	3,27	4,42	5,35	5,59	5,71
			25 % Perzentil		0,62	1,30	1,20	1,45	1,48	1,14	1,37
			75 % Perzentil		3,23	4,64	5,48	7,78	8,67	9,32	11,01
	Prozentualer Anstieg von Tag 0 [kΩ]	+Bs	MW		45,33 %	106,92 %	122,62 %	96,35 %	106,36 %	124,21 %	153,74 %
			25 % Perzentil		14,29 %	72,52 %	75,92 %	59,02 %	51,53 %	86,26 %	113,46 %
			75 % Perzentil		63,56 %	128,52 %	147,87 %	125,57 %	132,56 %	162,23 %	224,19 %
		–Bs	MW		46,41 %	73,93 %	88,60 %	114,12 %	141,07 %	149,59 %	158,96 %
			25 % Perzentil		14,51 %	30,45 %	27,84 %	33,13 %	36,56 %	27,16 %	34,03 %
			75 % Perzentil		79,78 %	142,50 %	171,95 %	220,69 %	262,52 %	247,54 %	336,27 %
Apikaler Kontakt	Absolute Werte [kΩ]	+Bs	MW	4.86	6,50	7,28	8,14	7,69	7,40	6,93	6,93
			25 % Perzentil	3.77	5,35	6,40	6,49	6,02	5,57	5,13	5,19
			75 % Perzentil	5.59	6,84	7,80	9,07	9,71	9,60	8,48	9,19
		–Bs	MW	4.36	6,39	6,63	6,92	6,70	6,65	8,62	7,66
			25 % Perzentil	3.92	4,91	4,88	5,70	5,37	4,51	5,25	5,86
			75 % Perzentil	4.75	7,89	8,13	8,31	7,97	9,17	10,77	9,29
	Differenz von Tag 0 [kΩ]	+Bs	MW		1,64	1,61	3,17	2,17	2,52	1,24	1,28
			25 % Perzentil		0,90	0,70	1,64	1,05	1,33	-0,05	0,27
			75 % Perzentil		2,24	3,05	4,00	3,47	3,80	3,28	2,83
		–Bs	MW		2,03	2,27	2,44	2,31	2,25	4,17	3,23
			25 % Perzentil		1,05	0,74	1,65	1,00	-0.02	0,82	1,15
			75 % Perzentil		3,21	4,05	3,10	3,66	4,91	6,98	5,06
	Prozentualer Anstieg von Tag 0 [kΩ]	+Bs	MW		39,96 %	54,94 %	79,47 %	45,86 %	53,57 %	29,46 %	26,95 %
			25 % Perzentil		16,51 %	12,45 %	37,75 %	22,86 %	30,02 %	0,00 %	0,00 %
			75 % Perzentil		49,77 %	74,39 %	94,34 %	68,10 %	79,48 %	67,59 %	51,58 %
		–Bs	MW		48,05 %	54,77 %	57,06 %	56,50 %	56,51 %	96,56 %	77,10 %
			25 % Perzentil		25,25 %	21,14 %	32,14 %	21,43 %	3,64 %	18,51 %	24,65 %
			75 % Perzentil		69,93 %	97,90 %	90,38 %	96,41 %	107,11 %	184,17 %	126,65 %

3.3.4 Impedanz-Messung vor und nach elektrischer Konditionierung

Neben der Messung der Ausgangswerte am basalen und apikalen Kontakt (siehe Abschnitt 3.3.3) wurden Folgewerte nach einer fünfzehnminütigen Stimulation des apikalen Kontakts bestimmt. Durch die elektrische Stimulation werden auf dem Implantat abgelagerte Proteine oder Zellen entfernt (Newbold et al., 2011;

Tykocinski et al., 2001). Demzufolge werden die Impedanzwerte in dieser Experimentalstudie nicht nur vor einer elektrischen Konditionierung (siehe Abschnitt 3.3.3), sondern auch nach einer fünfzehnminütigen Stimulationsphase (=Konditionierung) an beiden Kontakten erfasst. Die Ergebnisse dieser Messreihe werden im folgenden Abschnitt präsentiert.

3.3.4.1 Apikaler Kontakt

In der Abbildung 28 sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der ersten Messung vor und der zweiten Messung nach der 15-minütigen Konditionierung am apikalen Kontakt dargestellt. Am apikalen Kontakt gab es zu allen Messzeitpunkten einen signifikanten Unterschied zwischen den Impedanzwerten vor und nach der Konditionierung.

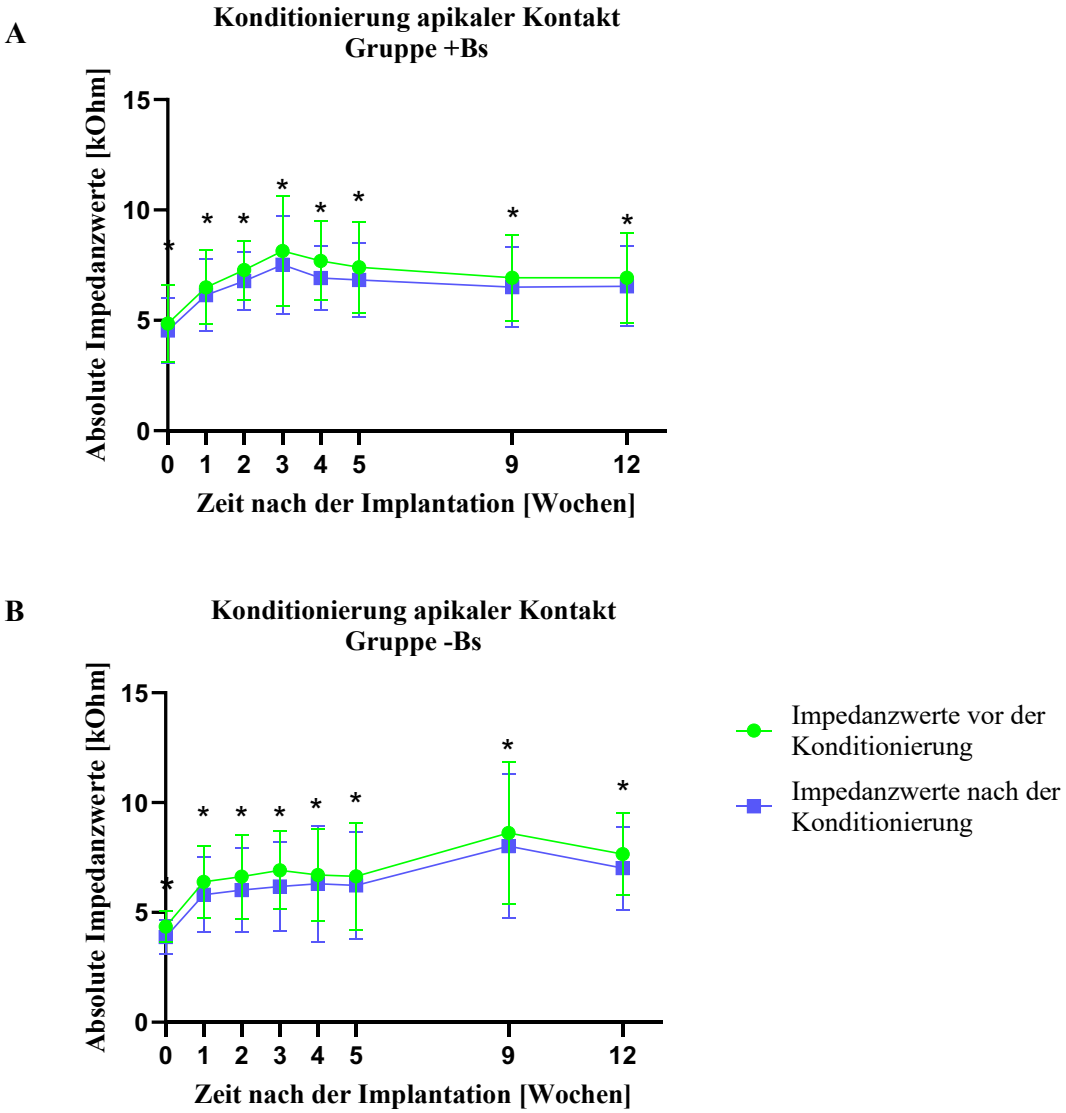


Abbildung 28: **Impedanz-Messergebnisse am apikalen Kontakt der Gruppe +Bs und –Bs vor und nach der 15-minütigen Konditionierung (Mittelwerte und Standardabweichung)**

(A), (B) Die Impedanzwerte waren nach der Konditionierung bei beiden Gruppen zu allen Zeitpunkten niedriger als davor. Zu allen Messzeitpunkten gab es einen signifikanten Unterschied zwischen den Impedanzwerten vor und nach der Konditionierung. * zeigt die Signifikanz bei einem P-Wert < 0,05 an (Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test für verbundene Stichproben). Die einzelnen p-Werte sind in Tabelle 13 dargestellt.

3.3.4.1.1 Gruppe +Bs

Die Mittelwerte der Impedanzmessungen waren nach der 15-minütigen Konditionierung des apikalen Kontakts meistens niedriger als die Ausgangswerte (Tabelle 13). Lediglich in den Wochen zwei, drei und vier gab es apikale Kontakte an denen keine Impedanzverringerung festgestellt wurde. In der fünften Woche blieb die Impedanz bei einem Tier unverändert.

3.3.4.1.2 Gruppe –Bs

Bei der Gruppe –Bs wurde zu allen Messzeitpunkten ein signifikanter Unterschied zwischen der Impedanzmessung vor und nach der Konditionierung des apikalen Kontakts registriert (Tabelle 13). In der ersten, dritten, vierten und fünften Woche gab es jedoch jeweils ein Tier, dessen Impedanzwerte nach der Konditionierung höher waren. Ebenso wie bei der Gruppe +Bs kam es auch bei der Gruppe –Bs an einem Zeitpunkt (erste Woche) zu einem gleichbleibenden Impedanzwert.

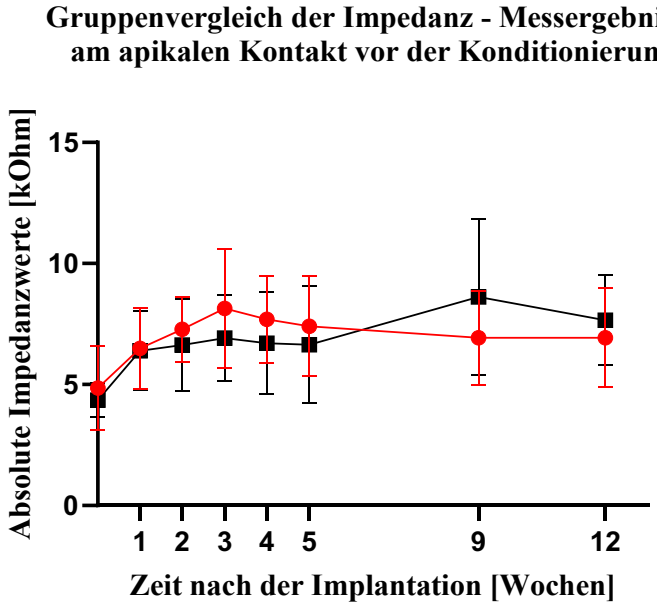
Tabelle 13: Mediane und p-Werte am apikalen Kontakt vor und nach der 15-minütigen Konditionierung

Die Berechnung des p-Werts erfolgte mittels eines Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Tests für verbundene Stichproben, basierend auf einer zweiseitigen asymptotischen Signifikanz mit einem Schwellenwert von $p < 0,05$.

		Tag 0	Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4	Woche 5	Woche 9	Woche 12
Apikaler Kontakt Gruppe +Bs	**1. Impedanz Messung**	4,86	6,50	7,28	8,14	7,69	7,40	6,93	6,93
	2. Impedanz Messung	4,54	6,14	6,78	7,52	6,91	6,84	6,51	6,55
	Impedanz runter	12	13	10	10	9	7	7	7
	Impedanz hoch			1	2	1			
	Impedanz gleichbleibend						1		
	p-Wert	**0,002**	**0,001**	**0,02**	**0,03**	**0,01**	**0,02**	**0,02**	**0,02**
Apikaler Kontakt Gruppe –Bs	**1. Impedanz Messung**	4,36	6,39	6,63	6,92	6,70	6,65	8,62	7,66
	2. Impedanz Messung	3,88	5,81	6,02	6,18	6,31	6,23	8,01	7,02
	Impedanz runter	13	11	13	10	9	7	7	5
	Impedanz hoch		1		1	1	1		
	Impedanz gleichbleibend		1						
	p-Wert	**0,001**	**0,004**	**0,001**	**0,006**	**0,007**	**0,021**	**0,018**	**0,043**

3.3.4.1.3 Gruppenvergleich vor und nach der Konditionierung des apikalen Kontakts

A



B

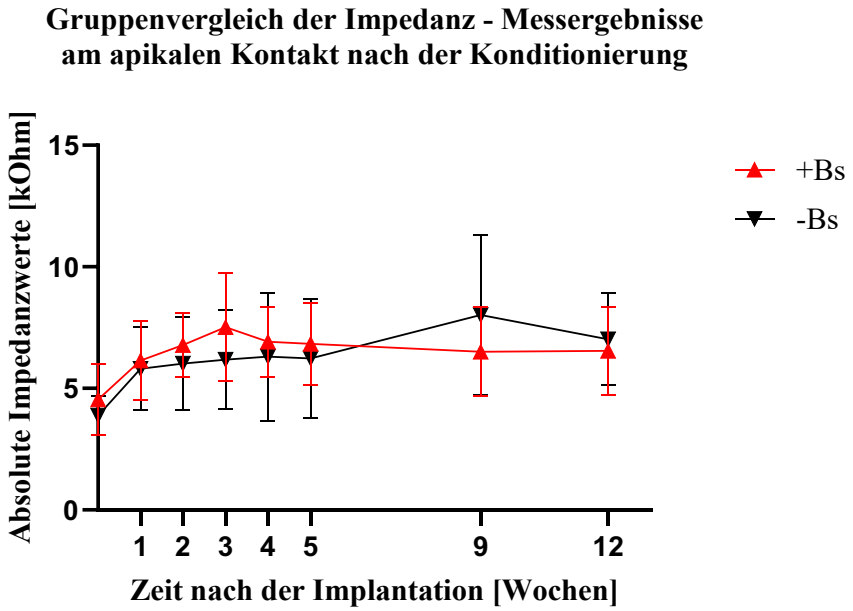


Abbildung 29: Gruppenvergleich der Impedanzwerte am apikalen Kontakt vor und nach einer 15-minütigen Konditionierung.

Dargestellt sind die Mittelwerte mit den zugehörigen Standardabweichungen. Zwischen den Gruppen wurde kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt (Mann-Whitney-U-Test: Abbildung A, p=0,084; Abbildung B, p=0,152).

Die Mittelwerte der Impedanzverschiebung in der Gruppe +Bs zeigen sowohl vor als auch nach der 15-minütigen Konditionierung bis zur fünften Woche größere Werte im Vergleich zur Gruppe –Bs (Abbildung 29). Ab der neunten Woche hingegen weisen die Mittelwerte der Gruppe –Bs größere Werte auf als die der Gruppe +Bs. Innerhalb der Gruppe +Bs sind die Differenzen zwischen der ersten und zweiten Messung in der vierten und

fünften Woche tendenziell ausgeprägter. In der Gruppe –Bs hingegen wurden allgemein größere Differenzen zwischen der ersten und zweiten Messung festgestellt. Zwischen den beiden Gruppen gab es jedoch keinen signifikanten Unterschied.

3.3.4.2 Basaler Kontakt

Abbildung 30 zeigt der Verlauf der Mittelwerte und Standardabweichung der Messwerte vor und nach der 15-minütigen Konditionierung des basalen Kontakts.

3.3.4.2.1 Gruppe +Bs

Die Daten zeigen an Tag 0 (p=0,009), in der ersten Woche (p= 0,03) und in der fünften Woche (p=0,04) signifikante Unterschiede zwischen der ersten und zweiten Impedanzmessung auf (Tabelle 14). In den restlichen Wochen wurden zwischen den beiden Messungen keine signifikanten Unterschiede registriert.

3.3.4.2.2 Gruppe –Bs

Die Impedanzwerte des basalen Kontakts wiesen am Tag 0 einen signifikanten Unterschied zwischen der ersten und zweiten Messung auf (p-Wert= 0,045). In der vierten- und neunten Woche waren insgesamt mehr Impedanzwerte erhöht als erniedrigt. In den restlichen Messzeitpunkten waren die Messungen mit niedrigeren Werten häufiger vertreten als die mit höheren Werten.

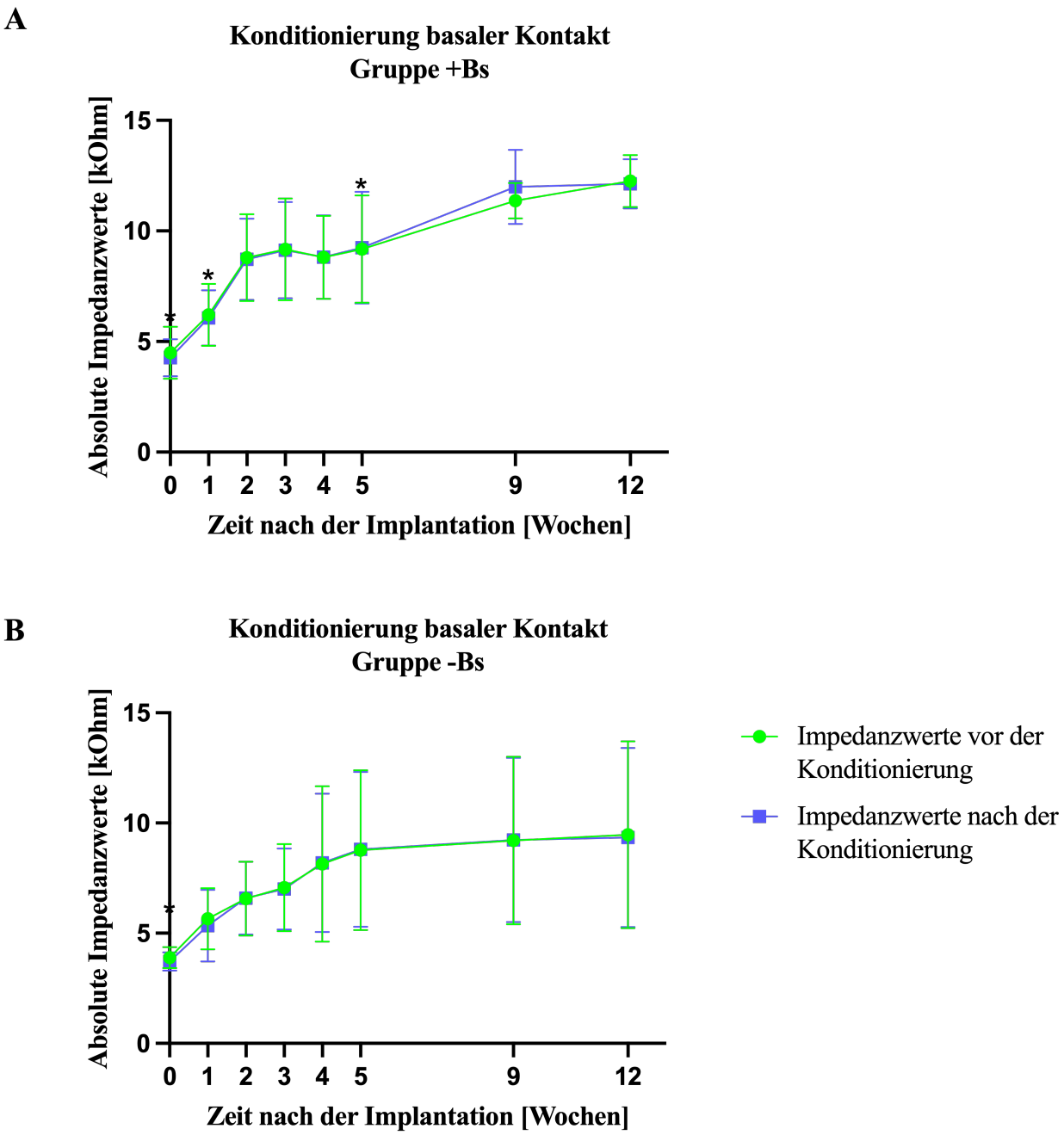


Abbildung 30: Impedanzwerte am basalen Kontakt der Gruppe +Bs und –Bs vor und nach der 15-minütigen Konditionierung (Mittelwerte und Standardabweichung).

Das Sternchen (*) weist auf die Signifikanz bei $p < 0,05$ hin. Die Signifikanzwerte basieren auf dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test für verbundene Stichproben. Abbildung A: Tag 0 ($p = 0,009$), Woche 1 ($p = 0,03$) und Woche 5 ($p = 0,04$). Abbildung B: Tag 0 ($p = 0,045$).

Tabelle 14: Mediane und p-Werte am basalen Kontakt bei der ersten Messung und nach 15-minütiger Konditionierung

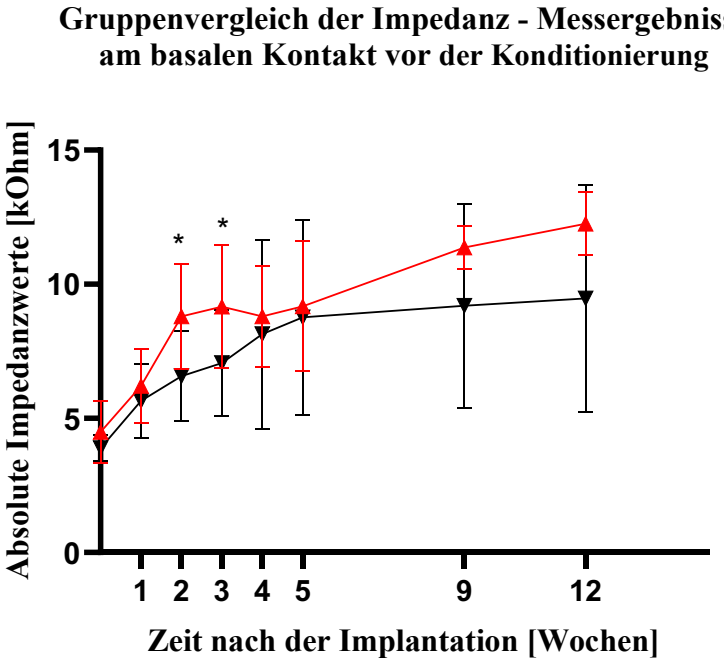
Die Berechnung des p-Werts erfolgte mittels eines Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Tests für verbundene Stichproben, unter Verwendung einer zweiseitigen asymptotischen Signifikanz mit einem Schwellenwert von $p < 0,05$.

		Tag 0	Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4	Woche 5	Woche 9	Woche 12
basaler Kontakt Gruppe +Bs	**1. Impedanz Messung**	4,49	6,21	8,80	9,17	8,80	9,18	11,37	12,26
	2. Impedanz Messung	4,27	6,06	8,72	9,13	8,82	9,24	11,99	12,13
	Impedanz runter	9	10	6	8	5	2	2	3
	Impedanz hoch	2	3	4	2	3	5	3	3
	Impedanz gleichbleibend	2		2	1		1		
	p-Wert	**0,009**	**0,03**	0,24	0,59	0,94	**0,04**	0,89	0,35
basaler Kontakt Gruppe –Bs	**1. Impedanz Messung**	3,89	5,66	6,57	7,07	8,15	8,77	9,20	9,47
	2. Impedanz Messung	3,72	5,34	6,59	7,01	8,19	8,81	9,23	9,35
	Impedanz runter	12	12	8	7	4	4	2	3
	Impedanz hoch		1	4	4	5	5	4	
	Impedanz gleichbleibend			1		1		1	2
	p-Wert	0,045	0,78	0,97	0,29	0,95	0,51	0,67	0,07

3.3.4.2.3 Gruppenvergleich am basalen Kontakt

Die Impedanzwerte der Gruppe +Bs waren sowohl vor als auch nach der Konditionierung in den Wochen zwei und drei höher als in der Gruppe –Bs. Dieser Unterschied war in den Wochen zwei und drei signifikant (vor Konditionierung: p=0,005 bzw. p=0,023; nach Konditionierung: p=0,007 bzw. p=0,04) (Abbildung 31).

