



Schlussbericht

Transfervorhaben 1

„Stenttechnologien für innovative minimalinvasive Therapieverfahren“

Teilvorhaben der Universitätsmedizin Rostock
„Entwicklung und Transfer von Stenttechnologien für vielfältige Applikationsbereiche“

FKZ 03ZZ0931A

Förderzeitraum 1.1.2020 – 31.12.2022

im Unternehmen Region-Programm
„Zwanzig20 – Partnerschaft für Innovation“
des Bundesministeriums für Bildung und Forschung

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.

Verbundpartner:

| Antragsteller/Einrichtungen | | Ansprechpartner | Hauptarbeitspunkt |
|--|------------|--|-------------------|
| bess pro GmbH | bess | M. A. Eisenhut, T. Stein | AP 3 |
| CORTRONIK GmbH Rostock | COR | Dr. C. Momma | AP 1 |
| Institut für ImplantatTechnologie und Biomaterialien e.V. | IIB | Dr. S. Siewert, Prof. Dr. K.-P. Schmitz | AP 1, 2, 4, 6 |
| Medizinische Hochschule Hannover, Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde | HNO MHH | Prof. Dr. T. Lenarz, PD Dr. G. Paasche | AP 3 |
| Universitätsmedizin Greifswald | | | |
| Zentrum für Innere Medizin, Klinik und Poliklinik für Innere Medizin A | Gastro UMG | Prof. Dr. M. M. Lerch, Dr. F. Frost | AP 5 |
| Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe | Gyn UMG | Prof. Dr. M. Zygmunt | AP 4 |
| Universitätsmedizin Rostock | | | |
| Institut für Anatomie | ANAT UR | Prof. Dr. A. Wree, Dr. J. Keiler | AP 6 |
| Institut für Biomedizinische Technik | IBMT | Dr. K. Lebahn, Prof. Dr. N. Grabow | AP 1, 3, 5, 6 |
| Zentrum für Innere Medizin; Abt. Kardiologie | Kardio UR | Prof. Dr. A. Öner, Prof. Dr. H. Ince | AP 1 |
| Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde | UAK | Prof. Dr. R. Guthoff, Prof. Dr. O. Stachs | AP 2 |

Inhalt

| | |
|---|----|
| 1. Aufgabenstellung | 1 |
| 2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde..... | 2 |
| 3. Planung und Ablauf des Vorhabens..... | 2 |
| 4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde | 6 |
| 5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen | 11 |
| 6. Verwendung der Zuwendung und erzieltes Ergebnis | 12 |
| 7. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises..... | 13 |
| 8. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit..... | 13 |
| 9. Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans..... | 14 |
| 10. Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen..... | 15 |
| 11. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse | 15 |
| 12. Anhang zu Punkt 6 – Ausführliche Darstellung der wissenschaftlich-technischen Ergebnisse und anderer wesentlicher Ereignisse..... | 22 |

1. Aufgabenstellung

Das übergeordnete Ziel der geplanten Arbeiten im Transfervorhaben 1 galt – angesichts der medizinischen, gesellschaftlichen und gesundheitspolitischen Herausforderungen des demografischen Wandels – dem Erhalt unabhängiger Lebensführung, Selbstbestimmung und der Lebensqualität der Patienten. Das vorliegende Transfervorhaben beinhaltet innovative Stenttechnologien für die Applikationsbereiche

- Kardiologie
- Ophthalmologie
- Hals-Nasen-Ohrenheilkunde
- Gynäkologie
- Gastroenterologie.

Dabei lässt sich der Transfer der Implantatentwicklungen hinsichtlich zweier grundsätzlicher Intentionen unterscheiden: zum einen die Produktisierung und Zulassungsinitiative für einen Transfer der entwickelten Implantate in Richtung der klinischen Anwendung, insbesondere bei den abbaubaren bzw. gecoverten Stentsystemen im Anwendungsfeld der Kardiologie, den Glaukomstents in der Ophthalmologie sowie den Tubenstents im Applikationsfeld der Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, zum anderen die Sicherung der wissenschaftlichen Anschlussfähigkeit innovativer Implantatentwicklungen, welche zukünftig mit neuen Industriepartnern in Produkte überführt werden können, insbesondere neue Stentkonzepte für die Applikationsfelder Gynäkologie und Gastroenterologie.

Im Rahmen des vorliegenden Transfervorhabens war dabei im **Applikationsbereich Kardiologie** die Entwicklung einer multifunktionalen Polymer-/Wirkstoffbeschichtung zur Steuerung der Stützdauer und Degradationsprozesse von Magnesium-Scaffolds sowie die Prototypisierung von permanenten oder (teil-)degradierbaren gecoverten Stents zur Behandlung von akuten Gefäßrupturen geplant. Als Grundlage für die Produktisierung eines minimalinvasiv implantierbaren Drug-Eluting Glaukomstents im **Applikationsbereich Ophthalmologie** waren die Entwicklung eines Fixierungsmechanismus zur Dislokationsprophylaxe sowie die Optimierung der Applikatortechnologie vorgesehen. Die Etablierung und Durchführung zulassungsrelevanter *in vitro* Prüfverfahren und okularer Implantationstests *ex vivo* stellen weitere wesentliche Schritte in Richtung Produktzulassung dar. Ein Ziel der Arbeiten im **Applikationsbereich Hals-Nasen-Ohrenheilkunde** war die Erzeugung wirkstofffreisetzender Beschichtungen auf den entwickelten abbaubaren und permanenten Stentsystemen, welche der Verbesserung der Wirksamkeit und Verträglichkeit des Implantats dienen. Weiterhin bildeten auch in diesem Applikationsfeld zulassungsrelevante Prüfungen die Grundlage für die klinische Einführung des Stentsystems. Zur Sicherung der Anschlussfähigkeit über die Projektlaufzeit hinaus sollte im **Applikationsbereich Gynäkologie** eine Prototypisierung von

bioresorbierbaren und permanenten Eileiter-Mikrostents zur Behandlung proximaler Tubenverschlüsse erfolgen. Hierfür war zusätzlich die Entwicklung eines katheterbasierten Implantationssystems geplant. Für den **Applikationsbereich Gastroenterologie** war eine vergleichende Untersuchung der mechanischen und morphologischen Eigenschaften von in der klinischen Anwendung befindlichen Stents geplant. Die Aufklärung der Mechanismen, die den Erfolgsraten sowie Früh- und Spätkomplikationsraten der Stents zu Grunde liegen, sind Grundlage für neue Stent- und Beschichtungskonzepte zur Verbesserung der technischen und klinischen Erfolgsrate. Zusätzlich sollten in einem sogenannten **Querschnittsbereich** anwendungsübergreifende Methoden zur Produktisierung und Prüfung der verschiedenen Implantatkonzepte erarbeitet und bereitgestellt werden.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

RESPONSE verfolgt mit der Optimierung und Neuentwicklung von innovativen Implantaten das allgemeine Ziel, die von der immer älter werdenden Bevölkerung geforderte unabhängige Lebensführung mit einer hohen Lebensqualität zu sichern. Durch das Bestreben des Konsortiums, neue regenerative Therapiekonzepte für das Herz-Kreislauf-System, Auge und Ohr sowie für die Applikationsfelder Gynäkologie und Gastroenterologie zu entwickeln, werden auch die Bedürfnisse der jüngeren Patienten berücksichtigt, was von großer gesellschaftlicher und gesundheitsökonomischer Bedeutung ist.

Der Transfer entsprechender innovativer Implantat-Konzepte, die nah an einer klinischen Anwendung stehen, war das übergeordnete Ziel des Vorhabens. Als Grundlage hierfür wurde ein Projektkonsortium bestehend aus Forschungseinrichtungen mit entsprechend relevanten Vorarbeiten und Industriepartnern mit hohem Interesse an der Zulassung und Vermarktung von Implantat-Systemen aus den Applikationsbereichen Kardiologie, Ophthalmologie, Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, Gynäkologie und Gastroenterologie zusammengestellt. Das Konsortium kann auf umfangreiche Vorarbeiten in den adressierten Themenfeldern aufbauen, u.a. in den RESPONSE-Basisvorhaben und den Forschungsvorhaben 1, 5, 6, 8, 11 und 12.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Die geplanten Arbeitspakete innerhalb des Teilvorhabens der Universitätsmedizin Rostock konnten erfolgreich bearbeitet werden. Der zeitliche Ablauf der Arbeitspakete ist im Folgenden dargestellt, Tab. 1.

Tab. 1: Arbeitsplanung für das Teilvorhaben der Universitätsmedizin Rostock im Transfervorhaben 1

| | 2020 | | | | | | | | | | | | 2021 | | | | | | | | | | | | 2022 | | | | | | | | | | | | | | |
|---------|--|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|--|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|--|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|--|--|--|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | | | |
| | AP 1 Applikationsbereich Kardiologie | | | | | | | | | | | | AP 2 Applikationsbereich Ophthalmologie | | | | | | | | | | | | AP 3 Applikationsbereich Hals-Nasen-Ohrentheilkunde | | | | | | | | | | | | | | |
| AP 1.4 | Multifunktionale Dünffilmbeschichtungen auf neuen Magnesium-Legierungen (IBMT) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AP 1.5 | Entwicklung biodegradierbarer Ball-Out Devices (Covered Scaffolds) (IBMT) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AP 1.8 | Klinische Bewertung von Implantationsstrategien zur Anwendung bei Bifurkationen (Kardio UR) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AP 1.9 | Etablierung eines <i>ex vivo</i> Bifurkationsmodells zur Simulated-Use-Anwendung und Performance-Analyse gängiger Stentsysteme (Kardio UR) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AP 1.10 | Etablierung klinischer Modelle zur Untersuchung von Perforationen <i>ex vivo</i> und <i>in vivo</i> (Kardio UR) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AP 2 | AP 2 Applikationsbereich Ophthalmologie | | | | | | | | | | | | AP 2.1 Untersuchung der Kammerwasserdynamik nach Stentimplantation mittels Contrast-Enhanced MRI <i>in vitro</i> (UAK) | | | | | | | | | | | | AP 2.2 Untersuchung der Kammerwasserdynamik nach Stentimplantation mittels Contrast-Enhanced MRI <i>in vivo</i> (UAK) | | | | | | | | | | | | | | |
| AP 2.1 | Untersuchung der Kammerwasserdynamik nach Stentimplantation mittels Contrast-Enhanced MRI <i>in vitro</i> (UAK) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AP 2.2 | Untersuchung der Kammerwasserdynamik nach Stentimplantation mittels Contrast-Enhanced MRI <i>in vivo</i> (UAK) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AP 3 | AP 3 Applikationsbereich Hals-Nasen-Ohrentheilkunde | | | | | | | | | | | | AP 3.8 Etablierung und Testung von Drug-Eluting Beschichtungen und Stents (IBMT) | | | | | | | | | | | | AP 3.9 Zulassungsrelevante Fragestellungen für einen Tubenstent zur Therapie der chronischen Tubenventilationsstörung (IBMT) | | | | | | | | | | | | | | |
| AP 3.8 | Etablierung und Testung von Drug-Eluting Beschichtungen und Stents (IBMT) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AP 3.9 | Zulassungsrelevante Fragestellungen für einen Tubenstent zur Therapie der chronischen Tubenventilationsstörung (IBMT) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Meilensteine im Berichtszeitraum

Alle Beiträge der UMR zu den geplanten Meilensteinen konnten nach Anpassung an pandemiebedingte Verzögerungen planmäßig erreicht werden, Tab. 2.

Tab. 2: Meilensteinplanung für das Teilvorhaben der Universitätsmedizin Rostock im Transfervorhaben 1

| MS Nr. | Meilensteine | betreffende Arbeitspakete |
|---------------|---|----------------------------------|
| Zeitpunkt | techn. Zielparameter | |
| MS 1 | Prototypisierung von Eileiter-Mikrostents | AP 4 |
| Monat 21 | <p>Ziel: Vorstellung von Stentsystemen für die <i>Tuba uterina</i> mit neuen Materialien und Bereitstellung für das Projektkonsortium für <i>in vitro</i> Prüfungen.</p> <p>Entscheidungspunkt: Durchführung einer Bewertung der entwickelten Stentsysteme hinsichtlich ihrer mechanischen und biologischen Eigenschaften und Entscheidung bzgl. erforderlicher Nachjustierung der Entwicklungskonzepte</p> <p>Beitrag des Teilvorhabens UMR: Morphologisch-topographische und feinstrukturelle Grundlage für die Optimierung wirkstoffbeschichteter Eileiter-Mikrostents</p> | |
| MS 2 | Evaluierung am Markt erhältlicher Stents zur Anwendung im Gastrointestinaltrakt | AP 5 |
| Monat 12 | <p>Ziel: Analyse und Bewertung verfügbarer Stentsysteme zur Verbesserung der Eigenschaften und klinischen Ergebnisse neuer Implantatentwicklungen</p> <p>Entscheidungspunkt: Bewertung kommerziell verfügbarer Stentsysteme, Entscheidung bzgl. qualitätsbestimmender Parameter für optimierte Stentkonzepte</p> <p>Beitrag des Teilvorhabens UMR: Ermittlung und Bewertung am Markt befindlicher Stentsysteme hinsichtlich ihrer morphologischen und mechanischen Eigenschaften sowie Bereitstellung morphologisch-topographischer und feinstruktureller Grundlagen für die Optimierung beschichteter Pankreas-Drainage-Stents</p> | |
| MS 3 | Bereitstellung zulassungsrelevanter Prüfsysteme für Glaukomstents mit Verankerungssystem | AP 2 |
| Monat 27 | <p>Ziel: Bereitstellung von Prüfverfahren für die <i>in vitro</i> und <i>in vivo</i> Testung von Glaukomstents für eine unabhängige und damit objektive Beurteilung der entwickelten Prototypen</p> <p>Entscheidungspunkt: Bewertung entwickelter Prüfverfahren hinsichtlich ihrer Eignung zur Analyse der Sicherheit und Wirksamkeit von Glaukomstents</p> <p>Beitrag des Teilvorhabens UMR: Evaluierung der Dislokationsprophylaxe und der Drainagefunktionalität <i>in vivo</i> zur Entwicklung eines qualitativ hochwertigen GDI-Implantats sowie Bereitstellung morphologisch-topographischer und feinstruktureller Grundlagen für die Optimierung wirkstoffbeschichteter Mikrostents</p> | |
| MS 4 | Bereitstellung verbesserter Stentgrafts für die klinische Erprobung | AP 1 |
| Monat 30 | <p>Ziel: Optimierte Stentgrafts für eine klinische Erprobung sowie entsprechende klinische Modelle liegen vor</p> <p>Entscheidungspunkt: Entwicklung verbesserter Stentgrafts sowie Etablierung von <i>in vitro</i> und <i>in vivo</i> Prüfmethoden; Entscheidung bzgl. des Einsatzes der Entwicklungskonzepte für Stentgrafts für die klinische Erprobung</p> <p>Beitrag des Teilvorhabens UMR: Entwicklung und Bereitstellung elektrogesponnener Mantelstrukturen für verbesserte Covered Scaffolds; Etablierung klinischer Modelle zur Untersuchung von Stentgrafts in Perforationen sowie Entwicklung eines Standard Bifurkationsmodells für Simulated Use-Versuche <i>ex vivo</i>.</p> | |

| MS 5 | Festlegung finaler Stent- und Applikationssysteme für die Tuba Eustachii | AP 3 |
|----------|--|------|
| Monat 33 | <p>Ziel: Festlegung finaler Designs als Voraussetzung für Validierungsstudie</p> <p>Entscheidungspunkt: Bewertung der entwickelten Stent- und Applikationssysteme und Entscheidung bzgl. des Einsatzes in Validierungsstudie und ggf. erforderlicher Optimierungen</p> <p>Beitrag des Teilvorhabens UMR: Etablierung von Wirkstofffreisetzungssystemen und Beschichtung der entwickelten permanenten und abbaubaren Stentsysteme sowie <i>in vitro</i> Testung hinsichtlich der Zytotoxizität in Anlehnung an die DIN EN ISO 10993 „Biologische Beurteilung von Medizinprodukten“ unter GLP-Bedingungen</p> | |

4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Stenttechnologien für den Applikationsbereich Kardiologie

Die Arterienperforation stellt mit einer Häufigkeit von 0,43 – 2,9 % eine eher seltene, jedoch potenziell tödliche Komplikation bei der Therapie von arteriellen Stenosen durch perkutane transluminale Koronarintervention dar [1]. Durch die Verwendung von Stentgrafts zur Behandlung von koronarerteriellen Perforationen konnte die Mortalität und die Notwendigkeit für offenchirurgische Notfalleingriffe reduziert werden [2]. Mit dem Einsatz von permanenten Stentgrafts auf der Basis biostabiler Metall-Grundkörper und Polymer-Cover ist allerdings drei Jahre post-operativ ein Thromboserisiko von bis zu 22 % assoziiert [1, 3]. Kommerziell erhältliche Stentgrafts unterscheiden sich u.a. hinsichtlich der Werkstoffe für das Cover. Während das Cover des PK Papyrus (Biotronik, Schweiz) aus Polyurethan gefertigt wird, bestehen die Cover der Konkurrenzprodukte aus ePolytetrafluorethylen. Biodegradierbare Stentgrafts für den akuten Verschluss einer arteriellen Perforation sind derzeit nicht am Markt verfügbar. Vollständig resorbierbare Stents haben jedoch den Vorteil, dass potenzielle Spätfolgen, wie Thrombosen, In-Stent-Stenosen und chronische Entzündungen, durch den temporären Einsatz des Stentgrafts minimiert werden können, da u.a. die Rheologie und Vasomotion des Blutes nicht dauerhaft negativ beeinträchtigt wird [4, 5]. In der ersten Umsetzungsphase des Projekts RESPONSE wurden diesbezüglich bereits Ansätze entwickelt, die sich derzeit in der Phase der präklinischen Testung befinden. Die Entwicklung neuer Stentgrafts für die Anwendung bei iatrogenen Perforationen sollte auf die Problemstellungen in der klinischen Praxis angepasst sein.

In vielen Fällen treten Stenosen an koronaren Bifurkationen auf. Die Erfolgsaussicht der Behandlung solcher spezifischen Geometrien korreliert jedoch in der klinischen Praxis mit einer erhöhten Inzidenz von Komplikationen, wie beispielsweise einer lokalen Läsion. Mit 15–25 % aller durchgeführten perkutanen Koronarinterventionen stellen diese einen erheblichen Anteil dar [6]. Für die Behandlung solcher Problemstellen gibt es verschiedene Operationsstrategien. In der klinischen Praxis existiert jedoch bisher keine einheitliche Vorgehensweise bezüglich der Wahl des Stentgrafts sowie der Implantationsmethode. Aufgrund der

eingeschränkten Deliverability und Positionierbarkeit sowie der Komplexität des Eingriffes konnten sich speziell für Bifurcation entwickelte Stentgrafts bisher kaum in der klinischen Praxis etablieren [7]. Der Entwicklungsbedarf nach neuen, leicht applizierbaren Stentgrafts, deren Design auch eine uneingeschränkte Behandlung verzweigter Gefäße ermöglicht, ist daher von großer Bedeutung.

Auch bei der Entwicklung biodegradierbarer Stenttechnologien besteht ein hohes Innovationspotenzial. Es befinden sich aktuell weltweit unterschiedliche Stentkonzepte in der Entwicklung [8, 9]. Neben abbaubaren polymeren Stentsystemen wird ein abbaubares metallisches Stentkonzept, basierend auf Magnesium und Seltenern Erden, verfolgt [10]. Der Magmaris (BIOTRONIK) soll durch die werkstoffbedingt höhere mechanische Festigkeit der Magnesiumlegierung die Nachteile von Polymerstents überwinden. Zur Steuerung der Degradationszeit und somit der Stützdauer der Magnesium-Scaffolds werden Polymerbeschichtungen genutzt, bei denen allerdings durch hohe Schichtdicken und das Auftreten von Mikrorissen aufgrund unzureichender Duktilität noch ein wesentlicher Innovationsbedarf besteht.