A



B

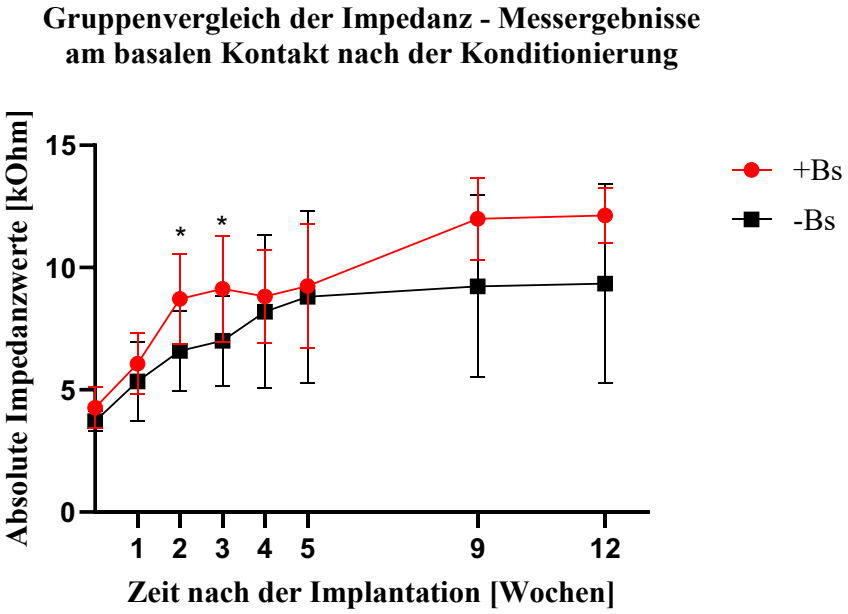


Abbildung 31: Gruppenvergleich der Impedanzwerte am basalen Kontakt vor und nach der 15-minütigen Konditionierung (Mittelwerte und Standardabweichung)

Das Sternchen (*) kennzeichnet statistische Signifikanz bei einem p-Wert von < 0,05. Die Signifikanzwerte ergeben sich aus dem Mann-Whitney-U-Test wie folgt: In Abbildung A zeigen Woche 2 (p=0,005) und Woche 3 (p=0,023) signifikante Unterschiede, und in Abbildung B sind in Woche 2 (p = 0,007) und Woche 3 (p=0,04) signifikante Unterschiede zu verzeichnen.

4 Diskussion

In dieser Studie wurde erstmals ein *in vivo* Studiendesign verwendet, um den Einfluss einer Spinnenseidenbeschichtung auf aktive Implantate, in diesem Fall CIs, zu untersuchen. Der Fokus lag dabei auf der Impedanz der Elektrodenkontakte, der akuten Entzündungs- und Fremdkörperreaktion und dem Resthörvermögen. Im Gegensatz zu passiven Implantaten wie Brustimplantaten, Kathetern oder Gewebegerüsten (*Tissue Scaffolds*), beeinflussen aktive Implantate wie das CI das umliegende Gewebe durch die elektrische Stimulation des Hörnervs.

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Spinnenseidenbeschichtung in diesem Fall keine negativen Auswirkungen auf die Elektrodenimpedanz, die Entzündungs- und Fremdkörperreaktion sowie das Hörvermögen hat. Trotz der suboptimalen Qualität der Spinnenseidenbeschichtung der CIs in der vorliegenden Studie wurden vielversprechende Hinweise auf eine mögliche Reduktion der Gewebereaktion auf das Implantat gefunden.

Im folgenden Abschnitt erfolgt eine eingehende Diskussion der angewandten Methoden und der erzielten Ergebnisse.

4.1 Diskussion der Methoden

Die Diskussion der Methoden umfasst mehrere zentrale Aspekte dieser Arbeit, darunter das Studiendesign, die Cochleostomie, die Implantatsentfernung, das verwendete Tiermodell sowie die spezifischen Schritte zur Herstellung histologischer Schnitte. Zudem werden die angewandten Verfahren zur Gewebefixierung und die damit verbundenen Herausforderungen sowie die unmessbaren Impedanzwerte diskutiert.

4.1.1 Studiendesign

In der Studie von Johannes Fischer aus dem Jahr 2015, die denselben Elektrodentyp bei Meerschweinchen verwendete, wurden die meisten Impedanzveränderungen in den ersten Versuchswochen festgestellt. Daher wurden in unserer Studie zusätzliche Impedanzmessungen in Woche drei und vier eingeführt, um diese Veränderungen genauer zu überwachen. Fischers Studie zeigte auch, dass ab der zwölften Woche keine weiteren Veränderungen in den ABR- und Impedanzmessungen mehr zu beobachten waren (Fischer, 2015). Aus diesem Grund haben wir den Versuchszeitraum von 16 auf 12 Wochen verkürzt.

Für eine umfassendere Untersuchung des Abbaus der Spinnenseide, wie in Abschnitt 4.2.1 näher erläutert, sollte der Experimentalzeitraum in zukünftigen Studien auf sechs Monate verlängert werden.

4.1.2 Cochleostomie

Für den Zugang zur Cochlea wurde in der Studie die Methode der Cochleostomie gewählt. Es ist jedoch wichtig zu erwähnen, dass der Zugang über das runde Fenster im Allgemeinen als weniger invasiv gilt, sowohl bei Menschen als auch bei Tieren. Diese Methode wird in der Studie von Burghard et al. (2014) ausführlich beschrieben.

Im Fall der Meerschweinchen ist jedoch aufgrund der speziellen Lage und Neigung der Cochlea der Zugang über eine Cochleostomie in der basalen Wand der Cochlea bevorzugt. Diese Methode wird hier als weniger traumatisch angesehen. Auch Fischer (2015) entschied sich aus ähnlichen Gründen für die Cochleostomie in seiner Studie.

4.1.3 Implantatsentfernung

Bei zwei Implantaten, eines aus der Gruppe +Bs und eines aus der Gruppe –Bs, wurde ein Bindegewebewachstum unmittelbar an der Insertionsstelle der Cochleostomie beobachtet. Diese Beobachtung wurde jedoch nicht weiter untersucht, da der Fokus der Studie auf dem Bindegewebewachstum und den Entzündungsprozessen innerhalb der Cochlea lag. Aufgrund der Seltenheit der atypischen Gewebevermehrung im Implantationsbereich (zwei von 26 Fällen) ist eine Korrelation mit der untersuchten Fragestellung (+Bs vs. –Bs) eher unwahrscheinlich. Eine genauere Untersuchung der Ursache dieses Phänomens sollte daher in zukünftigen Studien angestrebt werden.

4.1.4 Tiermodell

Der primäre Grund für den Einsatz von Meerschweinchen in der auditorischen Forschung liegt in der Ähnlichkeit ihres Hörvermögens mit dem des Menschen. Sie weisen eine vergleichbare Empfindlichkeit für Frequenzen auf, die für das menschliche Gehör und insbesondere für die Sprachwahrnehmung von Bedeutung sind. Ein weiterer Vorteil ist der einfache operative Zugang über die sehr große Bulla (Mittelohrraum) und die leichte Identifizierung aller Mittel- und Innenohrstrukturen. Meerschweinchen werden bereits seit Jahrzehnten in der Hörforschung eingesetzt (Naert et al., 2019). Zudem zeichnen sich Meerschweinchen durch eine einfache Handhabung aus, denn sie sind sehr soziale Tiere, die kein aggressives Verhalten zeigen. Weibliche Meerschweinchen bekommen alle 18 bis 24 Tage für etwa 24 Stunden ihre Brunst und bringen dann regelmäßig Nachkommen zur Welt. Ihre Tragzeit beträgt 62 bis 72 Tage. Außerdem sind sie Menschen gegenüber nicht aggressiv.

Da in früheren Projekten dieser Forschungsgruppe albinotische Meerschweinchen als Versuchstiere zum Einsatz kamen, entschied man sich auch in der vorliegenden Studie für diese Tierart. Dies ermöglicht einen direkten Vergleich mit den Erkenntnissen aus früheren Untersuchungen (Fischer, 2015; Niedermeier et al., 2012). In der vorliegenden Studie wurden albinotische Meerschweinchen verwendet. Viele Studien zeigen, dass Albinismus das Gehör von Meerschweinchen beeinflussen kann (Bock & Steel, 1984; Creel, 1980), weshalb Albinos für die vorliegende Studie nur eingeschränkt geeignet sind. Die Audiogramme von pigmentierten und albinotischen Meerschweinchen sind größtenteils ähnlich, zeigen jedoch bei den höheren Frequenzen Unterschiede (Harrison et al., 1984). Außerdem gibt es Unterschiede im Ca^{2+} Gradienten der Endolymphe und im endochleären Potenzial (EP). Bei pigmentierten Meerschweinchen nehmen beide Werte von basal nach apikal zu. Bei Albinos wurde jedoch kein Ca^{2+} Gradient gefunden, und das EP nimmt zum Apex hin nicht ab (Conlee & Bennett, 1993; Gill & Salt, 1997). Dies könnte einen Einfluss auf die Hörfunktion haben. Eine Ursache für die

Unterschiede im EP könnte die Abwesenheit von Melanozyten in der Stria vascularis der Cochlea sein, die auch eine wichtige Rolle bei der Entwicklung des Innenrohr bei Säugetieren spielt (Conlee et al., 1994; Steel & Barkway, 1989). Ob diese Ergebnisse auch für albinotische Menschen zutreffen, kann derzeit nicht abschließend geklärt werden. Untersuchungen weisen jedoch darauf hin, dass dies der Fall sein könnte. Creel (1995) zeigte in einem Übersichtsartikel, dass die Komponente III. (obere Olivenkerne) der Hirnstammpotenziale kontralateral der stimulierten Seite bei albinotischen Menschen niedriger ist. Zusammenfassend ist die Verwendung albinotischer Dunkin-Hartley-Meerschweinchen als Modell für den Menschen aufgrund ihrer Einschränkungen nur bedingt geeignet.

Da für die vorliegende Studie keine pigmentierten Meerschweinchen zur Verfügung standen und auch in vorherigen Studien albinotische Dunkin-Hartley-Meerschweinchen verwendet wurden, entschied man sich trotz dieser Einschränkungen für albinotische Dunkin-Hartley-Meerschweinchen.

4.1.5 Anfertigung von histologischen Schnitten

Für die histologische Aufbereitung der Cochlea wurde die Methode der Formalinfixierung, Entkalkung und Paraffineinbettung gewählt. Ein potenzieller Nachteil der Paraffineinbettung ist, dass das Implantat zuvor schonend aus der Scala tympani entfernt werden muss, was möglicherweise zu Gewebeverlusten führen kann. Der Grund dafür ist, dass Paraffinschnitte keine Verarbeitung von Geweben oder Materialien erlauben, deren Härte die Kombination aus Gewebe und Paraffin überschreitet. Dies betrifft insbesondere nicht entkalkten Knochen oder Implantate mit Platindrähten, selbst wenn sie sich innerhalb eines entkalkten Knochens befinden. Dennoch bieten Paraffinschnitte im Vergleich zu herkömmlichen chemischen Färbungen ein erweitertes Spektrum histologischer Nachweismethoden und ermöglichen die Durchführung von immunhistologischen Untersuchungen.

Um sicherzustellen, dass die Gewebemanschette, die das Implantat innerhalb der Cochlea umhüllt, während des Herausziehens nicht beschädigt oder abgerissen wird, wurde das Implantat erst nach der Fixierung der Cochlea mit Formalin entfernt. Allerdings ist es auch dann sehr wahrscheinlich, dass Teile des das Implantat umhüllenden Gewebes und möglicherweise der Beschichtung verloren gehen. In der vorliegenden Studie wurde die Entnahme der Implantate äußerst sorgfältig durchgeführt, und es wurden nach der Entnahme keine Gewebereste an den Implantaten festgestellt, was in Übereinstimmung mit früheren Studien (Fischer, 2015; Niedermeier et al., 2012) steht. Daher erscheint es unwahrscheinlich, dass in dieser Studie Gewebeverluste aufgetreten sind, jedoch kann eine hundertprozentige Gewissheit nicht gegeben werden.

Eine Einbettung der Cochlea mit Implantat in situ, beispielsweise in Methylacrylat, hätte den Vorteil, dass die Cochlea zusammen mit dem Implantat segmentiert werden kann. Dies würde jedoch eine immunhistologische Reaktion und Färbung ausschließen (Aescht et al., 2010). Überdies werden bei dieser Methode keine herkömmlichen Schnitte erstellt, sondern Schliffe. Das bedeutet, dass das Präparat in einer bestimmten Dicke abgeschliffen wird. Anschließend wird die Oberfläche chemisch gefärbt, mikroskopische Aufnahmen werden

erstellt, und danach erfolgt ein weiteres Abschleifen. Am Ende bleibt nichts mehr von der Cochlea und dem Implantat übrig, was weitere Auswertungen unmöglich macht.

Im Jahr 2015 wurde in einer wissenschaftlichen Studie Technovit 9100, ein methacrylatbasiertes Material, zur Einbettung von Cochleae von Meerschweinchen und mongolischen Wüstenrennmäusen verwendet. Die Studie erzielte vielversprechende Ergebnisse hinsichtlich der Morphologie und immunhistologischen Befunde, zeigte aber auch technische Herausforderungen (Bako et al., 2015).

Aufgrund dieser Herausforderungen sowie der zuvor erwähnten Vorteile von Paraffin wurde beschlossen, die Methode der Paraffineinbettung zu verwenden.

4.1.6 Gewebefixierung

In einer vorhergehenden Arbeit von Johannes Fischer (Fischer, 2015) wurde jeweils nur ein Implantat einseitig implantiert. Dadurch konnte die Entnahme der Bulla mit dem Implantat in situ und die Gewebefixierung in 4-prozentigem Formalin nach der Euthanasie recht zügig durchgeführt werden. Die in der vorliegenden Studie durchgeführte beidseitige Implantation führte zu einer längeren Entnahmezeit von ca. 15 Minuten. Während dieser Zeitspanne finden bereits postmortale Prozesse statt, die in Anhängigkeit des Gewebetyps die Qualität der histologischen Erhaltung beeinflussen können. Neuronales Gewebe wie Gehirn oder Lebergewebe, das proteinzersetzende Verdauungsenzyme enthält, ist hiervon stärker betroffen als andere Gewebe. Es empfiehlt sich daher, in Folgestudien eine transkardiale Perfusion mit dem Fixativ durchzuführen und dann erst die Bulla mit dem Implantat zu entfernen. So werden postmortale Zerfallsprozesse umgangen und eine gleichmäßige Fixierung des Gewebes ermöglicht.

4.1.7 Nicht bestimmbare Impedanzwerte

Unmessbare Impedanzwerte, das heißt Werte, die aufgrund ihres hohen Anstiegs nicht mehr gemessen werden konnten, traten in beiden Versuchsgruppen gleichermaßen auf, sowohl am apikalen als auch am basalen Kontakt. Diese Beobachtung wurde auch in der Studie von Fischer (2015) gemacht. Nicht mehr messbare Impedanzen können auch bei implantierten Patienten vorkommen. Als mögliche Ursachen werden Drahtbrüche, also offene Stromkreise, oder das Vorhandensein von Luftblasen vermutet. In Patienten können solche Impedanzen Werte im Bereich von 20 bis 30 kOhm erreichen (Goehring et al., 2013; Wesarg et al., 2014).

Am apikalen Kontakt war die Anzahl der nicht bestimmbaren Impedanzwerte bei den beiden Experimentalgruppen gleich verteilt. Die Gruppe +Bs wies am basalen Kontakt 28 nicht bestimmbare Impedanzwerte auf, während die Gruppe –Bs 24 solcher Werte verzeichnete. Die Auswertung der beiden Gruppen ergab jedoch keinen statistisch signifikanten Unterschied. Die 28 nicht bestimmbaren Impedanzwerte der Gruppe +Bs am basalen Kontakt könnte auf eine nicht optimale Haftung der Beschichtung zurückzuführen sein, was zu einem Gewebewachstum zwischen dem Silikonträger und der Beschichtung führte. Dies könnte wiederum zu einer insgesamt dickeren Bindegewebekapsel in der Gruppe +Bs, einschließlich der Beschichtung, beigetragen haben. Untersuchungen an implantierten Patienten erlauben aus naheliegenden Gründen keine

detaillierten histologischen Untersuchungen. Studien an Tieren zeigen jedoch eine Korrelation zwischen Gewebewachstum und Impedanz (Wilk et al., 2016). Die Studien zeigen, dass aufgrund der Reaktion des umliegenden Gewebes der Kontakt zwischen der Elektrode und dem auditorischen Nerv verloren geht, was zu einem Anstieg der Impedanzen führt. Dieser Anstieg ist auf die Fremdkörperreaktion zurückzuführen (Busby et al., 2002; Saunders et al., 2002; Shepherd et al., 1994).

Da jedoch in beiden Gruppen an beiden Kontakten nicht bestimmbare Impedanzwerte festgestellt wurden, kann die Dicke der Bindegewebekapsel nicht der alleinige Faktor sein. Zudem spricht dagegen, dass die unmessbaren Impedanzwerte sowohl basal als auch apikal und zu unterschiedlichen Zeitpunkten auftraten.

Drahtbrüche an den Verbindungsstellen zwischen Verbindungsstecker und Implantat könnten einen stärkeren Einfluss auf die nicht bestimmbaren Impedanzwerte gehabt haben. Diese Annahme wird durch die Zunahme der nicht bestimmbaren Impedanzwerte bis zur zwölften Woche gestützt. Beim Einsetzen der Verbindungsstecker am Schädel wurde ein Teil der Haut und Muskulatur entfernt, um den Stecker und die Implantatdrähte mit Paladur sicher am Schädel zu befestigen. Die Implantatdrähte verliefen subkutan in Richtung Bulla und Cochlea. Im Verlauf des Versuchszeitraums heilte dieser Bereich, die Haut und Muskulatur regenerierten und wuchsen in Richtung Paladur. Zu diesem Zeitpunkt ist die Wahrscheinlichkeit von Drahtbrüchen am höchsten. Das nachwachsende Gewebe drückte gegen das Paladur und die Drähte, was aufgrund der darauf einwirkenden Kräfte die Wahrscheinlichkeit von Brüchen erhöhte.

Das Größenwachstum der Meerschweinchen, die zum Zeitpunkt der Implantation noch nicht ausgewachsen waren, könnte ebenfalls eine relevante Rolle gespielt haben. Innerhalb der zwölf Wochen verdoppelten die Tiere ihr Gewicht (von 300 g auf 600 g) und ihre Größe. Das Größenwachstum führte höchstwahrscheinlich zu einer Zugbelastung des Drahts zwischen dem Implantat und dem Bullaeingang. Bei der Entfernung der Implantate wurden die Drähte makroskopisch auf Brüche hin überprüft, und es wurden rein optisch keine Bruchstellen festgestellt. Wenn es aufgrund des Wachstums zu einem Drahtbruch gekommen wäre, hätte dies bei der visuellen Kontrolle erkannt werden müssen. Daher erscheint ein Bruch an der Übergangsstelle zwischen Paladur und Muskulatur am plausibelsten.

Ein Hinweis auf Drahtbrüche als Ursache für die nicht bestimmbaren Impedanzwerte ist die Tatsache, dass insgesamt sieben Tiere an jeweils einem der beiden Implantate nicht bestimmbare Impedanzwerte aufwiesen. Hätten die nicht bestimmbaren Impedanzwerte auf ein defektes Implantat zurückgeführt werden können, wäre es an beiden Implantaten und an beiden Kontakten zu nicht bestimmbaren Impedanzwerten gekommen. Bei drei Tieren trat dieses Szenario ein. Diese Tiere hatten an beiden Kontakten und Implantaten auf beiden Seiten nicht bestimmbare Impedanzwerte. Die überwiegende Mehrheit der Implantate war jedoch entweder nur einseitig betroffen oder nur einer der Kontakte wies diese Probleme auf. Daher ist die Wahrscheinlichkeit von Drahtbrüchen höher.

In zukünftigen Studien sollten die Drähte durch geeignete umhüllende Materialien besser geschützt werden. Zudem sollte bei der Implantation ein Längenpuffer des Silikonträgers, der die Platindrähte enthält, in Betracht gezogen werden. Mithilfe des Puffers würde das Wachstum der Tiere keine Zugkraft auf den

Silikonträger inklusive der Drähte ausüben. Die umhüllenden Materialien würden den Silikondraht vor Drücken schützen und Brüche verhindern.

4.2 Ergebnisse

Die Diskussion der Ergebnisse konzentriert sich auf mehrere Aspekte, darunter insbesondere die Fragmentierung der Spinnenseidenbeschichtung, Impedanzwerte, histologische Befunde sowie den Verlauf des Hörvermögens nach der Cochlea-Implantation. Hinsichtlich der Fragmentierung der Spinnenseidenbeschichtung werden potenzielle Ursachen und Auswirkungen analysiert, um Einblicke in die Stabilität und Effektivität der Beschichtung zu gewinnen.

4.2.1 Fragmentierung der Spinnenseidenbeschichtung

Nach dem Ende des Versuchs wurden die Implantate entfernt, die Cochlea wurde mittel-modiolar geschnitten und histologisch ausgewertet. Die ehemalige Position der Elektrode war deutlich durch die verbliebene Bindegewebekapsel erkennbar. Bei der genaueren Analyse der Bindegewebekapsel konnte die Spinnenseidenbeschichtung klar sowohl in der klassischen HE-Färbung, dort als graue nicht gefärbte nicht zelluläre Struktur, als auch immunhistologisch mit Hilfe des Protein-spezifischen Antikörpers anti-T7 identifiziert werden. Die Beschichtung war teilweise nicht mehr bzw. nur noch als Bruchstücke vorhanden. Hierfür kann es zwei Gründe geben:

1) Enzymatische bzw. immunologischer Abbau der Spinnenseide
2) Abstreifen der Beschichtung während des Einführens der Elektrode in die Cochlea.

Zu 1) Der Abbau und die Geschwindigkeit des Abbaus von Spinnenseide unterliegen verschiedenen Faktoren. Ein entscheidender Aspekt ist die Form der Spinnenseide, sei es in Form von einzelnen Fasern, Faserverbünden, -filmen oder -netzen. Dies wurde sowohl In-vitro- als auch In-vivo-Studien gezeigt (Müller-Herrmann & Scheibel, 2015; Zeplin et al., 2014). Ein anderer Aspekt ist, dass der Abbau und die Geschwindigkeit desselben von der Art des Gewebes abhängen, in der das Implantat liegt. Es ist daher zu beachten, dass die Ergebnisse aus anderen Studien nicht eins zu eins mit denen der hier vorliegenden Studie verglichen werden können (Altman et al., 2003).

In der Studie von Zeplin et al. (2014) wurden medizinische Silikonimplantate gleichmäßig mit einer mikrometerdünnen Schicht (900 nm) aus rekombinanten Spinnenseidenproteinen (eADF4(C16)) beschichtet und in die Rückenhaut von Ratten implantiert. Die Hauptausrichtung der In-vivo-Studie lag auf der Erforschung der Biokompatibilität dieser innovativen Beschichtung in Form eines Films auf den Implantaten. Überdies wurde auch das Abbauverhalten untersucht. Interessanterweise konnten Reste von Spinnenseide auch nach 12 Monaten noch auf den implantierten Brustimplantaten nachgewiesen werden. Basierend auf diesen Ergebnissen ist es wahrscheinlich, dass die Beschichtung der CIs, deren Dicke von 1 µm vergleichbar und ähnlich der Dicke von 900 nm war, auch nach dem 3-monatigen Versuchszeitraum in dieser Studie noch teilweise nachweisbar war.

In In-vitro-Studien wurde das Abbauverhalten von rekombinanter Spinnenseide (eADF4(C16) in verschiedenen verarbeiteten Formen, nämlich als Partikel, als Film und als Fasernetze, über einen Zeitraum von 15 Tagen untersucht (Müller-Herrmann & Scheibel, 2015). Dabei wurde das Abbauprozessverhalten mithilfe von zwei verschiedenen bakteriellen Proteasen (Protease Typ XIV aus Streptomyces griseus (PXIV) und Kollagenase Typ IA aus Clostridium histolyticum (CHC) analysiert. Es stellte sich heraus, dass die verschiedenen Proteasen das Abbauprozessverhalten unterschiedlich beeinflussten. Rekombinante Spinnenseiden waren in Gegenwart von CHC stabiler gegenüber proteolytischem Abbau als in Gegenwart von PXIV. Dabei entspricht PXIV eher einem Modell für Verdauungsenzyme, während CHC Eigenschaften aufweist, die eher denen von Proteasen bei Wunden ähneln. Die schnellste Abbaugeschwindigkeit wurde bei rekombinanter Spinnenseide, die in Form von Partikeln vorlagen, beobachtet. Besonders die Fasernetze zeigten in dieser Studie die höchste Stabilität gegenüber dem proteolytischen Abbau. Es ist jedoch wichtig zu beachten, dass die verwendete Proteasekonzentration erheblich über den physiologischen Werten lag (Müller-Herrmann & Scheibel, 2015). Daher ist anzunehmen, dass unter In-vivo-Bedingungen eADF4(C16) Partikel, Filme oder Netze voraussichtlich für eine erheblich längere Zeitspanne bestehen bleiben werden, als es in den In-vitro-Experimenten von Müller-Hermann und Scheibel (2015) dargestellt wurde. Dies träfe dann auch mit hoher Wahrscheinlichkeit auf die CI-Beschichtung zu.

Die Studie von Dinjaski et al. (2018) untersuchte die Abbaurate von zwei unterschiedlichen rekombinanten Spinnenseide Proteinen $H(AB)_2$ und $H(AB)_{12}$. Für die Studie von Dinjaski wurden Mäusen subkutan sterile Polycarbonat Membranen, welche mit $H(AB)_2$ und $H(AB)_{12}$ beschichtet waren, implantiert. Nach vier Wochen wurden die Mäuse euthanasiert und die Membranen histologisch untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass $H(AB)_2$ vollständig und $H(AB)_{12}$ unvollständig abgebaut wurden. Die Daten dieser Forschergruppe zeigten auf, dass die Seide mit der längeren Kette, dem höheren Molekulargewicht und einer höheren Kristallinität eine längere Abbaurate hatte (Dinjaski et al., 2018). Das deutet darauf hin, dass die eADF4(C16)-Beschichtung, unter Berücksichtigung von Faktoren wie Gewebeart und Schichtdicke, langkettig genug war, um auch nach 6 Monaten noch in Resten nachgewiesen werden zu können.

Des Weiteren zitiert Altman et al. (2003) in einem Review einige Studien zur Abbaubarkeit von Seiden-Nahtmaterial von Seidenraupen und zeigt auf, dass der Abbau im Wesentlichen von Tiermodellen und Gewebetypen beeinflusst wird. Zu diesem Aspekt wird die Studie von Lam et al. (1995) in dem Review erwähnt. In dieser Studie wurden verschiedene Nahtmaterialien *in vivo* an einem Rattenmodell verglichen, und es stellte sich heraus, dass black „braided silk" (extrahierte Seidenfaser, beschichtet mit Wachsen oder Silikon) bereits nach sechs Wochen fragmentiert war und nach 24 Wochen vollständig abgebaut wurde. Lahm et al. (1995) schreibt diese Abbauprozesse der enzymatischen Verdauung zu.

In Experimenten von Nahtmaterial aus Seide im Kaninchenmodell konnte Salthouse (1977) eine verringerte Anzahl von Fäden und einen reduzierten Durchmesser nach 42 Tagen feststellen, wobei die vollständige Absorption nach 90 Tagen *in vivo* erfolgte. In dieser Studie wurde ebenfalls „black braided silk" als Nahtmaterial verwendet (Salthouse, 1977).

In einer weiteren *in vivo* Studie an Kaninchen, durchgeführt von Postlethwait, wurde native Seide als Nahtmaterial eingesetzt. Dabei zeigte sich, dass bereits nach vier Wochen eine Fragmentierung einsetzte. Die Zugfestigkeit reduzierte sich nach zwölf Wochen um 80 %, und nach zwei Jahren war keine Festigkeit mehr nachweisbar (Postlethwait RW, 1969). Generell verlieren Seidenfasern den Großteil ihrer Zugfestigkeit innerhalb eines Jahres im Körper und sind innerhalb von zwei Jahren nicht mehr nachweisbar (The Suture, 2000).

In einer etwas neueren In-vivo-Studie an Ratten wurde der Abbau von Rohseide aus der Seide der Seidenraupe nach subkutaner Implantation untersucht (Liu et al., 2015). Nach 145 Tagen war noch nicht abgebaute Seide nachweisbar. Die Ergebnisse der Studie weisen darauf hin, dass die In-vivo-Degradation mit der Aktivität der Phagozytose zusammenhängt, wobei die Fibroblasten eine entscheidende Rolle zu spielen scheinen. Außerdem scheint der In-vivo Abbau der Seide kein uniformer Prozess zu sein.

In Bezug auf die vorliegende Studie muss einschränkend angemerkt werden, dass es sich bei den Studien mit Nahtmaterialien um Seidenproteine der Seidenraupe (*Bombyx mori*) handelt. Die Ergebnisse sind daher nur eingeschränkt vergleichbar.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass der Abbau von Spinnenseide von verschiedenen Faktoren abhängt, darunter die Art der verwendeten Spinnenseide, der Gewebetyp (einschließlich vorhandener Proteasen) und die Komplexität der Spinnenseide selbst. Die Studien zum Spinnenseiden-Nahtmaterial geben Aufschluss über die Fragmentierung, die auch in unserer eigenen Studie beobachtet wurde. Besonders relevant für unsere Ergebnisse ist die Studie von Zeplin et al. (2014), da sie dasselbe rekombinante Spinnenseidenprotein als Film verwendet und die Experimente ebenfalls *in vivo* an einem Tiermodell durchgeführt wurden. Die Übertragung der Ergebnisse von Zeplin et al. (2014) auf unsere eigene Studie legt nahe, dass es nicht überraschend ist, dass selbst nach zwölf Wochen immer noch Spuren von Spinnenseide in unserer Studie nachweisbar sind. Dies erklärt, warum die Gewebekapsel in der Gruppe +Bs dicker war als in der Gruppe –Bs, da sie zusätzlich noch Reste der Beschichtung beinhaltete.

Zu 2) Neben dem enzymatischen und dem immunologischen Abbau der Spinnenseide könnte auch das Abstreifen der Beschichtung während des Einführens der Elektrode in die Cochlea dafür verantwortlich sein, dass Bruchstücke der Spinnenseide zurückbleiben oder keine Beschichtung mehr vorhanden ist.

Während der Implantation hat die Elektrode mehrfach mehr oder weniger starken Reibungskontakt mit verschiedenen Oberflächen. Als Erstes tritt dieser Kontakt während der Unterführung vom Stecker unter die Haut mithilfe eines peripheren Venenkatheters auf, um die Implantat-Elektrode korrekt an der Bulla zu positionieren. Zweitens entstehen Kontakte während der Einführung des Implantates in die Scala tympani an der Cochleostomie und mutmaßlich an der lateralen Wand der Cochlea, wobei Letzteres nicht sichtbar ist, da es innerhalb der Cochlea ist. Bei zu geringer Adhäsion der Beschichtung am Silikonträger des Implantates können alle diese mechanischen Faktoren dazu führen, dass die Spinnenseide zumindest teilweise verloren geht.

Die histologischen Schnitte der Cochlea verdeutlichen, dass die Adhäsion der Spinnenseide auf den Silikonträgern der Implantate nicht optimal war. An diesen Stellen wurde den Fibroblasten offenbar die

Gelegenheit gegeben, zwischen dem Implantat und der Beschichtung einzudringen. Dies wiederum führte zu einem Wachstum von Bindegewebe unterhalb der Beschichtung.

Unsere histologischen Analysen legen nahe, dass das Gewebewachstum unterhalb der Spinnenseide entweder aufgrund der Fragmentierung/Abbaus oder aufgrund der Implantation, begleitet von Verlusten der Beschichtung durch Absteifung während der Implantation, erfolgt sein könnte. Unsere Studie kann diese Frage jedoch nicht abschließend beantworten. In der für die vorliegende Studie relevantesten Studie von Zeplin et al. (2014) wurde kein Gewebewachstum unterhalb der Spinnenseide beschrieben. In dieser Studie wurden relativ große Silikonimplantate verwendet, die als Modell für Brustimplantate dienen sollten. Ein möglicher Zusammenhang könnte auch das Verhältnis von Oberfläche zu Volumen betreffen. Da der verwendete Elektrodenträger sehr dünn und gleichzeitig lang war, war das Verhältnis zur Oberfläche deutlich größer. Dies könnte theoretisch eine größere Angriffsfläche geboten haben. In künftigen Untersuchungen sollte zunächst untersucht werden, ob es während der Implantation zu einem Verlust der Beschichtung kommt. Sollte dies keine weiteren Erkenntnisse liefern, könnte als nächster Schritt der Abbau der Spinnenseide über einen Zeitraum von zwölf Wochen näher untersucht werden.

4.2.2 Impedanzen

Die Diskussion der Impedanzen umfasst allgemeine Themen, insbesondere jedoch die Veränderungen der Impedanzen im Verlauf des Versuchszeitraums sowie den Einfluss der elektrischen Stimulation auf diese Impedanzen.

4.2.2.1 Allgemein

In der vorliegenden Studie wurden Impedanzmessungen an beiden Kontakten unter Verwendung des MED-EL MAESTRO-Messsystems durchgeführt. Die Impedanzmessungen erfolgten im monopolaren Modus jeweils zwischen dem basalen sowie dem apikalen Elektrodenkontakt des Implantates und einer Referenzelektrode. Die so erfassten elektrischen Impedanzen an den Elektrodenkontakten der CIs stellen komplexe Widerstände dar, die in der Regel sowohl einen reellen Anteil (Realteil) als auch einen kapazitiven Anteil (Imaginärteil) umfassen. Der genaue Funktionsmechanismus des MED-EL MAESTRO-Messsystems wird aus rechtlichen Gründen nicht vom Hersteller offengelegt, daher wurde angenommen, dass die gemessenen Impedanzen in diesem System ebenso wie bei anderen Systemen aus einem Real- und einem Imaginärteil bestehen. Außerdem gibt es einen eingebauten Maximalwert der Reizspannung im MAESTRO-System, der nicht überschritten werden kann, sodass es ab einer bestimmten Höhe der Impedanz zu den im Ergebnisteil beschriebenen sogenannten nicht bestimmbaren Werten an den Kontakten kommt. Das heißt, die Impedanzen werden so hoch, dass man mehr Strom auf die Kontakte geben müsste, um sie noch messen zu können. Dies würde jedoch im Nebeneffekt zu einer unangenehmen Reizung des benachbarten Gesichtsnervs beim Patienten führen (Berrettini et al., 2011), was durch die Sperre vermieden wird.

Zum Vergleich der Messwerte des MED-EL MAESTRO-Systems wurden in der vorangegangenen Studie von Fischer (2015) zusätzliche Messungen mit einem eigenen System (GP_Imp, J. Steinhoff) durchgeführt, um eine Bewertung der Daten zu ermöglichen. Hierbei wurden die durchschnittliche Abweichung und die Varianz als Indikatoren für die Validierung dieser Methoden ermittelt. Die Ergebnisse der ersten Messung am basalen Kontakt wurden für das Bland-Altman-Diagramm herangezogen, und der Variationskoeffizient wurde für beide Messsysteme unter Verwendung der Impedanz Paare aus der ersten und zweiten Messung am basalen Kontakt berechnet. Nach der Analyse der Methoden stellte sich heraus, dass die erfassten Ergebnisse der beiden Systeme statistisch nicht äquivalent waren. Bei der Auswertung der Messdaten wurde eine systematische Abweichung (Bias) zwischen den beiden Messmethoden und eine innerhalb der individuellen Tiere auftretende Streuung der Messergebnisse festgestellt (Fischer, 2015). Da die im MED-EL MAESTRO-System erfassten Daten in der Studie von Fischer (2015) einen niedrigeren Variationskoeffizienten aufwiesen, wurde dieses Messsystems auch in der vorliegenden Studie für die weitere Analyse der Impedanz-Ergebnisse herangezogen. Ein weiterer Grund war eine bessere Vergleichbarkeit zu anderen Studien wie z.B. die Studie von Wilk et al. (2016) in welcher ebenfalls das MAESTRO System von MED-EL verwendet wurde, um den Einfluss von Dexamethason freisetzenden CIs auf Impedanz und das Gewebewachstum zu untersuchen.

In der vorliegenden Studie wurde das MAESTRO-Messsystem verwendet, um Gesamtimpedanzmessungen durchzuführen, ohne zwischen der Polaritätsimpedanz (Zp) und dem Zugangswiderstand (Ra) zu unterscheiden. Allerdings haben Zp und Ra einen erheblichen Einfluss auf die Gesamtimpedanz. Der Zugangswiderstand hängt von der Dicke der Gewebemanschette und somit von den verschiedenen Beschichtungsmaterialien ab. Die Polaritätsimpedanz hingegen ist von der elektrochemischen Wechselwirkung zwischen der Elektrode und dem Elektrolyten abhängig, die sich auf einer dünnen Schicht direkt an der Oberfläche der Elektrode abspielt (Tykocinski et al., 2005). Die Gesamtimpedanz spiegelt daher sowohl den Einfluss der Gewebeantwort als auch die elektrochemische Interaktion an den Kontakten wider. In den vorangegangenen Laboruntersuchungen, die *in vitro* mit den in dieser Studie verwendeten Spinnenseide-beschichteten CIs durchgeführt wurden, wurden keine signifikanten Erhöhungen der Impedanz durch die Beschichtung festgestellt (S. Schilp, persönliche Mitteilung).

Es ist von Bedeutung, die Impedanzwerte der CIs möglichst niedrig zu halten und somit den dynamischen Bereich des für den Patienten relevanten Lautstärkebereiches möglichst groß zu halten (Wu et al., 2013). Höhere Impedanzwerte bedeuten eine höhere Stromstärke, mit welcher die Elektroden stimuliert werden müssen, um eine Erhöhung der wahrgenommenen Lautstärke zu erzielen (Caswell-Midwinter et al., 2022; Wilk et al., 2016). Da die Stromstärke aus Sicherheitsgründen nicht unbegrenzt erhöht werden kann, bedeutet eine hohe Impedanz, dass der CI-Träger unter Umständen zu leise hört, sein Implantat jedoch nicht mehr lauter stellen kann (verminderter Dynamikbereich) (W. Wu et al., 2013). Außerdem erhöht sich der Stromverbrauch der Batterie bzw. des Akkus, sodass sich die Austausch- bzw. Ladezyklen verkürzen (Caswell-Midwinter et al., 2022). Im Extremfall muss eine Reimplantation erfolgen, um dem Patienten ein zufriedenstellendes Hören zu ermöglichen.

Ein Austauschen der Implantate bedeutet für den Patienten Unannehmlichkeiten einer zweiten Operation und dies birgt neben der erneuten Operation und Anästhesie die Gefahr, die noch intakten Strukturen der Cochlea zu zerstören.

4.2.2.2 Impedanzveränderung im Versuchszeitraum

Unter der Annahme, dass eine Gewebekapsel um das Implantat die Impedanz erhöht, sollten Tiere mit weniger Protein- und Zellauflagerungen bzw. geringerer Gewebekapseldicke niedrigere Impedanzwerte zeigen. Somit könnten die Impedanzwerte auf Unterschiede der Gewebekapseldicke zwischen den Experimentalgruppen hinweisen.

Gruppenunabhängig wurden am basalen Kontakt signifikant häufiger höhere Werte gemessen, verglichen mit dem apikalen Kontakt ($p = 0{,}008$). Es ist anzunehmen, dass der basale Kontakt näher an der Cochleostomie liegt, in dem Bereich, in dem die stärkste Reaktion auf die Implantation in Form von erhöhtem Gewebewachstum im Verlauf der Heilung und damit des Verschlusses der Cochleostomie erwartet wird. Hier können akut Blutungen auftreten und es kann sich Knochenstaub in Folge des Bohrens der Cochleostomie anlagern. Besonders wenn Knochenstaubpartikel während der Operation nicht gründlich abgespült werden und mit der Einführung der Elektrode in die Sala tympani gelangen, besteht das Risiko, dass es infolge des Bindegewebewachstums zu einer Neoossifikation kommt (Ryu et al., 2015). Dies führt dann zu stark erhöhten Impedanzwerten.

Gruppenunabhängig wurde am basalen Kontakt ein tendenzieller Anstieg der absoluten Impedanzwerte bis zur zwölften Woche beobachtet. Am apikalen Kontakt konnte eine solche Beobachtung nicht festgestellt werden. In der Gruppe –Bs wurde am apikalen Kontakt ein Anstieg bis zur neunten Woche beobachtet, wobei der Mittelwert bei 8,62 lag. Der Wert in der zwölften Woche (MW 7,66) war etwas niedriger als der in der neunten Woche, jedoch immer noch höher als der Ausgangswert (MW 4,36). In der Gruppe +Bs stiegen die Werte am apikalen Kontakt bis zur dritten Woche (MW 8,14) an, gefolgt von einer Abnahme bis zur neunten Woche (MW 6,93). Danach blieben die Werte bis zur zwölften Woche konstant. Auch hier lag der letzte gemessene Wert über dem Ausgangswert in Woche 0 (MW 4,86).

Fischer (2015) beobachtete, ähnlich wie in dieser Studie, dass am apikalen Kontakt im Durchschnitt signifikant niedrigere Impedanzwerte gemessen wurden im Vergleich zum basalen Kontakt ($p = 0{,}008$). Auch in der Untersuchung von Wilk et al. (2016) wurde festgestellt, dass der basale Kontakt kontinuierlich höhere Werte aufwies als der apikale Kontakt.

Der beobachtete Anstieg der Impedanzwerte stimmt mit den Ergebnissen anderer Studien am Meerschweinchen überein (Bas et al., 2016; Behrends et al., 2023; Wilk et al., 2016) und kann auf das Gewebewachstum um die Elektrode und besonders in der Nähe der Cochleostomie zurückgeführt werden (Wilk et al., 2016).

In der Studie von Wilk et al. (2016) wurden die Impedanzwerte von CIs, die in Meerschweinchen implantiert waren, über einen Zeitraum von 91 Tagen untersucht, um indirekt die Auswirkung von Dexamethason-freisetzenden Elektroden auf das postoperative Gewebewachstum zu untersuchen. Als

Vergleichswert dienten normale Implantate. Diese Daten, also die der CIs ohne Dexamethason, sind gut mit unserer eigenen Studie vergleichbar. Dasselbe Tiermodell, ein ähnlicher Versuchsaufbau, vergleichbare Implantate von MED-EL und das gleiche Impedanzmesssystem wurden verwendet. Sowohl bei den basalen als auch bei den apikalen Kontakten stiegen die Impedanzwerte der CIs ohne Dexamethason bis zum Ende der Versuchsreihe an (Wilk et al., 2016). Die Daten von Wilk et al. (2016) ähnelten denen der vorliegenden Studie hinsichtlich des basalen Kontakts beider Gruppen und des apikalen Kontakts der Gruppe –Bs, was auf ähnliche Ursachen hindeutet.

Bas et al. (2016) untersuchten am Meerschweinchen, ob CI-Elektroden, die Dexamethason abgaben, einen Einfluss auf den Verlust von Haarzellen, die Schädigung des Nervengewebes, den Anstieg der Hörschwelle und die Zunahme der Impedanz sowie das Bindegewebewachstum haben. Ähnlich wie in unserer Studie wurde in dieser Untersuchung beobachtet, dass bei den Elektroden ohne Dexamethason über einen Zeitraum von 3 Monaten ein kontinuierlicher Anstieg der Impedanz auftrat. Es ist jedoch zu beachten, dass sich unsere Studie von derjenigen von Bas et al. (2016) darin unterscheidet, dass das CI zweimal hintereinander eingeführt wurde, um bei der Implantation gezielt einen höheren Grad an Schädigung zu verursachen, um die Wirkung des Dexamethasons deutlicher zeigen zu können.

Behrends et al. (2023) untersuchten die entzündungshemmenden Eigenschaften von CI-Elektroden, die Dexamethason abgaben und zusätzlich mit einer Poly-L-lactid (PLLA)-Beschichtung versehen waren, die entweder Diclofenac oder den Immunophilin-Inhibitor MM284 enthielten. Meerschweinchen erhielten MED-EL-CIs, wobei die Impedanzen über einen Zeitraum von vier Wochen untersucht wurden. Ähnlich wie in meiner Studie wurde auch in dieser Untersuchung ein kontinuierlicher Anstieg der Impedanz an den Kontakten beobachtet.

In der vorliegenden Studie waren qualitativ keine Unterschiede der mechanischen Eigenschaften zwischen den Elektroden mit Spinnenseidenbeschichtung und denen ohne Beschichtung zu erkennen. Im Gegensatz dazu scheint die Poly-L-lactid (PLLA)-Beschichtung, die in der Studie von Behrends et al. (2023) verwendet wurde, nach Angabe der Autoren zu einer erhöhten Steifigkeit der Elektrode zu führen, sodass eine wenig traumatische Insertion nicht möglich war. Da etwas Vergleichbares in meiner Studie nicht gefunden wurde, ist davon auszugehen, dass eine Spinnenseidenbeschichtung die mechanischen Eigenschaften der Elektrode nicht verändert.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie sind konsistent mit den Ergebnissen anderer Studien mit ähnlichen Modellen und Versuchsdesign. Sie lassen den Schluss zu, dass es bei einer optimalen Adhäsion der Spinnenseidenbeschichtung auf dem Silikonträger der CIs und einer Gewebekapsel, die so dünn wäre, wie sie auf der implantatabgewandten Seite der Spinnenseide gemessen wurde, zu niedrigeren Impedanzen in der Gruppe +Bs geführt hätte. Niedrigere Impedanzen hätten möglicherweise zu einem signifikanten Unterschied zwischen den beiden Experimentalgruppen geführt. Um dies zu klären, müsste zunächst die Adhäsion der Spinnenseidenbeschichtung auf dem Silikonträger des CIs optimiert werden.

4.2.2.3 Einfluss der elektrischen Konditionierung auf die Impedanzen

Zusätzlich zu den gemessenen Impedanzen wurden nach einer 15-minütigen elektrischen Konditionierung am apikalen und basalen Kontakt ebenfalls Impedanzwerte erfasst. Die Unterschiede der Impedanzwerte vor und nach der Konditionierung sind innerhalb der Gruppen, also sowohl in der Gruppe +Bs als auch in der Gruppe –Bs, signifikant (Abbildung 28), jedoch nur am apikalen Kontakt. Vergleicht man die Differenzwerte zwischen den beiden Gruppen, zeigen sich keine signifikanten Unterschiede (Abbildung 29). Da der basale Kontakt nicht konditioniert wurde und nur die Gruppe +Bs an einigen Messzeitpunkten (Abbildung 30, Tag 0, Woche 1 und Woche 5) signifikante Unterschiede zeigte, lässt das Ergebnis am apikalen Kontakt darauf schließen, dass die Konditionierung die Impedanzwerte tatsächlich senkt. Dies wird auch durch die Tatsache unterstützt, dass nach der Konditionierung zuvor nicht messbare Werte—die aufgrund ihrer hohen Impedanz nicht erfasst werden konnten—wieder messbar wurden. In der Gruppe +Bs konnten nach der 15-minütigen Konditionierung zwei zuvor nicht messbare Werte erfolgreich erfasst werden. In der Gruppe –Bs gab es insgesamt fünf Werte, die vor der Konditionierung nicht messbar waren, aber danach klare Messergebnisse lieferten.

In ihren Studien beobachteten Newbold et al. (2011) und Tykocinski et al. (2001), dass die Impedanz nach elektrischer Stimulation abnimmt. Eine mögliche Hypothese besagt, dass Proteine oder Zellen, die sich aufgelagert haben, durch die Stimulation weggesprengt werden (Newbold et al., 2011; Tykocinski et al., 2001).

Auch in der Studie von Fischer (2015) wurde ein signifikanter Rückgang der Elektrodenimpedanzen nach der Konditionierung am apikalen Kontakt beobachtet, und zwar zu allen Messzeitpunkten mit Ausnahme der Messungen in der ersten und neunten Woche. Mehrere Studien, sowohl an Menschen als auch an Tieren, berichteten ebenfalls von einer Impedanzverringerung nach elektrischer Stimulation (Busby et al., 2002; Charlet De Sauvage et al., 1997; Saunders et al., 2002).

Der basale Kontakt wurde im Gegensatz zum apikalen Kontakt nicht stimuliert. Dies könnte der Grund dafür sein, dass zu jedem Messzeitpunkt nur wenige Tiere eine Impedanzverringerung zeigten. Deshalb wurden vermutlich zu jedem Messzeitpunkt neben den Impedanzverringerungen, auch Erhöhungen der Impedanzwerte gemessen. Trotz fehlender Konditionierung am basalen Kontakt wurde in der Gruppe +Bs an Tag 0, in Woche 1 und in Woche 5 ein signifikanter Unterschied zwischen der ersten und der zweiten Messung festgestellt. Fischer (2015) konnte keine vergleichbaren Ergebnisse feststellen, da in seinen Gruppen am basalen Kontakt zu keinem Messzeitpunkt signifikante Unterschiede auftraten. Der Grund, warum gerade in der Gruppe +Bs und zu diesen spezifischen Zeitpunkten signifikante Unterschiede beobachtet wurden, bleibt unklar. Möglicherweise spielen Vorgänge beim Abbau der Spinnenseidenbeschichtung eine Rolle. Wie im Kapitel 4.2.1, das den Abbau von Spinnenseide diskutiert, sind verschiedene Faktoren für den Abbauprozess relevant. Die Studien von Zeplin et al. (2014) und Müller-Herrmann und Scheibel (2015) konzentrierten sich nicht auf den Abbau von Spinnenseide zwischen Woche drei und Woche zwölf, daher sind diese Ergebnisse nicht für einen Vergleich geeignet. Die Publikation von Müller-Herrmann und Scheibel (2015) liefert wichtige Erkenntnisse zum Abbauverhalten innerhalb von 14 Tagen. Allerdings lag die in dieser Studie verwendete Enzymkonzentration über dem physiologischen Wert, sodass die Ergebnisse nicht den Abbau der Spinnenseide *in vivo* und in der Cochlea

widerspiegeln. Die Autoren selbst vermuten, dass rekombinante Spinnenseide unter natürlichen Bedingungen langsamer abgebaut wird. Um diese Hypothese zu bestätigen, wäre jedoch eine neue Versuchsreihe erforderlich, die das Abbauverhalten von Spinnenseide in der Cochlea genauer untersucht.