- [1] Lemmert ME, van Bommel RJ, Diletti R, Wilschut JM, de Jaegere PP; Zijlstra F. Clinical characteristics and management of coronary artery perforations: a single-center 11-year experience and practical overview. In: Journal of the American Heart Association. 2017;6 (9). DOI: 10.1161/JAHA.117.007049.
- [2] Romaguera R, Waksman R. Covered stents for coronary perforations: is there enough evidence? In: Catheterization and cardiovascular interventions: official journal of the Society for Cardiac Angiography & Interventions. 2011;78 (2), S. 246–253. DOI: 10.1002/ccd.23017.
- [3] Lee WC, Hsueh S-K, Fang C-Y, Wu C-J, Hang C-L, Fang H-Y. Clinical outcomes following covered stent for the treatment of coronary artery perforation. In: Journal of interventional cardiology. 2016;29 (6), S. 569–575. DOI: 10.1111/joc.12347.
- [4] Feng Q, Jiang W, Sun K, Sun K, Chen S, Zhao L. Mechanical properties and in vivo performance of a novel sliding-lock bioabsorbable poly-p-dioxanone stent. In: Journal of materials science. Materials in medicine. 2011;22 (10), S. 2319–2327. DOI: 10.1007/s10856-011-4407-3.
- [5] Lee D-H, de La Torre Hernandez JM. The newest generation of drug-eluting stents and beyond. In: European Cardiology Review. 2018;13 (1), S. 54. DOI: 10.15420/ecr.2018:8:2.
- [6] Suzuki N, Angiolillo D J, Kawaguchi R, Futamatsu H, Bass TA, Costa MA. Percutaneous coronary intervention of bifurcation coronary disease. In: Minerva cardioangiologica. 2007;55 (1), S. 57–71.
- [7] Lesiak M. The need for dedicated bifurcation stents: a critical analysis. In: Interventional Cardiology Review. 2016;11 (2), S. 124. DOI: 10.15420/icr.2016:22:2.
- [8] Charpentier E, Barna A, Guillemin L, Juliard J-M. Fully bioresorbable drug-eluting coronary scaffolds: A review. ACVD-833, 2013.
- [9] Soares JS, Moore JE. Biomechanical challenges to polymeric biodegradable stents. Annals of biomedical engineering. 2016;44(2)560–579
- [10] Sotomi Y, Onuma Y, Collet C, Tenekecioglu E, Virmani R, Kleiman NS, Serruys PW. Bioresorbable scaffold: the emerging reality and future directions. Circulation research. 2017;120(8)1341–1352

Stenttechnologien für den Applikationsbereich Ophthalmologie

Das Glaukom bezeichnet Augenerkrankungen, die durch eine progressive Nervenfaser-schädigung im Bereich der Papille und damit einhergehenden funktionellen visuellen Defekten gezeichnet sind [1]. Die mit ca. 90 % häufigste Form des Glaukoms ist das primäre Offenwinkelglaukom. Bei dieser Erkrankung kommt es durch eine Abflusstörung des Kammerwassers zu einem erhöhten Intraokulardruck. Eine Therapie des Glaukoms ist zum jetzigen Zeitpunkt nur durch die konsequente lebenslange Senkung des Intraokulardruckes möglich. Erzielt auch die medikamentöse Maximaltherapie keine ausreichende Senkung des

Intraokulardruckes oder treten pharmakologisch induzierte Nebenwirkungen mit Sekundärpathologien auf, wird bei ca. 20 % der Patienten im Verlauf ihrer Krankheitsgeschichte die Anwendung chirurgischer Therapieverfahren zur Ermöglichung einer Kammerwasserdrainage erforderlich [2]. Neben konventionellen chirurgischen Therapieverfahren und Glaukom-Drainage-Implantaten, die ausgehend vom Äußeren des Auges implantiert werden, kommen hierfür zunehmend minimalinvasive implantatbasierte Verfahren zur Anwendung. Unter dem Überbegriff der minimalinvasiven Glaukomchirurgie (MIGS, engl. Minimally-Invasive Glaucoma Surgery) werden alle Implantate zusammengefasst, die *ab interno*, also ausgehend vom Inneren des Auges, ohne Eröffnung der Bindehaut, implantiert werden [3-5].

Durch die minimalinvasive Glaukomchirurgie kann das Trauma im Vergleich zur konventionellen Chirurgie reduziert werden. Eine wesentliche Limitation aktueller Implantate stellt die effektive und kontrollierte Einstellung des Intraokulardruckes dar [9]. Eine langfristig effektive Drainage mit absoluter Tropfenfreiheit wird aufgrund fibrotischer Gewebereaktionen mit Implantaten der aktuellen Generation i.d.R. nicht erreicht [6]. Kombinationsprodukte, d.h. Glaukomstents, die zur Hemmung einer überschießenden Gewebereaktion lokal antifibrotische Medikamente freisetzen, sind derzeit nicht am Markt verfügbar. Implantate für die minimalinvasive Glaukomchirurgie haben das Potenzial, die Lücke zwischen anfänglicher medikamentöser Therapie und invasiven Eingriffen, wie der Trabekelektomie, zu schließen, um möglichst langfristig und risikoarm eine hinreichende Drucksenkung zu erreichen [7].

- [1] Foster PJ, Buhmann R, Quigley HA, Johnson GJ. The definition and classification of glaucoma in prevalence surveys. Br J Ophthalmol. 2002;86(2):238-242.
- [2] Thieme H. Current status of epibulbar anti-glaucoma drainage devices in glaucoma surgery. Dtsch Arztebl Int. 2012;109(40):659-664.
- [3] Quigley HA. 21st century glaucoma care. Eye (Lond). 2019;33(2):254-260. doi: 10.1038/s41433-018-0227-8.
- [4] Pillunat LE, Erb C, Jünemann AG, Kimmich F. Micro-invasive glaucoma surgery (MIGS): a review of surgical procedures using stents. Clin Ophthalmol. 2017;11:1583-1600.
- [5] Gedde, S. J. et al. Treatment outcomes in the tube versus trabeculectomy (TVT) Study after five years of follow-up. Am. J. Ophthalmol. 153, 789–803.e2 (2012).
- [6] Lockwood A, Brocchini S, Khaw PT. New developments in the pharmacological modulation of wound healing after glaucoma filtration surgery. Current Opinion in Pharmacology. 2013;13(1):65-71.
- [7] Ansari E, An Update on implants for minimally invasive glaucoma surgery (MIGS). Ophthalmol Ther. 2017

Stenttechnologien für den Applikationsbereich Hals-Nasen-Ohrenheilkunde

Insgesamt leiden zwei Millionen Betroffene in Deutschland an chronischen Tubenbelüftungsstörungen, welche einen hohen Therapiebedarf nach sich ziehen. Die epidemiologischen Auswirkungen auf die medizinische Versorgung wurden umfassend untersucht [1, 2]. Die Standardmethode zum aktiven Überdruckausgleich ist das sogenannte Valsalva-Manöver. Das Valsalva-Manöver als therapeutisches Verfahren repetitiv durchgeführt bzw. apparative Hilfen, wie Otovent (Optima Pharmazeutische GmbH, Deutschland) oder Otobar (Otobar GmbH, Deutschland), gewährleisten häufig keine dauerhaft ausreichende Mittelohrbelüftung und -drainage. Somit wird eine Paracentese bzw. Paukendrainage durch einen kleinen operativen Eingriff zur hinreichenden Mittelohrbelüftung notwendig. Dabei greift die Therapie

gerade an einer der empfindlichsten Stellen des Mittelohres an: dem Trommelfell. Dieser wesentliche Teil der Schallleitungskette ist bei chronisch erkranktem Mittelohr meist atroph und narbig. Paukendrainagen stellen heute die beste verfügbare Therapie als klinischer Standard [3, 4]. Eine separate Belüftung über ein Silikonröhrchen, das Paukenhöhle und äußeren Gehörgang verbindet, hat bei schwierigerer Anlage als das klassische Paukenröhren keinerlei Vorteile zeigen können [5]. Zudem ist bei der Paukendrainage die protektive Funktion der Tube ausgehebelt.

Als eine am Lumen angreifende Therapiemodalität gibt es Berichte über Therapieerfolge bei ausgewählten Patienten nach Behandlung mit einem Diodenlaser [6]. Eine interventionelle Methode bzw. Therapie der Tube selbst ist inzwischen als Ballondilatation der *Tuba Eustachii* (BET) bekannt. Analog einer kardiovaskulären Ballondilatation bei koronarer Herzerkrankung wird hier der knorpelige Anteil der Ohrtrumpe kurzfristig mit einem Ballonkatheter geweitet. Dieses Verfahren hat sich als nahezu nebenwirkungsfrei herausgestellt [7, 8]. Permanente Schienungen, wie ein Golddraht, zeigten nur unbefriedigende Ergebnisse [9]. Die Auswirkungen auf die Tubenbelüftung über einen Polyethylen-Hohlschlauch wurden für verschiedene Einfürtiefen beschrieben [10]. Weitere Schienungsversuche der Ohrtrumpe mit Silikonröhren zeigten in ausgewähltem Patientengut klinische Verbesserungen [12]. Eine Kontrolluntersuchung einer anderen Arbeitsgruppe führte zu ausgeprägten Fremdkörperreaktionen und wurde bei tympanaler Implantationstechnik als sehr schwierig beschrieben [13]. Ein weiteres US-Patent [14] beinhaltet zwei parallel verlaufende, flexibel verbundene konkave Arme, die über ihr Profil mit dem Gegenstück einen zylindrischen Hohlraum bilden. Dieser so erstellte Hohlraum schient die gesamte knöcherne und fast vollständig die knorpelige Tube. Eine Bördelung des im Protympanon liegenden Abschnittes soll eine Dislokation des Stents in den Rachen verhindern. Zudem wurde bereits hier eine Funktionalisierung bzw. Drug-Eluting-Komponente aufgenommen. Klinische Studien, die einen Therapieerfolg oder auch nur eine Einzelfallbeschreibung belegen, fehlen.

- [1] Ilan O, Marcus E-L, Cohen Y, et al. Eustachian tube dysfunction leading to middle-ear pathology in patients on chronic mechanical ventilation. *The Journal of Laryngology & Otology*. 2017;131(9):817-822.
- [2] Schappert AM, Nelson C. National Hospital Ambulatory Medical Care Survey: 1995-96 summary. *Vital Health Stat* 1999;12(142):1-122.
- [3] Bruce D, Goode RL. Middle ear ventilation tube. US-Patent 4695275, 1987.
- [4] Schmidt PH, Bolhuis van H. Transtympanic aeration of the middle ear with blocked Eustachian Tube. *Acta Oto Laryngologica*. 1964;60:277-282.
- [5] Silverstein H. Middle ear aeration and implant. US-Patent 3982545 A, 1976.
- [6] Poe DS, Grimmer JF, Metson R. Laser Eustachian Tuboplasty: Two Year Results. *Laryngoscope*. 2007;117(2):231-237.
- [7] Schröder S, Reineke U, Lehman M, Ebmeyer J, Sudhoff H. Chronic obstructive eustachian tube dysfunction in adults – long-term results of balloon eustachian tuboplasty. *HNO*. 2013;61(6):142-151.
- [8] Meyer TA, O'Malley EM, Schlosser RJ, et al. A randomized controlled trial of balloon dilation as a Treatment for persistent Eustachian Tube dysfunction with 1-year follow-up. *Otol Neurotol*. 2018;39(7):894–902.
- [9] Steinbach E. Zur Einlage eines Tubenimplantates bei Mittelohrbelüftungsstörungen. *Arch Otolaryngol* 1991, Suppl. II, 271-272.
- [10] Takahashi H, Fujita A, Honjo I. Site of Eustachian Tube Dysfunction in Patients with Otitis Media with Effusion. *Am J Otolaryngol* 1987;8:361-363.

- [12] Wright JW 3rd, Wright JW jr, Hicks GW. The Eustachian Tube prosthesis revisited otolaryngology 1978;86:834-837.
- [13] Lesinski SG, Fox JM, Seid AB, Bratcher, Glenn O, Cotton R. Does the silastic Eustachian Tube prosthesis improve Eustachian Tube function? Laryngoscopy 1980;90(9):1413-1428.
- [14] Litner J. Eustachian tube stent. US-Patent US000006589286B1, 2003.

Stenttechnologien für den Applikationsbereich Gynäkologie

Bei 25 % der Frauen im gebärfähigen Alter, die eine weibliche Sterilität aufweisen, liegt ein Verschluss in der *Tuba uterina* vor [1]. Dieser Verschluss kann proximal oder distal sowie über die gesamte Länge des Eileters vorliegen. Ein proximaler Tubenverschluss (PTO) tritt in 10–25 % der Fälle auf und hat häufig eine vorangegangene Entzündung als Ursache [2]. In den vergangenen Jahren war eine *in vitro* Fertilisation (IVF) die einzige klinisch praktikable Therapie, um eine Schwangerschaft trotz PTO zu ermöglichen. Als ambulant einsetzbares Rekanalisationsverfahren wurde die transzervikale Sondierung der Eileiter entwickelt und stellt eine Alternative zu IVF und chirurgischen Eingriffen dar. Eine vollständige Rekanalisierung des Eileters funktioniert jedoch nur bei 50 % der durchgeführten Eingriffe [3]. Eine anschließende Schwangerschaft wird sogar nur nach 35 % der Eingriffe erreicht [4]. Die Einlage eines zu entwickelnden (Mikro-)Eileiter-Stents soll sowohl die Durchgängigkeit des Eileters und die Überwindung der äußeren Stenosierung, z. B. infolge von Fibrose, bewirken, als auch zur Wiederherstellung der Klappenfunktion beitragen [5]. Die Verwendung eines (Mikro-)Stents zur Behandlung einer eileiterbedingten Sterilität soll nicht nur einen therapeutischen Vorteil gegenüber einer einfachen Tubenkanalisation oder Perturbation liefern, sondern ebenfalls zu einer Reduktion der in der Literatur beschriebenen Rate der Tubengraviditäten (in bis zu 20–50 % der Fälle) führen.

- [1] Smith S, Pfeifer SM, Collins JA. Diagnosis and management of female infertility. JAMA. 2003;290(13):1767-1770.
- [2] Grant A. Infertility surgery of the oviduct. Fertility and Sterility. 1971;22, 496–503.
- [3] Mekaru K, Yagi C, Asato K, Masamoto H, Sakumoto K, Aoki Y. Hysteroscopic tubal catheterization under laparos-copy for proximal tubal obstruction. Archives of Gynecology and Obstetrics. 2011;284(6):1573-1576
- [4] Hou, Hai Yan, et al. "Outcome of laparoscopy-guided hysteroscopic tubal catheterization for infertility due to proximal tubal obstruction." Journal of minimally invasive gynecology. 2014; 272-278.
- [5] Seyam EM, Hassan MM, Tawfeek Mohamed Sayed Gad M, Mahmoud HS, Ibrahim MG. Comparison of pregnancy outcome between ultrasound- guided tubal recanalization and office-based microhysteroscopic ostial dilatation in pa-tients with proximal blocked tubes. Int J Fertil Steril. 2016;9(4):497-505.

Stenttechnologien für den Applikationsbereich Gastroenterologie

Die Therapie von Pankreaspseudozysten, Nekrosen und akuten Flüssigkeitsansammlungen hat in den vergangenen Jahrzehnten einen erheblichen Wandel erfahren. Interventionelle Strategien haben ein primär operatives Vorgehen abgelöst. Die endosonographische Pankreasdrainage (EUS-PD) steht dabei weit oben im therapeutischen Algorithmus. Seit kurzer Zeit stehen gecovertete selbstexpandierende Metallstents für die EUS-PD zur Verfügung. Endosonographisch geführte interne Drainagen von liquiden Pankreaszequstrationen sind etablierte Therapieverfahren. Welcher Stent bei welchem Patienten verwendet wird, hängt von

verschiedenen Faktoren, wie Länge, Durchmesser, Flexibilität, Radialkraft, Röntgendichte und Lieferbarkeit ab. Außerdem sind die anatomischen Verhältnisse und die Erfahrungen des Endoskopikers von entscheidender Bedeutung.

Die Stentbeschichtung ist ein sehr wichtiger Faktor für das Stentdesign, da sie das klinische Outcome beeinflusst. Mehrere Faktoren sind bei der Auswahl in Betracht zu ziehen: mechanische Eigenschaften, Biokompatibilität, Effizienz, Kosten und Eignung für die Massenproduktion. Aktive Beschichtungen beinhalten typischerweise therapeutische Komponenten, die entweder an die Oberfläche des Stents gebunden sind oder in ein dreidimensionales Netz aus Polymeren eingebunden werden, um von dort kontrolliert freigegeben zu werden. Die optimale Beschichtung müsste immunsuppressiv, antiproliferativ, antiinflammatorisch, antithrombotisch und, wenn möglich, eine Unterstützung für den Heilungsprozess sein. Die Kompatibilität des beschichteten Polymers mit der Wand des Gefäßes ist für dessen Erfolg von entscheidender Bedeutung und bestimmt das Ausmaß der Inflammation. Die meisten Polymere haben erhebliche Entzündungen in den experimentellen Studien ergeben. Das ideale Polymer bietet eine anti-restenotische Therapie über einen bestimmten Zeitraum, bleibt biologisch inaktiv, toleriert mechanische Scherkräfte und ist nicht thrombogen [1, 2].

- [1] Stecher SS, Simon P, Friesecke S, Glitsch A, Kühn JP, Lerch MM, Mayerle J. Delayed severe bleeding complications after treatment of pancreatic fluid collections with lumen-apposing metal stents. Gut. 2017 Oct;66(10):1871-1872
- [2] Van der Giessen WJ, Lincoff AM, Schwartz RS, Van Beusekom HM, Serruys PW, Holmes DR JR, Ellis SG, Topol EJ. Circulation 1996; 17 794, 1690-7. Marked inflammatory sequelae to implantation of biodegradable and nonbiodegradable polymers in porcine coronary arteries.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Die Auswahl der Forschungspartner und Unternehmen erfolgte als Teil der RESPONSE-Strategieentwicklung durch Systematisierung der zu bearbeitenden Problemstellungen, hierzu erforderlicher Kompetenzen und bestehender Unternehmensinteressen. Ausgewiesene Wissenschaftler aus der Medizin, den Ingenieur- und Naturwissenschaften sowie die Akteure aus den beteiligten Unternehmen sichern die wissenschaftliche, wirtschaftliche und klinische Translation entlang der gesamten Innovationskette. Durch die direkte Zusammenarbeit der industriellen Kooperationspartner mit den klinischen Anwendern wird die Schnittstelle zur medizinischen Bewertung weiter optimiert. Wirtschaftlich attraktive, transsektorale Verwertungsmöglichkeiten sind durch die starke Einbindung der Unternehmenspartner sowie durch die Übertragbarkeit auf eng mit der Medizintechnik verbundene Hochtechnologie-Sektoren gewährleistet. Das Forschungsvorhaben bezieht in einem multidisziplinären Ansatz die Expertise in komplementären Bereichen der Ingenieurwissenschaften, der Naturwissenschaften sowie der klinischen Partner ein und konzentriert sich dabei auf die Phase mit hohem Innovationsbedarf in der vorwettbewerblichen Entwicklung zur Vorbereitung neuer

Produktzyklen und schließt hierbei Aspekte der präklinischen Prüfung und Evaluierung der Anwendbarkeit im OP ein.

6. Verwendung der Zuwendung und erzieltes Ergebnis

Der im Rahmen des vorliegenden Transfervorhabens geplante Innovationstransfer von Stent-Entwicklungen für die Anwendungsfelder Kardiologie, Ophthalmologie, Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, Gynäkologie und Gastroenterologie erfolgte aufbauend auf den Entwicklungen der Basisvorhaben sowie Forschungsvorhaben der Umsetzungsphasen I und II. Dabei wurden die zentralen Ziele der Produktisierung und Zulassung von Implantaten für einen Transfer der entwickelten Stenttechnologien in die klinische Anwendung bzw. der Sicherung der wissenschaftlichen Anschlussfähigkeit innovativer Implantatentwicklungen für eine zukünftige Prototypisierung verfolgt.

Folgende Ergebnisse konnten dabei im Rahmen des vorliegenden Teilvorhabens der Universitätsmedizin Rostock erzielt werden:

- Erzeugung neuartiger medikamentenfreisetzender Dünnfilmbeschichtungen auf Magnesiumscaffolds sowie Analyse der Sterilisierbarkeit, des Degradations- und Freisetzungerverhaltens
- Entwicklung biodegradierbarer Covered Scaffolds als Bail-Out-Devices zur Behandlung lebensbedrohlicher Gefäßperforationen
- Identifikation und klinischer Bewertung von Implantationsstrategien zur Therapie von Bifurkationsstenosen
- Vergleichende Analyse am Markt verfügbarer Drug Eluting Stents zur Anwendung für das Bifurkationsstenting
- Entwicklung und Erprobung eines *ex vivo* Modells für Gefäßperforationen
- Erprobung und Etablierung von Verfahren zur Evaluierung der Drainagekapazität minimalinvasiv applizierter Glaukomstents *in vitro* und *in vivo*
- Durchführung von Degradationsstudien biodegradierbarer Tubenstents
- Erzeugung und Analyse wirkstofffreisetzender Beschichtungen auf Tubenstents
- Biologische Beurteilung von Implantatmaterialien für biodegradierbare Tubenstents unter GLP-Bedingungen
- Vergleichende morphologische und mechanische Untersuchung marktüblicher gastroenterologischer Stents
- Morphologische Analyse explantierter gastroenterologischer Stents hinsichtlich vorhandener Fehlstellen

- Etablierung eines *in vitro* Modells zur biologischen Beurteilung von Biomaterialen zur Anwendung in gastroenterologischen Stents sowie Durchführung entsprechender GLP-Prüfungen
- Erzeugung verschiedener Beschichtungen auf Nanofaservliesen mittels Plasmatechnologischer Verfahren sowie deren morphologische, chemische und biologische Analyse
- Entwicklung und Etablierung eines *in vitro* Testsystems zur Charakterisierung der Biokompatibilität und Zellbesiedlung von Materialien im unidirektionalen Fluss
- Morphometrische und topografische Analyse im Tiermodell Kaninchen implantierter Glaukom-Mikrostents
- Anfertigung histologischer Schnittserien zur histologischen und immunhistochemischen Untersuchung von gestenteten und ungestenteten Kaninchenaugen

7. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Das vorliegende Vorhaben ist durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung gefördert worden. Die Verwendung der Fördermittel ist im zahlenmäßigen Nachweis detailliert dargestellt.

8. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Für das vorliegende Teilvorhaben der Universitätsmedizin Rostock ergab sich die Notwendigkeit der finanziellen Zuwendung aus der Tatsache, dass die geplanten Tätigkeiten einen hohen finanziellen Aufwand für personelle und sächliche Ressourcen erforderten. Durch die Ansiedelung des Vorhabens im vorwettbewerblichen Bereich konnte das wirtschaftliche Risiko bei dem Status der Entwicklung nicht von den beteiligten Partnern allein getragen werden. Auf dem Gebiet der Implantattechnologie besteht ein erhebliches wissenschaftlich-technisches Forschungs- und Entwicklungsrisiko. Es bestehen jedoch hohe Chancen, die Ergebnisse des Gesamtvorhabens in wirtschaftliche verwertbare Ergebnisse zu überführen.

Die technischen Voraussetzungen und vorhandenen Erfahrungen wurden bereits von den beteiligten Partnern unter Beweis gestellt. Die strategische Ausrichtung und der wissenschaftlich-technologische Fokus der an RESPONSE beteiligten Akteure boten bei den bekannten Risiken überdurchschnittliche Chancen zur Erbringung entscheidender Impulse bei der Gestaltung der Implantatforschung und -entwicklung.

9. Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Die große Bandbreite von medizintechnischen Produkten und Verfahren leistet aus Sicht von RESPONSE einen wichtigen Beitrag in der Gesundheitsversorgung, indem sie Leben rettet, heilen hilft und die Lebensqualität der Menschen verbessert. Gleichzeitig ist die Medizintechnik ein bedeutender Wirtschaftsfaktor. Abgesehen von wenigen Großunternehmen ist die Branche in Deutschland mittelständisch geprägt, innovativ und wachstumsstark. Weltweit weist die Medizintechnik jährliche Wachstumsraten von 5 % auf und wird zukünftig ein expandierender Markt bleiben. Zum Wachstum der Medizintechnik tragen der fortwährende Patientenbedarf an Gesundheit und höherer Lebensqualität sowie die ständige Neuerschließung von Therapiefeldern bei. Hinzu kommt die steigende Zahl älterer und insbesondere auch multimorbider Patienten in den entwickelten Industrienationen.

Die Einbindung der Industriepartner CORTRONIK GmbH und bess pro GmbH sowie die Identifizierung weiterer geeigneter Unternehmenspartner ermöglicht breite wirtschaftliche Verwertungsmöglichkeiten innerhalb des Transfervorhabens 1 durch die klinische Einführung von Implantatentwicklungen. Im Rahmen des vorliegenden Teilvorhabens der Universitätsmedizin Rostock war keine direkte wirtschaftliche Verwertung vorgesehen. Vielmehr wurden wissenschaftlich-technologische Grundlagen für Implantatinnovationen geschaffen, um eine wirtschaftliche Verwertung zu ermöglichen. Die Verwertung der Vorhabenergebnisse erfolgte im wissenschaftlich-technischen Bereich vorwiegend durch die Anmeldung von Schutzrechten auf technische Innovationen, Technologien oder Prozesse, die Präsentation von Forschungsergebnissen auf Fachtagungen, die diskriminierungsfreie Veröffentlichung in nationalen und internationalen Fachzeitschriften sowie die Aus- und Weiterbildung bzw. Graduierung von Nachwuchswissenschaftlern.

Durch die Ansiedlung des Teilvorhabens der Universitätsmedizin Rostock im vorwettbewerblichen Bereich werden grundsätzliche keinerlei fremde Schutzrechte berührt. Bezüglich der industriellen Verwertung der Projektergebnisse ist darüber hinaus zu berücksichtigen, dass bei den Akteuren im Projektkonsortium bereits zu Projektbeginn ein erhebliches Portfolio an angemeldeten und erteilten Patenten sowie Gebrauchsmustern vorhanden war und der Stand der Technik damit maßgeblich von den am Forschungsvorhaben beteiligten Akteuren mitbestimmt wurde.

10. Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Da die innerhalb des Forschungsvorhabens geplanten Implantatentwicklungen gesellschaftlich relevante und wirtschaftlich attraktive Themenfelder adressieren, werden diese national und international bearbeitet. Durch die Herausarbeitung von Alleinstellungsmerkmalen der Entwicklungen innerhalb von RESPONSE kann eine eindeutige Abgrenzung der Entwicklungen bei anderen Stellen von den eigenen Vorhaben erzielt werden. Im Rahmen der Durchführung des Forschungsvorhabens sind keine kritischen Ergebnisse Dritter bekannt geworden, welche den Erfolg des Projektes gefährden.

11. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse

Publikationen im Berichtszeitraum

Referierte Veröffentlichungen

- [1] Öner A, Moerke C, Wolff A, Kischkel S, Schmidt W, Grabow N, Ince H. A preclinical animal model for evaluating the sealing capacity of covered stent grafts in acute vessel perforation. European journal of medical research, vol. 25, no. 1 (2020): p. 28. doi: 10.1186/s40001-020-00429-y.
- [2] Wulf K, Arbeiter D, Matschegowski C, Teske M, Huling J, Schmitz K-P, Grabow N, Kohse S. Smart releasing electrospun nanofibers-poly: L.lactide fibers as dual drug delivery system for biomedical application. Biomedical materials, vol. 16, no. 1 (2020): p. 15022. doi: 10.1088/1748-605X/abec8.
- [3] Clau J, Eickner T, Grabow N, Kragl U, Oschatz S. Ion Exchange Controlled Drug Release from Polymerized Ionic Liquids. Macromolecular bioscience, vol. 20, no. 9 (2020): e2000152. doi: 10.1002/mabi.202000152.
- [4] Illner S, Ortelt J, Arbeiter D, Khaimov V, Wulf K, Oschatz,S, Reske T, Senz V, Schmitz K-P, Grabow N. Adaptable Superfibers as Implant Material. Current Directions in Biomedical Engineering, vol. 6, no. 3, 2020, pp. 465-468. doi: 10.1515/cdbme-2020-3120
- [5] Schümann K, Wilfling T, Paasche G, Schuon R, Tautorat C, Schmitz K-P, Lenarz T, Grabow N. Polymeric stents for the Eustachian tube: development and human cadaver study" Current Directions in Biomedical Engineering, vol. 6, no. 3, 2020, pp. 213-216. doi: 10.1515/cdbme-2020-3054
- [6] Götz A, Senz V, Illner S, Grabow N. Computed fiber evaluation of SEM images using DiameterJ. Current Directions in Biomedical Engineering, vol. 6, no. 3, 2020, pp. 438-441. doi: 10.1515/cdbme-2020-3113

- [7] Sahmel O, Siewert S, Schmidt W, Schmitz K-P, Grabow N. Cross-sectional analysis of tubular polymer semi-finished products using ultrasound in comparison with other measuring methods. *Current Directions in Biomedical Engineering*, vol. 6, no. 3, 2020, pp. 151-154. doi: 10.1515/cdbme-2020-3039
- [8] Dierke A, Borowski F, Großmann S, Brandt-Wunderlic, C, Matschegewski C, Rosam P, Pilz N, Reister P, Einenkel R, Hinze U, Keiler J, Stiehm M, Schümann K, Bock A, Chichkov B, Grabow N, Wree A, Zygmunt M, Schmitz K-P, Siewert S. Development of a biodegradable microstent for minimally invasive treatment of Fallopian tube occlusions. *Current Directions in Biomedical Engineering*, vol. 6, no. 3, 2020, pp. 74-77. doi: 10.1515/cdbme-2020-3019
- [9] Teske M, Kießlich T, Fischer J, Bahl H, Wulf K, Eickner T, Grabow N, Illner S. Immobilizing hydrolytic active Papain on biodegradable PLLA for biofilm inhibition in cardiovascular applications. *Current Directions in Biomedical Engineering*, vol. 6, no. 3, 2020, pp. 172-175. doi: 10.1515/cdbme-2020-3044
- [10] Fiedler N, Arbeiter D, Schümann K, Illner S, Grabow N. Investigating dynamic-mechanical properties of multi-layered materials for biomedical applications. *Current Directions in Biomedical Engineering*, vol. 6, no. 3, 2020, pp. 185-188. doi: 10.1515/cdbme-2020-3047
- [11] Großmann S, Illner S, Oldenburg J, Ott R, Stiehm M, Grabow N, Schmitz K-P, Siewert S. Permeability and wettability of bioresorbable nanofiber nonwoven membranes. *Current Directions in Biomedical Engineering*, vol. 6, no. 3, 2020, pp. 461-464. doi: 10.1515/cdbme-2020-3119
- [12] Arbeiter D, Oschatz S, Illner S, Grabow N. Study of poly(L-lactide) using Fast Scanning Calorimetry. *Current Directions in Biomedical Engineering*, vol. 6, no. 3, 2020, pp. 422-425. doi: 10.1515/cdbme-2020-3109
- [13] Khaimov V, Frost F, Senz V, Grabow N, Schmitz K-P, Lerch M M. Systematic microscopic analysis of retrieved stents from a patient with pancreatic necrosis. *Current Directions in Biomedical Engineering*, vol. 6, no. 3, 2020, pp. 450-453. doi: 10.1515/cdbme-2020-3116
- [14] Grabow N, Senz V, Schmitz K-P. Transfer activities for cardiovascular, ophthalmologic and otolaryngologic medical device innovations. *Current Directions in Biomedical Engineering*, vol. 6, no. 3, 2020, pp. 85-86. doi: 10.1515/cdbme-2020-3022
- [15] Wulf K, Senz V, Eickner T, Illner S. Water uptake of various electrospun nonwovens. *Current Directions in Biomedical Engineering*, vol. 6, no. 3, 2020, pp. 155-158. doi: 10.1515/cdbme-2020-3040
- [16] Rosam P, Borowski F, Stiehm M, Schmitz KP, Keiler J, Wree A, Öner A, Schmidt W. Development of an *in vitro* measurement method for improved assessment of the side

- branch expansion capacity. *Current Directions in Biomedical Engineering.* 2020, 6(3), 6–9. doi: 10.1515/cdbme-2020-3114
- [17] Öner A, Rosam P, Borowski F, Grabow N, Siewert S, Schmidt W, Schmitz KP, Stiehm M. Side-branch expansion capacity of contemporary DES platforms. *Eur J Med Res.* 2021 Oct 12;26(1):121. doi: 10.1186/s40001-021-00595-7
- [18] Teske M, Illner S, Markhoff J, Grabow N, Oschatz S. (2021): Ultrathin fibre coatings on nanofibrous nonwovens by plasma enhanced chemical vapor deposition, *Current Directions in Biomedical Engineering*, vol. 7, no. 2, 2021, pp. 535-538. doi: 10.1515/cdbme-2021-2136
- [19] Teske M, Lange H, Wulf K, Senz V, Grabow N, Eickner T, Oschatz S. Chemical characterization of plasma polymerized allylamine coatings with addition of ammonia and oxygen by XPS, *Current Directions in Biomedical Engineering*, vol. 8, no. 2, 2021, pp. 664-667. doi: 10.1515/cdbme-2021-2136
- [20] Siewert S, Kischkel S, Brietzke A, Kinzel L, Lindner T, Hinze U, Chichkov B, Schmidt W, Stiehm M, Grabow N, Guthoff RF, Schmitz KP, Stahnke T. Development of a Novel Valve-Controlled Drug-Elutable Microstent for Microinvasive Glaucoma Surgery: *In Vitro* and Preclinical *In Vivo* Studies. *Transl Vis Sci Technol.* 2023; 12(3):4. doi: 10.1167/tvst.12.3.4. (Impact Factor: 3.048)
- [21] Runge J, Stahnke T, Guthoff R, Wree A, Keiler J. Micro-CT in ophthalmology: ex vivo preparation and contrasting methods for detailed 3D-visualization of eye anatomy with special emphasis on critical point drying. *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery.* 2022. 12(9), 4361–4376. doi: 10.21037/qims-22-109. (Impact Factor: 4.630)
- [22] Siewert S, Bohne E, Grossmann S, Schmidt W, Grabow N, Stahnke T, Guthoff R, Stiehm M, Schmitz K-P. Femtosecond laser manufacturing technology for microstents as innovative medical devices for glaucoma therapy. *Current Directions in Biomedical Engineering.* 2022;8(2): 592-595. doi: 10.1515/cdbme-2022-1151.
- [23] Khaimov V, Strübing J, Stahnke T, Grabow N, Schmitz K-P, Siewert S. A time-resolved fibrosis model – *in vitro* assessment of antifibrotic implant coatings. *Current Directions in Biomedical Engineering.* 2022;8(2): 297-300. doi: 10.1515/cdbme-2022-1076.
- [24] Brietzke A, Guthoff RF, Grabow N, Stahnke T. Nintedanib suppresses expression of extra-cellular matrix proteins in TGF- β 1-stimulated primary human fibroblasts of the Tenon. *Current Directions in Biomedical Engineering*, vol. 7, no. 2, 2021, pp. 367-370. doi: 10.1515/cdbme-2021-2093.
- [25] Siewert S, Guthoff RF, Kamke F, Grossmann S, Stiehm M, Schmidt W, Stahnke T, Grabow N, Schmitz KP. Development and validation of a test facility for pivotal characterization of glaucoma drainage devices. *Current Directions in Biomedical Engineering*, vol. 7, no. 2, 2021, pp. 743-746. doi: 10.1515/cdbme-2021-2190.

- [26] Ngweme G, Bambi MTN, Lutete LF, Kilangalanga NJ, Hopkins A, Stachs O, Guthoff RF, Stahnke T. Ophthalmic Ultrasonography in Sub-Saharan Africa – a Kinshasa experience. *Diagnostics*. 2021. 11(11), 2009. doi: 10.3390/diagnostics11112009
- [27] Stahnke T, Lindner T, Guthoff RF, Stachs O, Wree A, Langner S, Niendorf T, Grabow N, Glass Ä, Beller E*, Polei S*. Ultrahigh field MRI determination of water diffusion rates in ex vivo human lenses of different age. *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery*. 2021 Jul;11(7):3029-3041. doi: 10.21037/qims-20-1124
- [28] Sterenczak KA*, Winter K*, Sperlich K, Stahnke T, Linke S, Farrokhi S, Klemm M, Allgeier S, Köhler B, Reichert K-M, Guthoff RF, Bohn S, Stachs O. Morphological characterization of the human corneal epithelium by *in vivo* confocal laser scanning microscopy. *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery*. 2021 May;11(5):1737-1750. doi: 10.21037/qims-20-1052. *(Sterenczak KA and Winter K: contributed equally)
- [29] Sterenczak KA, Stachs O, Marfurt C, Matuszewska-Iwanicka A, Stratmann B, Sperlich K, Guthoff RF, Hettlich HJ, Allgeier S, Stahnke T. Atypical Cellular Elements of Unknown Origin in the Subbasal Nerve Plexus of a Diabetic Cornea Diagnosed by Large-Area Confocal Laser Scanning Microscopy. *Diagnostics (Basel)*. 2021 Jan 21;11(2):154. doi: 10.3390/diagnostics11020154
- [30] Runge J, Stahnke T, Guthoff RF, Wree A, Keiler J: Micro-CT in ophthalmology: *ex vivo* preparation and contrasting methods for detailed 3D-visualization of eye anatomy with special emphasis on critical point drying. *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery*. 2022, 12(9):4361-4376. doi: 10.21037/qims-22-109
- [31] Runge J, Kischkel S, Keiler J, Grabow N, Schmitz K-P, Siewert S, Wree A, Guthoff R, Stahnke T: Experimental glaucoma microstent implantation in two animal models and human donor eyes - an *ex vivo* micro-CT based evaluation of applicability. *Translational Vision Science & Technology*, (under review)

Nichtreferierte Veröffentlichungen/Tagungsbeiträge

- [1] Stahnke T. et al. Determination of the aqueous humor outflow facility following MIGS in a rabbit model *in vivo*. Kongress der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (online Kongress), 09.10 - 11.10. 2020. (Vortrag, ausgezeichnet als bester Beitrag der Sitzung Glaukom, Mediathekpreis - Bester Beitrag)
- [2] Runge J, Keiler J, Siewert S, Kischkel S, Grabow N, Schmitz K-P, Wree A, Guthoff RF, Stahnke T. (2021): Micro-CT based evaluation of a newly developed glaucoma microstent in the iridocorneal angle. 115th Congress of the Anatomical Society, Innsbruck (Austria, online), 21. – 23. September 2021

- [3] Runge J, Keiler J, Siewert S, Kischkel S, Grabow N, Schmitz K-P, Wree A, Guthoff RF, Stahnke TS. Poster: Micro-CT based evaluation of a newly developed glaucoma microstent in the iridocorneal angle. Forschungscamp Universität Rostock 18.11.2021
- [4] Markhoff J, Oschatz S, Teske M, Grabow N. (2021): Plasma surface modification for controlled cell behavior, European Society for Biomaterials Conference 2021 (ESB 2021)
- [5] Stahnke T. et al. Evaluation of the aqueous humor outflow facility following MIGS in an *in vivo* rabbit model. Kongress der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (online Kongress), 30.09. – 03.10. 2021. (Vortrag)
- [6] Stahnke T. et al. Determination of the aqueous humor outflow facility following MIGS combined with antifibrotic therapy in an *in vivo* rabbit model. (Abstr.-ID: 670). 120. Kongress der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft, Berlin, Deutschland, 29.9.-2.10.2022. (Poster)
- [7] Runge J. et al. Experimental glaucoma microstent implantation in two animal models and human donor eyes - an *ex vivo* micro CT based evaluation of applicability. (Abstr.-ID: 682). 120. Kongress der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft, Berlin, Deutschland, 29.9.-2.10.2022. (Poster)

Abgeschlossene studentische Arbeiten, Doktorarbeiten und Habilitationen

- [1] Habilitation von Herrn Dr. rer. nat. Thomas Stahnke an der Universitätsmedizin Rostock. Thema der Habilitationsschrift: „Wundheilungsmodulation im vorderen Augenabschnitt – experimentelle und klinische Betrachtungen“. Erfolgreicher Abschluss des Habilitationsverfahrens am 25.01.2021.
- [2] Rosam P. Beiträge zur Bifurkationstherapie von Koronarstenosen - Biomechanische Grundlagen, experimentelle Untersuchungen und klinische Aspekte. Dissertation. Rostock; 2021.
- [3] Bonin, F. Untersuchungen zu den mechanischen Eigenschaften von degradierten und undegradierten Magnesium-Scaffolds für die kardiovaskuläre Anwendung. Bachelorarbeit, 05.02.2020
- [4] Pilz, N. Mikrostents zur Behandlung proximaler Verschlüsse in der Tuba uterina – Designentwicklung, Prototypenherstellung und *in vitro* Prüfung. Bachelorarbeit, 03.03.2020
- [5] Unverferth, O. Dauerfestigkeitsprüfung von Polymerstrukturen für kardiovaskuläre Implantate. Bachelorarbeit, 11.02.2020
- [6] Oheim, A. Dual-Elektrospinning: Nutzung von zwei Spinndüsen zur Erzeugung von polymeren Fasermaterialien. Bachelorarbeit, 06.02.2020

- [7] Fazekas, M. Berücksichtigung der Kantenverrundung bei der numerischen Simulation von Stents. Studienarbeit, 20.03.2020
- [8] Ihdoosh, B. Entwicklung ultradünner Polymerschichten mittels Plasma Enhanced Chemical Vapor Deposition (PECVD). Bachelorarbeit, 23.03.2020
- [9] Koch, S. Mechanische Charakterisierung von Rohren zur Scaffoldherstellung hinsichtlich Anisotropie und Einfluss von Fertigungsprozessen. Masterarbeit, 08.06.2020
- [10] Lyko, B. Photoreaktiv-Elektrospinning: Prozessentwicklung zur Erzeugung hydrophiler Implantatmaterialien. Bachelorarbeit, 23.03.2020
- [11] Lemke, TM. Entwicklung einer Prüfmethode zur experimentellen Analyse von pulsatiler Strömung im kardiovaskulären Bereich. Bachelorarbeit, 31.03.2020
- [12] Möller, N. In vitro Degradationsstudie für die Entwicklung biodegradierbarer Polymerstents. Bachelorarbeit, 08.06.2020
- [13] Gilles, T. Wandstärkenmessungen von Polymerhalbzeugen mittels Ultraschall – experimentelle Bestimmung der Präzision und Messunsicherheit in Abhängigkeit von Werkstoff und Dimension. Bachelorarbeit, 23.03.2020
- [14] Düser, J. Methodenentwicklung zur Prüfung von expandierbaren Implantatbeschichtungen. Studienarbeit, 23.11.2020
- [15] Witt, AV. Quellfähige Mehrkomponentenvliesstrukturen – Entwicklung, Charakterisierung und erste Evaluierung hinsichtlich zukünftiger Implantatanwendungen. Bachelorarbeit, 05.10.2020
- [16] Ehlers, LM. Entwicklung einer Methode zur Bestimmung der Durchmesseränderung von Stents während der beschleunigten Ermüdungsprüfung. Bachelorarbeit, 23.11.2020
- [17] Allaham J. Entwicklung eines Prüfprotokolls zur Untersuchung der Biodegradation metallischer Implantatmaterialien unter *in vivo* nahen Bedingungen. Masterarbeit, 06.04.2021

Erfindungen/Schutzrechtsanmeldungen

- [1] Kohse S, Lebahn K, Grabow N, Bajer D, Großmann S, Schmitz KP, Müller H, Momma C, Illner S, Arbeiter D, Eickner T. Swellable polymer hybrid fibres for a sleeve of an intraluminal endoprosthesis. DE10 2019 132 936.1, WO002021110410A1, US 2023/0024499 A1, EP 20810897.7, 2019
- [2] Kohse S, Schümann K, Grabow N, Bajer D, Schmitz KP, Großmann S, Müller H, Momma C. Method for producing an intraluminal endoprosthesis with a biodegradable sheath. DE102019132938A1, WO002021110407A1, JP2023504682A, US2022/0411966A1, EP4069328A1, CN114728102A, 2019

- [3] Oschatz ST, Illner S, Ortelt J, Arbeiter D, Teske M, Müller H, Grabow N, Momma C, Schmitz KP, Adaptive chemical post-processing of nonwovens for cardiovascular applications. WO2021110559A1, 2021
- [4] Oschatz S, Teske M, Arbeiter D, Rzany A, Grabow N. Verfahren zur Oberflächenveredelung xenogener Materialien mittels plasmaunterstützter chemischer Gasphasenabscheidung. EP22177748.5, DE10 2022 114 357.0, 2022

12. Anhang zu Punkt 6 – Ausführliche Darstellung der wissenschaftlich-technischen Ergebnisse und anderer wesentlicher Ereignisse

AP 1 Applikationsbereich Kardiologie

AP 1.4 Multifunktionale Dünnfilmbeschichtungen auf neuen Magnesium-Legierungen (IBMT)

Neue Magnesium-Legierungen (Verbundpartner COR) wurden mittels des am IBMT etablierten Spray-Coating-Verfahrens mit multifunktionalen Polymer-/Wirkstoffbeschichtungen zur Steuerung der Stützdauer und Degradationsprozesse der Scaffolds versehen. Diese Dünnfilmpolymerbeschichtungen wiesen eine Gesamtschichtdicke von 10 µm auf. Als neue Beschichtung wurden Blendsysteme und Doppelschichten, bei denen zunächst ein base-coat mit einer Schichtdicke von ca. 5 µm als Korrosionsschutzschicht aufgebracht wurde, welcher anschließend mit einem PLLA/SIR-top-coat überzogen wurde, untersucht. Um den Einfluss der Sterilisation auf die Korrosionsschutzwirkung zu berücksichtigen und Daten hinsichtlich der klinischen Eignung zu erhalten, wurden diese Proben mit Ethylenoxid sterilisiert. PLLA Beschichtungen mit inkorporiertem Sirolimus als etabliertes Wirkstofffreisetzungssystem diente als Referenz. Anschließend wurde das Freisetzungerverhalten modifizierter Beschichtungen vergleichend untersucht.