In der Regel bewirkt die elektrische Stimulation in den ersten zwei Wochen nach der Implantation eine Lockerung von Proteinablagerungen, wie beispielsweise Albumin und Fibrin, die in dieser Phase noch teilweise lose an der Implantatoberfläche haften (Tykocinski et al., 2005). Neben der Auflösung der Proteinschicht an der Elektrodenoberfläche führt eine elektrische Stimulation ebenfalls zu Veränderungen der Ionen in der Perilymphe. Eine elektrische Stimulation bewirkt somit eine Abnahme der Gesamtimpedanz (Tykocinski et al., 2005). Im Anschluss an die Implantation bildet sich innerhalb der ersten fünf Wochen allmählich eine Bindegewebekapsel um das Implantat (Jakob, unveröffentlichte Daten). Dies führt zu der Annahme, dass das zunehmende Gewebewachstum auf der Oberfläche des CI-Trägers den Einfluss der elektrischen Stimulation auf die gemessenen Impedanzen verringert. In der vorliegenden Studie konnte dies jedoch nicht bestätigt werden, da die Impedanzdifferenzen vor und nach der Konditionierung im Verlauf der Untersuchung in beiden Gruppen (+Bs und –Bs) nicht unter das Ausgangsniveau der ersten Woche sanken. In der Gruppe –Bs stiegen die Werte sogar bis zum Ende des Untersuchungszeitraums weiter an.

Nicht nur Veränderungen des Ionenhaushalts der Perilymphe und die Degradation der Proteinschicht könnten zu einer Reduktion der Impedanz führen, sondern auch die durch elektrische Stimulation verursachte Auflösung von Luftblasen oder deren elektrische Überbrückung. Diese Phänomene spielen mit hoher Wahrscheinlichkeit in beiden Gruppen eine Rolle.

4.2.3 Histologie

Es sollte angemerkt werden, dass ein gewisses Maß an Gewebereaktion auf implantiertes Material normal und zu erwarten ist (Rahman et al., 2022). Es gibt daher kein Material, das gar keine Reaktion auslöst, es sei denn, es handelt sich um körpereigenes Gewebe. Die zugrunde liegende Frage ist, wie stark diese Reaktion im Falle der Spinnenseidenbeschichtung im Vergleich zu medizinisch zugelassenem Silikon ist.

Die Ergebnisse der Histologie lieferten wichtige Erkenntnisse hinsichtlich der Dicke der Bindegewebekapsel sowie zur Adhäsion der Beschichtung in der Gruppe +Bs. Im folgenden Abschnitt wird nicht nur das Gewebewachstum um das CI, sondern auch die Immunreaktion, Fremdkörperreaktion und die Knochenneubildung ausführlich diskutiert.

4.2.3.1 Gewebewachstum

Eine Gewebekapsel, die das Implantat umgibt, kann die Impedanz der CIs erhöhen, da sie die Kontakte je nach Dicke mehr oder weniger stark isoliert und dadurch die elektrische Übertragung beeinträchtigt bzw. die benötigte Spannung erhöht (Wilk et al., 2016). Die Auswertung der Hämatoxylin-Eosin (HE)-Färbung, auf deren Basis Grade des Gewebewachstums definiert wurden, ergab eine stärkere fibröse Bindegewebekapsel um das Implantat in der Gruppe +Bs (Mittelwert=1,46) im Vergleich zur Gruppe –Bs (Mittelwert=0,74). Dieser

Unterschied war statistisch signifikant (Man-Whitney-U-Test, p=0,001). Dieses Ergebnis steht im Kontrast zu der Studie von Zeplin et al. (2014), die nach subkutaner Implantation von Silikonstücken (als Brustimplantatmodell) unter die Rückenhaut von Ratten eine signifikant geringere Kapseldicke bei den mit Spinnenseide beschichteten Implantaten im Vergleich zu den nicht-beschichteten Implantaten nach 6 Monaten fanden. Drei Faktoren könnten die Unterschiede zu den hier vorliegenden Ergebnissen erklären:

a) Unterschiedliche Gewebe reagieren unterschiedlich stark auf implantierte Materialien. Haut ist dafür prädestiniert, eingedrungene Fremdkörper wie Splitter o.ä. möglichst schnell durch eine Einkapselung zu isolieren, um Infektionen zu verhindern. Etwas Vergleichbares ist im Normalfall für das vom Felsenbein umschlossene und hinter dem Trommelfell sowie dem runden und ovalen Fenster abgeschlossene Innenohr auszuschließen. Deshalb dürfte auch eine Fremdkörperreaktion im Innenohr anders und vermutlich sehr viel schwächer ausfallen, so dass die Ergebnisse nicht vergleichbar sind.

b) Ein annähernd rundes Silikon-Kissen, wie es als Modell für ein Brustimplantat von Zeplin et al. (2024) implantiert wurde, hat ein anderes Oberflächen-zu-Volumen-Verhältnis als ein dünner kleiner CI-Silikonträger. Dies wirkt sich auf die Adhäsion der Spinnenseidenbeschichtung aus, die in diesem Fall anscheinend nicht ausreichend stabil war, was möglicherweise zu einer teilweisen Ablösung geführt hat. Diese Unstabilität könnte die Kapselbildung beeinflusst haben.

c) Im Gegensatz zu den CIs in der vorliegenden Studie war die Adhäsion der Beschichtung in der Studie von Zeplin et al. (2014) besser, was möglicherweise auf die unterschiedliche Oberflächenstruktur des Silikons zurückzuführen ist. Da die Studie Modelle für Brustimplantate untersuchte, könnte die Oberfläche leicht aufgeraut gewesen sein. Eine raue Oberfläche des Silikonträgers eines CI ist jedoch auf Grund des erhöhten Risikos eines mechanischen Insertionstraumas kontraindiziert. Eine Verbesserung der Adhäsion der Spinnenseidenbeschichtung muss daher anders realisiert werden.

In der Studie von Fischer (2015), in der ebenfalls beschichtete und unbeschichtete CI-Silikonträger untersucht wurden und in der das gleiche Graduierungssystem wie in der vorliegenden Studie angewandt wurde, fand sich kein statistisch signifikanter Unterschied in der Kapseldicke zwischen den beiden Gruppen (Mann-Whitney-U-Test, p = 0,329). Da in dieser Studie ein anderes Beschichtungsmaterial, nämlich PTFEP, verwendet wurde, ist es möglich, dass die Adhäsion der PTFEP-Beschichtung besser und stabiler war.

Daraufhin wurde eine weitere Analyse der Bindegewebekapseln durchgeführt, um genauere Erkenntnisse über die Ursache dieses Unterschieds zu gewinnen. Die Untersuchung begann zunächst mit der Messung der Dicke der Bindegewebekapsel in beiden Gruppen. In der ersten Analyse war die Gesamtdicke der Kapsel in der Gruppe +Bs (Median=20,62 µm) größer als in der Gruppe –Bs (Median=13,84 µm). Eine genauere Betrachtung der Kapsel der Gruppe +Bs bei höherer mikroskopischer Vergrößerung zeigte, dass sich innerhalb der Bindegewebekapsel Reste der Spinnenseidenbeschichtung befanden. Diese waren in den histologischen HE-Schnitten als graue Strukturen erkennbar. Das bedeutet, dass diese Beschichtungsreste die Gesamtdicke der Gewebemanschette beeinflussten. Das bedeutet, dass im Fall der Gruppe +Bs Bindegewebewachstum sowohl unterhalb der Beschichtung (Innenseite: zwischen Silikonträger und Beschichtung), als auch auf der

Beschichtung (Außenseite) stattgefunden hat. Die Gesamtdicke der Kapsel setzte sich also aus dem Bindegewebe unterhalb der Beschichtung, der Beschichtung selbst, und dem Bindegewebe auf der Beschichtung zusammen, was die im Vergleich zur Gruppe –Bs größere Kapseldichte erklären könnte.

Der Grund dafür könnte in der ungenügenden Adhäsion zwischen der Spinnenseide und dem Silikon-CI-Träger liegen, die es Fibroblasten ermöglichte, durch die Ablösung der Beschichtung diese zu unterwandern und auf dem Silikon zu wachsen. Um die Gewebewachstumsverhältnisse bei optimaler Adhäsion besser zu verstehen, wurde nur die Dicke der Gewebemanschette in der Gruppe +Bs auf der Außenseite, also oberhalb der Spinnenseidenbeschichtung, gemessen und mit den Ergebnissen der Gruppe –Bs verglichen.

Die Analyse ergab, dass die Gewebereaktion mit Bildung einer fibrösen Kapsel auf der Spinnenseide selbst geringer ausgeprägt ist als die Reaktion auf dem Silikon der Gruppe –Bs (ANOVA, p=0,004). Der Gewebeabschnitt oberhalb der Spinnenseide war dünner (Median= 8,43 µm) als die fibröse Bindegewebekapsel am unbeschichteten Material (Median=13,84 µm). Dieses Ergebnis ähnelt den zuvor erwähnten Ergebnissen von Zeplin et al. (2014). In dieser Studie wurde die Kapseldicke im dritten, sechsten und zwölften Monat untersucht. Das mit Spinnenseide beschichtete Implantat wies im Vergleich zu den herkömmlichen Implantaten zu allen Zeitpunkten eine signifikant reduzierte Kapseldicke auf (Zeplin et al., 2014). Ähnliche Ergebnisse wurden auch in der Untersuchung von Gomes et al. (2012, 2013) erzielt, in der eine erhöhte Biokompatibilität der Seidenbeschichtung *in vivo* bestätigt wurde. In dieser Studie wurden subkutan Filme aus 6-mer-Spinnenseide bei Mäusen implantiert. Die histologische Analyse zeigte eine geringe und milde entzündliche Reaktion auf die implantierten Spinnenseidenfilme, ohne dass eine Bildung einer fibrösen Kapsel festgestellt wurde (Gomes et al., 2012, 2013).

Es lässt sich der Schluss ziehen, dass die Adhäsion der Spinnenseidenbeschichtung in der vorliegenden Studie nicht optimal war und dass es möglicherweise während der Einführung des CIs in die Cochlea aufgrund mechanischer Scherkräfte zu einer Abstreifung des Materials gekommen ist. Die möglicherweise operations- oder handhabungsbedingt entstandene Lücke zwischen Beschichtung und Implantat ermöglichte das Einwachsen von Fibroblasten unter die Beschichtung, was zu zusätzlichem Gewebewachstum führte. Insgesamt resultierte dies in einer dickeren Gewebekapsel in der Gruppe +Bs.

Es ist allgemein bekannt, dass mechanische Verformungen der Oberflächenbeschichtungen biomedizinischer Implantate während der Handhabung, wie etwa bei der Implantation oder dem Kontakt der Beschichtungen mit chirurgischen Instrumenten, zu Delamination, Abblättern und Rissbildung führen können (Joseph et al., 2019). Forschungsergebnisse von Borkner et al. (2017) und Joseph et al. (2019) zeigen, dass Seidenbeschichtungen, insbesondere bei mechanischer Belastung während der Handhabung oder Verwendung, zu Rissen oder Delamination neigen können. Diese Erkenntnisse basieren auf zuvor durchgeführten Testreihen zur Stabilität der Beschichtungen. Im Gegensatz dazu zeigen Studien von Harris et al. (2016) und Zeplin et al. (2014), dass rekombinante Spinnenseide als Beschichtungsmaterial äußerst stabil ist und keine Rissbildung aufweist. Da die CIs für beide Testgruppen bereits fertig zur Verfügung standen, konnten keine In-vitro-Testreihen zur mechanischen Stabilität durchgeführt werden. Deshalb bleibt die Hypothese der Abstreifung

während der CI-Insertion vorläufig und sollte in weiteren Studien näher untersucht werden. Dennoch sind die Ergebnisse vielversprechend und deuten darauf hin, dass bei einer optimalen Haftung der Spinnenseidenbeschichtung auf dem Silikonträger des CIs eine signifikant geringere Gewebekapsel auf einer Beschichtung nachgewiesen werden könnte.

4.2.3.2 Knochenneubildung

Zunächst ist zu betonen, dass die Knochenneubildung, mehr noch als die Bildung einer Gewebekapsel um das CI, zu einer erheblichen Erhöhung der Impedanz und damit einer Beeinträchtigung der Funktion des CIs führt. Diese Gewebereaktion ist eine typische Folge einer Meningitisinfektion, die häufig zu schnellem Hörverlust führt und eine CI-Operation nötig macht. Die zunehmende Verknöcherung um das CI bewirkt eine Trennung von der Perilymphe, wodurch das CI von den für die Signalübertragung wichtigen Flüssigkeiten isoliert wird. Auch andere Infektionen sowie das Einbringen von Knochenpartikeln in die Cochlea während der Implantation können zur Knochenbildung führen.

Die histologische Auswertung der HE-Färbung ergab nicht nur einen signifikanten Unterschied in der Dicke der Bindegewebekapsel zwischen den Gruppe –Bs und +Bs, sondern auch bei der Analyse der Knochenneubildung (Man-Whitney-U-Test, p=0,002). Die Gruppe +Bs zeigte mehr Schnitte mit einer Grad 2- und Grad 3-Beurteilung, obwohl das Beschichtungsmaterial Spinnenseide zu einer geringeren entzündlichen Reaktion führen sollte, wie es in der Studie von Zeplin et al. (2014) bei subkutan implantierten mit Spinnenseide beschichteten Silikonimplantaten beobachtet wurde. Im Vergleich zu den CIs in der vorliegenden Studie wies die Studie von Zeplin et al. (2014) eine bessere Adhäsion der Beschichtung auf, was auf die bereits diskutierten Faktoren wie das Oberflächen-zu-Volumen-Verhältnis des Implantats und die Oberflächenstruktur des Silikons zurückzuführen ist. Die schlechtere Adhäsion der Beschichtung in dieser Studie könnte verhindern, dass die entzündungshemmende Wirkung der Spinnenseide zur Geltung kommt.

Es ist möglich, dass eine verstärkte Bildung von Bindegewebe und den damit einhergehenden Entzündungsmediatoren zu einer erhöhten Knochenneubildung innerhalb der Gruppe +Bs geführt hat. Entzündungsmediatoren, wie zum Beispiel Fibroblasten-Wachstumsfaktoren (FGF), die bei einer chronischen Entzündung auftreten, stimulieren Vorläuferzellen, die wiederum Osteoblasten produzieren (Marie et al., 2012). Aufgrund der festgestellten fibrösen Bindegewebekapsel in der Gruppe +Bs kann angenommen werden, dass eine größere Anzahl an FGF-Zellen zur Stimulation von Vorläuferzellen führte. Dies hätte zur Folge, dass in der Gruppe +Bs mehr Osteoblasten und somit mehr Knochengewebe produziert wurden als in der Gruppe –Bs.

Eine weitere Erklärung für die beobachteten Ergebnisse könnte die durchgeführte Cochleostomie sein. Eine Cochleostomie mit begleitender Verletzung der knöchernen Cochleawand löst Heilungsprozesse mit Knochenwachstum aus. Da bei beiden Gruppen eine Cochleostomie durchgeführt wurde, ist es äußerst unwahrscheinlich, dass sie in der Gruppe +Bs zu verstärktem Knochenwachstum führte. Wenn dies der Fall gewesen wäre, hätten beide Gruppen ein ähnliches Knochenwachstum aufgewiesen**.**

Schließlich könnte eine Fraktur in der Lamina spiralis eine Rolle bei der erhöhten Knochenneubildung in der Gruppe +Bs gespielt haben. Clark (2003) beschreibt in seinem Buch „*Cochlear Implants: Fundamentals and Applications*“ wie kleine Frakturen in der Lamina spiralis den Ausgangspunkt für Knochenwachstum bilden können. In der vorliegenden Studie wurde eine Schädigung der Lamina spiralis während der Implantation nicht umfassend untersucht; deshalb kann nicht hundertprozentig ausgeschlossen werden, dass es innerhalb der Gruppe +Bs zu häufigeren Schädigungen der Lamina spiralis kam.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die dickere Bindegewebekapsel mit der daraus resultierenden höheren Anzahl an FGF-Zellen die wahrscheinlichsten Gründe für die verstärkte Knochenbildung waren. Eine Fraktur in der Lamina spiralis selektiv in der Gruppe +Bs ist möglich, aber unwahrscheinlich.

4.2.3.3 Immunreaktion

Neben den Ergebnissen zur Bindegewebekapsel und der Knochenneubildung war die histologische Untersuchung der SGN besonders wichtig.

4.2.3.3.1 Allgemein

Die SGNs sind entscheidend, da sie die Verbindung zwischen den Haarzellen und dem Nucleus cochlearis (CN) im auditorischen Hirnstamm herstellen. Diese erste Station der auditorischen Hörbahn leitet Signale über den Hirnstamm und das Mittelhirn zum Cortex, was zu einer Hörwahrnehmung führt. Ohne funktionierende SGNs kann ein CI keine Reize über den auditorischen Hirnstamm an den auditorischen Cortex senden, wo das bewusste Hören stattfindet. Wie der überwiegende Teil der Gehirnstrukturen haben SGNs keine Regenerationsfähigkeit, und ihr Verlust führt zu Gehörlosigkeit (Zhang et al., 2022). Obwohl aktuell mit einer Gentherapie (Moser et al., 2024) bereits am Menschen beachtliche Erfolge zur Wiederherstellung des Hörvermögens erzielt wurden (Lv et al., 2024; Qi et al., 2024), gelang dies nur bei einer sehr seltenen Erkrankung, dem ererbten Otoferlin-Mangel, bei dem nur die synaptische Übertragung zwischen Hörnerv und SGN gestört, das Innenohr insgesamt aber normal entwickelt ist. Für häufigere Gendefekte, die ein komplexeres Krankheitsprofil haben und die beispielsweise ein nicht intaktes oder nicht vollständig entwickeltes Innenohr aufweisen, gibt es derzeit keine klinischen Therapien, um sterbende SGNs zu retten oder verlorene SGNs wiederherzustellen (Zhang et al., 2022). Daher ist die Erhaltung der SGNs nach einer Cochlea-Implantat-Versorgung entscheidend, auch um zukünftige Therapien zu ermöglichen und zu erleichtern. Die Zielsetzung der immunhistologischen Untersuchung war es, potenzielle Auswirkungen der beiden Gruppen, nämlich –Bs und +Bs, auf die Schädigung der SGN vergleichend zu untersuchen.

In der vorliegenden Studie wurde für die immunhistologische Untersuchung der wachstumsassoziierte Marker GAP-43 verwendet, da er ein etablierter und sensitiver neuroanatomischer Marker für das Axonwachstum und die synaptische Umgestaltung ist (Benowitz & Routtenberg, 1997). GAP-43 ist ein membranassoziiertes Protein, das sich in präsynaptischen Endungen oder axonalen Wachstumskonen befindet (Baetge & Hammangt, 1991; De Graan et al., 1985; Meiri et al., 1998) und wird insbesondere während der axonalen Regeneration nach

Schäden stark hoch reguliert (Chaisuksunt et al., 2000; Schaden et al., 1994; Skene & Willard, 1981; Vaudano et al., 1995).

4.2.3.3.2 Ergebnisse der immunhistologischen Auswertung

Die Ergebnisse meiner Studie zeigen, dass der überwiegende Teil der Neuronen in den drei Abschnitten der Cochlea-Windungen in beiden Gruppen GAP-43-negativ war (jeweils über 79 %). Der größte Anteil der GAP-43-positiven Neuronen, also vermutlich geschädigte Neuronen, wurde in den basalen Abschnitten der Gruppe +Bs festgestellt, wobei der Median bei 16,88 % lag. Die Anzahl der GAP-43-positiver Zellen in der basalen Windung mit einem starken Farbsignal war in der Gruppe +Bs höher als in der -B-Gruppe (ANOVA, p-Wert = 0,052, Median +Bs=2,7 %, Median –Bs=0 %). Es ist jedoch zu beachten, dass insgesamt und unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit, wie bereits oben erwähnt, nur wenige GAP-43-positive Neuronen mit einem starken Signal nachgewiesen wurden.

Der Marker GAP-43 wurde im auditorischen System bislang selten verwendet. Die Studie von Kraus et al. (2013) konnte jedoch eine Verbindung zwischen einer erhöhten Expression von GAP-43 im ventralen Nucleus cochlearis (VCN), der afferenten Verbindung zum Mittelhirn, und der Schädigung der Haarzellen nachweisen. Ziel dieser Studie war es, die Korrelation zwischen dem Verlust von Haarzellen durch lokale Gabe von Carboplatin, einem ototoxischen Krebsmedikament, und der synaptischen Plastizität im Chinchilla VCN zu untersuchen. Bereits eine frühere Studie derselben Gruppe hatte gezeigt, dass eine lokale Carboplatingabe zur Degeneration von IHCs, SGN und Hörnervenfasern führt (Ding et al., 1999). In der Studie von Kraus et al. (2013) wurden 0,5 bis 5 mg/ml Carboplatin lokal am runden Fenster appliziert, um die Haarzellen zu schädigen. Einen Monat nach der Carboplatin-Behandlung wurde festgestellt, dass sowohl der Verlust von inneren Haarzellen (IHC) als auch von äußeren Haarzellen (OHC) stark mit einer erhöhten Anzahl von GAP-43-positiven Neuronen im ipsilateralen VCN korrelierte. Die Autoren postulierten, dass der Verlust des afferenten Inputs durch IHC oder der zugehörigen Typ-I-Hörnervenfasern zu einer erhöhten Expression von GAP-43 im VCN führen und ein Hinweis auf eine Degeneration dort sein könnte (Kraus et al., 2013).

Die erhöhte Anzahl an Neuronen mit einem GAP-43-stark positiven Signal, zumindest im basalen Bereich der +Bs Cochlea im Vergleich zur Gruppe –Bs, könnte auf ein erhöhtes Risiko für eine Schädigung durch das CI hinweisen, wenn auch nur gering, da die Gesamtzahl an GAP-43-positiven Neuronen mit einem starken Signal nur gering war.

Die einzige vergleichbare Studie, in der der GAP-43 Marker nach Cochlea-Implantation für den Nachweis der Degeneration bei SGNs eingesetzt wurde, ist die Dissertation von Fischer (2015). Dabei wurden, wie in meiner Studie, unbeschichtete CIs als Referenzgruppe zu polymerbeschichteten CI-Implantaten verwendet. Der Unterschied zwischen den beiden Studien bestand in der speziellen Beschichtung der Implantate der Vergleichsgruppen:

In meiner Studie wurde Spinnenseide verwendet, während bei Fischer (2015) PTFEP zum Einsatz kam. Zudem war der Versuchszeitraum in der Studie von Fischer mit 16 Wochen länger als in meiner Studie.

In der Studie von Fischer (2015) wurden ebenfalls nur wenige GAP-43-positive Zellen mit einem starken Signal gefunden. Darüber hinaus konnten in dieser Arbeit ebenso wie in unserer keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen in den mittleren und apikalen Windungsabschnitten festgestellt werden. Im Gegensatz zu meiner Studie wurden jedoch im basalen Windungsabschnitt signifikant weniger GAP-43-positive Neurone in der Gruppe der beschichteten CIs gefunden. Diese Unterschiede wurden in allen Bewertungskriterien sichtbar: In der beschichteten Gruppe gab es mehr GAP-43-negative Neurone (p=0,003), während in der unbeschichteten Gruppe mehr GAP-43-positive Neurone zu finden waren (schwaches Signal p=0,01, starkes Signal p=0,001). Es bleibt offen, welche Faktoren für die festgestellten Unterschiede zwischen den beiden Studien verantwortlich sind. Dies basiert auf der Annahme, dass trotz der unterschiedlichen Bezeichnungen (–Bs und ohne PTFEP) ähnliche Ergebnisse hätten erzielt werden können, da das gleiche Implantat verwendet wurde. Auch hier könnte eine stärkere Fremdkörperreaktion und die damit verbundene Entzündung durch die schlechtere Haftung der Spinnenseidenbeschichtung eine Rolle spielen.

Ein weiterer Grund für die Unterschiede zwischen meiner Studie und der von Fischer (2015) könnte sein, dass Fischers Studie mit 16 Wochen länger dauerte als meine mit 12 Wochen. Es ist bekannt, dass ein Absterben von SGN beim Menschen Monate bis Jahre dauern kann (Johnsson, 1974). Eine Cochlea-Implantation (Nadol & Eddington, 2006) und andere Ursachen für Hörverlust (Nadol, 1997) scheinen diesen Prozess nicht zu beschleunigen. Es ist jedoch nachgewiesen, dass die Degeneration von SGNs bei Nagetieren, einschließlich Meerschweinchen, im Zusammenhang mit Hörverlust deutlich schneller verläuft, nämlich innerhalb von 1 bis 16 Wochen (Fransson & Ulfendahl, 2017). Der längere Versuchszeitraum in der Studie von Fischer (2015) und die dadurch möglicherweise erhöhte Wahrscheinlichkeit, eine größere Anzahl geschädigter Neuronen zu detektieren, könnten zu deutlicheren Unterschieden zwischen den beiden Versuchsgruppen (PTFEP-Gruppe, ohne PTFEP) geführt haben; die bei einem um einen Monat kürzeren Versuch noch nicht sichtbar gewesen wären. Dem widerspricht jedoch die Studie von Fransson und Ulfendahl (2017), die in ihrem Modell zum ototoxischen Hörverlust durch lokale Gabe von Neomycin am runden Fenster den größten SGN-Verlust in den ersten vier Wochen nach der Applikation feststellten. Zwischen der siebten und 16 Woche waren die Unterschiede sehr gering. Einschränkend muss gesagt werden, dass die Methoden, die zum Hörverlust führen – Ototoxizität bei Fransson und Ulfendahl (2017) und Cochlea-Implantation in der vorliegenden Studie – nicht direkt vergleichbar sind.

Ein weiterer Aspekt, der zu einer verstärkten Immunreaktion beitragen könnte, ist das Insertionstrauma in der vorliegenden Studie. Ein akutes Insertionstrauma zeigt sich in einer Verschiebung der ABR-Hörschwellen (Abbildung 22-25), die in der vorliegenden Studie bei den hohen Frequenzen, wo das CI liegt, in beiden Gruppen am höchsten war (Abbildung *25*) nämlich zwischen 7- und 48 dB, also sehr variabel. Diese Werte und auch die Variabilität änderten sich im Verlauf des Versuchszeitraums nicht. Frühere Untersuchungen haben gezeigt, dass die Dichte der SGN durch die Immunreaktion auf das Implantationstrauma beeinflusst wird (Bas et al., 2015; Ryan et al., 2002; Souter et al., 2012). In Fällen einer Abknickung der Cochlea-Implantat-Elektrode im Patienten, wie sie häufig bei vorgeformten perimodiolaren CI-Modellen vorkommt (Trakimas et al., 2018) wurden atypische

fibro-ossäre Veränderungen und eine geringere Anzahl von SGN beobachtet (Trakimas et al., 2018). Eine Translokation der Elektrode beim Patienten ist ebenfalls traumatisch und beeinflusst das Hören mit dem CI negativ (Jwair et al., 2021). Es ist klar, dass sowohl eine Abknickung der Elektrodenspitze als auch das Eindringen der Elektrode in die Scala vestibuli eine sehr traumatische Insertion darstellt. Beide Komplikationen wurden jedoch in der vorliegenden Studie nicht nachgewiesen, was nicht bedeutet, dass es kein Insertionstrauma gab. Die relativ geringen mittleren Schwellenverschiebungen deuten jedoch auf kein schweres Trauma hin.

In der vorliegenden Studie wurden zum ersten Mal mit Spinnenseide beschichtete CIs implantiert. Daher liegen bis jetzt keine anderen Studien vor, die den Einfluss von rekombinanter Spinnenseide auf die Überlebensrate und Degeneration von SGN nach der Implantation untersucht haben. Es gibt jedoch verschiedene Studien, die unterschiedliche Aspekte der Wechselwirkung zwischen Spinnenseide und neuronalen Zellen untersuchen.

In einer Studie von Trossmann und Scheibel (2023) wurde die Zellinteraktion zwischen Rattenneuronen in Zellkultur mit rekombinanten Spinnenseidefilmen untersucht, insbesondere Seidenproteine mit positiver Ladung wie eADF4(κ16). Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass diese Spinnenseidefilme die Interaktion zwischen Spinnenseide und Neuronen fördern und dabei keinen negativen Einfluss auf die Zellinteraktion haben.

Eine weitere Untersuchung von Millesi et al. (2021) untersuchte den regenerativen Wachstumseffekt von Schwann-Zellen und Ganglienzellen, die für die neuronale Erregungsleitung wichtig sind. Diese Zellen wuchsen in Kultur auf nativem Spinnenseidenprotein. Ziel der Studie war es, die Verbesserung der Überbrückung von Läsionen bei Querschnittslähmung zu untersuchen. Die Studie zeigte, dass die Spinnenseidenkultur aus nativer Spinnenseide der Gattung *Nephila* das Anhaften und die Proliferation beider Zelltypen förderte.

Zwei weitere Studien mit demselben Thema beschäftigten sich mit Spinnenseide im Kontext der axonalen Regeneration. Kornfeld et al. (2021) zeigten, dass eine Kombination aus Spinnenseide von *Trichonephila edulis* und autologen Nerventransplantat im In-vivo-Schafsmodell die axonale Regeneration an der Läsion unterstützt. Beide Studien nutzten das Spinnenmaterial als Matrix, um einen neuronalen Defekt zu schließen und das neuronale Wachstum zu fördern, was letztendlich zur Wiederherstellung einer intakten Nervenverbindung führte.

Zusammenfassend deuten diese Studien darauf hin, dass die Interaktion zwischen Spinnenseide und Neuronen positiv verläuft, ohne dass es zu einer neuronalen Degeneration kommt. Ein Vergleich mit Studien zur neuronalen Regeneration ist gut möglich, da – wie in der vorliegenden Arbeit – periphere Nerven untersucht wurden. Die beobachteten tendenziellen Unterschiede zwischen den Gruppen +Bs und –Bs hinsichtlich beeinträchtigter Neuronen lassen sich vermutlich auf eine unzureichende Adhäsion der Beschichtung sowie ein verstärktes Gewebewachstum zurückführen, welches in der Gruppe +Bs die Beeinträchtigung der Spiralganglienzellen (SGN) beeinflusst haben könnte, wie durch das positive GAP-43-Signal angezeigt.

4.2.4 Verlauf des Hörvermögens nach der Cochlea-Implantation

Nach der histologischen Analyse der Gewebeproben lieferten die Hörmessungen weitere Hinweise, die nun in Beziehung zu den histologischen Befunden gesetzt werden sollen.

Alle Meerschweinchen zeigten zu Beginn der Versuchsreihe, insbesondere in den ersten beiden Wochen nach der Implantation, den größten Hörverlust, unabhängig von der Frequenz- oder Klickstimulation. Dieses Phänomen wurde bereits in anderen Studien dokumentiert und findet auch in der Humanmedizin Erwähnung (Attias et al., 2016; Eastwood et al., 2010; Simoni et al., 2020).

Die beiden Gruppen zeigten im Bereich des hoch- und tieffrequenten Hörens tendenziell unterschiedliche zeitliche Verläufe, die jedoch aufgrund der hohen Variabilität der Messwerte nicht statistisch signifikant waren. Die Mittelwerte der Hörschwellenverschiebung waren in der Gruppe +Bs im hochfrequenten Bereich tendenziell ab der fünften Woche größer als in der Gruppe –Bs. Dieser hochfrequente Bereich der Cochlea liegt in der basalen Windung, also genau dort, wo das Implantat eingeführt wurde. Die Ergebnisse der Hörmessung zeigen somit ein leicht höheres Trauma in diesem Bereich und passen daher zu den bereits erörterten histologischen Ergebnissen. In der Gruppe +Bs bildete sich im Vergleich zur Gruppe –Bs eine dickere Bindegewebekapsel um das CI. In diesem Bereich der Cochlea kam es in der Gruppe +Bs vermutlich entweder zu einer Fragmentierung der Spinnenseide, bedingt durch enzymatischen bzw. immunologischen Abbau oder durch das Abstreifen der Beschichtung während des Einführens der Elektrode in die Cochlea. Auch eine schwache Adhäsion der Spinnenseide am Silikonträger könnte eine Ursache sein, was, wie bereits im Abschnitt 4.2.3.1 näher ausgeführt, zu einer insgesamt dickeren Gewebekapsel um das Implantat führte. Die Fibrose und Osteogenese in der Gruppe +Bs könnten einen, wenn auch schwachen, Einfluss auf die cochleäre Physiologie gehabt haben, was sich möglicherweise auf das Hörvermögen auswirkte und zu einer tendenziell größeren Hörschwellenverschiebung in dieser Gruppe beigetragen haben könnte. In anderen Studien wurde bereits dokumentiert, dass Fibrose und Osteogenese die cochleären Mechanismen und das Hörvermögen beeinflussen können (Choi & Oghalai, 2005; Gstoettner et al., 2006).

Im Gegensatz dazu zeigten die Hörschwellen der Gruppe +Bs im Bereich der tieffrequenten Töne über den gesamten Versuchszeitraum hinweg geringere Schwellenwertverschiebungen und somit ein besseres Hörvermögen im Vergleich zur Gruppe –Bs. Da tiefe Frequenzen im apikalen Bereich der Cochlea lokalisiert sind, waren sie möglicherweise weniger von der Implantation durch die Cochleostomie sowie der darauffolgenden Entzündungsreaktion und deren Folgen betroffen. Es wird jedoch angenommen, dass ein gewisser Grad an Fibrose in der Scala tympani das Hörvermögen auch im tieffrequenten Bereich beeinträchtigen könnte, während eine Fibrose in der Nähe der Basilarmembran hauptsächlich lokale Auswirkungen hat (Choi & Oghalai, 2005; O'Leary et al., 2013; Seyyedi & Nadol, 2014). Die histologische Auswertung zeigte, dass die fibröse Bindegewebekapsel in der Scala tympani der Gruppe +Bs stärker vertreten waren als in der Gruppe –Bs. Hätte die Fibrose in der Scala tympani das Hörvermögen im tieffrequenten Bereich beeinflusst, hätte die Gruppe +Bs eigentlich einen höheren Hörverlust in diesem Bereich aufweisen müssen. Da dies jedoch nicht der Fall ist und die Gruppe +Bs im tieffrequenten Bereich einen tendenziell geringeren Hörverlust aufweist, hatte die Fibrose im vorliegenden Fall wohl keinen negativen Einfluss auf die Hörschwelle. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass in der vorliegenden Studie der Grad des Gewebewachstums in beiden Gruppen unter dem Niveau lag, das einen negativen Einfluss auf das Hörvermögen haben könnte.

5 Zusammenfassung

Menschen mit hochgradiger Innenohrschwerhörigkeit, bei denen ein Hörgerät für ein ausreichendes Hören nicht oder nicht mehr ausreicht, können mit einem Cochlea-Implantat (CI) wieder ein zufriedenstellendes oder sogar sehr gutes Hörergebnis erzielen. Die elektrischen Leitungen und Kontakte des CIs sind in biokompatibles Silikon eingebettet, das vom Körper gut vertragen wird und für den medizinischen Bereich seit langem anerkannt und verwendet wird.

Jedoch lösen auch biokompatible und gut verträgliche Materialien eine mehr oder weniger starke Fremdkörperreaktion des Immunsystems in Form von Entzündungen und Bildung von Bindegewebekapseln um das implantierte Material aus. Die Stärke der Reaktion hängt vom individuellen Immunsystem, aber auch vom implantierten Material ab. Dies ist auch beim CI der Fall. Während eine leichte Entzündung und eine regelhafte Einkapselung bei Implantation beispielsweise unter die Haut, tolerabel ist, kann es in der Cochlea zum Verlust neuronaler Strukturen kommen, insbesondere bei den in den meisten Fällen noch funktionstüchtigen Haarzellen im sehr tieffrequenten Bereich (Resthörbereich). Eine starke Einkapselung führt zudem zu einer Impedanz-Erhöhung der Elektrodenkontakte und damit zu einer Reduktion der Effizienz der elektrischen Stimulation am Hörnerv und somit zu einer Verschlechterung der Hörfähigkeit des Implantat-Trägers.

Es ist daher von großem Interesse, nach Möglichkeiten zur weiteren Verbesserung eines bereits sehr gut verträglichen Materials zu suchen.

Ziel der vorliegenden tierexperimentellen Studie war es, die Auswirkung der Beschichtung eines Cochlea-Implantates, genauer des Silikons, in das der Elektrodenträger eingebettet ist, mit einem Biopolymer in Bezug auf Fremdkörper- und Bindegewebereaktion nach der Implantation zu untersuchen. Bei dem Polymer handelt es sich um ein rekombinantes Spinnenseidenprotein, das sich bereits in einer anderen Studie als vielversprechendes und innovatives Beschichtungsmaterial erwiesen hat.

Im Rahmen der Studie erhielten Meerschweinchen beidseitig CIs, teils mit Spinnenseide beschichtet (Gruppe +Bs), teils unbeschichtet (Gruppe –Bs), und die Effekte wurden über einen Zeitraum von zwölf Wochen in Bezug auf Hörvermögen, Elektrodenimpedanz sowie Fremdkörper- und Bindegewebsreaktionen analysiert. Die Länge der Elektrodenträger der CIs wurde von MED-EL speziell an die Größe der Cochlea von Meerschweinchen angepasst. Das bedeutet, dass die CIs für das experimentelle Tiermodell kürzer waren als jene für Menschen.

Während der Versuchsphase war der/die Leiter/in der Studie nicht darüber informiert, welche Implantate mit Spinnenseide beschichtet waren. Nach Abschluss der Versuche wurden die Cochleae histologisch aufgearbeitet, um die Auswirkungen von Spinnenseide im Vergleich zu unbeschichteten Kontrollelektroden auf die entzündlichen Reaktionen innerhalb der Cochlea zu analysieren.

Die histologischen HE-Analysen zeigten, dass die Adhäsion der Spinnenseidenbeschichtung auf dem Silikon unzureichend war, was zu einer Verdickung der Bindegewebskapsel bei den beschichteten Implantaten führte (Gruppe +Bs: Mittelwert = 1,46; Gruppe –Bs: Mittelwert = 0,74; Man-Whitney-U-Test, $p = 0{,}001$). Zudem zeigte die Gruppe +Bs signifikant mehr Knochenneubildung, bewertet mit Grad 2 und Grad 3 (Man-Whitney-U-

Test, p = 0,002). Die suboptimale Adhäsion der Spinnenseidenbeschichtung führte sowohl auf der Innen- als auch auf der Außenseite der Beschichtung zu Bindegewebswachstum, was anfangs eine größere Dicke der fibrösen Kapsel in der Gruppe +Bs (Median = 20,62 µm) im Vergleich zur Gruppe –Bs (Median = 13,84 µm) verursachte. Eine weiterführende Analyse ergab jedoch, dass das Gewebewachstum auf der Außenseite der mit Spinnenseide beschichteten Implantate (Gruppe +Bs) geringer war als bei den unbeschichteten Implantaten (Gruppe –Bs) (ANOVA, p = 0,004). Die fibröse Kapsel über der Spinnenseidenbeschichtung war dünner (Median = 8,43 µm) als die Kapsel auf den unbeschichteten Implantaten (Median = 13,84 µm).

Die vorliegenden Ergebnisse sind insgesamt vielversprechend und lassen vermuten, dass bei einer optimalen Adhäsion der Spinnenseidenbeschichtung auf dem Silikonträger des CIs in künftigen Studien eine signifikant geringere Gewebemanschette und niedrigere Impedanzwerte erreicht werden könnten. Rekombinante Spinnenseide könnte nach der Lösung der technischen Probleme und der Optimierung des Designs ein vielversprechendes Beschichtungsmaterial für CIs darstellen, von dem zukünftige CI-Kandidaten profitieren könnten. Für weiterführende Studien empfiehlt es sich daher, den Fokus auf die Ursachenforschung zur schwachen Adhäsion der Beschichtung zu legen. Dies würde einerseits die Untersuchung des Zeitfensters des enzymatischen bzw. immunologischen Abbaus der Spinnenseide und andererseits die Analyse des Abstreifens der Beschichtung, beispielsweise durch Durchführung von Testreihen zur Überprüfung der Stabilität während des Einführens der Elektrode in die Cochlea, umfassen. Meine histologischen Untersuchungen und Hörmessungen zeigten, dass eine Spinnenseidenbeschichtung keine schädigenden Effekte auf die zellulären Strukturen der Cochlea und keinen negativen Effekt auf das Hörvermögen haben. Die Studien von Kornfeld et al. (2021), Millesi et al. (2021), Radtke et al. (2011), Trossmann und Scheibel (2023), deuten insgesamt darauf hin, dass die Interaktion zwischen Spinnenseide und Neuronen positiv verläuft, ohne dass es zu einer neuronalen Degeneration kommt. Somit ist es wahrscheinlich, dass die beobachteten Unterschiede zwischen den Gruppen +Bs und –Bs in Bezug auf geschädigte Neuronen nicht auf die Spinnenseide selbst, sondern auf das Beschichtungsdesign zurückzuführen ist.

6 Summary

Individuals with severe sensorineural hearing loss who no longer benefit from conventional hearing aids may achieve satisfactory or even optimal auditory outcomes with Cochlear Implants (CIs). The electrical wiring and contacts of CIs are embedded in biocompatible silicone, which is well tolerated by the body and has long been recognized and used in medical applications.

However, even biocompatible and well-tolerated materials elicit a more or less pronounced foreign body response, including inflammation and fibrous tissue encapsulation around the implanted material. The intensity of this response varies depending on the individual's immune system and the properties of the implanted material, including CIs. While mild inflammation and encapsulation beneath the skin are generally well tolerated, in the cochlea, such responses can lead to neuronal loss, particularly affecting the remaining functional hair cells in the low-frequency range (residual hearing). In the cochlea, excessive encapsulation increases electrode impedance, thereby reducing the efficiency of electrical auditory nerve stimulation and consequently impairing the hearing ability of the implant recipient. Therefore, there is great interest in further improving an already highly biocompatible material.

This animal research study aimed to investigate the effects of CI coatings—specifically the silicone in which the electrode carrier is embedded—with a biopolymer focusing on foreign body and fibrous tissue reactions post-implantation. The polymer used is a recombinant spider silk protein, which has already been identified in another study as a promising and innovative coating material. MED-EL specifically adapted the length of the CI electrode carriers to match the size of the guinea pig cochlea. As a result, the CIs used in the experimental animal model were shorter than those designed for humans

Guinea pigs were implanted bilaterally with CIs, with one group receiving spider silk-coated electrodes (+Bs) and the other uncoated electrodes (–Bs). Over a 12-week period, auditory function, electrode impedance, foreign body and fibrous tissue responses were assessed. The study was conducted under blinded conditions, and post-experimental histological analyses examined inflammatory responses within the cochlea caused by the spider silk coating compared to uncoated control electrodes.

Histological HE analyses indicated insufficient adhesion of the spider silk coating, resulting in significantly increased fibrous tissue capsule thickness in the +Bs group (mean = 1.46) compared to the –Bs group (mean = 0.74; Mann-Whitney U test, $p = 0.001$). Additionally, Group +Bs exhibited significantly more new bone formation, classified as Grade 2 and Grade 3 (Mann-Whitney U test, $p = 0.002$). The suboptimal adhesion of the spider silk coating resulted in fibrous tissue growth both on the inside and outside of the coating, initially causing a greater thickness of the fibrous capsule in Group +Bs (median = 20.62 µm) compared to Group –Bs (median = 13.84 µm). While fibrous capsule thickness was initially greater in +Bs (median = 20.62 µm) than in –Bs (median = 13.84 µm), subsequent analysis indicated reduced tissue growth on the outer surface of the coated implants (ANOVA, $p = 0.004$). The fibrous capsule over the spider silk coating was thinner (median = 8.43 µm) than that of uncoated implants (median = 13.84 µm), suggesting a potential long-term benefit.

Overall, the present results are promising and suggest that with optimal adhesion of the spider silk coating to the silicone carrier of the CI, significantly reduced fibrous encapsulation and lower impedance values could be achieved in future studies. Following further technical optimization, recombinant spider silk could represent a viable coating material for CIs, potentially improving outcomes for future CI recipients. For further studies, it is advisable to focus on investigating the causes of the weak adhesion of the coating. This would involve examining the time window for the enzymatic or immunological degradation of the spider silk, as well as analyzing the detachment of the coating, for example, by conducting test series to assess its stability during electrode insertion into the cochlea.

My histological examinations and hearing measurements showed that a spider silk coating had no adverse effects on cochlear cellular structures or auditory function. Previous studies (Kornfeld et al., 2021; Millesi et al., 2021; Radtke et al., 2011; Trossmann & Scheibel, 2023) suggest that spider silk interacts positively with neurons without inducing degeneration. Therefore, the observed differences in neuronal damage between the +Bs and –Bs groups are more likely attributable to the coating's structural properties rather than the spider silk material itself.

7 Literaturverzeichnis

Adams, J. C. (1979). Ascending projections to the inferior colliculus. *Journal of Comparative Neurology*, *183*(3), 519–538.

Aescht, E., Büchl-Zimmermann, S., Burmester, A., Dänhardt-Pfeiffer, S., Desel, C., Hamers, C., Jach, G., Kässens, M., Makovitzky, J., Mulisch, M., Nixdorf-Bergweiler, B., Pütz, D., Riedelsheimer, B., van den Boom, F., Wegerhoff, R., & Welsch, U. (2010). Romeis Mikroskopische Technik. In *Romeis Mikroskopische Technik*. Spektrum Akademischer Verlag.

Alexiades, G., Roland, J. T., Fishman, A. J., Shapiro, W., Waltzman, S. B., & Cohen, N. L. (2001). Cochlear reimplantation: Surgical techniques and functional results. *Laryngoscope*, *111*(9), 1608–1613.

Altman, G. H., Diaz, F., Jakuba, C., Calabro, T., Horan, R. L., Chen, J., Lu, H., Richmond, J., & Kaplan, D. L. (2003). Silk-based biomaterials. In *Biomaterials* (Vol. 24).

Anderson, J. M., Rodriguez, A., & Chang, D. T. (2008). Foreign body reaction to biomaterials. In *Seminars in Immunology* (Vol. 20, Issue 2, pp. 86–100). NIH Public Access.

Angeli, S. I., Brown, C. S., Holcomb, M. A., Velandia, S. L., Eshraghi, A. A., Chiossone-Kerdel, J. A., Hoffer, M. E., Sanchez, C., & Telischi, F. F. (2024). Functional Hearing Preservation in Cochlear Implantation: The Miami Cocktail Effect. *Otology & Neurotology*, *45*(4), 376–385.

Arcidiacono, S., Mello, C., Kaplan, D., Cheley, S., & Bayley, H. (1998). Purification and characterization of recombinant spider silk expressed in Escherichia coli. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *49*(1), 31–38.

Ardıç, F. N., Aydemir, G., Tümkaya, F., Altınöz, E., & Şenol, H. (2023). The Effect of Intracochlear and Intratympanic Dexamethasone on Cochlear Implant Impedance. *Turkish Archives of Otorhinolaryngology*, *61*(3), 103–108.

Ashmore, J. (2008). Cochlear Outer Hair Cell Motility. *Physiological Reviews*, *88*(1), 173–210.

Attias, J., Hod, R., Raveh, E., Mizrachi, A., Avraham, K. B., Lenz, D. R., & Nageris, B. I. (2016). Hearing loss patterns after cochlear implantation via the round window in an animal model. *American Journal of Otolaryngology - Head and Neck Medicine and Surgery*, *37*(2), 162–168.

Ausili, S. A., Agterberg, M. J. H., Engel, A., Voelter, C., Thomas, J. P., Brill, S., Snik, A. F. M., Dazert, S., Van Opstal, A. J., & Mylanus, E. A. M. (2020). Spatial Hearing by Bilateral Cochlear Implant Users With Temporal Fine-Structure Processing. *Frontiers in Neurology*, *11*.

Avci, E., Nauwelaers, T., Lenarz, T., Hamacher, V., & Kral, A. (2014). Variations in microanatomy of the human cochlea. *Journal of Comparative Neurology*, *522*(14), 3245–3261.

Baetge, E. E., & Hammangt, J. P. (1991). Neurite outgrowth in PC12 cells deficient in GAP-43. *Neuron*, *6*(1), 21–30.

Bako, P., Bassiouni, M., Eckhard, A., Gerlinger, I., Frick, C., Löwenheim, H., & Müller, M. (2015). Methyl methacrylate embedding to study the morphology and immunohistochemistry of adult guinea pig and mouse cochleae. *Journal of Neuroscience Methods*, *254*, 86–93.

Banakis Hartl, R. M., Greene, N. T., Jenkins, H. A., Cass, S. P., & Tollin, D. J. (2018). Lateral Semicircular Canal Pressures During Cochlear Implant Electrode Insertion: a Possible Mechanism for Postoperative Vestibular Loss. *Otology & Neurotology*, *39*(6), 755–764.

Banakis Hartl, R. M., Kaufmann, C., Hansen, M. R., & Tollin, D. J. (2019). Intracochlear Pressure Transients during Cochlear Implant Electrode Insertion: Effect of Micro-mechanical Control on Limiting Pressure Trauma. *Otology and Neurotology*, *40*(6), 736–744.

Bas, E., Bohorquez, J., Goncalves, S., Perez, E., Dinh, C. T., Garnham, C., Hessler, R., Eshraghi, A. A., & Van De Water, T. R. (2016). 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. *Hearing Research*, *337*, 12–24.