Im Fokus stand die Überprüfung des Einflusses von Zusätzen, wie z.B. Dioxanon, auf das Wirkstofffreisetzungerverhalten der oberen Schicht (top-coat) und deren degradationsverzögernde Eigenschaft, um in weiteren Entwicklungen gegebenenfalls auf eine extra darunterliegende Korrosionsschutzschicht (base-coat) verzichten zu können, Tab. 3. Als Freisetzungsmethode wurde eine Fast-Release-Kinetic (FRK) gewählt, da bei Echtzeitfreisetzung die Wirkstoffkonzentrationen teilweise erst nach mehreren Tagen in einem quantifizierbaren Bereich liegen. Dies ist insbesondere bedeutsam, da für solche Zeiträume die Stabilität von frei gelöstem Sirolimus aufgrund des starken pH-Drifts durch die zeitgleich stattfindende Mg-Degradation nicht gewährleistet werden kann. Anhand der Ergebnisse zur Wirkstofffreisetzung konnte gezeigt werden, dass durch den Zusatz niedermolekularer Lacton-Additive (Dioxanon) eine Beschleunigung der Wirkstofffreisetzung auftritt, Abb. 1. Dies ist vergleichbar zu Ergebnissen mit Blendsystemen aus Poly-L-Milchsäure (PLLA) und Polycaprolacton (PCL). Anhand der Daten wurde geschlussfolgert, dass die Zusätze die Wirkung der top-coat Polymerschicht als Diffusionsbarriere verringern, was einerseits eine beschleunigte Wirkstofffreisetzung verursacht, aber unter Umständen auch mit einer beschleunigten Degradation des Magnesium-Grundkörpers einhergeht.

Tab. 3: Untersuchte Beschichtungsvarianten

| Gruppe | Bez. | Coating auf Mg-Scaffolds |
|--------|-------------|------------------------------|
| 1 | Blend I | PLLA/Dioxanon-12,5/Sirolimus |
| 2 | Blend II | PLLA/Dioxanon-25/Sirolimus |
| 3 | Referenz I | PLLA/Sirolimus, BIO Dreams |
| 4 | Referenz II | PLLA/Sirolimus, BIO Magmaris |

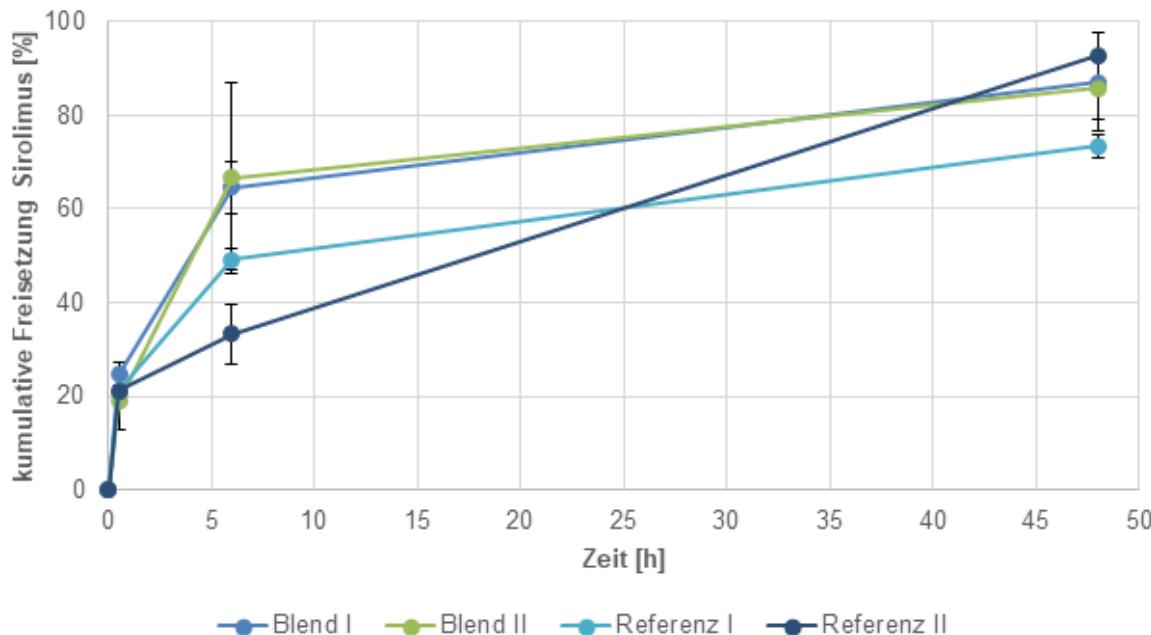


Abb. 1: Freisetzungsverhalten (Fast Release) von Sirolimus aus PLLA-Blendsystemen im Vergleich zu etablierten Referenzsystemen ($n = 3$).

Dabei ist die Degradation von Magnesium mit einer starken Erhöhung des pH-Wertes des Degradationsmediums verbunden, verursacht durch entstehendes $Mg(OH)_2$, was wiederum einen starken Einfluss auf die Bildung und Stabilität der Passivschicht auf dem Mg-Grundkörper und damit auf das Degradationsverhalten hat. Im menschlichen Körper wird der pH-Wert des Mediums mittels des physiologischen Carbonatpuffers stabilisiert. In Anlehnung daran wurde ein Prüfstand entwickelt, bei dem pH-gesteuert mittels einer Argon/ CO_2 -Gasmischung der pH-Wert gepuffert werden kann. Damit bleiben die pH-Bedingungen über den Versuchszeitraum konstant. Mittels eines photometrischen Assays kann überdies die Mg-Elution in Echtzeit verfolgt werden, um Aussagen über die protektive Wirkung der einzelnen Schichten zu treffen, Abb. 2.

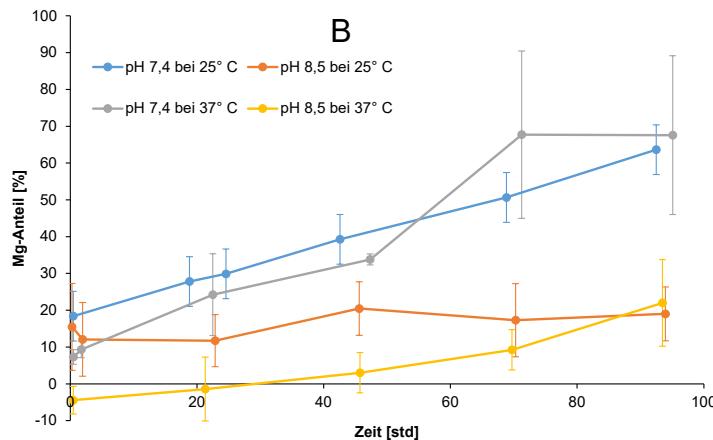


Abb. 2: Relative Mg-Elution bei verschiedenen pH-Werten und Medientemperaturen nach 4 Tagen Degradationszeit (B) [Masterarbeit J. Allaham]

In weiteren Beschichtungskampagnen wurden Korrosionsschutzschichten mittels Plasma-polymerisation in Kombination mit einem top-coat aus PLLA untersucht. Dazu wurde mittels plasmaunterstützter Gasphasenabscheidung (PECVD) ausgehend von Pyrrol als Monomer eine ultradünne base-coat Schicht plasmapolymerisiertes Polypyrrol (pPyrrol) auf den Scaffold aufgebracht und anschließend, mit PLLA als Modellsystem für die wirkstofftragende Schicht, mittels der etablierten Methode des Air-Brush-Verfahrens beschichtet.

Die so beschichteten Magnesiumscaffolds wurden anschließend hinsichtlich der degradationshemmenden Wirkung der pPyrrol-Schicht *in vitro* unter pH-statischen Bedingungen untersucht. Dabei hat sich gezeigt, dass insbesondere in der Anfangszeit (< 24h) durch die nanometerdicke pPyrrol-Schicht eine Verlangsamung der Degradation zu beobachten war. Dies ist insofern relevant, da sich zu Beginn der Degradation die schützende Passivschicht ausbildet. Nach 14 Tagen *in vitro*-Degradation bei pH = 7,4 war der unbeschichtete Mg-Scaffold rückstandslos degradiert. Der mit pPyrrol beschichtete Scaffold war noch in Fragmenten vorhanden, auch die pPyrrolschicht war noch erkennbar.

AP 1.5 Entwicklung biodegradierbarer Bail-Out Devices (Covered Scaffolds)

(IBMT)

Aufbauend auf den Arbeiten aus Forschungsvorhaben 12 wurden in diesem Arbeitspaket weitere Qualitätsanforderungen an ein vollständig degradierbares Bail-out Device definiert und untersucht. Hierzu wurden über verschiedene Herstellungskampagnen mit unterschiedlichen Polymerlösungen, Versuchstagen (abweichenden Umgebungsbedingungen) und Operatoren an der xyzE-Spin-Anlage chargenspezifische Abweichungen erfasst und ausgewertet. Es zeigte sich, dass bei identischen Prozesszeiten nur geringe Unterschiede bei gecoverten Mg-Scaffolds auftreten, Abb. 3. Es wurden PLLA⁺ Masseschwankungen im Bereich von 0,7 bis 1,3 mg festgestellt. Die Ergebnisse zeigen, dass sehr reproduzierbare Covermassen aus PLLA⁺-Nanofasern auf den teilweise hinsichtlich der Masse stark schwankenden Chargen an

Magnesium-Grundkörpern erzielt werden konnten. Dennoch kommt es vereinzelt zu Abweichungen, wobei es sich bei Probe 18 beispielsweise um das erste Cover an einem Versuchstag handelt; ggf. war an diesem Tag die Anlage noch nicht vollständig eingefahren, wobei u.a. Lufteinschlüsse in den Schlauch- und Verbindungsstücken eine Rolle spielen.

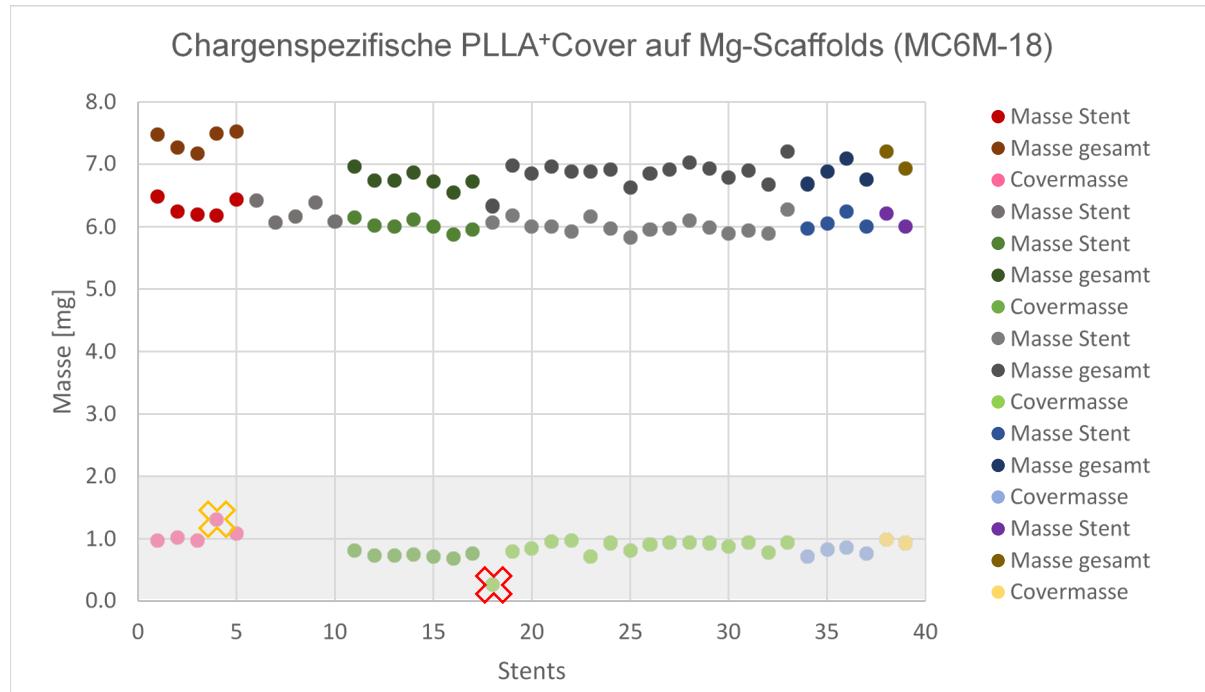


Abb. 3: Exemplarische Darstellung der chargenspezifischen Masseabweichungen in den PLLA⁺ Covern auf Mg-Grundkörpern bei gleicher Prozesszeit mit farblicher Codierung von Unterschieden im Lösungsansatz, Herstellungstag oder Operator.

Bei den morphologischen Untersuchungen mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM) zeigte sich kein signifikanter Unterschied im PLLA⁺-Faserdurchmesser, weder innerhalb der verschiedenen Chargen noch auf unterschiedlichen Stentgerüsten. Der Faserdurchmesser variiert zwischen 400 und 600 nm ($MW \pm SD: 525 \pm 106$ nm). Hingegen konnten mit 40 bis 90 µm relativ große Schwankungen in der Schichtdicke des Covers, trotz ähnlicher Covermassen, festgestellt werden. Zur Überprüfung der PLLA⁺-Vliescover nach Expansion und ETO-Sterilisation wurden darüber hinaus Schliffe angefertigt, siehe Abb. 4. Diese zeigen, dass (i) das Cover longitudinal sehr gleichmäßig ist, (ii) die Schichtdicke nach Expansion im Bereich von 20 bis 40 µm liegt und (iii) das Nanofaservlies teilweise die Struts luminal maskiert, indem es auf den Struts dünner und dazwischen dicker ist.

Im Verbundvorhaben wurde sich hinsichtlich eines aussichtsreichen Transfers biodegradierbarer elektrogespinnener Cover sowohl bei den Tierversuchen als auch den prozessbegleitenden Kampagnen- und Studiendesigns für einen CoCr-Stent als Grundgerüst entschieden, wodurch im weiteren Berichtsverlauf von Transfervorhaben 1 ebenso über Daten mit einem permanenten CoCr-Stentgerüst berichtet wird.

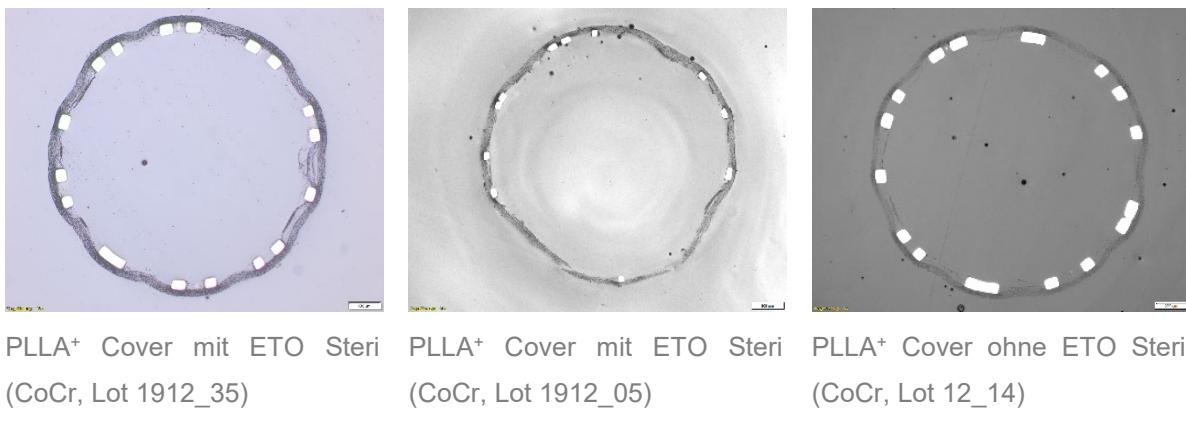


Abb. 4: Schliffpräparation aus verschiedenen Kampagnen mit und ohne ETO Sterilisation

Innerhalb des Berichtszeitraums wurden Herstellungskampagnen zu vielfältigen Fragestellungen vorgenommen, wobei den Projektpartnern PLLA⁺ gecovertete Stents/Scaffolds für (i) Crimp-Kampagnen zur Verbesserung der Haltekräfte auf dem Ballon (Verbundpartner IIB), (ii) Permeabilitätsmessungen unter Variation der Schichtdicke über verschiedene Chargen und Standzeiten (IIB) sowie (iii) die gestaffelte Herstellung von Prototypen für den Tierversuch (Kardio UR) zur Verfügung gestellt wurden.

AP 1.8 Klinische Bewertung von Implantationsstrategien zur Anwendung bei Bifurkationen (Kardio UR)

Bifurkationsstenosen können mit verschiedenen Methoden behandelt werden, abhängig von der Patienten-individuellen Anatomie, dem Winkel zwischen Haupt- und Seitenast, der Größe des Seitenastes und dem Grad der Stenoseablagerung. Deshalb sollte das Vorgehen bei der Behandlung strategisch gut geplant werden, da aufgrund der spezifischen Geometrien von stenosierten Bifurkationen von einer hohen Inzidenz an Komplikationen berichtet wird [1, 2]. Die derzeit klinisch verwendeten Bifurkationsstents weisen eine zu geringe Flexibilität sowie eine komplizierte und komplikationsanfällige Positionierbarkeit und Einbringbarkeit auf.

Die Risiken für In-Stent-Rostenosen (ISR) und Stenthrombosen (ST) sind bei Bifurkationsläsionen deutlich höher als in nicht-verzweigten Gefäßen [1, 2]. Für den Seitenast tritt zudem nach „Provisional Stenting“ ein nochmal höheres Risiko für ISR als im Hauptast auf [3]. Eine wichtige Rolle für die Entstehung von ISR und ST spielen die hämodynamischen Flussbedingungen in den Gefäßen in Abhängigkeit des Gefäßdurchmessers und der Wanddicke. Außerdem begünstigen geringe Flussraten im Gefäß inflammatorische Prozesse und führen zu Stenthrombosen [4]. Ein Bifurkationsstent muss sich also zwingend an die anatomischen Gegebenheiten anpassen, um keine Veränderung in der Hämodynamik hervorzurufen. Wichtig hierfür sind die verschiedenen Durchmesser des proximalen und distalen Hauptastes. In der interventionellen Kardiologie findet in diesem Zusammenhang das Gesetz von Finet mit $D_0 = 0,678 * (D_1 + D_2)$ Anwendung, welches die Relation des proximalen Hauptastes (D_0) zum distalen Haupt- und Seitenastdurchmesser (D_1 und D_2) beschreibt [6].

Auch die Komplexität der Bifurkationsläsion entscheidet über die Wahl der Technik. Für komplexe Bifurkationsstenosen wird in der Regel die Zwei-Stent-Technik empfohlen [7]. Liegt nach DEFINITION II-Kriterien keine komplexe Bifurkationsstenose vor, wird das provisional Stenting mit der Implantation eines Stents in den Hauptast bevorzugt. Die Stentgröße orientiert sich dabei am Durchmesser des in der Regel kleineren distalen Hauptastes [8]. Liegt nach der Intervention eine relevante Seitaststenose <70 % vor, kann ein „Kissing-balloon“-Manöver (KISS) durchgeführt werden, bei dem simultan ein Ballon im Haupt- und Seitast expandiert wird. Als nächste Eskalationsstufe steht die „T and Protrusion“-Technik (TAP) zur Verfügung, mit der der Seitast ebenfalls gestentet werden kann.

Die TAP-Technik wird außerdem direkt als Zwei-Stent-Technik für Läsionen mit Seitast-abgangswinkel < 70° angewendet. Nach Implantation des ersten Stents in den Hauptast erfolgt eine moderate Dilatation des Seitastes durch die Stentstreben hindurch („side-branch opening“) und anschließend die Einbringung des Seitast-Stents. Es folgt, wie anschließend bei jeder der folgenden Zwei-Stent-Techniken ein „Kissing-balloon“-Manöver und eine abschließende proximale Optimierungstechnik (POT), um eine ausreichende Apposition des Hauptast-Stents im proximalen Hauptast zu erreichen.

Für Seitast-Abgangswinkel > 70° kann das „Modified T-Stenting“ angewandt werden. Hierbei wird zunächst ein Stent in den Seitast implantiert, während im Hauptast bereits ein Ballon-Katheter liegt. Der Stent sollte bis direkt an das Ostium zurückgezogen werden, um die gesamte Bifurkation abzudecken. Im nächsten Schritt wird der Hauptast gestentet.

Liegen zu einem Abgangswinkel > 70° noch deutliche Unterschiede im Durchmesser des proximalen und distalen Hauptastes vor, ist die „Modified Mini-crush“-Technik vorzuziehen [9, 10]. Zu Beginn wird wieder der Seitast gestentet, wobei der Stent 1-2 mm in den Hauptast ragt. Dann wird ein Stent in den Hauptast eingebracht. Durch die Expansion des Hauptast-Stents werden die Stent-Streben des Seitast-Stents nun an die Gefäßwand des Hauptastes gedrückt („crush“). Um den Zugang zum Seitastostium zu erhalten, wird der Hauptast-Stent am Seitastabgang dilatiert.

Ein ebenfalls bei großen Unterschieden der Gefäßdurchmesser angewandtes Verfahren ist die „Double kiss cruch“-Technik, in der ein zweimaliges „Kissing-balloon“-Manöver Anwendung findet [11]. Ebenfalls wie bei der „Mini crush“-Technik wird mit dem Seitast-Stenting begonnen, wobei der Stent 1-2 mm in den Hauptast ragt. Der Draht und der Ballon werden aus dem Seitast entfernt und es folgt die Hauptast-Dilatation mit dem „crush“ des Seitast-Stents. Es folgt das erste „Kissing-balloon“-Manöver, um die überlappenden Stentstreben im Bereich des „crush“ zu erweitern und die Apposition der Streben an die Gefäßwände zu optimieren. Jetzt folgt das Stenting des Hauptastes mit nachfolgender erneuter Sondierung des Seitastes und anschließendem zweiten „Kissing-balloon“-Manöver sowie POT.

Ist der Unterschied des proximalen und distalen Gefäßdurchmessers gering und liegt ein Abgangswinkel < 70° vor, findet die „Culotte“-Technik Anwendung [12]. Hierbei wird zunächst der Seitast, vom Hauptast ausgehend sondiert, sodass der Stent den proximalen Hauptast und den Seitast abdeckt. Im nächsten Schritt wird der Hauptast dilatiert, sodass die Stentmaschen im Abgangsbereich geweitet werden. Es wird nun ein Hauptast-Stent gelegt, wobei sich die beiden Stents im proximalen Hauptast überlappen. Diese Überlappung sollte so klein wie möglich gehalten werden. Durch Sondierung des Seitastes wird der Zugang zu diesem wiederhergestellt.

Die Implantationsstrategien bei Bifurkation sind sehr komplex und müssen bei jedem Patienten individuell abgestimmt werden. Die unterschiedlichen Implantationsstrategien haben alle risikoreiche Schritte. Generell finden Bifurkationsstent-Devices nur bedingt Einsatz im klinischen Alltag, da sie noch nicht die entsprechende Flexibilität, eine komplizierte und komplikationsanfällige Positionierbarkeit, sowie Einbringbarkeit (Delivery) aufweisen. Die Daten wurden analysiert und dem Konsortium zur Entwicklung von neuen Implantatdesigns zur Verfügung gestellt, um die Versorgung von Bifurkationsstenosen zu erleichtern und zu verbessern.

- [1] Lefvre T, Louvard Y, Morice M-C, Dumas P, Loubeyre C, Benslimane A, et al. Stenting of bifurcation lesions: Classification, treatments, and results. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2000; doi:10.1002/(SICI)1522-726X(200003)49:3<274::AID-CCD11>3.0.CO;2-N.
- [2] Medina A, Suárez de Lezo J, Pan M. A New Classification of Coronary Bifurcation Lesions. *Revista Española de Cardiología (English Edition)*. 2006; doi:10.1016/S1885-5857(06)60130-8.
- [3] Kim Y-H, Lee J-H, Roh J-H, Ahn J-M, Yoon S-H, Park D-W, et al. Randomized Comparisons Between Different Stenting Approaches for Bifurcation Coronary Lesions With or Without Side Branch Stenosis [eng]. *JACC Cardiovasc Interv.* 2015; doi:10.1016/j.jcin.2015.01.016.
- [4] Chien S, Li S, Shyy YJ. Effects of mechanical forces on signal transduction and gene expression in endothelial cells [eng]. *Hypertension*. 1998; doi:10.1161/01.HYP.31.1.162.
- [5] Murray CD. The Physiological Principle of Minimum Work, I. The Physiological Principle of Minimum Work, I. The Vascular System and the Cost of Blood Volume. *Physiology*. 1962(12):207–14.
- [6] Finet G, Gilard M, Perrenot B, Rioufol G, Motreff P, Gavit L, et al. Fractal geometry of arterial coronary bifurcations: a quantitative coronary angiography and intravascular ultrasound analysis [eng]. *EuroIntervention*. 2008; doi:10.4244/eijv3i4a87.
- [7] Zhang J-J, Ye F, Xu K, Kan J, Tao L, Santoso T, et al. Multicentre, randomized comparison of two-stent and provisional stenting techniques in patients with complex coronary bifurcation lesions: the DEFINITION II trial [eng]. *Eur Heart J*. 2020; doi:10.1093/eurheartj/ehaa543.
- [8] Foin N, Mattesini A, Ghione M, Dall'ara G, Sen S, Nijjer S, et al. Tools & techniques clinical: optimising stenting strategy in bifurcation lesions with insights from in vitro bifurcation models [eng]. *EuroIntervention*. 2013; doi:10.4244/EIJV9I7A144.
- [9] Yang H-M, Tahk S-J, Woo S-I, Lim H-S, Choi B-J, Choi S-Y, et al. Long-term clinical and angiographic outcomes after implantation of sirolimus-eluting stents with a "modified mini-crush" technique in coronary bifurcation lesions [eng]. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2009; doi:10.1002/ccd.22020.
- [10] Nef HM, Dörr O, Möllmann H, Elsässer A. Bifurkationsläsionen : Wie beurteilen – wie vorgehen? [Bifurcation lesions : How should they be assessed and treated?] [ger]. *Herz*. 2016; doi:10.1007/s00059-016-4465-x.

- [11] Hall AB, Chavez I, Garcia S, Gössl M, Poulose A, Sorajja P, et al. Double kissing crush bifurcation stenting: step-by-step troubleshooting [eng]. *EurolIntervention*. 2021; doi:10.4244/EIJ-D-19-00721.
- [12] Erglis A, Lassen JF, Di Mario C. Technical aspects of the culotte technique [eng]. *EurolIntervention*. 2015; doi:10.4244/EIJV11SVA22.

AP 1.9 Etablierung eines *ex vivo* Bifurkationsmodells zur Simulated-Use-Anwendung und Performance-Analyse gängiger Stentsysteme

(Kardio UR)

Die perkutane Koronarintervention von Bifurkationsstenosen stellt nach wie vor eine Herausforderung in der klinischen Praxis dar. Für die Zugänglichkeit eines Seitenastes ist beim Bifurkationsstenting die Aufweitung einer einzelnen Stentzelle mittels Ballondilatation notwendig.

Zur Einschätzung von gängigen Drug-Eluting-Stents wurden fünf am Markt erhältliche DES getestet, Tab. 4. Dafür wurden sie in das Bifurkationsmodell am STATUS-Prüfstand des Projektpartners IIB eingebracht und expandiert.

Tab. 4: Am Markt verfügbare Wirkstoff-eluerende Stentsysteme zur Bestimmung der Seitast-Expansions-Kapazität im Simulated-Use Bifurkationsmodell (STATUS-Prüfstand).

| Stenttyp | Hersteller | p ¹ [atm] | Material | Wirkstoff | Strutzellen-umfang [mm] | Strudurchmesser [μm] |
|-----------------------|---------------------------------|-------------------------|----------|-------------|-------------------------|-----------------------------------|
| Orsiro | BIOTRONIK | 15 | CoCr | Sirolimus | 11 | 60 |
| Xience Sierra | Abbott | 15 | CoCr | Everolimus | 12 | 81 |
| Promus Premier Select | Boston Scientific | 16 | PtCr | Everolimus | 16 | 81 |
| Resolute Integrity | Medtronic | 15 | CoCrNi | Zotarolimus | 14 | 89 |
| Supraflex Cruz | Sahajanand Medical Technologies | 16 | CoCr | Sirolimus | 19 | 60 |

¹ Berstdruck (p) bei 3 mm Ballondurchmesser

Sowohl das Stentdesign als auch die Zellengröße haben einen Einfluss auf die Seitenast-Aufweitung. Zur Analyse wurden n=10 repräsentative Zellen jeder Stentplattform untersucht, die zuvor im Modell einer Dilatation unterlagen. Der Orsiro mit $10,57 \pm 0,55$ mm hatte den geringsten Zellumfang, während SupraFlex Cruz mit $19,10 \pm 0,11$ mm den größten Zellumfang hatte. Die Zellfläche war bei Promus PREMIER Select und SupraFlex Cruz am größten, bei Orsiro am geringsten. Die Aufweitung einer Strutzelle zur Seitenastexpansion fand mit einem Ballonkatheter Pantera LEO NC (BIOTRONIK, Berlin) von 3,0 mm in 0,25 mm Schritten bis zu 4,0 mm statt.

Es wurde bestätigt, dass die untersuchten Stentzellen der Belastung bei der Überdilatation standhalten. Dabei wurde herausgestellt, dass Stents mit 2 Verbindungsstreben im Vergleich

zu Stents mit mehr als 2 Verbindungsstreben bessere Ergebnisse hinsichtlich der expandierten Zellumfangs liefern. Promus PREMIER Select (3560 µm) und Suprafex Cruz (3913 µm) mit jeweils zwei Konnektoren erreichen eine höhere Zellaufweitung als Orsiro (3006 µm) und Xience Sierra (2887 µm) mit drei Konnektoren [1].

Im Rahmen der Dissertation von Frau Rosam wurde im Bifurkationsmodell eine *in vitro* Messmethode zur Bestimmung der Seitenast-Expansions-Kapazität (SEK) eingeführt [2]. Als SEK wird die Fläche gemessen, die einen möglichen Seitenzugang, sowohl für die Implantation eines zweiten Stents als auch für den direkten Zufluss in den Seitenast schafft. Dafür wird eine Strutzelle mithilfe eines Ballonkatheters und aufsteigenden Durchmessern dilatiert. Nach Ballonaufweitung und –ruckzug wird die Zellgröße optisch mit einem Lichtmikroskop ermittelt, die Vermessung erfolgt über Bildanalysesoftware [3]. Dieser SEK-Wert besitzt eine hohe Aussagekraft für die Entscheidungsfindung in der Kardiologie, um die Offenzelligkeit eines Stentdesigns zu bewerten.

- [1] Öner A, Rosam P, Borowski F et al. Side-branch expansion capacity of contemporary DES platforms. Eur J Med Res 2021; 26(1): 121.
- [2] Rosam P. Beiträge zur Bifurkationstherapie von Koronarstenosen - Biomechanische Grundlagen, experimentelle Untersuchungen und klinische Aspekte. Dissertation. Rostock; 2021.
- [3] Rosam P, Borowski F, Stiehm M et al. Development of an *in vitro* measurement method for improved assessment of the side branch expansion capacity. Current Directions in Biomedical Engineering 2020; 6(3): 442–5.

AP 1.10 Etablierung klinischer Modelle zur Untersuchung von Perforationen *ex vivo* und *in vivo* (Kardio UR)

Im Verlauf einer perkutanen transluminalen Angioplastie (PTCA) im Bereich der Koronargefäße stellt die Gefäßperforation eine seltene, jedoch schwerwiegende Komplikation dar [1, 2]. Ursachen für eine intraoperative Gefäßperforation bestehen bei der Anwendung übergroßer Stent-Devices oder Ballons („Oversizing“), beim Bersten eines Ballons durch zu hohen Inflationsdruck oder durch das Perforieren des Gefäßes mit dem Führungsdraht [2]. Eine schnelle Diagnose und Behandlung der Leckage sind für das Überleben des Patienten unabdingbar. Hierbei kommen je nach Schwere der Perforation verschiedene Behandlungsmöglichkeiten in Frage. Kleine Läsionen lassen sich zuverlässig durch eine Balloninflation und die anschließende Hämostase behandeln [3, 4]. Ein gecoverter Stent bietet eine Möglichkeit größere Leckagen nachhaltig und zuverlässig zu verschließen [5].

In Forschungsvorhaben 12 wurde bereits ein Kaninchen-Perforationsmodell etabliert, welches die *in vivo* Testung neuartiger gecoverter Stents ermöglicht. Dazu wurde die Perforation über einen Zugang der linken *A. carotis* in der *A. iliaca* mittels Ballon-Überdilation oder Perforation mittels Führungsdraht gesetzt und anschließend mit dem zugelassenen gecoverten Stent Papyrus (Biotronik) erfolgreich abgedichtet [6].

Im Interesse der 3R zur Vermeidung, Reduktion und Verbesserung von Tierversuchen sowie zur Erhöhung der Reproduzierbarkeit soll ein Modell einer Gefäßperforation entwickelt werden. In Kooperation mit dem Verbundpartner IIB wurde ein Prüfstand aufgebaut, der die Vorgänge im Tiermodell in einem vereinfachten Modell *ex vivo* nachstellt. In Anlehnung an einen Prüfstand zur Überprüfung der Dichtigkeit von gecoverten Stentsystemen ermöglicht der Aufbau eine Aufzeichnung des Druckes und des Volumenstroms während der Perforation, Abb. 5.

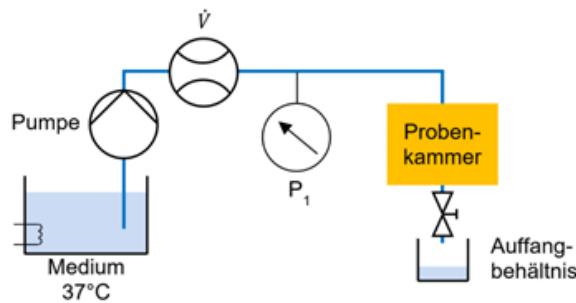


Abb. 5: Schematische Darstellung des *ex vivo* Perforations-Prüfstands

Über eine Schleuse kann ein Katheter, Ballon oder Draht in die Probenkammer vorgeschoben werden. Der Sensor, der für die Regelung und Aufzeichnung des Drucks verwendet wird, ist zwischen Schleuse und biologischer Probe positioniert, Abb. 6.

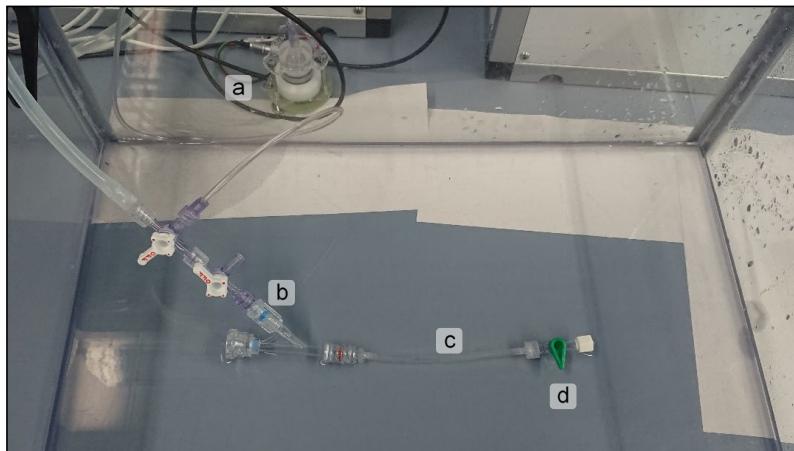


Abb. 6: Probenkammer des *ex vivo* Perforations-Prüfstands. a) Drucksensor, b) Schleuse, c) Probe/Blutgefäß, d) Ventil.

Zunächst wurde die Funktionalität des Aufbaus mithilfe eines Silikonschlauchs (\varnothing 3 mm; Wandstärke 0,5 mm) erprobt. Bei einer erzeugten Perforation des Silikonschlauches von etwa 5 mm kann trotz des austretenden Mediums weiterhin ein konstanter Druck von mindestens 200 mmHg aufrechterhalten werden, Abb. 6. Somit eignet sich der gewählte Aufbau für die Durchführung eines Perforationsversuchs an Blutgefäßen unter physiologischen Druckbedingungen.

Für die Perforation eines Blutgefäßes wird das Gefäß in die Probenkammer eingespannt. Hierbei wurden zunächst frische porcine Karotiden als Vorstufe für fixiertes humanes Material

verwendet. Über die Schleuse wird ein Draht oder ein Katheter in das Gefäß vorgeschoben und das Gefäß mittels der bereits beschriebenen Mechanismen perforiert. Die Perforation wird fotografisch dokumentiert. Während des gesamten Versuchs werden Druck und Volumenstrom durch den Prüfstand aufgezeichnet. Somit kann bestimmt werden, wieviel Volumen an Medium nach der Perforation pro Minute austritt.

Ziel ist es, humane Koronargefäße zu verwenden. Dafür wurden von der Rostocker Gewebebank Biobank IANAT präparierte Koronararterien in den STATUS-Prüfstand eingespannt, wie in Abb. 7 zu sehen. Ein Problem hierbei stellt jedoch die starke Verzweigung und die große Anzahl an Abgängen dar.



Abb. 7: Humane Koronararterien im STATUS-Prüfstand

Als Ausweichgefäße bieten sich periphere Arterien mit ähnlichem Gefäßdurchmesser an. Eine weitere Alternative besteht in der Verwendung eines humanen Herzens, bei dem das Koronarsystem über den *Ramus interventricularis anterior* (RIVA; *left anterior descending*, LAD) angeschlossen wird. Der Vorteil besteht darin, dass kürzere, abgangsfreie Gefäßabschnitte verwendet werden können, da die Gefäße selbst nicht in den Prüfstand eingespannt werden müssen und sich so an die physiologischen Bedingungen angenähert werden kann.

AP 2 Applikationsbereich Ophthalmologie

AP 2.1 Untersuchung der Kammerwasserdynamik nach Stentimplantation mittels Contrast-Enhanced MRI *in vitro* (UAK)

Die minimalinvasive Glaukomchirurgie (minimal invasive glaucoma surgery, MIGS) gewinnt in der Augenheilkunde als Therapie zur Behandlung des Glaukoms durch die Regulation des intraokularen Augendrucks mehr und mehr an Bedeutung. Das Ziel der den MIGS zugrundeliegenden unterschiedlichen Verfahren ist eine Drainage von Kammerwasser aus dem Auge heraus, wodurch der erhöhte Augeninnendruck als Hauptsrisikofaktor der Glaukomerkrankung wieder auf physiologische Werte eingestellt werden soll. Dies wird zum Teil durch verschiedene am Markt etablierte Mikroimplantate realisiert, deren Langzeitfunktionalität oftmals erhebliche Schwächen aufweist, woraus ein erneuter Anstieg des Augeninnendrucks

und somit die Progression des Glaukoms resultiert. Eine nicht invasive Methodik zur Evaluierung der Drainagekapazität applizierter Glaukommikroimplantate gibt es derzeit nicht und war das Ziel dieses Arbeitspaketes.

Zur Evaluierung der Kammerwasserdynamik wurde daher zunächst *ex vivo* an enukleierten Schweineaugen ein Kontrastmittel (DOTAREM®) in die Vorderkammer des Auges injiziert, um die für die Visualisierung notwendigen MRT-Sequenzen zu generieren. Es zeigte sich, dass eine direkte Kontrastmittelinjektion zu einem extrem starken Signal führte, was eine Visualisierung der okularen Strukturen verhinderte. In weiteren Experimenten wurde erfolgreich durch den Einsatz verschiedener Verdünnungen des Kontrastmittels die Signalstärke reduziert und eine adäquate Bildgebung erzielt sowie die notwendigen MRT-Sequenzen angepasst. Innerhalb weiterer Folgeexperimente konnten die MRT-Sequenzen somit optimiert werden. Weiterhin erfolgten bereits erste *ex vivo* Experimente an Kaninchenaugen, in denen das in Forschungsvorhaben 12 entwickelte Glaukomdrainageimplantat (GDI) implantiert und mittels MRT untersucht wurde. Durch die optimierten MRT-Sequenzen konnte das GDI in der mit Kontrastmittel angereicherten Vorderkammer sehr gut visualisiert werden, Abb. 8.

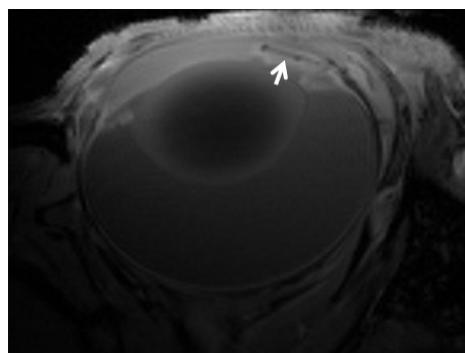


Abb. 8: *Ex vivo* MRT-Bildgebung eines mit Glaukomdrainageimplantat (GDI) versorgten Kaninchenauges, dessen Vorderkammer mit Kontrastmittel (DOTAREM®) angereichert wurde. Der Pfeil deutet auf das frei in der Vorderkammer gelegene Einstromende des GDIs.

Ein Ausstrom des Kammerwassers über das Implantat in die entsprechenden Drainageräume wurde allerdings noch nicht nachgewiesen. Es zeigte sich in Kooperationsprojekten (FV 12), dass selbst bei einer GDI-Implantation *in vivo* Kammerwassersickerströme entlang des Implantats aus dem Auge heraus auftreten, da das Implantat noch nicht eingehieilt war. Dieses Phänomen trat auch bei den *ex vivo* implantierten GDIs auf, wobei der Implantationskanal eine Leckage darstellt. Unter dem Zustand der Okulopression drainierte daher das Kammerwasser nicht durch das Implantat, sondern am Implantat entlang in den entsprechenden subkonjunktivalen Drainageraum.

Daher wurde ein weiteres bildgebendes Verfahren eingesetzt, die Ultraschallbiomikroskopie (UBM), um hochauflöste Schnittbilder der in Schweine- und Kaninchenaugen implantierten GDI zu erzeugen und die Gewebedurchtrittsstellen näher zu analysieren. Es konnte gezeigt werden, dass innerhalb der *ex vivo* Experimente der Implantationskanal noch deutlich sichtbar

erschien und keine Abdichtung Gewebe-Implantat stattfand. Eine solche mit der UBM visualisierte Leckage ist beispielhaft an einem Kaninchenauge dargestellt, in das ein GDI subkonjunktival drainierend implantiert wurde, Abb. 9.