Bas, E., Goncalves, S., Adams, M., Dinh, C. T., Bas, J. M., Van De Water, T. R., & Eshraghi, A. A. (2015). Spiral ganglion cells and macrophages initiate neuro-inflammation and scarring following cochlear implantation. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *9*.

Bear, Mark. F., Connors, Barry. W., & Paradiso, M. A. (2007). The Auditory and Vestibular Systems. In Lupash Emily, Dilernia Betsy, Connolly Elizabeth, & Williams C. Paula (Eds.), *Neuroscience: Exploring the Brain* (Third Edition, pp. 343–384). Lippincott Wiliams & Wilkins.

Behrends, W., Wulf, K., Raggl, S., Fröhlich, M., Eickner, T., Dohr, D., Esser, K. H., Lenarz, T., Scheper, V., & Paasche, G. (2023). Dual Drug Delivery in Cochlear Implants: In Vivo Study of Dexamethasone Combined with Diclofenac or Immunophilin Inhibitor MM284 in Guinea Pigs. *Pharmaceutics*, *15*(3).

Belbéoch, C., Lejeune, · Joseph, Vroman, P., & Salaün, F. (2021). Silkworm and spider silk electrospinning: a review. *Environmental Chemistry Letters*, *1*, 3.

Benatti, A., Castiglione, A., Trevisi, P., Bovo, R., Rosignoli, M., Manara, R., & Martini, A. (2013). Endocochlear inflammation in cochlear implant users: Case report and literature review. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, *77*(6), 885–893.

Bennion, D. M., Horne, R., Peel, A., Reineke, P., Henslee, A., Kaufmann, C., Guymon, C. A., & Hansen, M. R. (2021). Zwitterionic Photografted Coatings of Cochlear Implant Biomaterials Reduce Friction and Insertion Forces. *Otology & Neurotology*, *42*(10), 1476–1483.

Benowitz, L. I., & Routtenberg, A. (1997). GAP-43: an intrinsic determinant of neuronal development and plasticity. *Trends in Neurosciences*, *20*(2), 84–91.

Berrettini, S., Vito, D. A., Bruschini, L., Passetti, S., & Forli, F. (2011). Facial nerve stimulation after cochlear implantation: our experience. *Acta Otorhinolaryngologica Italica : Organo Ufficiale Della Societa Italiana Di Otorinolaringologia e Chirurgia Cervico-Facciale*, *31*(1), 11–16.

Black, J. (2005). *Biological Performance of Materials. Fundamentals of Biocompatibility. 4rd ed.* Crc Press Inc.

Blair Simmons, F., Epley, J. M., Lummis, R. C., Guttman, N., Frishkopf, L. S., Harmon, L. D., & Zwicker, E. (1965). Auditory nerve: Electrical stimulation in man. *Science*, *148*(3666), 104–106.

Blake Wilson, & Michael F. Dorman. (2012). Better Hearing with Cochlear Implants: Studies at the Research Triangle Institute. In *Plural Publishing Inc.* Plural Publishing, Inc.

Bock, G. R., & Steel, K. P. (1984). Use of albino animals for auditory research. *Hearing Research*, *13*(2), 201–202.

Borkner, C. B., Elsner, M. B., & Scheibel, T. (2014). Coatings and films made of silk proteins. In *ACS Applied Materials and Interfaces* (Vol. 6, Issue 18, pp. 15611–15625). American Chemical Society.

Borkner, C. B., Wohlrab, S., Möller, E., Lang, G., & Scheibel, T. (2017). Surface Modification of Polymeric Biomaterials Using Recombinant Spider Silk Proteins. *ACS Biomaterials Science and Engineering*, *3*(5), 767–775.

Boyer, E., Karkas, A., Attye, A., Lefournier, V., Escude, B., & Schmerber, S. (2015). Scalar Localization by Cone-Beam Computed Tomography of Cochlear Implant Carriers. *Otology & Neurotology*, *36*(3), 422–429.

Braun, S., Ye, Q., Radeloff, A., Kiefer, J., Gstoettner, W., & Tillein, J. (2011). Protection of inner ear function after cochlear implantation: Compound action potential measurements after local application of glucocorticoids in the guinea pig cochlea. *ORL*, *73*(4), 219–228.

Buckley, K. A., & Tobey, E. A. (2011). Cross-Modal Plasticity and Speech Perception in Pre- and Postlingually Deaf Cochlear Implant Users. *Ear & Hearing*, *32*(1), 2–15.

Burghard, A., Lenarz, T., Kral, A., & Paasche, G. (2014). Insertion site and sealing technique affect residual hearing and tissue formation after cochlear implantation. *Hearing Research*, *312*, 21–27.

Burian, K., Hochmair, E., Hochmair-desoyer, I., & Lessel, M. R. (1979). Designing of And Experience with Multichannel Cochlear Implants. *Acta Oto-Laryngologica*, *87*(3–6), 190–195.

Burian, K., Hochmair, E., Hochmair-Desoyer, I., & Lessel, M. R. (1980). Electrical stimulation with multichannel electrodes in deaf patients. *International Journal of Audiology*, *19*(2), 128–136.

Busby, P. A., Plant, K. L., & Whitford, L. A. (2002). Electrode impedance in adults and children using the Nucleus 24 cochlear implant system. *Cochlear Implants International*, *3*(2), 87–103.

Campbell, J., & Sharma, A. (2016). Visual Cross-Modal Re-Organization in Children with Cochlear Implants. *PLOS ONE*, *11*(1), e0147793.

Caswell-Midwinter, B., Doney, E. M., Arjmandi, M. K., Jahn, K. N., Herrmann, B. S., & Arenberg, J. G. (2022). The Relationship Between Impedance, Programming and Word Recognition in a Large Clinical Dataset of Cochlear Implant Recipients. *Trends in Hearing*, *26*.

Cejas, I., Barker, D. H., Petruzzello, E., Sarangoulis, C. M., & Quittner, A. L. (2023). Cochlear Implantation and Educational and Quality-of-Life Outcomes in Adolescence. *JAMA Otolaryngology–Head & Neck Surgery*, *149*(8), 708.

Chaisuksunt, V., Zhang, Y., Anderson, P. N., Campbell, G., Vaudano, E., Schachner, M., & Lieberman, A. R. (2000). Axonal regeneration from CNS neurons in the cerebellum and brainstem of adult rats: correlation with the patterns of expression and distribution of messenger RNAs for L1, CHL1, c-jun and growth-associated protein-43. *Neuroscience*, *100*(1), 87–108.

Chandorkar, Y., K, R., & Basu, B. (2019). The Foreign Body Response Demystified. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, *5*(1), 19–44.

Charlet De Sauvage, R., Lima Da Costa, D., Erre, J. P., & Aran, J. M. (1997). Electrical and physiological changes during short-term and chronic electrical stimulation of the normal cochlea. *Hearing Research*, *110*(1–2), 119–134.

Chen, A., Wang, Z., Chen, H., Pang, B., Cai, H., Chen, Z., Ning, C., Ma, D., Tang, J., & Zhang, H. (2023). Zwitterion modified cochlear implants resist postoperative infection and inflammation. *Materials Today Bio*, *23*, 100856.

Chen, L. C., Sandmann, P., Thorne, J. D., Bleichner, M. G., & Debener, S. (2016). Cross-modal functional reorganization of visual and auditory cortex in adult cochlear implant users identified with fNIRS. *Neural Plasticity*, *2016*.

Chen, Y.-F., Goodheart, C., & Rua, D. (2020). The Body's Cellular and Molecular Response to Protein-Coated Medical Device Implants: A Review Focused on Fibronectin and BMP Proteins. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(22), 8853.

Chikar, J. A., Hendricks, J. L., Richardson-Burns, S. M., Raphael, Y., Pfingst, B. E., & Martin, D. C. (2012). The use of a dual PEDOT and RGD-functionalized alginate hydrogel coating to provide sustained drug delivery and improved cochlear implant function. *Biomaterials*, *33*(7), 1982–1990.

Choi, C. H., & Oghalai, J. S. (2005). Predicting the effect of post-implant cochlear fibrosis on residual hearing. *Hearing Research*, *205*(1–2), 193–200.

Clark, G. (2003). Surgical Pathology. In *Cochlear Implants* (pp. 100–159). Springer New York.

Clark, G. M., Clark, J., Cardamone, T., Clarke, M., Nielsen, P., Jones, R., Arhatari, B., Birbilis, N., Curtain, R., Xu, J., Wagstaff, S., Gibson, P., O'Leary, S., & Furness, J. (2014). Biomedical studies on temporal bones of the first multi-channel cochlear implant patient at the University of Melbourne. *Cochlear Implants International*, *15*, S1–S15.

Clark, G. M., O'Loughlin, B. J., Rickards, F. W., Tong, Y. C., & Williams, A. J. (1977). The clinical assessment of cochlear implant patients. *The Journal of Laryngology & Otology*, *91*(8), 697–708.

Clark, G. M., Pyman, B. C., & Bailey, Q. R. (1978). The surgery for multiple-electrode cochlear implantations. *The Journal of Laryngology & Otology*, *93*(3), 215–223.

Clarkson, C., Antunes, F. M., & Rubio, M. E. (2016). Conductive hearing loss has long-lasting structural and molecular effects on presynaptic and postsynaptic structures of auditory nerve synapses in the cochlear nucleus. *Journal of Neuroscience*, *36*(39), 10214–10227.

Cohen, N. L., Waltzman, S. B., & Fisher, S. G. (1993). A Prospective, Randomized Study of Cochlear Implants. *New England Journal of Medicine*, *328*(4), 233–237.

Conlee, J. W., & Bennett, M. L. (1993). Turn-specific differences in the endocochlear potential between albino and pigmented guinea pigs. *Hearing Research*, *65*(1–2), 141–150.

Conlee, J. W., Gerity, L. C., Westenberg, I. S., & Creel, D. J. (1994). Pigment-dependent differences in the stria vascularis of albino and pigmented guinea pigs and rats. *Hearing Research*, *72*(1–2), 108–124.

Creel, D. (1980). Inappropriate use of albino animals as models in research. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *12*(6), 969–977.

Creel, D. J. (1995). *Visual and Auditory Anomalies Associated with Albinism*.

Dalrymple, A. N., Robles, U. A., Huynh, M., Nayagam, B. A., Green, R. A., Poole-Warren, L. A., Fallon, J. B., & Shepherd, R. K. (2020). Electrochemical and biological performance of chronically stimulated conductive hydrogel electrodes. *Journal of Neural Engineering*, *17*(2), 026018.

Dazert, S., Thomas, J. P., Loth, A., Zahnert, T., & Stöver, T. (2020). Cochlea-Implantation. *Deutsches Arzteblatt International*, *117*(41), 690–700.

De Graan, P. N. E., Van Hooff, C. O. M., Tilly, B. C., Oestreicher, A. B., Schotman, P., & Gispen, W. H. (1985). Phosphoprotein B-50 in nerve growth cones from fetal rat brain. *Neuroscience Letters*, *61*(3), 235–241.

De Nicola, R. R. (1950). Permanent artificial, silicone, urethra. *The Journal of Urology*, *63*(1), 168–172.

Deep, N., Dowling, E., Jethanamest, D., & Carlson, M. (2019). Cochlear Implantation: An Overview. *Journal of Neurological Surgery Part B: Skull Base*, *80*(02), 169–177.

Dencker, F., Dreyer, L., Müller, D., Zernetsch, H., Paasche, G., Sindelar, R., & Glasmacher, B. (2017). A silicone fiber coating as approach for the reduction of fibroblast growth on implant electrodes. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, *105*(8), 2574–2580.

Dessard, L., Gersdorff, G., Ivanovik, N., Zoca-Assadi, M., Nopp, P., Camby, S., & Lefebvre, P. P. (2024). Cochlear Implant: Analysis of the Frequency-to-Place Mismatch with the Table-Based Software OTOPLAN® and Its Influence on Hearing Performance. *Audiology and Neurotology*, 1–7.

Dhanasingh, A., & Hochmair, I. (2021a). Bilateral cochlear implantation. *Acta Oto-Laryngologica*, *141*(S1), 1–21.

Dhanasingh, A., & Hochmair, I. (2021b). EAS-Combined electric and acoustic stimulation. *Acta Oto-Laryngologica*, *141*(S1), 22–62.

Dhanasingh, Anandhan. (2021). The rationale for FLEX (cochlear implant) electrode with varying array lengths. *World Journal of Otorhinolaryngology - Head and Neck Surgery*, *7*(1), 45–53.

Ding, D. -L., Wang, J., Salvi, R., Henderson, D., Hu, B. -H., McFadden, S. L., & Mueller, M. (1999). Selective Loss of Inner Hair Cells and Type-I Ganglion Neurons in Carboplatin-Treated Chinchillas: Mechanisms of Damage and Protection. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *884*(1), 152–170.

Dinjaski, N., Ebrahimi, D., Qin, Z., Giordano, J. E. M., Ling, S., Buehler, M. J., & Kaplan, D. L. (2018). Predicting rates of in vivo degradation of recombinant spider silk proteins. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, *12*(1), e97–e105.

Djourno, A., & Eyries, C. (1957). Prothèse auditive par excitation électrique à distance du nerf sensoriel à l'aide d'un bodinage inclus à demeure. *La Presse Médicale*, *65*(63), 1417. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13484817/

Dorman, M. F., & Gifford, R. H. (2010). Combining acoustic and electric stimulation in the service of speech recognition. *Int J Audiol*, *49*(12), 912–919.

Doucet, M. E., Bergeron, F., Lassonde, M., Ferron, P., & Lepore, F. (2006). Cross-modal reorganization and speech perception in cochlear implant users. *Brain*, *129*(12), 3376–3383.

Duan, M., Venail, F., Spencer, N., & Mezzina, M. (2004). Treatment of peripheral sensorineural hearing loss: Gene therapy. In *Gene Therapy* (Vol. 11, pp. S51–S56).

Duan, Y. Y., Clark, G. M., & Cowan, R. S. C. (2004). A study of intra-cochlear electrodes and tissue interface by electrochemical impedance methods in vivo. *Biomaterials*, *25*(17), 3813–3828.

Eastwood, H., Chang, A., Kel, G., Sly, D., Richardson, R., & O'Leary, S. J. (2010). Round window delivery of dexamethasone ameliorates local and remote hearing loss produced by cochlear implantation into the second turn of the guinea pig cochlea. *Hearing Research*, *265*(1–2), 25–29.

Eisoldt, L., Smith, A., & Scheibel, T. (2011). Decoding the secrets of spider silk. In *Materials Today* (Vol. 14, Issue 3, pp. 80–86). Elsevier B.V.

Ertas, Y. N., Ozpolat, D., Karasu, S. N., & Ashammakhi, N. (2022). Recent Advances in Cochlear Implant Electrode Array Design Parameters. *Micromachines*, *13*(7), 1081.

Eshraghi, A. A., Adil, E., He, J., Graves, R., Balkany, T. J., & Van De Water, T. R. (2007). Local dexamethasone therapy conserves hearing in an animal model of electrode insertion trauma-induced hearing loss. *Otology and Neurotology*, *28*(6), 842–849.

Eshraghi, A. A., He, J., Mou, C. H., Polak, M., Zine, A., Bonny, C., Balkany, T. J., & Van De Water, T. R. (2006). D-JNKI-1 Treatment Prevents the Progression of Hearing Loss in a Model of Cochlear Implantation Trauma. *Otology & Neurotology*, *27*(4), 504–511.

Eshraghi, A. A., Polak, M., He, J., Telischi, F. F., Balkany, T. J., & Van De Water, T. R. (2005). Pattern of hearing loss in a rat model of cochlear implantation trauma. *Otology and Neurotology*, *26*(3), 442–447.

Etienne, O., Schneider, A., Kluge, J. A., Bellemin-Laponnaz, C., Polidori, C., Leisk, G. G., Kaplan, D. L., Garlick, J. A., & Egles, C. (2009). Soft Tissue Augmentation Using Silk Gels: An In Vitro and In Vivo Study. *Journal of Periodontology*, *80*(11), 1852–1858.

Fayad, J. N., Makarem, A. O., & Linthicum, F. H. (2009). Histopathologic assessment of fibrosis and new bone formation in implanted human temporal bones using 3D reconstruction. *Otolaryngology - Head and Neck Surgery*, *141*(2), 247–252.

Fischer, J. (2015). *Elektrophysiologische Studien, Impedanzmessungen und Histologie bei PTFEP-beschichteten Cochlea-Implantaten am Meerschweinchen-Modell* [Ludwig - Maximilians - Universität München].
Fox, L. R. (1975). Cannibalism in Natural Populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*, *6*(1), 87–106.
Fransson, A., & Ulfendahl, M. (2017). Structural changes in the inner ear over time studied in the experimentally deafened guinea pig. *Journal of Neuroscience Research*, *95*(3), 869–875.
Friedland, D. R., & Runge-Samuelson, C. (2009). Soft Cochlear Implantation: Rationale for the Surgical Approach. *Trends in Amplification*, *13*(2), 124–138.
Fryauf-Bertschy, H., Tyler, R. S., Kelsay, D. M. R., Gantz, B. J., & Woodworth, G. G. (1997). Cochlear implant use by prelingually deafened children: The influences of age at implant and length of device use. *Journal of Speech, Language, and Hearing Research*, *40*(1), 183–199.
Gao, C., Li, G., Xue, H., Yang, W., Zhang, F., & Jiang, S. (2010). Functionalizable and ultra-low fouling zwitterionic surfaces via adhesive mussel mimetic linkages. *Biomaterials*, *31*(7), 1486–1492.
Garb, J. E., Haney, R. A., Schwager, E. E., Gregorič, M., Kuntner, M., Agnarsson, I., & Blackledge, T. A. (2019). The transcriptome of Darwin's bark spider silk glands predicts proteins contributing to dragline silk toughness. *Communications Biology*, *2*(1).
Geers, A. E., Nicholas, J. G., & Moog, J. S. (2007). Estimating the influence of cochlear implantation on language development in children. In *Audiological Medicine* (Vol. 5, Issue 4, pp. 262–273). Audiol Med.
Geiger, J. (2019). Hören und Sprechen: Kommunikation des Menschen. In H.-C. Pape, A. Kurtz, & S. Silbernagl (Eds.), *Physiologie* (9th ed., pp. 784–807). Georg Thieme Verlag.
Gill, S. S., & Salt, A. N. (1997). Quantitative differences in endolymphatic calcium and endocochlear potential between pigmented and albino guinea pigs. *Hearing Research*, *113*(1–2), 191–197.
Goehring, J. L., Hughes, M. L., Baudhuin, J. L., & Lusk, R. P. (2013). How well do cochlear implant intraoperative impedance measures predict postoperative electrode function? *Otology and Neurotology*, *34*(2), 239–244.
Gomes, S., Gallego-Llamas, J., Leonor, I. B., Mano, J. F., Reis, R. L., & Kaplan, D. L. (2012). Biological responses to spider silk-antibiotic fusion protein. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, *6*(5), 356–368.
Gomes, S., Gallego-Llamas, J., Leonor, I. B., Mano, J. F., Reis, R. L., & Kaplan, D. L. (2013). In Vivo Biological Responses to Silk Proteins Functionalized with Bone Sialoprotein. *Macromolecular Bioscience*, *13*(4), 444–454.
Gordon, K. A., Jiwani, S., & Papsin, B. C. (2011). What is the optimal timing for bilateral cochlear implantation in children? In *Cochlear implants international: Vol. 12 Suppl 2*. Cochlear Implants Int.
Gosline, J. M., Guerette, P. A., Ortlepp, C. S., & Savage, K. N. (1999). The mechanical design of spider silks. *The Journal of Experimental Biology*, *202*, 3295–3303.
Gosline, John M., DeMont, M. E., & Denny, M. W. (1986). The structure and properties of spider silk. *Endeavour*, *10*(1), 37–43.
Greene, N. T., Anbuhl, K. L., Ferber, A. T., DeGuzman, M., Allen, P. D., & Tollin, D. J. (2018). Spatial hearing ability of the pigmented Guinea pig (Cavia porcellus): Minimum audible angle and spatial release from masking in azimuth. *Hearing Research*, *365*, 62–76.
Greene, N. T., Mattingly, J. K., Banakis Hartl, R. M., Tollin, D. J., & Cass, S. P. (2016). Intracochlear Pressure Transients During Cochlear Implant Electrode Insertion. *Otology & Neurotology*, *37*(10), 1541–1548.
Grothe, B., & Pecka, M. (2014). The natural history of sound localization in mammals-a story of neuronal inhibition. *Frontiers in Neural Circuits*, *8*(OCT).
Grothe, B., Pecka, M., & McAlpine, D. (2010). Mechanisms of sound localization in mammals. *Physiological Reviews*, *90*(3), 983–1012.
Gstoettner, W., Helbig, S., Settevendemie, C., Baumann, U., Wagenblast, J., & Arnoldner, C. (2009). A new electrode for residual hearing preservation in cochlear implantation: First clinical results. *Acta Oto-Laryngologica*, *129*(4), 372–379.
Gstoettner, W. K., Helbig, S., Maier, N., Kiefer, J., Radeloff, A., & Adunka, O. F. (2006). Ipsilateral Electric Acoustic Stimulation of the Auditory System: Results of Long-Term Hearing Preservation. *Audiology and Neurotology*, *11*(Suppl. 1), 49–56.

Guerette, P. A., Ginzinger, D. G., Weber, B. H. F., & Gosline, J. M. (1996). Silk properties determined by gland-specific expression of a spider fibroin gene family. *Science*, *272*(5258), 112–115.
Gumus, B., İncesulu, A. S., Kaya, E., Kezban Gurbuz, · M, & Pınarbaslı, · M Ozgur. (2021). Analysis of cochlear implant revision surgeries. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, *278*(3), 675–682.
Harris, T. I., Gaztambide, D. A., Day, B. A., Brock, C. L., Ruben, A. L., Jones, J. A., & Lewis, R. V. (2016). Sticky Situation: An Investigation of Robust Aqueous-Based Recombinant Spider Silk Protein Coatings and Adhesives. *Biomacromolecules*, *17*(11), 3761–3772.
Harrison, R. V., Palmer, A., & Aran, J.-M. (1984). Some otological differences between pigmented and albino-type guinea pigs. *Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, *240*(3), 271–275.
Hassarati, R. T., Dueck, W. F., Tasche, C., Carter, P. M., Poole-Warren, L. A., & Green, R. A. (2014). Improving Cochlear Implant Properties Through Conductive Hydrogel Coatings. *IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering*, *22*(2), 411–418.
Heffner, H. E., & Heffner, R. S. (2007). Hearing ranges of laboratory animals. In *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* (Vol. 46, Issue 1, pp. 20–22). American Association for Laboratory Animal Science.
Heffner, R. S., & Heffner, H. E. (1988). Sound localization and use of binaural cues by the gerbil (Meriones unguiculatus). *Behavioral Neuroscience*, *102*(3), 422–428.
Heffner, R. S., & Heffner, H. E. (1991). Behavioral hearing range of the chinchilla. *Hearing Research*, *52*(1), 13–16.
Hochmair-Desoyer, I., Hochmair, E., & Burian, K. (1978). Implantierbares Acht-Kanal-Stimulationssystem für Innerohrertaubte. *Biomedizinische Technik*, *23*(s1), 334–335.
Hochmair-Desoyer, I. J., Hochmair, E. S., Burian, K., & Fischer, R. E. (1981). Four years of experience with cochlear prostheses. *Medical Progress through Technology*, *8*(3), 107–119.
Hochmair-Desoyer, I., Zierhofer, C., & Hochmair, E. S. (1993). New hardware for analog and combined analog and pulsatile sound-encoding strategies. *Progress in Brain Research*, *97*(C), 291–300.
Horne, R., Ben-Shlomo, N., Jensen, M., Ellerman, M., Escudero, C., Hua, R., Bennion, D., Guymon, C. A., & Hansen, M. R. (2023). Reducing the foreign body response on human cochlear implants and their materials in vivo with photografted zwitterionic hydrogel coatings. *Acta Biomaterialia*, *166*, 212–223.
House, L. R. (1987). Cochlear implant: the beginning. *The Laryngoscope*, *97*(8), 996–997. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3302573/
House, W. F. (1974). I. Goals of the cochlear implant. *The Laryngoscope*, *84*(11), 1883a–11887.
House, W. F. (1976). Chapter I Cochlear Implants: Beginnings (1957–1961). *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology*, *85*(3_suppl), 3–6.
House, W. F., & Urban, J. (1973). Long Term Results of Electrode Implantation and Electronic Stimulation of the Cochlea in Man. *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology*, *82*(4), 504–517.
Huemmerich, D., Scheibel, T., Vollrath, F., Cohen, S., Gat, U., & Ittah, S. (2004). Novel Assembly Properties of Recombinant Spider Dragline Silk Proteins. *Current Biology*, *14*(22), 2070–2074.
Hütten, M., Dhanasingh, A., Hessler, R., Stöver, T., Esser, K. H., Möller, M., Lenarz, T., Jolly, C., Groll, J., & Scheper, V. (2014). In vitro and in vivo evaluation of a hydrogel reservoir as a continuous drug delivery system for inner ear treatment. *PLoS ONE*, *9*(8).
Imsiecke, M., Büchner, A., Lenarz, T., & Nogueira, W. (2021). Amplitude Growth Functions of Auditory Nerve Responses to Electric Pulse Stimulation With Varied Interphase Gaps in Cochlear Implant Users With Ipsilateral Residual Hearing. *Trends in Hearing*, *25*.
Irving, S., Gillespie, L., Richardson, R., Rowe, D., Fallon, J. B., & Wise, A. K. (2014). Electroacoustic Stimulation: Now and into the Future. In *BioMed Research International* (Vol. 2014). Hindawi Limited.
Ishai, R., Herrmann, B. S., Nadol, J. B., & Quesnel, A. M. (2017). The pattern and degree of capsular fibrous sheaths surrounding cochlear electrode arrays. *Hearing Research*, *348*, 44–53.
Ishiyama, A., Doherty, J., Ishiyama, G., Quesnel, A. M., Lopez, I., & Linthicum, F. H. (2016). Post hybrid cochlear implant hearing loss and endolymphatic hydrops. *Otology and Neurotology*, *37*(10), 1516–1521.
Jiang, S., & Cao, Z. (2010). Ultralow-Fouling, Functionalizable, and Hydrolyzable Zwitterionic Materials and Their Derivatives for Biological Applications. *Advanced Materials*, *22*(9), 920–932.
Johnsson, L.-G. (1974). Sequence of Degeneration of Corti's Organ and its First-Order Neurons. *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology*, *83*(3), 294–303.