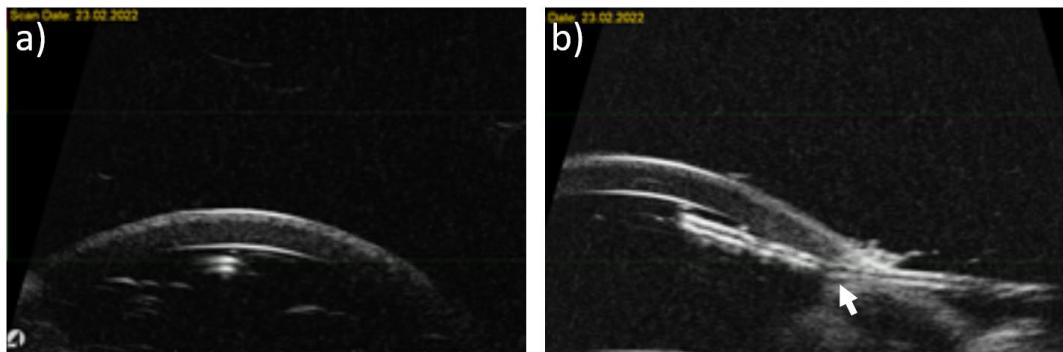


Abb. 9: *Ex vivo* UBM-Bildgebung eines mit Glaukomdrainageimplantat (GDI) versorgten Kaninchenauges. a) Frei in der Vorderkammer liegendes Einstromende des GDIs im Querschnitt. b) Implantiertes und subkonjunktival drainierendes GDI im Längsschnitt. Der Pfeil markiert den für Sickerströme bzw. Leckagen verantwortlichen und noch geöffneten Implantationskanal.

Im Anschluss wurden die Augen zusätzlich mittels MikroCT (μ CT, ZEISS Xradia 410 Versa) untersucht, hochaufgelöste Schnittbilder generiert und analysiert. Das MikroCT liefert im Vergleich zur UBM eine noch deutlich höhere Auflösung, wodurch die nach der GDI-Implantation verbliebenen Implantationskanäle und Leckagen entlang des gesamten Implantats dargestellt werden konnten. Eine beispielhafte Darstellung eines mittels MikroCT generierten Schnittbildes und dem deutlich sichtbar fehlenden Implantat-Gewebeschluss eines in ein Kaninchenauge implantierten und subkonjunktival drainierenden GDIs ist in Abb. 10 gezeigt.

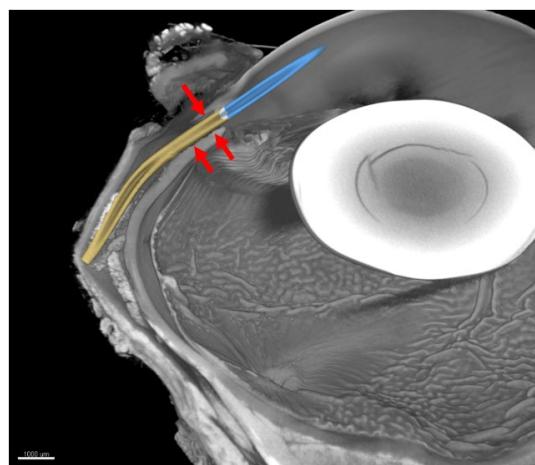


Abb. 10: *Ex vivo* MikroCT-Bildgebung eines mit subkonjunktival drainierenden Glaukomdrainageimplantat (GDI) versorgten Kaninchenauges. Der fehlende Implantat-Gewebeschluss ist durch rote Pfeile markiert. Messbalken: 1000 μ m.

Die fehlende Gewebeabdichtung der Implantate mit den daraus resultierenden Leckagen machten weitere *ex vivo* Untersuchungen unter Okulopressionsbedingungen zur Visualisierung der Kammerwasserdrainage durch das Implantat mittels Contrast-Enhanced MRI

unnötig, da diese erst nach Einheilung des Implantats im longitudinalen *in vivo* Tierexperiment evaluiert werden können.

AP 2.2 Untersuchung der Kammerwasserdynamik nach Stentimplantation mittels Contrast-Enhanced MRI *in vivo* (UAK)

In diesem Arbeitspaket wurden in einem ersten Schritt Kaninchenäugen untersucht, welche *in vivo* zuvor operativ mit in den Suprachoroidalraum drainierenden Glaukommikrostents versorgt wurden. Nach einer Einheilungsphase von 6 Monaten wurde das Tierexperiment beendet und die Augen inklusive der Implantate enukleiert. Um die Einheilung der Glaukommikrostents und die fibrotische Gewebereaktion beurteilen zu können, wurden die Augen mittels MikroCT (μ CT; ZEISS Xradia 410 Versa) hochauflösend untersucht und analysiert. Ein exemplarischer Glaukommikrostent und sein Verlauf im Auge vom Ziliarkörper bis in den Suprachoroidalraum ist in Abb. 11 dargestellt.

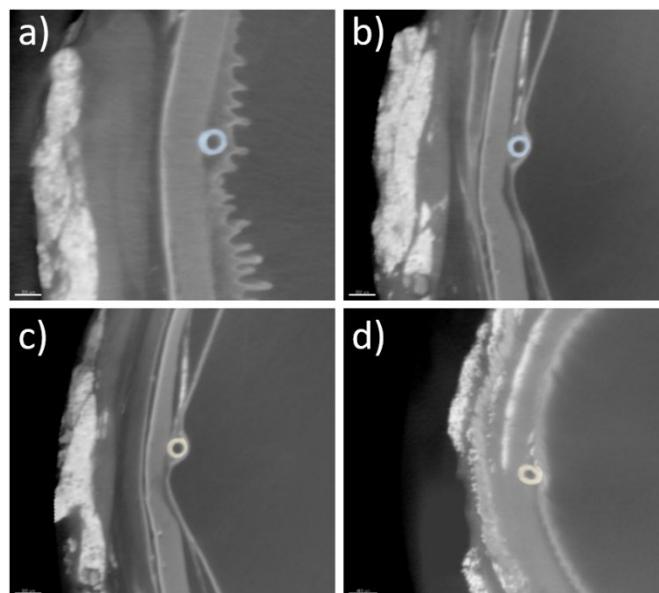


Abb. 11: *Ex vivo* μ CT-Bildgebung eines in ein Kaninchenauge implantierten und suprachoroidal drainierenden Glaukommikrostents. a) Glaukommikrostent (blau) im Querschnitt kurz nach Eintritt in den Kammerwinkel; b) Glaukommikrostent (blau) im Querschnitt auf Höhe der *pars plana*; c) Glaukommikrostent (gelb) im Querschnitt im Suprachoroidalraum; d) Glaukommikrostent (gelb) im Querschnitt im Suprachoroidalraum zwischen Sklera und Choroidea kurz vor dem Ausstromende.

Die μ CT-Untersuchungen zeigten, dass der Glaukommikrostent vom Einstromende in der Vorderkammer bis zum Ausstromende im Suprachoroidalraum an der anatomisch korrekten Position liegt. Es konnten weiterhin keine Gewebereaktionen oder Schädigungen beobachtet werden. Das Lumen der Glaukommikrostents war jeweils über die gesamte Länge frei. Weiterhin konnte erfolgreich dargestellt werden, dass das GDI an den Gewebedurchtrittsstellen vollständig eingewachsen war. Daraus konnte geschlossen werden, dass sechs Monate postoperativ im Falle einer Okulopression keine Sickerströme oder Leckagen entlang

des Implantats, sondern ein Ausstrom des Kammerwassers durch das Implantat in die entsprechenden Sickerräume stattfindet. Da die MikroCT-Bildgebung jedoch lediglich *ex vivo* durchgeführt werden kann und eine Endpunkt-Messung darstellt, konnte der postoperative Zeitpunkt, ab dem das GDI an den Durchtrittsstellen eingewachsen ist, nicht bestimmt werden. In einem nächsten Schritt wurden in einem *in vivo* Experiment an Kaninchen erste kontrastmittelbasierte MRT-Untersuchungen bei 7 Tesla zur Evaluation der Kammerwasserodynamik nach Stentimplantation durchgeführt, Abb. 12. Die Kaninchen (n=6) wurden in FV12 minimalinvasiv mit einem in den Tenon'schen Raum drainierenden Glaukommikrostent versorgt. Die *in vivo* Untersuchungen erfolgten nach einer Implantatverweildauer von 6 Monaten. Hierzu wurde den Tieren intravenös das Kontrastmittel DOTAREM® (0,4 mmol/kg) verabreicht, welches sich nach 10 min bereits im Ziliarkörper der Tiere anreicherte, Abb. 12b. Nach weiteren 10 min reicherte sich das Kontrastmittel im Kammerwasser der Tiere an und ist auch unter der Bindegrenze im Tenon'schen Raum nachweisbar, Abb. 12c. Eine Verlängerung der Untersuchungsdauer um zusätzliche 30 Minuten zeigte eine fortschreitende Anreicherung des Kontrastmittels in der Vorderkammer, ein gesteigerter Kontrast unter der Bindegrenze konnte jedoch nicht nachgewiesen werden.

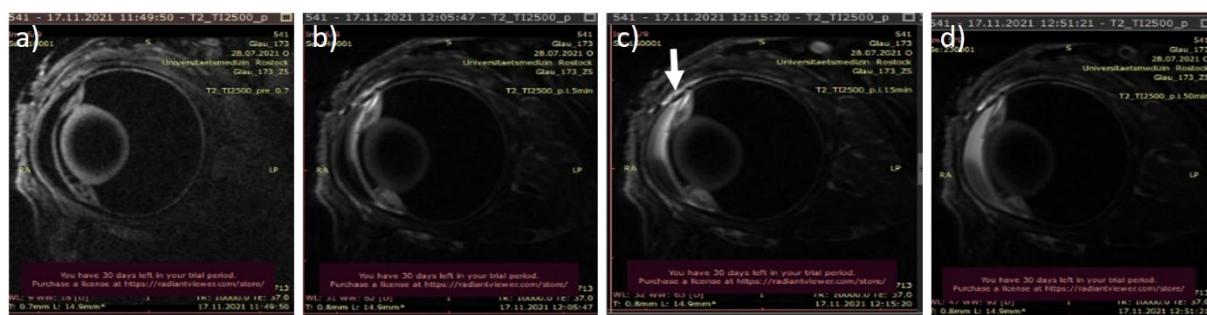


Abb. 12: *In vivo* MRT-Bildgebung eines in ein Kaninchenauge implantierten und subkonjunktival drainierenden Glaukommikrostents nach Kontrastmittelgabe (DOTAREM®, 0,4 mmol/kg). a) T2 TurboRARE Sequenz des Auges direkt nach Kontrastmittelgabe; b) 10 Minuten nach Kontrastmittelgabe Anreicherung im Ziliarkörper; c) 20 Minuten nach Kontrastmittelgabe Anreicherung in der Vorderkammer und unter der Bindegrenze (Pfeil); d) 50 Minuten nach Kontrastmittelgabe weitere Anreicherung in der Vorderkammer.

Als Ergebnis dieses Arbeitspaketes kann festgehalten werden, dass das in der Vorderkammer angereicherte Kontrastmittel das Auge über den Glaukommikrostent wieder verlassen und unter die Bindegrenze geleitet werden kann, womit eine Drainage über das Implantat nachgewiesen wurde. Es konnten erfolgreich mittels Contrast-Enhanced MRI die notwendigen Konzentrationen des Kontrastmittels sowie die zur Visualisierung notwendigen Untersuchungsprotokolle/Sequenzen etabliert werden. Wesentliche Grundlagen für eine longitudinale Tierstudie, die Aufschluss über den postoperativen Zeitpunkt des Einwachsens des Implantats und die Drainagekapazität unter Okulopressionsbedingungen geben kann, konnten somit gelegt werden.

AP 3 Applikationsbereich Hals-Nasen-Ohrenheilkunde

AP 3.8 Etablierung und Testung von Drug-Eluting Beschichtungen und Stents (IBMT)

Im Rahmen des vorliegenden Arbeitspaketes wurde eine Degradationsstudie mit polymeren Tubenstents durchgeführt, um das Abbauverhalten der Stents zu bewerten. Hierfür wurden sowohl Stents aus dem etablierten Stentwerkstoff Poly(L-lactid) (PLLA) als auch Stents aus den schneller degradierenden PLLA/PEG-Copolymeren LP t 16 und LP t 46 (vgl. Forschungsvorhaben 12, AP 2.5 und 4.14) analysiert. Die Degradation erfolgte beschleunigt bei 55 °C in einem Phosphatpuffer nach Sörensen mit einem pH-Wert von 7,38. Zu den Entnahmzeitpunkten (0, 2, 4 und 6 Wochen) erfolgten umfangreiche Analysen der degradierten Stents. So wurden u.a. der Masseverlust der Proben, die Molmassen mittels Größenausschluss-Chromatographie (GPC), die Oberflächenmorphologie mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM), die thermischen Eigenschaften durch dynamische Differenzkalorimetrie (DSC) sowie die mechanischen Eigenschaften der Stents untersucht. Exemplarische Ergebnisse (Masseverlust und Molmasse) sind in Abb. 13 dargestellt.

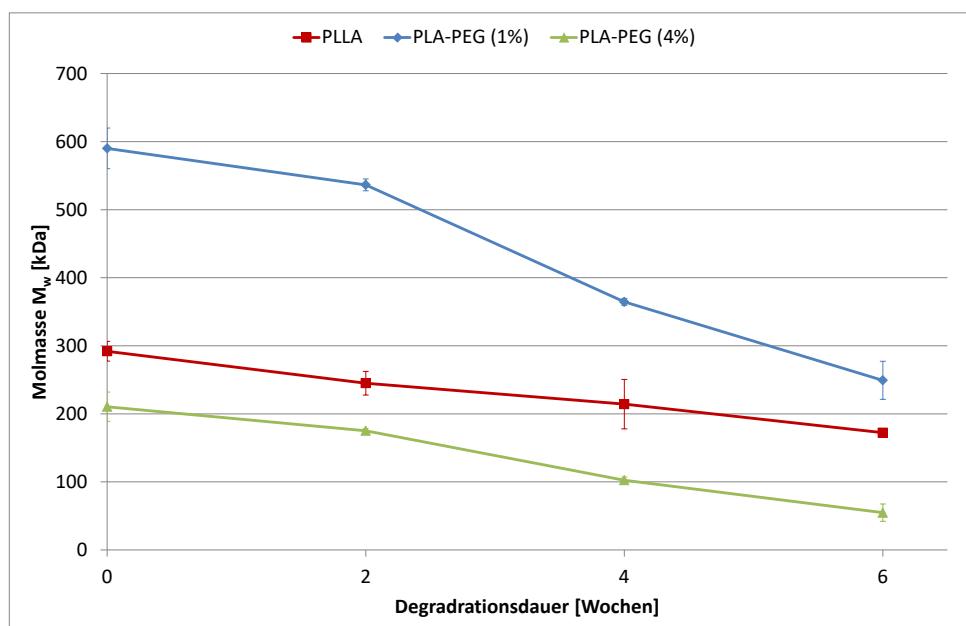


Abb. 13: Prozentualer Masseverlust (A) sowie Molmasse (B) von PLLA L210, PLLA-co-PEG LP t 16 und PLLA-co-PEG LP t 46 in Abhängigkeit von der Degradationszeit

Weiterhin konnten Methoden zur Erzeugung von Drug-Eluting-Beschichtungen aufgebaut und erprobt werden. So wurden u.a. wirkstofffreisetzende Polymer-Beschichtungen auf zwei verschiedenen Stentdesigns der selbstexpandierenden Nitinol-Tubenstents des Verbundpartners bess erzeugt und analysiert. Es wurden zwei Beschichtungssysteme erprobt: zum einen eine Sirolimus-freisetzende Poly(L-lactid) (PLLA)-Beschichtung mit einem Massenverhältnis von PLLA/Sirolimus 80/20 % und zum anderen eine Dexamethason-freisetzende PLLA-Beschichtung ebenfalls mit einem Massenverhältnis von PLLA/Dexamethason 80/20 %.

Nach der Adaptierung des Beschichtungsaufbaus an die Stentgeometrie wurde die mit Chloroform als Lösungsmittel erzeugte Beschichtungslösung im Airbrush-Verfahren (Sprühbeschichtung) auf die Stents aufgebracht. Die Ziel-Schichtmasse lag dabei bei $8 \mu\text{g}/\text{mm}^2$, was entsprechend der Stentoberfläche zu einer absoluten Schichtmasse von $744 \mu\text{g}$ bei Stentdesign 1 und $856 \mu\text{g}$ bei Stentdesign 2 und einer Schichtdicke von ca. $7 - 10 \mu\text{m}$ führt. Im Anschluss an den Sprühprozess wurden die beschichteten Stents für $13,5 \text{ h}$ bei 80°C getempert, um Lösungsmittelreste zu entfernen. Pro Kombination Stentdesign/Beschichtungssystem wurden acht Stents für eine anschließende morphologische und Freisetzungsanalyse beschichtet.

Zur Bewertung der Morphologie der Beschichtung wurden Stent-Prototypen rasterelektronenmikroskopisch untersucht. Die folgende Abbildung zeigt exemplarische Aufnahmen für die Kombination Stentdesign 1/Beschichtungssystem PLLA-Dexamethason.

Anschließend wurden Freisetzungsstudien der Wirkstoffe Sirolimus und Dexamethason aus den Stentbeschichtungen durchgeführt. Die Freisetzung erfolgte in $0,9\%$ Natriumchlorid (NaCl) bei 37°C . Bei der Sirolimus-Schicht wurden dem Medium zur Stabilisierung des Sirolimus die Zusätze BHT und Brij35 beigemischt. Die Freisetzung von Sirolimus zeigt einen typischen Verlauf: innerhalb der ersten Woche erfolgt ein sogenannter burst release, bei dem ca. $40 - 50\%$ des Wirkstoffes freigesetzt werden, Abb. 14A. Hier sind es vor allem oberflächennahe Wirkstoffmoleküle, die aus dem Coating diffundieren. Danach verlangsamt sich der Anstieg und geht bis zum Ende der Untersuchung in ein lineares Verhalten über. Aufgrund der geringen Löslichkeit von Dexamethason in Wasser (ca. 80 mg/L) ist hier von Beginn an nur eine geringe Freisetzung messbar, Abb. 14B. Andererseits verläuft diese dadurch über den gesamten Untersuchungszeitraum nahezu gleichmäßig linear. Da nach 50 Tagen erst ca. fünf Prozent des Wirkstoffes abgegeben wurden, wird eine langanhaltende, chemisch kontrollierte Freisetzung über mehrere Monate angenommen, die durch den Abbau des Polylactids gesteuert wird.

Die alternative Verwendung von LP t 16 und LP t 46 als polymere Matrix führt zu einem deutlich schnellerem Freisetzungsverhalten, dass dem von Sirolimus aus PLLA ähnelt. Auch hier ist zunächst ein burst release zu beobachten, dem dann eine stetig langsamer werdende Freisetzung über mehrere Wochen folgt. Im Falle von LP t 16 werden nach 16 Wochen ca. 10% des inkorporierten Wirkstoffes freigesetzt. Bei LP t 46 wird in dieser Zeit nahezu das gesamte Wirkstoffdepot entleert, vgl. Abb. 14.

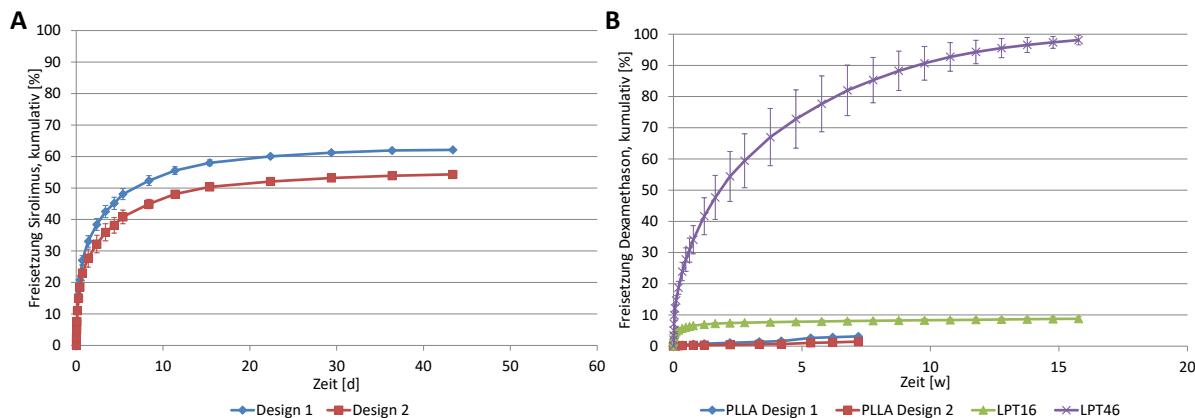


Abb. 14: Wirkstofffreisetzung aus Nitinolstents (2 Designs) mit PLLA/SIR (80%/20% w/w)-Beschichtung, Elution in 0,9 % NaCl + 0,05 % Brij 35 + 0,0003 % BHT (A) bzw. PLLA/DMS, LPt 16/DMS und LPt 46 (80%/20% w/w)-Beschichtung, Elution in 0,9 % NaCl (B), bei 37 °C und 100 rpm, n=3

AP 3.9 Zulassungsrelevante Fragestellungen für einen Tubenstent zur Therapie der chronischen Tubenventilationsstörung (IBMT)

Für die Entwicklung eines Tubenstents zur Behandlung gestörter Tubenfunktionen erfolgte im Projektzeitraum die biologische Bewertung vorab ausgewählter Polymerfolien (LPT46, LPT16). Die Biokompatibilität wurde im Direktkontakttest mit humanen Fibroblasten (HT-1080) sowie humanen Endothelzellen (EA.hy926) mittels Zellvitalitätstest und Fluoreszenzmikroskopie beurteilt, Abb. 15 und Abb. 16.

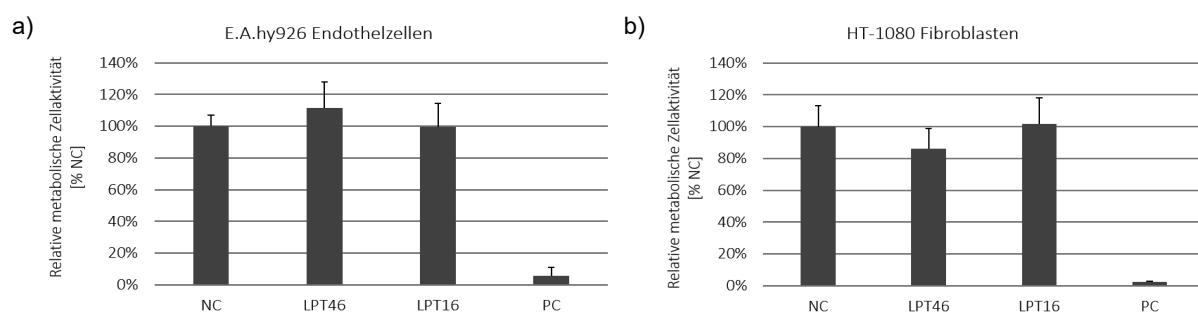


Abb. 15: Relative metabolische Zellaktivität a) humaner Endothelzellen und b) humaner Fibroblasten nach 48 h im Direktkontakt auf LPT46 und LPT16-Folien. Die Werte sind auf die Negativkontrolle (100 %) relativiert, dargestellt sind die MW ± STABW.

Die metabolische Zellaktivität wies auf den untersuchten Materialien zellspezifische Unterschiede auf und lag in allen Gruppen über den für Medizinprodukte zulassungsrelevanten 70 %. Exemplarische Aufnahmen zeigten auf allen Oberflächen einen dichten Zellrasen und eine unveränderte Zellmorphologie.

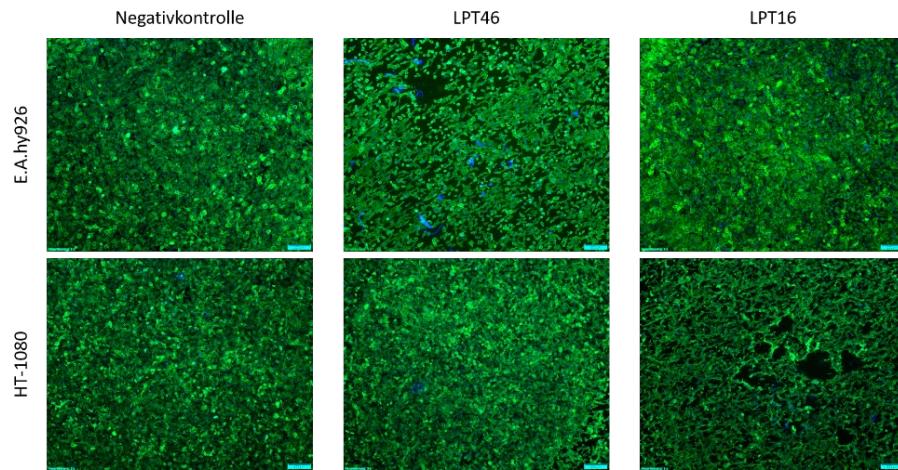


Abb. 16: Exemplarische fluoreszenzmikroskopische Darstellung humaner Endothelzellen (EA.hy926) und Fibroblasten (HT-1080) nach 48 h im Direktkontakt auf LPT46 und LPT16-Folien. Zellkerne in blau, Aktinskelett in grün dargestellt.

Weiterhin erfolgte eine GLP-Prüfung zur Beurteilung der Zytotoxizität ausgewählter Materialien mit Integration von Wirkstoffen an humanen Fibroblasten über 48 h im Direktkontakt nach DIN EN ISO 10993-5. Bei den Prüfgegenständen handelte es sich um Prüfkörper aus dem Grundmaterial Poly(L-lactid) (PLLA) sowie LPT46, Tab. 5. Neben den unbehandelten Referenzen wurden Polymerprüfkörper mit Zusatz von Sirolimus und Dexamethason sowie einer Kombination von beiden Wirkstoffen untersucht. Um den Einfluss der ausgewählten Wirkstoffe besser darzustellen, wurden die jeweiligen Werte auf die dazugehörige Materialreferenz bezogen, Abb. 17.

Tab. 5: Liste der Prüfgegenstände

| Probenbezeichnung | Spezifikation/Material |
|-------------------|---|
| PLLA_Ref | PLLA Referenz |
| PLLA_Si | PLLA + 20 wt% Sirolimus |
| PLLA_Dex | PLLA + 20 wt% Dexamethason |
| PLLA_Si_Dex | PLLA + 10 wt% Sirolimus + 10 wt% Dexamethason |
| LPT46_Ref | LPT46 Referenz |
| LPT46_Si | LPT46 + 20 wt% Sirolimus |
| LPT46_Dex | LPT46 + 20 wt% Dexamethason |

In beiden Materialgruppen resultiert das Immunsuppressivum Sirolimus in einer deutlich verminderten Zellaktivität. Dexamethason als entzündungshemmender Wirkstoff führte bei humanen Fibroblasten auf PLLA zu einer weiteren Reduktion der Zellaktivität, während diese auf LPT46 zwar deutlich vermindert war, jedoch über der von Sirolimus-haltigem LPT46 lag. Auch eine Kombination beider Wirkstoffe in PLLA hatte keinen positiven Einfluss auf die Zellaktivität der Zellen auf PLLA.

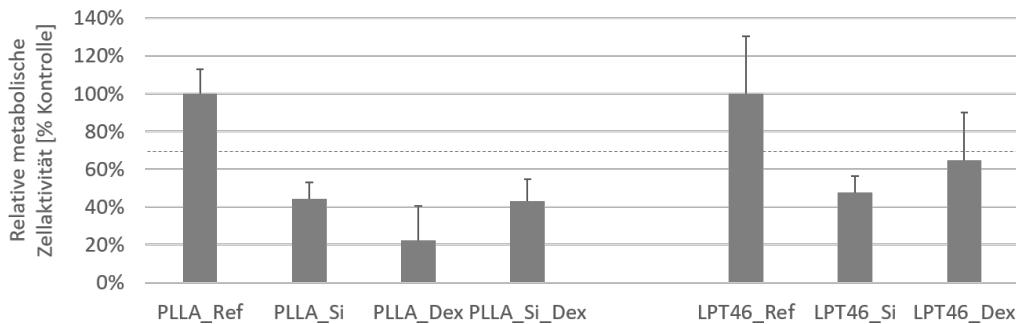


Abb. 17: Relative metabolische Zellaktivität humaner Fibroblasten nach 48 h im Direktkontakt auf LPT46 und PLLA-Folien mit Sirolimus und Dexamethason. Die Werte sind auf die jeweilige Materialreferenz (100 %) relativiert, dargestellt sind die MW ± STABW.

Anhand der Ergebnisse aus den durchgeführten *in vivo* Versuchen im Tiermodell Schaf beim Verbundpartner MHH innerhalb des Forschungsvorhabens 12 konnten Erkenntnisse zu geeigneten Parametern sowie zu erforderlichen Modifikationen des entwickelten biodegradierbaren polymeren Tubenstents gewonnen werden (vgl. FV 12, AP 7.3):

- Eignung der gewählten Stentlänge (15 mm) in Kombination mit der Implantationsposition in der Tube, sodass Ventilfunktion der Tube erhalten bleibt
- Hinreichende Radialkraft der Stents zur Öffnung der Tube
- Verbesserung der Haftung der Röntgenmarker in den Polymerstents erforderlich
- Anpassung des Stentdesigns und der Auswahl des Durchmessers der Ballonkatheter zur Erzielung eines größeren Tubendurchmessers durch Polymerstentimplantation

Zur Evaluierung einer entsprechenden neuen Polymerstentgeneration für die Tubenapplikation können die im Rahmen von RESPONSE entwickelten und etablierten Prüfmethoden zur Analyse *in vitro*, *ex vivo* und *in vivo* genutzt werden.

AP 5 Applikationsbereich Gastroenterologie

AP 5.5 Benchmarking marktüblicher gastroenterologischer Stentsysteme

(IBMT)

Ziel des vorliegenden Arbeitspaketes war die Analyse der morphologischen und mechanischen Eigenschaften von klinisch etablierten Stentsystemen zur Drainage von Pankreaspseudozysten, um Erkenntnisse für neue Stentkonzepte zu gewinnen. Hierbei konnte auf Prüfgeräte und -methoden, welche im Prüflabor für kardiovaskuläre Produkte des Verbundpartners IIB für vaskuläre Stents etabliert sind, zurückgegriffen werden.

Kommerziell verfügbare Stentsysteme, welche beim Verbundpartner Gastro UMG klinisch eingesetzt werden, wurden für eine vergleichende Untersuchung bereitgestellt. Dabei handelt es sich um den Hot AXIOS Stent der Firma Boston Scientific sowie um zwei verschiedene Größen des NAGI Stents des Herstellers Taewoong Medical.

Um die Stents vergleichend darstellen und spezifische Designelemente zu identifizieren zu können, wurden zunächst makrofotografische Aufnahmen der Stents angefertigt, Abb. 18. Eine wesentliche Untersuchung zur Bestimmung der Stentgeometrien und -abmaße, um daraus Rückschlüsse für gängige bzw. geeignete Stentdimensionen zu ziehen, war eine Profilvermessung der Stents. Hierfür wurde der im Prüflabor des IIB vorhandene Prüfstand DIAMES genutzt, welcher eine automatisierte Vermessung mit einem 2-Achsen-Laserscanner ermöglicht. Die resultierenden Stendurchmesser und Längen der unterschiedlich geformten Stentabschnitte sind Abb. 18 für die untersuchten Stents dargestellt.

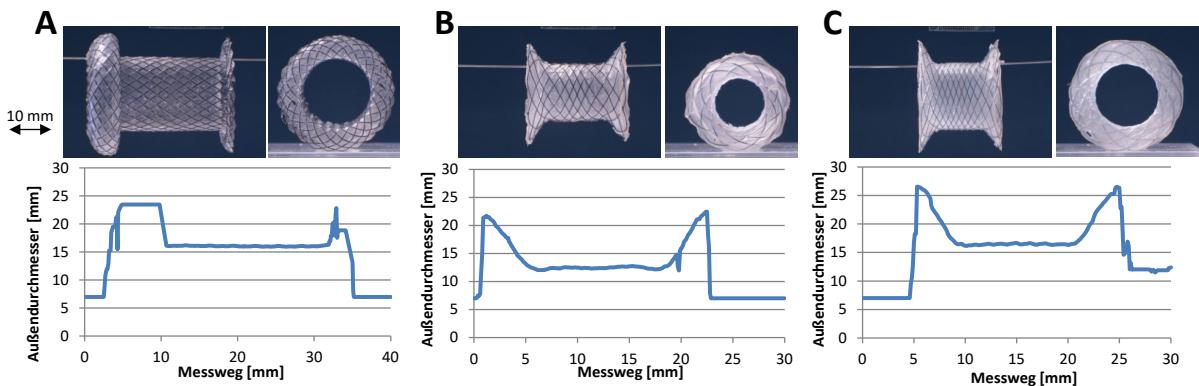


Abb. 18: Makrofotografische Aufnahmen und Profile der untersuchten Stents: (A) Hot AXIOS 15 mm (Boston Scientific), (B) NAGI Stent 12 mm (Taewoong Medical), (C) NAGI Stent 16 mm (Taewoong Medical)

Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen dienten der Analyse der Oberflächenstruktur der Stents, insbesondere der Verbindungen der einzelnen Stentstruts sowie des Polymercovers zwischen den Struts. Exemplarische Aufnahmen sind in Abb. 19 dargestellt.

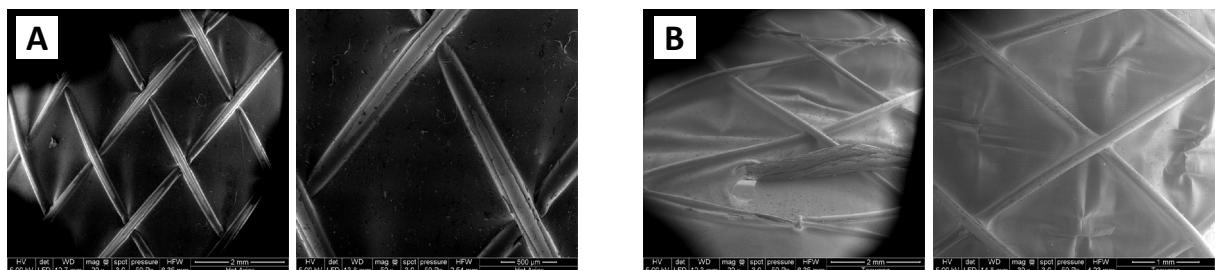


Abb. 19: Exemplarische REM-Aufnahmen des Hot AXIOS Stents (Boston Scientific) (A) und NAGI Stents (Taewoong Medical) (B)

Zur Bewertung und zum Vergleich der radialen Festigkeit der Stents wurden Radialkraftmessungen des zylindrischen, mittleren Stentabschnitts durchgeführt und die Radialsteifigkeit der Stents bestimmt. Hierfür wurde ein Prüfaufbau mit V-förmigen Aufnahmen in Verbindung mit der Universalprüfmaschine Zwick/Roell Z2.5 verwendet, Abb. 20 A. Resultierende Kraft-Durchmesser-Pfade sind in Abb. 20 B – D dargestellt.

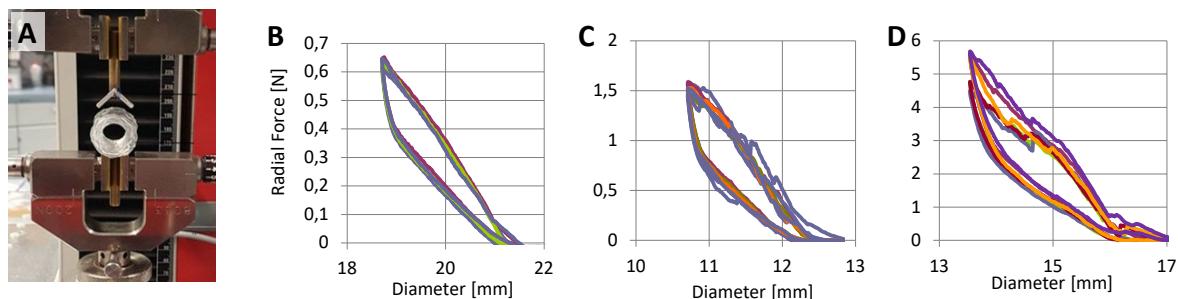


Abb. 20: Prüfaufbau (A) und resultierende Kraft-Durchmesser-Diagramme der Radialkraftmessungen des zylindrischen Stentabschnitts der untersuchten gastroenterologischen Stents: (B) Hot AXIOS 15 mm (Boston Scientific), (C) NAGI Stent 12 mm (Taewoong Medical), (D) NAGI Stent 16 mm (Taewoong Medical)

Durch den Verbundpartner Gastro UMG wurden zudem explantierte Stents bereitgestellt, welche hinsichtlich intraoperativ entstandener Fehlstellen untersucht, welche das Ergebnis der Stentimplantation möglicherweise beeinträchtigen können. Hierfür musste zunächst das anhaftende biologische Gewebe entfernt werden, ohne eine Schädigung des Stentmaterials, insbesondere des Polymercovers, zu erzeugen. Hierfür wurden die Stents über mehrere Tage in wässriger Lösung mit Natriumhydroxid (5 mol/l) gelagert, bis alle Gewebeanhäftungen gelöst waren. Anschließend wurden die Stents mikroskopisch untersucht und Fehlstellen dokumentiert. In Abb. 21 sind exemplarische mikroskopische Aufnahmen eines Hot AXIOS Stents dargestellt. Es zeigten sich keinerlei Fehlstellen im metallischen Grundgerüst der Stents, jedoch gelegentliche Risse im Polymercover. Diese können *in vivo* zu einer vermehrten Anhaftung biologischen Materials und somit zu einem Verkleben/Verschluss der Stents führen.

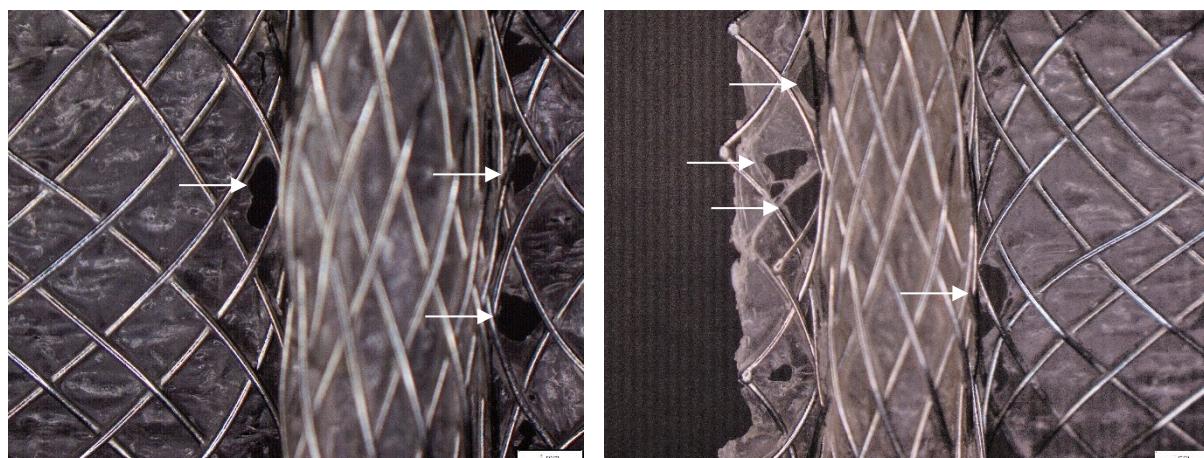


Abb. 21: Exemplarische mikroskopische Aufnahmen eines explantierten und gereinigten Hot AXIOS Stents. Fehlstellen im Polymercover des Stents sind mit weißen Pfeilen markiert.

AP 5.6 Entwicklung eines *in vitro* Degradationssystems und Benchmarking der Biokompatibilität

(IBMT)

Im Förderzeitraum wurden zur Beurteilung ausgewählter Biomaterialien zur Anwendung als gastroenterologische Stents Caco-2 Zellen als *in vitro* Modell etabliert. Es handelt sich dabei um eine immortalisierte humane Darmkrebs-Zelllinie. Im Rahmen einer GLP-Prüfung wurden wirkstoffhaltige Poly(L-lactide) (PLLA)- sowie LPT46-Folien im Direktkontakttest mit den Darmzellen über 48 h hinsichtlich ihrer Zytotoxizität nach DIN EN ISO 10993-5 beurteilt. Neben unbehandelten Referenzen wurden Polymerprüfkörper mit Zusatz des Immunsuppressivums Sirolimus und entzündungshemmendes Dexamethason sowie einer Kombination von beiden Wirkstoffen (PLLA) untersucht. Die in Tab. 6 aufgeführten Prüfgegenstände (PG) wurden untersucht.

Tab. 6: Verwendete Prüfgegenstände (PG)

| Probenbezeichnung | Spezifikation/Material |
|-------------------|---|
| PLLA_Ref | PLLA Referenz |
| PLLA_Si | PLLA + 20 wt% Sirolimus |
| PLLA_Dex | PLLA + 20 wt% Dexamethason |
| PLLA_Si_Dex | PLLA + 10 wt% Sirolimus + 10 wt% Dexamethason |
| LPT46_Ref | LPT46 Referenz |
| LPT46_Si | LPT46 + 20 wt% Sirolimus |
| LPT46_Dex | LPT46 + 20 wt% Dexamethason |

Nach 46 h Inkubation auf den PG wurden alle Zellkulturüberstände durch 10 % CellQuanti Blue Reagenz (Resazurin) in Wachstumsmedium ersetzt und für weitere 2 h unter Standardbedingungen inkubiert. Hierbei wird Resazurin durch zelluläre Reduktasen zu Resorufin reduziert. Im Anschluss an die Inkubationszeit wurde das Medium in eine neue Mikrotiterplatte überführt. Die entstandene Resorufin-Fluoreszenz wurde mit dem Mikrotiterplatten-Leser FLUOstar Omega bei einer Anregungswellenlänge von 544 nm und einer Emissionswellenlänge von 590 nm gemessen. Die relative Zellvitalität der Probe ist der Quotient aus dem gemessenen Wert der Probe und dem Mittelwert der Messwerte der negativen Kontrollreferenz (NC), Abb. 22.

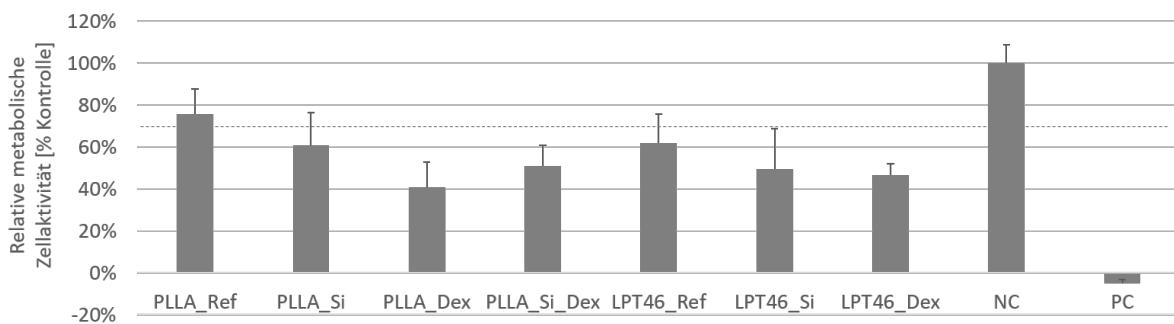


Abb. 22: Relative metabolische Zellaktivität humaner Darmzellen nach 48 h im Direktkontakt auf LPT46 und PLLA-Folien mit Sirolimus und Dexamethason. Die Werte sind auf die Negativkontrolle (100%) relativiert, dargestellt sind die MW ± STABW.