Joseph, E., Patil, A., Hirlekar, S., Shete, A., Parekh, N., Prabhune, A., & Nisal, A. (2019). Glycomonoterpene-Functionalized Crack-Resistant Biocompatible Silk Fibroin Coatings for Biomedical Implants. *ACS Applied Bio Materials*, *2*(2), 675–684.

Jurawitz, M. C., Büchner, A., Harpel, T., Schüssler, M., Majdani, O., Lesinski-Schiedat, A., & Lenarz, T. (2014). Hearing preservation outcomes with different cochlear implant electrodes: Nucleus® hybrid™-L24 and nucleus freedom™ CI422. *Audiology and Neurotology*, *19*(5), 293–309.

Jwair, S., Prins, A., Wegner, I., Stokroos, R. J., Versnel, H., & Thomeer, H. G. X. M. (2021). Scalar Translocation Comparison Between Lateral Wall and Perimodiolar Cochlear Implant Arrays - A Meta-Analysis. In *Laryngoscope* (Vol. 131, Issue 6, pp. 1358–1368). John Wiley & Sons, Ltd.

Kamakura, T., & Nadol, J. B. (2016). Correlation between word recognition score and intracochlear new bone and fibrous tissue after cochlear implantation in the human HHS Public Access. *Hear Res*, *339*, 132–141.

Kamakura, T., O'Malley, J. T., & Nadol, J. B. (2018). Preservation of Cells of the Organ of Corti and Innervating Dendritic Processes Following Cochlear Implantation in the Human: An Immunohistochemical Study. *Otology & Neurotology*, *39*(3), 284–293.

Kan, A., & Litovsky, R. Y. (2015). Binaural hearing with electrical stimulation. In *Hearing Research* (Vol. 322, pp. 127–137). Elsevier B.V.

Kansaku, K. (2021). Neuroprosthetics in systems neuroscience and medicine. In *Scientific Reports* (Vol. 11, Issue 1, pp. 1–3). Nature Research.

Kaoutzanis, C., Winocour, J., Unger, J., Gabriel, A., & Maxwell, G. P. (2019). The Evolution of Breast Implants. *Seminars in Plastic Surgery*, *33*(04), 217–223.

Ketterer, M. C., Shiraliyev, K., Arndt, S., Aschendorff, A., & Beck, R. (2024). Implantation and reimplantation: epidemiology, etiology and pathogenesis over the last 30 years. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*.

Khater, A., & El-Anwar, M. (2017). Methods of Hearing Preservation during Cochlear Implantation. *International Archives of Otorhinolaryngology*, *21*(03), 297–301.

Kiefer, J., Böhnke, F., Adunka, O., & Arnold, W. (2006). Representation of acoustic signals in the human cochlea in presence of a cochlear implant electrode. *Hearing Research*, *221*(1–2), 36–43.

Kopelovich, J. C., Reiss, L. A. J., Oleson, J. J., Lundt, E. S., Gantz, B. J., & Hansen, M. R. (2014). Risk factors for loss of ipsilateral residual hearing after hybrid cochlear implantation. *Otology and Neurotology*, *35*(8), 1403–1408.

Kornfeld, T., Nessler, J., Helmer, C., Hannemann, R., Waldmann, K. H., Peck, C. T., Hoffmann, P., Brandes, G., Vogt, P. M., & Radtke, C. (2021). Spider silk nerve graft promotes axonal regeneration on long distance nerve defect in a sheep model. *Biomaterials*, *271*, 120692.

Kral, A. (2017). Pathophysiologie des Hörverlusts: Klassifikation und Therapieoptionen. *Hno*, *65*(4), 290–297.

Kral, Andrej, & Eggermont, J. J. (2007). What's to lose and what's to learn: Development under auditory deprivation, cochlear implants and limits of cortical plasticity. In *Brain Research Reviews* (Vol. 56, Issue 1, pp. 259–269). Brain Res Rev.

Kral, Andrej, & O'Donoghue, G. M. (2010). Profound Deafness in Childhood. *New England Journal of Medicine*, *363*(15), 1438–1450.

Kral, Andrej, & Sharma, A. (2012). Developmental neuroplasticity after cochlear implantation. *Trends in Neurosciences*, *35*(2), 111–122.

Kraus, K. S., Ding, D., Jiang, H., Kermany, M. H., Mitra, S., & Salvi, R. J. (2013). Up-regulation of GAP-43 in the chinchilla ventral cochlear nucleus after carboplatin-induced hearing loss: Correlations with inner hair cell loss and outer hair cell loss. *Hearing Research*, *302*, 74–82.

Kyriakides, T. R., Kim, H.-J., Zheng, C., Harkins, L., Tao, W., & Deschenes, E. (2022). Foreign body response to synthetic polymer biomaterials and the role of adaptive immunity. *Biomedical Materials*, *17*(2), 022007.

Laback, B., Egger, K., & Majdak, P. (2015). Perception and coding of interaural time differences with bilateral cochlear implants. *Hearing Research*, *322*, 138–150.

Lahey, F. H. (1946). Results from using Vitallium Tubes in Biliary Surgery. *Annals of Surgery*, *124*(6), 1027–6. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17858891

Lam, K. H., Nijenhuis, A. J., Bartels, H., Postema, A. R., Jonkman, M. F., Pennings, A. J., & Nieuwenhuis, P. (1995). Reinforced poly(L-lactic acid) fibres as suture material. *Journal of Applied Biomaterials*, *6*(3).

Lassaletta, L., Sánchez-Cuadrado, I., Espinosa, J. M., Batuecas, Á., Cenjor, C., Lavilla, M. J., Cavallé, L., Huarte, A., Nuñez, F., Manrique, M., Ramos, Á., de Paula, C., & Gil-Carcedo, E. (2019). Implantes activos de oído medio. *Acta Otorrinolaringológica Española*, *70*(2), 112–118.

Lazard, D. S., Innes-Brown, H., & Barone, P. (2014). Adaptation of the communicative brain to post-lingual deafness. Evidence from functional imaging. *Hearing Research*, *307*, 136–143.

Lazard, D. S., Lee, H., Truy, E., & Giraud, A. (2013). Bilateral reorganization of posterior temporal cortices in post-lingual deafness and its relation to cochlear implant outcome. *Human Brain Mapping*, *34*(5), 1208–1219.

Lazarus, H., Sust, C., Steckel, R., Kulka, M., & Kurtz, P. (2007). Akustische Eigenschaften gesprochener Sprache. In *Akustische Grundlagen sprachlicher Kommunikation* (pp. 41–59). Springer Berlin Heidelberg.

Lee, D. S., Lee, J. S., Oh, S. H., Kim, S.-K., Kim, J.-W., Chung, J.-K., Lee, M. C., & Kim, C. S. (2001). Cross-modal plasticity and cochlear implants. *Nature*, *409*(6817), 149–150.

Lehnhardt, E. (1993). [Intracochlear placement of cochlear implant electrodes in soft surgery technique]. *HNO*, *41*(7), 356–359. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8376183

Lenarz, T., Büchner, A., & Illg, A. (2022). Cochlea-Implantation: Konzept, Therapieergebnisse und Lebensqualität. *Laryngo-Rhino-Otologie*, *101*(S 01), S36–S78.

Lenarz, Thomas. (2017). Cochlear Implant – State of the Art. *Laryngo-Rhino-Otologie*, *96*(S 01), S123–S151.

Lenarz, Thomas, Buechner, A., Lesinski-Schiedat, A., Timm, M., & Salcher, R. (2020). Hearing Preservation With a New Atraumatic Lateral Wall Electrode. *Otology & Neurotology*, *41*(8), e993–e1003.

Lenarz, Thomas, Timm, M. E., Salcher, R., & Büchner, A. (2019). Individual Hearing Preservation Cochlear Implantation Using the Concept of Partial Insertion. *Otology & Neurotology*, *40*(3), e326–e335.

Lewis, R. (1996). Unraveling the Weave of Spider Silk. *BioScience*, *46*(9), 636–638.

Li, P. M. M. C., Somdas, M. A., Eddington, D. K., & Nadol, J. B. (2007). Analysis of intracochlear new bone and fibrous tissue formation in human subjects with cochlear implants. *Annals of Otology, Rhinology and Laryngology*, *116*(10), 731–738.

Liberman, M. C. (2017). Noise-induced and age-related hearing loss: New perspectives and potential therapies. In *F1000Research* (Vol. 6). Faculty of 1000 Ltd.

Liberman, M. C., Liberman, L. D., & Maison, S. F. (2015). Chronic conductive hearing loss leads to cochlear degeneration. *PLoS ONE*, *10*(11).

Liebsch, C., Bucan, V., Menger, B., Köhne, F., Waldmann, K. H., Vaslaitis, D., Vogt, P. M., Strauss, S., & Kuhbier, J. W. (2018). Preliminary investigations of spider silk in wounds in vivo — Implications for an innovative wound dressing. *Burns*, *44*(7), 1829–1838.

Lindsey, B. G. (1975). Fine structure and distribution of axon terminals from cochlear nucleus on neurons in the medial superior olivary nucleus of the cat. *Journal of Comparative Neurology*, *160*(1), 81–103.

Linthicum, F. H., Doherty, J. K., Lopez, I. A., & Ishiyama, A. (2017). Cochlear implant histopathology. *World Journal of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery*, *3*, 211–213.

Liu, B., Song, Y., Jin, L., Wang, Z., Pu, D., Lin, S., Zhou, C., You, H., Ma, Y., Li, J., Yang, L., Sung, K. L. P., & Zhang, Y. (2015). Silk structure and degradation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *131*, 122–128.

Liu, Y., Sponner, A., Porter, D., & Vollrath, F. (2008). Proline and processing of spider silks. *Biomacromolecules*, *9*(1), 116–121.

Lv, J., Wang, H., Cheng, X., Chen, Y., Wang, D., Zhang, L., Cao, Q., Tang, H., Hu, S., Gao, K., Xun, M., Wang, J., Wang, Z., Zhu, B., Cui, C., Gao, Z., Guo, L., Yu, S., Jiang, L., … Shu, Y. (2024). AAV1-hOTOF gene therapy for autosomal recessive deafness 9: a single-arm trial. *The Lancet*, *403*(10441), 2317–2325.

Mady, L. J., Sukato, D. C., Fruit, J., Palmer, C., Raz, Y., Hirsch, B. E., & McCall, A. A. (2017). Hearing Preservation: Does Electrode Choice Matter? *Otolaryngology - Head and Neck Surgery (United States)*, *157*(5), 837–847.

Marie, P. J., Miraoui, H., & Séveère, N. (2012). FGF/FGFR signaling in bone formation: Progress and perspectives. In *Growth Factors* (Vol. 30, Issue 2, pp. 117–123). Growth Factors.

MED-EL. (n.d.-a). *Press Images How A Cochlear Implant System Works with SONNET 2 and SYNCHRONY 2 PIN*. Retrieved September 3, 2024, from https://medel.canto.global/v/press/album/RSNCD?viewIndex=2&display=curatedView

MED-EL. (n.d.-b). *Press Images SYNCHRONY EAS System with SYNCHRONY 2 PIN Implant, SONNET 2 EAS Audio Processor, Perspective View*. Retrieved September 3, 2024, from https://medel.canto.global/v/press/album/RSNCD?viewIndex=2&display=curatedView

MED-EL Elektromedizinische Geräte GmbH. (n.d.). *RONDO 3 Quick Guide*. *AW41007_4.0*.

Meiri, K. F., Saffell, J. L., Walsh, F. S., & Doherty, P. (1998). Neurite Outgrowth Stimulated by Neural Cell Adhesion Molecules Requires Growth-Associated Protein-43 (GAP-43) Function and Is Associated with GAP-43 Phosphorylation in Growth Cones. *The Journal of Neuroscience*, *18*(24), 10429–10437.

Millesi, F., Weiss, T., Mann, A., Haertinger, M., Semmler, L., Supper, P., Pils, D., Naghilou, A., & Radtke, C. (2021). Defining the regenerative effects of native spider silk fibers on primary Schwann cells, sensory neurons, and nerve-associated fibroblasts. *The FASEB Journal*, *35*(2).

Moser, T., Chen, H., Kusch, K., Behr, R., & Vona, B. (2024). Gene therapy for deafness: are we there now? *EMBO Molecular Medicine*, *16*(4), 675–677.

Mueller, M. A. (2024). *Comparison of single-cell spike rate and timing in response to cochlear implant and acoustic stimulation*. LMU München.

Müller, J., Schon, F., & Helms, J. (2002). Speech understanding in quiet and noise in bilateral users of the MED-EL COMBI 40/40+ cochlear implant system. *Ear and Hearing*, *23*(3), 198–206.

Müller-Herrmann, S., & Scheibel, T. (2015). Enzymatic Degradation of Films, Particles, and Nonwoven Meshes Made of a Recombinant Spider Silk Protein. *ACS Biomaterials Science and Engineering*, *1*(4), 247–259.

Nadol, J. B. (1997). Patterns of neural degeneration in the human cochlea and auditory nerve: Implications for cochlear implantation. *Otolaryngology - Head and Neck Surgery*, *117*(3), 220–228.

Nadol, J. B., & Eddington, D. K. (2006). Histopathology of the Inner Ear Relevant to Cochlear Implantation. In *Cochlear and Brainstem Implants* (pp. 31–49). KARGER.

Nadol, J. B., O'Malley, J. T., Burgess, B. J., & Galler, D. (2014). Cellular immunologic responses to cochlear implantation in the human. *Hearing Research*, *318*, 11–17.

Naert, G., Pasdelou, M.-P., & Le Prell, C. G. (2019). Use of the guinea pig in studies on the development and prevention of acquired sensorineural hearing loss, with an emphasis on noise. *The Journal of the Acoustical Society of America*, *146*(5), 3743–3769.

Newbold, C., Mergen, S., Richardson, R., Seligman, P., Millard, R., Cowan, R., & Shepherd, R. (2014). Impedance changes in chronically implanted and stimulated cochlear implant electrodes. *Cochlear Implants International*, *15*(4), 191–199.

Newbold, C., Richardson, R., Millard, R., Seligman, P., Cowan, R., & Shepherd, R. (2011). Electrical stimulation causes rapid changes in electrode impedance of cell-covered electrodes. *Journal of Neural Engineering*, *8*(3).

Newman, C. (1995). Oh what a tangled web: the medicinal uses of spider silk. *International Journal of Dermatology*, *34*(4), 290–292.

Nicholas, J. G., & Geers, A. E. (2013). Spoken language benefits of extending cochlear implant candidacy below 12 months of age. *Otology and Neurotology*, *34*(3), 532–538.

Niedermeier, K., Braun, S., Fauser, C., Kiefer, J., Straubinger, R. K., & Stark, T. (2012). A safety evaluation of dexamethasone-releasing cochlear implants: comparative study on the risk of otogenic meningitis after implantation. *Acta Oto-Laryngologica*, *132*(12), 1252–1260.

Niparko, J. K., Tobey, E. A., Thal, D. J., Eisenberg, L. S., Wang, N. Y., Quittner, A. L., & Fink, N. E. (2010). Spoken language development in children following cochlear implantation. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, *303*(15), 1498–1506.

O'Leary, S. J., Monksfield, P., Kel, G., Connolly, T., Souter, M. A., Chang, A., Marovic, P., O'Leary, J. S., Richardson, R., & Eastwood, H. (2013). Relations between cochlear histopathology and hearing loss in experimental cochlear implantation. *Hearing Research*, *298*, 27–35.

Park, H. J., Lee, J. Y., Yang, C. J., Park, J. W., Kang, B. C., Kang, W. S., Ahn, J. H., & Chung, J. W. (2018). What Is the Sensitive Period to Initiate Auditory Stimulation for the Second Ear in Sequential Cochlear Implantation? *Otology & Neurotology*, *39*(2), 177–183.

Parys, Q.-A., Van Bulck, P., Loos, E., & Verhaert, N. (2022). Inner Ear Pharmacotherapy for Residual Hearing Preservation in Cochlear Implant Surgery: A Systematic Review. *Biomolecules*, *12*(4), 529.

Peel, A., Bennion, D., Horne, R., Hansen, M. R., & Guymon, C. A. (2024). Photografted Zwitterionic Hydrogel Coating Durability for Reduced Foreign Body Response to Cochlear Implants. *ACS Applied Bio Materials*.

Plassmann, W., & Kadel, M. (1991). Low-Frequency Sensitivity in a Gerbilline Rodent, Pachyuromys duprasi. *Brain, Behavior and Evolution*, *38*(2–3), 115–126.
Polonenko, M. J., Gordon, K. A., Cushing, S. L., & Papsin, B. C. (2017). Cortical organization restored by cochlear implantation in young children with single sided deafness. *Scientific Reports*, *7*(1), 16900.
Postlethwait RW. (1969). Repair and regeneration. In Dumphy JE & Van Winkle W (Eds.), *Tissue reaction to surgical sutures* (pp. 85–263).
Qi, J., Tan, F., Zhang, L., Lu, L., Zhang, S., Zhai, Y., Lu, Y., Qian, X., Dong, W., Zhou, Y., Zhang, Z., Yang, X., Jiang, L., Yu, C., Liu, J., Chen, T., Wu, L., Tan, C., Sun, S., … Chai, R. (2024). AAV-Mediated Gene Therapy Restores Hearing in Patients with DFNB9 Deafness. *Advanced Science*, *11*(11).
Quesnel, A. M., Nakajima, H. H., Rosowski, J. J., Hansen, M. R., Gantz, B. J., & Nadol, J. B. (2016). Delayed loss of hearing after hearing preservation cochlear implantation: Human temporal bone pathology and implications for etiology. *Hearing Research*, *333*, 225–234.
Rader, T., Fastl, H., & Baumann, U. (2013). Speech perception with combined electric-acoustic stimulation and bilateral cochlear implants in a multisource noise field. *Ear and Hearing*, *34*(3), 324–332.
Radtke, C., Allmeling, C., Waldmann, K.-H., Reimers, K., Thies, K., Schenk, H. C., Hillmer, A., Guggenheim, M., Brandes, G., & Vogt, P. M. (2011). Spider Silk Constructs Enhance Axonal Regeneration and Remyelination in Long Nerve Defects in Sheep. *PLoS ONE*, *6*(2), e16990.
Rahman, M. T., Chari, D. A., Ishiyama, G., Lopez, I., Quesnel, A. M., Ishiyama, A., Nadol, J. B., & Hansen, M. R. (2022). Cochlear implants: Causes, effects and mitigation strategies for the foreign body response and inflammation. *Hearing Research*, *422*, 108536.
Ramezaniaghdam, M., Nahdi, N. D., & Reski, R. (2022). Recombinant Spider Silk: Promises and Bottlenecks. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *10*.
Ramos Miguel, A., Ramos Macías, A., Artiles, J. V., & Perez Zaballos, M. T. (2016). The Effect of Reference Electrode Position in Cochlear Implants. *The Journal of International Advanced Otology*, *11*(3), 222–228.
Ratner, B., Hoffmann, A., Schoen, F., & Lemons, J. (2004). Classes of Materials Used in Medicine. In *Biomaterials Science second edition* (second Edi, p. 864). Elsevier Academic Press.
Rebscher, S. J. (2008). Considerations for design of future cochlear implant electrode arrays: Electrode array stiffness, size,. *The Journal of Rehabilitation Research and Development*, *45*(5), 731–748.
Reis, M., Boisvert, I., Looi, V., & da Cruz, M. (2017). Speech Recognition Outcomes After Cochlear Reimplantation Surgery. *Trends in Hearing*, *21*.
Rizer, F. M., Arkis, P. N., Lippy, W. H., & Schuring, A. G. (1988). A postoperative audiometric evaluation of cochlear implant patients. *Otolaryngology–Head and Neck Surgery*, *98*(3), 203–206.
Ryan, A. (1976). Hearing sensitivity of the mongolian gerbil, Meriones unguiculatis. *The Journal of the Acoustical Society of America*, *59*(5), 1222–1226.
Ryan, A. F., Harris, J. P., & Keithley, E. M. (2002). Immune-mediated Hearing Loss: Basic Mechanisms and Options for Therapy. *Acta Oto-Laryngologica*, *122*(5), 38–43.
Ryan, A. F., Kujawa, S. G., Hammill, T., Le Prell, C., & Kil, J. (2016). Temporary and Permanent Noise-induced Threshold Shifts. *Otology & Neurotology*, *37*(8), e271–e275.
Ryu, K. A., Lyu, A. R., Park, H., Choi, J. W., Hur, G. M., & Park, Y. H. (2015). Intracochlear bleeding enhances cochlear fibrosis and ossification: An animal study. *PLoS ONE*, *10*(8).
Salthouse, T. N. , M. B. F. , & W. M. H. (1977). Comparative tissue response to six suture materials in rabbit cornea, sclera, and ocular muscle. *American Journal of Ophthalmology*, *84*(2), 224–233.
Santarelli, R., Rossi, R., Scimemi, P., Cama, E., Valentino, M. L., La Morgia, C., Caporali, L., Liguori, R., Magnavita, V., Monteleone, A., Biscaro, A., Arslan, E., & Carelli, V. (2015). OPA1-related auditory neuropathy: site of lesion and outcome of cochlear implantation. *Brain*, *138*(3), 563–576.
Saunders, E., Cohen, L., Aschendorff, A., Shapiro, W., Knight, M., Stecker, M., Richter, B., Waltzman, S., Tykocinski, M., Roland, T., Laszig, R., & Cowan, R. (2002). Threshold, comfortable level and impedance changes as a function of electrode-modiolar distance. *Ear and Hearing*, *23*(1 SUPPL.).
Schaden, H., Stuermer, C. A. O., & Bähr, M. (1994). Gap-43 immunoreactivity and axon regeneration in retinal ganglion cells of the rat. *Journal of Neurobiology*, *25*(12), 1570–1578.
Schäfer-Nolte, F., Hennecke, K., Reimers, K., Schnabel, R., Allmeling, C., Vogt, P. M., Kuhbier, J. W., & Mirastschijski, U. (2014). Biomechanics and biocompatibility of woven spider silk meshes during remodeling in a rodent fascia replacement model. *Annals of Surgery*, *259*(4), 781–792.

Scheper, V., Hessler, R., Hütten, M., Wilk, M., Jolly, C., Lenarz, T., & Paasche, G. (2017). Local inner ear application of dexamethasone in cochlear implant models is safe for auditory neurons and increases the neuroprotective effect of chronic electrical stimulation. *PLoS ONE*, *12*(8).

Scheper, V., Schmidtheisler, M., Lasch, F., Von Der Leyen, H., Koch, A., Schwieger, J., Büchner, A., Lesinski-Schiedat, A., & Lenarz, T. (2020). Randomized placebo-controlled clinical trial investigating the effect of antioxidants and a vasodilator on overall safety and residual hearing preservation in cochlear implant patients. *Trials*, *21*(1).

Scheper, V., Seidel-Effenberg, I., Lenarz, T., Stöver, T., & Paasche, G. (2020). Consecutive treatment with brain-derived neurotrophic factor and electrical stimulation has a protective effect on primary auditory neurons. *Brain Sciences*, *10*(8), 1–13.

Schmidt, M., Römer, L., Strehle, M., & Scheibel, T. (2007). Conquering isoleucine auxotrophy of Escherichia coli BLR(DE3) to recombinantly produce spider silk proteins in minimal media. *Biotechnology Letters*, *29*(11), 1741–1744.

Schmitz, S., Tacke, S., Guth, B., & Henke, J. (2017). Repeated anaesthesia with isoflurane and medetomidine-midazolam-fentanyl in guinea pigs and its influence on physiological parameters. *PLoS ONE*, *12*(3).

Seyyedi, M., & Nadol, J. B. (2014). Intracochlear inflammatory response to cochlear implant electrodes in humans. *Otology and Neurotology*, *35*(9), 1545–1551.

Sharma, A., Dorman, M. F., & Spahr, A. J. (2002). A sensitive period for the development of the central auditory system in children with cochlear implants: Implications for age of implantation. *Ear and Hearing*, *23*(6), 532–539.

Sharma, A., & Glick, H. (2016). Cross-modal re-organization in clinical populations with hearing loss. In *Brain Sciences* (Vol. 6, Issue 1).

Sheikh, Z., Brooks, P. J., Barzilay, O., Fine, N., & Glogauer, M. (2015). Macrophages, foreign body giant cells and their response to implantable biomaterials. In *Materials* (Vol. 8, Issue 9, pp. 5671–5701). MDPI AG.

Shepherd, R. K., Matsushima, J., Martin, R. L., & Clark, G. M. (1994). Cochlear pathology following chronic electrical stimulation of the auditory nerve: II deafened kittens. *Hearing Research*, *81*(1–2), 150–166.

Siegert, R., Klingmann, C., Schwager, K., Plontke, S. K., Kummer, P., Waldfahrer, F., Reiß, M., Reiß, G., Schick, B., & Iro, H. (2021). Erkrankungen des Innenohrs und des Labyrinths einschließlich Laterobasis. In M. Reiß (Ed.), *Facharztwissen HNO-Heilkunde: Differenzierte Diagnostik und Therapie* (pp. 367–419). Springer Berlin Heidelberg.

Sikka, K., Kairo, A., Singh, C. A., Roy, T. S., Lalwani, S., Kumar, R., Thakar, A., & Sharma, S. C. (2017). An Evaluation of the Surgical Trauma to Intracochlear Structures After Insertion of Cochlear Implant Electrode Arrays: A Comparison by Round Window and Antero-Inferior Cochleostomy Techniques. *Indian Journal of Otolaryngology and Head and Neck Surgery*, *69*(3), 375–379.

Simmons, F. B. (1966). Electrical Stimulation of the Auditory Nerve in Man. *Archives of Otolaryngology*, *84*(1), 2–54.

Simoni, E., Gentilin, E., Candito, M., Borile, G., Romanato, F., Chicca, M., Nordio, S., Aspidistria, M., Martini, A., Cazzador, D., & Astolfi, L. (2020). Immune Response After Cochlear Implantation. *Frontiers in Neurology*, *11*, 341.

Skarżyńska, M. B., Kołodziejak, A., Gos, E., Walkowiak, A., Lorens, A., Pastuszak, A., Plichta, Ł., & Skarżyński, P. H. (2022). The Clinical Effect of Steroids for Hearing Preservation in Cochlear Implantation: Conclusions Based on Three Cochlear Implant Systems and Two Administration Regimes. *Pharmaceuticals*, *15*(10), 1176.

Skene, J., & Willard, M. (1981). Characteristics of growth-associated polypeptides in regenerating toad retinal ganglion cell axons. *The Journal of Neuroscience*, *1*(4), 419–426.

Smith, Z. M., Delgutte, B., & Oxenham, A. J. (2002). Chimaeric sounds reveal dichotomies in auditory perception. In *Nature* (Vol. 416, Issue 6876).

Somdas, M. A., Li, P. M. M. C., Whiten, D. M., Eddington, D. K., & Nadol, J. B. (2007). Quantitative evaluation of new bone and fibrous tissue in the cochlea following cochlear implantation in the human. *Audiology and Neurotology*, *12*(5), 277–284.

Sommer, C., Bargel, H., Raßmann, N., & Scheibel, T. (2021). Microbial repellence properties of engineered spider silk coatings prevent biofilm formation of opportunistic bacterial strains. In *MRS Communications* (Vol. 11, Issue 3, pp. 356–362).

Souter, M., Eastwood, H., Marovic, P., Kel, G., Wongprasartsuk, S., Ryan, A. F., & O'Leary, S. J. (2012). Systemic Immunity Influences Hearing Preservation in Cochlear Implantation. *Otology & Neurotology*, *33*(4), 532–538.

Steel, K. P., & Barkway, C. (1989). Another role for melanocytes: their importance for normal stria vascularis development in the mammalian inner ear. *Development*, *107*(3), 453–463.

Stotler, W. A. (1953). An experimental study of the cells and connections of the superior olivary complex of the cat. *Journal of Comparative Neurology*, *98*(3), 401–431.

Su, W. T., Pisoni, D. B., & Miyamoto, R. T. (2004). Cochlear implantation in adults with prelingual deafness. Part I. Clinical results. *Laryngoscope*, *114*(9 I), 1536–1540.

Suhling, M.-C., Majdani, O., Salcher, R., Leifholz, M., Büchner, A., Lesinski-Schiedat, A., & Lenarz, T. (2016). The Impact of Electrode Array Length on Hearing Preservation in Cochlear Implantation. *Otology & Neurotology*, *37*(8), 1006–1015.

Szyfter, W., Karlik, M., Sekula, A., Harris, S., & Gawęcki, W. (2019). Current indications for cochlear implantation in adults and children. *Otolaryngologia Polska*, *73*(3), 1–5.

Tajudeen, B. A., Waltzman, S. B., Jethanamest, D., & Svirsky, M. A. (2010). Speech perception in congenitally deaf children receiving cochlear implants in the first year of life. *Otology and Neurotology*, *31*(8), 1254–1260.

Tanaka, C., Nguyen-Huynh, A., Loera, K., Stark, G., & Reiss, L. (2014). Factors associated with hearing loss in a normal-hearing guinea pig model of hybrid cochlear implants. *Hearing Research*, *316*, 82–93.

Teoh, S. W., Pisoni, D. B., & Miyamoto, R. T. (2004). Cochlear implantation in adults with prelingual deafness. Part II. Underlying constraints that affect audiological outcomes. *Laryngoscope*, *114*(10), 1714–1719.

Thavarajah, R., Mudimbaimannar, V. K., Elizabeth, J., Rao, U. K., & Ranganathan, K. (2012). Chemical and physical basics of routine formaldehyde fixation. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, *16*(3), 400–405.

The Suture. (2000). In *ETHICON Wound Closure Manual* (pp. 33–33).

Tong, Y. C., Black, R. C., Clark, G. M., Forster, I. C., Millar, J. B., O'Loughlin, B. J., & Patrick, J. F. (1979). A preliminary report on a multiple-channel cochlear implant operation. *The Journal of Laryngology & Otology*, *93*(7), 679–695.

Trakimas, D. R., Kozin, E. D., Ghanad, I., Barber, S. R., Curtin, H., & Remenschneider, A. K. (2018). Precurved Cochlear Implants and Tip Foldover: A Cadaveric Imaging Study. *Otolaryngology–Head and Neck Surgery*, *158*(2), 343–349.

Trakimas, D. R., Kozin, E. D., Ghanad, I., Nadol, J. B., & Remenschneider, A. K. (2018). Human Otopathologic Findings in Cases of Folded Cochlear Implant Electrodes. *Otology & Neurotology*, *39*(8), 970–978.

Trossmann, V. T., & Scheibel, T. (2023). Design of Recombinant Spider Silk Proteins for Cell Type Specific Binding. *Advanced Healthcare Materials*, *12*(9).

Tykocinski, M., Cohen, L. T., & Cowan, R. S. (2005). Measurement and analysis of access resistance and polarization impedance in cochlear implant recipients. *Otology and Neurotology*, *26*(5), 948–956.

Tykocinski, M., & Cowan, R. S. (2005). Poly-vinyl-alcohol (PVA) coating of cochlear implant electrode arrays: an *in-vivo* biosafety study. *Cochlear Implants International*, *6*(1), 16–30.

Tykocinski, M., Duan, Y., Tabor, B., & Cowan, R. S. (2001). Chronic electrical stimulation of the auditory nerve using high surface area (HiQ) platinum electrodes. *Hearing Research*, *159*(1–2), 53–68.

Tyler, R. S., Abbas, P., Tye-Murray, N., Gantz, B. J., Knutson, J. F., Mccabe, B. F., Lansing, C., Brown, C., Woodworth, G., Hinrichs, J., & Kuk, F. (1988). Evaluation of five different cochlear implant designs: Audiologic assessment and predictors of performance. *The Laryngoscope*, *98*(10), 1100–1106.

Van Abel, K. M., Dunn, C. C., Sladen, D. P., Oleson, J. J., Beatty, C. W., Neff, B. A., Hansen, M., Gantz, B. J., & Driscoll, C. L. W. (2015). Hearing preservation among patients undergoing cochlear implantation. *Otology and Neurotology*, *36*(3), 416–421.

Van de Heyning, P. H., Dazert, S., Gavilan, J., Lassaletta, L., Lorens, A., Rajan, G. P., Skarzynski, H., Skarzynski, P. H., Tavora-Vieira, D., Topsakal, V., Usami, S., Van Rompaey, V., Weiss, N. M., & Polak, M. (2022). Systematic Literature Review of Hearing Preservation Rates in Cochlear Implantation Associated With Medium- and Longer-Length Flexible Lateral Wall Electrode Arrays. *Frontiers in Surgery*, *9*.

Vaudano, E., Campbell, G., Anderson, P., Davies, A., Woolhead, C., Schreyer, D., & Lieberman, A. (1995). The effects of a lesion or a peripheral nerve graft on GAP-43 upregulation in the adult rat brain: an in situ hybridization and immunocytochemical study. *The Journal of Neuroscience*, *15*(5), 3594–3611.

Veiseh, O., & Vegas, A. J. (2019). Domesticating the foreign body response: Recent advances and applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *144*, 148–161.

Vendrely, C., & Scheibel, T. (2007). Biotechnological Production of Spider-Silk Proteins Enables New Applications. *Macromolecular Bioscience*, *7*(4), 401–409.

Vollrath, F., & Porter, D. (2006). Spider silk as archetypal protein elastomer. In *Soft Matter* (Vol. 2, Issue 5, pp. 377–385). Royal Society of Chemistry.

Von Bekesy, G. (1956). Current status of theories of hearing. *Science*, *123*(3201), 779–783. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13324083

Von Ilberg, C., Kiefer, J., Tillein, J., Pfenningdorff, T., Hartmann, R., Stürzebecher, E., & Klinke, R. (1999). Electric-acoustic stimulation of the auditory system. New technology for severe hearing loss. *ORL*, *61*(6), 334–340.

Wesarg, T., Arndt, S., Aschendorff, A., Laszig, R., & Zirn, S. (2014). Intraoperative audiologisch-technische Diagnostik bei der Cochleaimplantatversorgung. *HNO*, *62*(10), 725–734.

Wight, T. N., & Potter-Perigo, S. (2011). The extracellular matrix: an active or passive player in fibrosis? *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, *301*(6), G950–G955.

Wilk, M., Hessler, R., Mugridge, K., Jolly, C., Fehr, M., Lenarz, T., & Scheper, V. (2016). Impedance Changes and Fibrous Tissue Growth after Cochlear Implantation Are Correlated and Can Be Reduced Using a Dexamethasone Eluting Electrode. *PLoS ONE*, *11*(2).

Wilson, B. S., Finley, C. C., Lawson, D. T., Wolford, R. D., Eddington, D. K., & Rabinowitz, W. M. (1991). Better speech recognition with cochlear implants. *Nature*, *352*(6332), 236–238.

World Health Organization. (2021). *World report on hearing*.

Wright, C. G., & Roland, P. S. (2013). Vascular Trauma During Cochlear Implantation. *Otology & Neurotology*, *34*(3), 402–407.

Wrzeszcz, A., Steffens, M., Balster, S., Warnecke, A., Dittrich, B., Lenarz, T., & Reuter, G. (2015). Hydrogel coated and dexamethasone releasing cochlear implants: Quantification of fibrosis in guinea pigs and evaluation of insertion forces in a human cochlea model. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, *103*(1), 169–178.

Wu, S. S., Sbeih, F., Anne, S., Cohen, M. S., Schwartz, S., Liu, Y. C., & Appachi, S. (2023). Auditory Outcomes in Children Who Undergo Cochlear Implantation Before 12 Months of Age: A Systematic Review. *Otolaryngology–Head and Neck Surgery*, *169*(2), 210–220.

Wu, W., Jia, H., Li, Y., Tang, Z., Huang, Q., Yang, J., Mei, L., Haung, Z., & Wu, H. (2013). Observation on the change of electrode impedance and THR/MCL values in 20 cases with Med-EL Combi 40+ cochlear implant. *Lin Chuang Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi = Journal of Clinical Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery*, *27*(22), 1238–1242.

Würfel, W., Lanfermann, H., Lenarz, T., & Majdani, O. (2014). Cochlear length determination using Cone Beam Computed Tomography in a clinical setting. *Hearing Research*, *316*, 65–72.

Wynn, T. A., & Vannella, K. M. (2016). Macrophages in Tissue Repair, Regeneration, and Fibrosis. In *Immunity* (Vol. 44, Issue 3, pp. 450–462). Cell Press.

Xu, J., Dong, Q., Yu, Y., Niu, B., Ji, D., Li, M., Huang, Y., Chen, X., & Tan, A. (2018). Mass spider silk production through targeted gene replacement in Bombyx mori. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *115*(35), 8757–8762.

Xu, M., Ma, D., Chen, D., Cai, J., He, Q., Shu, F., Tang, J., & Zhang, H. (2018). Preparation, characterization and application research of a sustained dexamethasone releasing electrode coating for cochlear implantation. *Materials Science and Engineering: C*, *90*, 16–26.

Yang, L., Wu, H., Liu, Y., Xia, Q., Yang, Y., Chen, N., Yang, M., Luo, R., Liu, G., & Wang, Y. (2022). A robust mussel-inspired zwitterionic coating on biodegradable poly(L-lactide) stent with enhanced anticoagulant, anti-inflammatory, and anti-hyperplasia properties. *Chemical Engineering Journal*, *427*, 130910.

Youm, I., & Li, W. (2018). Cochlear hair cell regeneration: an emerging opportunity to cure noise-induced sensorineural hearing loss. In *Drug Discovery Today* (Vol. 23, Issue 8, pp. 1564–1569). Elsevier Ltd.

Yu, R., Zhu, R., Jiang, J., Liang, R., Liu, X., & Liu, G. (2021). Mussel-inspired surface functionalization of polyamide microfiltration membrane with zwitterionic silver nanoparticles for efficient anti-biofouling water disinfection. *Journal of Colloid and Interface Science*, *598*, 302–313.

Zare, M., Ghomi, E. R., Venkatraman, P. D., & Ramakrishna, S. (2021). Silicone-based biomaterials for biomedical applications: Antimicrobial strategies and 3D printing technologies. *Journal of Applied Polymer Science*, *138*(38).

Zeng, F.-G., Rebscher, S., Harrison, W., Sun, X., & Feng, H. (2008). Cochlear Implants: System Design, Integration, and Evaluation. *IEEE Reviews in Biomedical Engineering*, *1*, 115–142.

Zeplin, P. H., Maksimovikj, N. C., Jordan, M. C., Nickel, J., Lang, G., Leimer, A. H., Römer, L., & Scheibel, T. (2014). Spider Silk Coatings as a Bioshield to Reduce Periprosthetic Fibrous Capsule Formation. *Advanced Functional Materials*, *24*(18), 2658–2666.

Zhang, L., Chen, S., & Sun, Y. (2022). Mechanism and Prevention of Spiral Ganglion Neuron Degeneration in the Cochlea. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *15*.

Zhou, L.-Y., Zhu, Y.-H., Wang, X.-Y., Shen, C., Wei, X.-W., Xu, T., & He, Z.-Y. (2020). Novel zwitterionic vectors: Multi-functional delivery systems for therapeutic genes and drugs. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, *18*, 1980–1999.

Zierhofer, C. M., Hochmair, I. J., & Hochmair, E. S. (1997). The advanced combi 40+ cochlear implant. *American Journal of Otology*, *18*(6 SUPPL.). https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9391589/

8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Anatomie des Außen-, Mittel- und Innenohrs.....3
Abbildung 2: Detaillierte Beschreibung der Anatomie der Cochlea.....4
Abbildung 3: Auditorische Hörbahn (Außen-, Mittel-, Innenohr, auditorischer Hirnstamm und Mittelhirn).....6
Abbildung 4: Grafische Darstellung des Aufbaus eines MED-EL SYNCHRONY EAS Systems mit SYNCHRONY 2 PIN Implantat und SONNET 2 EAS Audio Prozessor.....12
Abbildung 5: Grafische Darstellungen eines implantierten MED-EL CIs......13
Abbildung 6: Spinnen-Seidenarten und ihre Funktion.....24
Abbildung 7: Cochlea-Implantat.....30
Abbildung 8: Versuchsplan über einen Zeitraum von 13 Wochen.....31
Abbildung 9: Schematische Darstellung der ABR-Messung.....32
Abbildung 10: Impedanzmessung.....34
Abbildung 11: Elektrodenkonditionierung.....34
Abbildung 12: Darstellung der gebundenen Fluoreszenz Antikörper.....42
Abbildung 13: Einteilung der Scala Tympani in die einzelnen Quadranten......44
Abbildung 14: T7-Tag bindet an die Spinnenseideproteine.....45
Abbildung 15: Histologie des Cochlea-Entkalkungsprozess.....49
Abbildung 16: HE-Färbung Gruppe –Bs......50
Abbildung 17: HE–Färbung Gruppe +Bs......51
Abbildung 18: Darstellung der Grade der histologischen Auswertung.....52
Abbildung 19: Blutgefäßneubildung.....54
Abbildung 20: Prozentualer Anteil an GAP-43-negativen und GAP-43-positiven SGN.56
Abbildung 21: Dicke der fibrösen Bindegewebekapsel (FB) um den Elektrodenkanal..58
Abbildung 22: Klick-evozierte ABR-Messung.....60
Abbildung 23: Tiefe Frequenzen.....61
Abbildung 24: Mittlere Frequenzen.....62
Abbildung 25: Hohe Frequenzen.....63
Abbildung 26: Impedanzverschiebungen am apikalen Kontakt.....69
Abbildung 27: Impedanzverschiebung am basalen Kontakt.....70
Abbildung 28: **Impedanz-Messergebnisse am apikalen Kontakt der Gruppe +Bs und –Bs vor und nach der 15-minütigen Konditionierung (Mittelwerte und Standardabweichung)**.....72
Abbildung 29: Gruppenvergleich der Impedanzwerte am apikalen Kontakt vor und nach einer 15-minütigen Konditionierung......74
Abbildung 30: Impedanzwerte am basalen Kontakt der Gruppe +Bs und –Bs vor und nach der 15-minütigen Konditionierung (Mittelwerte und Standardabweichung)......76
Abbildung 31: Gruppenvergleich der Impedanzwerte am basalen Kontakt vor und nach der 15-minütigen Konditionierung (Mittelwerte und Standardabweichung).....78

9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Bezugsschalldruckpegel 33
Tabelle 2: Hämatoxylin-Eosin-Färbeprotokoll 40
Tabelle 3: Immunhistologisches Protokoll der Fluoreszenz 41
Tabelle 4: Liste der verwendeten Primär- und Sekundärantikörper 41
Tabelle 5: Auswertungsschema der Entzündungsreaktion in der Scala tympani 43
Tabelle 6: Mittelwerte und Standardabweichung der untersuchten histologischen Parameter sowie die p-Werte. 53
Tabelle 7: Ergebnisse der immunhistologischen Auswertung von GAP-43 57
Tabelle 8: Dicke der fibrösen Bindegewebekapsel 58
Tabelle 9: P-Werte der statistischen Auswertung der ABR-Hörmessung 64
Tabelle 10: Impedanzwerte 65
Tabelle 11: Gruppenunabhängiger Impedanzvergleich zwischen apikalen und basalen Kontakten 67
Tabelle 12: Gruppenvergleich Messergebnisse der Impedanzverschiebung von Tag 0 bis Woche 12 71
Tabelle 13: Mediane und p-Werte am apikalen Kontakt vor und nach der 15-minütigen Konditionierung 73
Tabelle 14: Mediane und p-Werte am basalen Kontakt bei der ersten Messung und nach 15-minütiger Konditionierung 77

10 Abkürzungsverzeichnis

+Bs ---------- *Implantat mit Spinnenseidenbeschichtung*
A1 ---------- *primäre Auditorische Cortex*
ABR ---------- *Auditory Brainstem Response*
BDNF ---------- *Brain derived neurotrophic factor*
-Bs ---------- *unbeschichtetes Implantat*
Ca^+ ---------- *Kalzium*
CI ---------- *Cochlea-Implantat*
CIs ---------- *Cochlea-Implantate*
CIS ---------- *Continuous Interleaved Sampling*
Click ---------- *Breitbandrauschen*
CN ---------- *Nucleus Cochlearis*
dB ---------- *Dezibel*
DCN ---------- *dorsaler Nucleus Cochlearis*
DNLL ---------- *Dorsale Nucleus Lemniscus Lateralis*
EAS ---------- *Elektrisch-Akustische-Stimulation*
EPSP ---------- *Exzitatorisches Postsynaptisches Potenzial*
FSP ---------- *Fine Structure Processing*
g ---------- *Gramm*
HdO ---------- *Hinter dem Ohr*
HE ---------- *Hämatoxylin-Eosin*
Hz ---------- *Hertz*
IC ---------- *Collicuclus Inferior*
ILD ---------- *Interaurale Lautstärkendifferenzen*
ITD ---------- *Interaurale Laufzeitdifferenz*
K^+ ---------- *Kalium*
kg ---------- *Kilogramm*
kHz ---------- *Kilohertz*
LSO ---------- *laterale obere Olive*
MA ---------- *Major Ampullate*
mg ---------- *Milligramm*
ml ---------- *Milliliter*
mm ---------- *Millimeter*
MMF ---------- *Medetomidin, Midazolam, Fentanyl*
mmol ---------- *millimol*
ms ---------- *Millisekunden*
MSO ---------- *mediale obere Olive*
mV ---------- *millivolt*
MW ---------- *Mittelwert*
Na^+ ---------- *Natrium*
PTFEP ---------- *Poly[bis(trifluoroethoxy)phosphazen*
Ra ---------- *Zugangswiderstand*
SGN ---------- *Spiralganglienzellen*
SPL ---------- *Sound pressure Level*
VCN ---------- *ventraler Anteil des Nucleus Cochlearis*
Zp ---------- *Polaritätimpedanz*
µA ---------- *Mikroampere*
µg ---------- *Mikrogramm*
µl ---------- *Mikroliter*
µm ---------- *Mikrometer*
µs ---------- *Mikrosekunde*

11 Danksagung

Zuallererst möchte ich meinen aufrichtigen Dank an Univ.-Prof. Dr. med. vet. Heidrun Potschka von der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München aussprechen. Ihre Bereitschaft, die Betreuung dieser Doktorarbeit zu übernehmen, sowie ihre wertvolle Unterstützung in der Endphase des Schreibens waren von großem Wert.

Mein herzlicher Dank gilt zudem PD Dr. med. Thomas Stark für die Übernahme der Betreuung an der Hals-Nasen-Ohrenklinik und Poliklinik am Klinikum Rechts der Isar der TU München. Herr PD Dr. med. Thomas Stark stand mir jederzeit mit wertvollen Ratschlägen und hilfreichen Anregungen zur Seite.

Dr. med. vet. Johannes Fischer begleitete mich mit großem Engagement bei der praktischen Durchführung der Arbeit und stand mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite. Ebenso unterstützte mich Frau Dr. biol. Susanne Braun maßgeblich bei der Versuchsplanung und beim Schreibprozess. Für ihre wertvolle Hilfe und ihr großes Engagement gebührt beiden mein besonderer Dank.

Ein großer Dank gilt der Firma MED-EL für die finanzielle Förderung dieses Projekts sowie die Bereitstellung der CI-Elektroden.

An der Hals-Nasen-Ohrenklinik und Poliklinik am Klinikum rechts der Isar der TU München erhielt ich tatkräftige Unterstützung von Herrn Dipl.-Ing. Hans-Joachim Steinhoff, der mir bei allen physikalischen Fragen und beim Aufbau des Setups zur Seite stand. Im Labor konnte ich mich jederzeit auf die wertvolle Hilfe von Herrn Peter Strcelczyk verlassen.

Ein besonderer Dank gilt den Tierpflegern des Instituts für Präklinische Forschung am Klinikum Rechts der Isar. Sie kümmerten sich mit großer Fürsorge um die Meerschweinchen und sorgten dafür, dass die Tiere während der Versuchsphase bestmöglich untergebracht und betreut wurden.

Zu guter Letzt möchte ich mich bei Philipp und meinen Eltern bedanken. Ohne ihre unermüdliche Unterstützung wäre diese Doktorarbeit nicht zustande gekommen und vollendet worden.