Die Methode des Direktkontaktests wurde angewendet, um einen möglichen zytotoxischen Einfluss des Grundmaterials sowie der unterschiedlichen Wirkstoffmodifikationen des Materials auszuschließen. Ausgehend von den Messdaten gelten alle untersuchten PG, außer der PLLA-Referenzprobe, als zytotoxisch im Sinne der DIN EN ISO 10993-5, da die zulässige Mindestgrenze bei 70 % relativer Zellaktivität liegt. Sowohl die oberflächenspezifischen Eigenschaften der Polymermaterialien, deren Herstellungsprozess (Prozessschritte, Reinigung, Sterilisation) als auch die zugegebenen Wirkstoffe können demnach einen zytotoxischen Einfluss auf die verwendeten humanen epithelialen Darmzellen haben.

Für die Analyse der Degradation gastroenterologischer Stents wurde eine Degradationsumgebung erarbeitet, welche den physiologischen Bedingungen am Zielort entspricht. Die am Markt erhältlichen und zur Drainage von Pankreaspseudozysten klinisch eingesetzten Lumen Apposing Metal Stents (LAMS) bestehen aus einem Stentgerüst aus Nitinol, welches mit einem biostabilen Polymercover (meist Silikon) überzogen ist. Exemplarisch ist hierzu ein nach klinischem Einsatz explantierter Hot AXIOS LAMS in Abb. 23 dargestellt, bei dem keine Degradation des Materials erkennbar ist. Bisher sind keine Stents verfügbar, welche eine abbaubare Komponente aufweisen. Aus diesem Grund wurde das entwickelte Degradationsmedium noch nicht praktisch eingesetzt, steht aber für sich ergebende Fragestellungen zur Verfügung. Aufgrund der Stabilität der Stents *in vivo* gibt bisher keine Endpunktdata, sodass das Medium zwar zur Verfügung steht, für eine beschleunigte Testung zukünftig aber noch auf die Degradationszeit angepasst werden muss. Die verwendeten LAMS zur Drainage von Pankreaspseudozysten werden meist als Verbindung zwischen Pseudozyste und Magen implantiert. Der Inhalt der Pseudozysten besteht aus seröser bis hämorrhagischer Flüssigkeit, die Zelldetritus enthält und einen hohen Gehalt an Amylase, Lipase und Enterokininasen (z.B. Trypsin) hat. Der Pankreasssaft ist eine proteinreiche Flüssigkeit und hat normalerweise einen pH-Wert von 7-8, wobei der pH vom Hydrogencarbonatgehalt des Sekrets abhängig ist. Bei der chronischen Pankreatitis kommt es allerdings zu einer Senkung der Bicarbonatkonzentration im Pankreasssaft und damit zu niedrigen pH-Werten im Duodenum nach Nahrungsaufnahme. Das Degradationsmedium zur Analyse entsprechender Stents wird daher

im Vergleich zu dem bei Degradationsuntersuchungen standardmäßig verwendeten Sörensenpuffer (pH 7,4) einen leicht reduzierten pH-Wert aufweisen. Die Viskosität des Mediums wird bspw. durch Zusatz von Carboxymethylcellulose angepasst. Die Degradationsanalyse in Echtzeit findet bei einer Temperatur von 37 °C entsprechend der Körpertemperatur statt. Durch eine Erhöhung der Temperatur und/oder einer stärkeren Veränderung des pH-Wertes wird die Degradation entsprechend beschleunigt durchgeführt werden.



Abb. 23: Mikroskopische Aufnahme eines Hot AXIOS Stents nach Explantation

AP 6 Querschnittsbereich

AP 6.1 Entwicklung und Anwendung von Plasmapolymerisationsbeschichtungen

(IBMT)

Plasmatechnologische Verfahren sind sehr materialschonende Oberflächenmodifikationen zur Einbringung von funktionellen, meist sauerstoff- und stickstoffhaltigen, Gruppen mit einer geringen Eindringtiefe. Diese können anschließend zur kovalenten Anbindung z. B. von Wirkstoffen oder Beschichtungen verwendet werden. Neben dem Einbringen funktioneller Gruppen sind auch dünne Beschichtungen von Biomaterialien durch Plasmapolymerisation von Monomeren (PECVD - Plasma enhanced chemical vapor deposition) oder Metallen (PVD - Physical vapor deposition, Kathodenzerstäubung) möglich. Plasmabeschichtungen können dabei die Eignung für biomedizinische Anwendungen erheblich verbessern, indem sie die Biokompatibilität entsprechend den lokalen Anforderungen verbessern. So können durch maßgeschneiderte Implantat-Plasmabeschichtungen bei Behandlung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen, wobei Wundheilung und Endothelialisierung wichtige Schritte sind, die durch eine komplexe Wechselwirkung miteinander verbunden sind, Verbesserungen erzielt werden, aber auch bei der mechanischen Integrität oder Bioaktivität.

Dazu wurden schonende Beschichtungen mit den Monomeren Allylamin und Hexamethyldisiloxan auf Nanofaservliesen unter Erhaltung der ursprünglichen komplexen Struktur der Fasern durchgeführt [1, 2]. Der Einfluss der verschiedenen Prozessbedingungen auf die chemische Zusammensetzung wurde dabei untersucht, Abb. 24. Die morphologischen und

chemischen Analysen erfolgten durch Rasterelektronenmikroskopie (REM), energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX) und weiterführend durch Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS) [1-3]. Die biologische Bewertung wurde mit Endothelzellen und Fibroblasten durchgeführt [1, 4]. Ziel ist dabei eine Plasmapolymerschicht zu entwickeln, die je nach Anwendung und Zielgewebe gezielt die Bioaktivität der lokalen Zellen steuert, um deren Vermehrung und Funktion zu hemmen oder zu fördern.

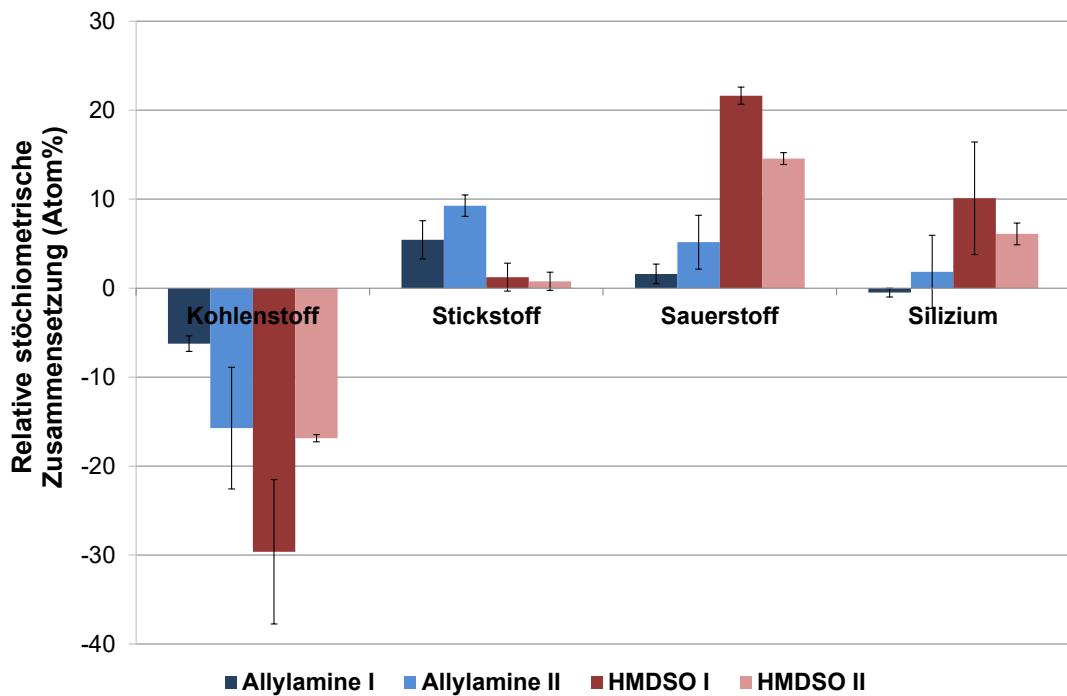


Abb. 24: Chemische Veränderungen der Atomprozentsätze von Kohlenstoff, Stickstoff, Sauerstoff und Silizium nach Plasmapolymerisation mit Allylamin und HMDSO unter verschiedenen Plasmapolymerisationsbedingungen im Vergleich zur unbehandelten Materialreferenz.

- [1] Teske M, Illner S, Markhoff J, Grabow N, Oschatz S. (2021): Ultrathin fibre coatings on nanofibrous nonwovens by plasma enhanced chemical vapor deposition, Current Directions in Biomedical Engineering, vol. 7, no. 2, 2021, pp. 535-538. <https://doi.org/10.1515/cdbme-2021-2136>
- [2] Arbeiter D, Grabow N, Illner S, Momma C, Mueller H, Ortelt J, Oschatz S, Schmitz K-P, Teske M. (2021): Adaptive Chemical Post-Processing of Nonwovens for Cardiovascular Applications, WO002021110559A1
- [3] Teske M, Lange H, Wulf K, Senz V, Grabow N, Eickner T, Oschatz S. Chemical characterization of plasma polymerized allylamine coatings with addition of ammonia and oxygen by XPS, Current Directions in Biomedical Engineering, vol. 8, no. 2, 2021, pp. 664-667. <https://doi.org/10.1515/cdbme-2021-2136>
- [4] Markhoff J, Oschatz S, Teske M, Grabow N. (2021): Plasma surface modification for controlled cell behavior, European Society for Biomaterials Conference 2021 (ESB 2021)

AP 6.2 Untersuchungen der Biokompatibilität und Zellbesiedlung von Scaffolds unter Flussbedingungen

(IBMT)

Zur Entwicklung und Etablierung eines geeigneten *in vitro* Testsystems zur Charakterisierung der Biokompatibilität und Zellbesiedlung von Materialien im unidirektionalen Fluss erfolgten im Förderzeitraum umfassende Versuche zur Definition der optimalen Zelldichte, der Flussparameter und Kultivierungsdauer anwendungsspezifischer humaner Zelltypen wie EA.hy926 Endothelzellen sowie primärer Endothelzellen aus humanen Nabelschnurvenen (HUVEC, human umbilical vein endothelial cells) in kommerziellen Flusskammern (Ibidi). Zudem wurde die fluoreszenzmikroskopische Auswertung unter Fluss kultivierter Zellen vergleichend zur statischen Kultur zur Auswahl der geeigneten Kammerhöhe, des Färbeprotokolls und Einbettmediums vorgenommen, Abb. 25.

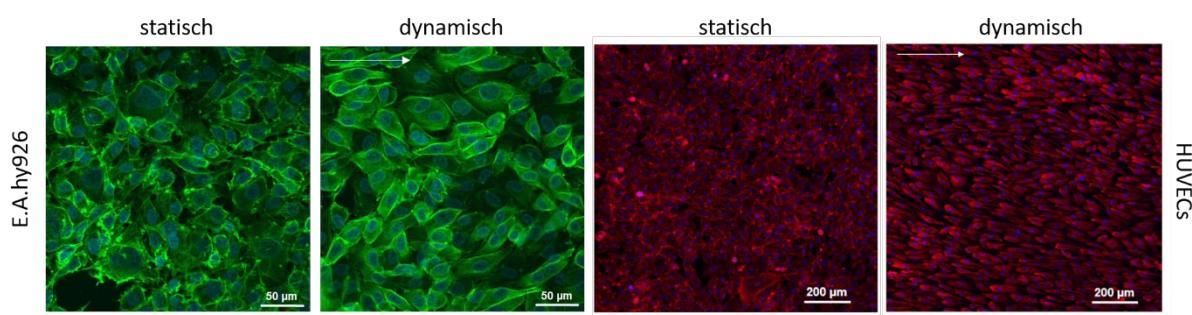


Abb. 25: Exemplarische fluoreszenzmikroskopische Darstellung (Zellkerne - blau, Aktinskelett – grün bzw. rot) anwendungsspezifischer humaner Endothelzellen (EA.hy926, HUVECs) nach statischer und dynamischer Kultivierung. Pfeile zeigen die Flussrichtung des Mediums in der Flusskammer.

Die Zelldichte für die ausgewählten humanen Zelltypen konnte erfolgreich definiert werden. Shear stress values zwischen 10 - 15 dyn/cm² wurden bis zu einer Kultivierungsdauer von 96 h angewendet. Die fluoreszenzmikroskopische Darstellung des Aktinskeletts und der Zellkerne zeigte eine zellspezifisch ausgeprägte Ausrichtung der Zellen in Richtung des Mediumflusses sowie eine deutlichere Ausprägung der Zellgrenzen und -verbünde. Dabei wiesen die primären HUVECs eine deutlich höhere Mechanosensitivität auf als die verwendete Zelllinie EAhy926. Die Zellorientierung konnte mittels der Software CellProfiler definiert werden.

Weiterhin konnte mittels Anwendung spezifischer Verbindungsstücke die parallele Kultivierung einzelner Zellkammern als auch die simultane Steuerung mehrerer Fluidic Units umgesetzt und etabliert werden, Abb. 26. Weiterführend wurde im Rahmen einer Bachelorarbeit ein Klemmsystem entwickelt, um verschiedene Materialien unter Verwendung sogenannter Sticky Chambers in das Kammersystem zu integrieren, um deren Besiedlung unter Flussbedingungen zu bewerten. Angepasst an die Morphologie der kommerziell erhältlichen Flusskammern wurde dazu ein verschraubbares Stecksystem mit Sichtfenster zur mikroskopischen Darstellung der Zellen und Stege zur Stabilisierung in mehreren Iterationsschritten

konstruiert und letztendlich mittels Stereolithographieverfahren im 3D-Drucker aus einem geeigneten Polymer hergestellt.

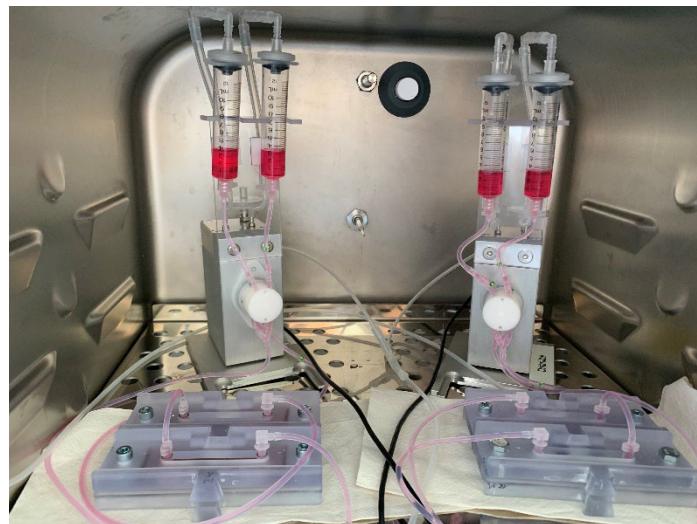


Abb. 26: Vollständiger Versuchsaufbau des Flusskammersystems im Experiment mit zwei Fluidic Units und vier Perfusionskammern in den konstruierten Klammern.

Nach der erfolgreichen Etablierung des modifizierten Kammersystems erfolgte die Untersuchung von oberflächenmodifizierten Deckgläsern sowie strukturierten Poly-L-lactic acid (PLLA)-Folien. Dabei zeigte sich auf allen Materialien eine deutlich verminderte Zelladhäsion im Vergleich zur Polystyroloberfläche, was jedoch durch die spezifische Hydrophilität der Materialien bedingt sein könnte, da die Flussraten in umfassenden Zellversuchen auf die jeweiligen Zelltypen abgestimmt wurden und somit nicht zu einer reduzierten Adhäsion führen sollten.

AP 6.4 Morphometrie und Topographie Stent-tragender Gewebe im Tiermodell und im Menschen

(ANAT UR)

Die morphometrische und topografische Erfassung implantierter Glaukom-Mikrostents im Tiermodell (Kaninchen) wurde mittels MikroCT-Bildgebung anhand von 13 enukleierten Augen, die der Verbundpartner der UAK zur Verfügung gestellt hat, durchgeführt. Auf Grundlage differentieller Kontrastverfahren erfolgte in der MikroCT-basierten Bildgebung eine gewebespezifische Evaluierung des Implantationsergebnisses. Zentral war die Beurteilung über die angestrebte Platzierung des Glaukom-Mikrostents. Die Platzierung des Einstromendes des Glaukom-Mikrostents zielt auf eine freie Platzierung innerhalb der vorderen Augenkammer, Abb. 27A. Als Zielregionen für das drainierende Ausstromende waren einerseits die Platzierung im suprachoroidalen Raum (Abb. 27B) und andererseits im subkonjunktivalen Raum (Abb. 27C) vorgesehen. Die digitale Vermessung der Implantate in den virtuellen Bildstapeln ermöglichte eine Darstellung der erzielten Implantationstiefen, welche durch eine Farbcodierung in den Bilddatensätzen durch manuelle Segmentierung

umgesetzt wurde, Abb. 27. Die kompilierten Daten wurden den Verbundpartnern zur Verfügung gestellt, derzeit ist ein Manuskript zu den gewonnenen Daten in Begutachtung (Runge et al. *in review*). Die Evaluierung der Kontrastierverfahren für MikroCT im Bereich Ophthalmologie wurde im Rahmen dieses Vorhabens bereits erfolgreich publiziert (Runge et al. 2022).

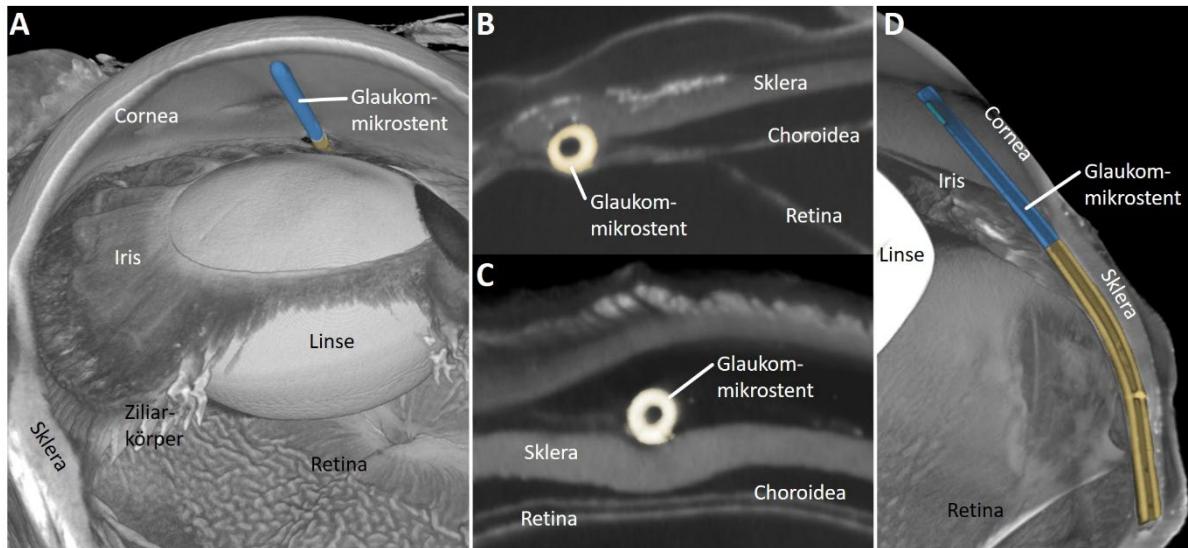


Abb. 27: MikroCT-basierte Volumendarstellung des implantierten Glaukom-Mikrostents im Kaninchenauge (*ex vivo*). A) Lage des Glaukom-Mikrostents in der vorderen Augenkammer und Penetrationspunkt im Kammerwinkel, B) Virtueller Querschnitt durch das Ausstromende des Glaukom-Mikrostents mit suprachoroidaler Lage, C) Virtueller Querschnitt durch das Ausstromende des Glaukom-Mikrostents mit subkonjunktivaler Lage, D) Virtueller Längsschnitt durch den Glaukom-Mikrovent mit suprachoroidaler Lage. Blau: Einstromende des Glaukom-Mikrostents, unbeschichtet; gelb: Ausstromende des Glaukom-Mikrostents, beschichtet; türkis: klappenartige Einstromöffnung.

AP 6.5 Histologische und immunhistochemische Untersuchung Stent-tragender Gewebe zur Optimierung wirkstoffbeschichteter Implantate (ANAT UR)

Im Rahmen dieses Arbeitspunktes wurde die unterstützende Bearbeitung für die Ophthalmologie (AP 2) fortgesetzt. Für die Anfertigung umfangreicher histologischer Schnittserien standen drei Kaninchenägen zur Verfügung. Die angefertigten Paraffinschnitte besitzen eine Stärke von ca. 5 µm. Von diesen Proben waren zwei Augen jeweils mit einem suprachoroidal-drainierenden Glaukom-Mikrovent versehen. Das Ausstromende der implantierten Glaukom-Mikrostents besitzt eine wirkstofffreie Beschichtung. Das dritte Auge ist frei von Implantaten und dient als Kontrolle. Für die vorliegenden Schnittserien wurden Gewebeübersichten mittels histologischer Routinefärbungen durch HE und Azan angefertigt. Auf Grundlage der Gewebeübersichten konnten die relevanten Schnittebenen identifiziert werden. Die kompilierten Daten wurden den Verbundpartnern zur Verfügung gestellt.



Schlussbericht

Transfervorhaben 1

„Stenttechnologien für innovative minimalinvasive Therapieverfahren“

Teilvorhaben

„Adaption des Stent-Einführsystems für die endonasale Stentung der Tuba Eustachii basierend auf Usability Tests“

FKZ 03ZZ0931B

Förderzeitraum 1.1.2020 – 31.12.2022

im Unternehmen Region-Programm

„Zwanzig20 – Partnerschaft für Innovation“
des Bundesministeriums für Bildung und Forschung

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung



Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.

Verbundpartner:

| Antragsteller/Einrichtungen | | Ansprechpartner | Hauptarbeitspunkt |
|--|------------|--|-------------------|
| bess pro GmbH | bess | M. A. Eisenhut, Dr. M. Gregor | AP 3 |
| CORTRONIK GmbH Rostock | COR | Dr. C. Momma | AP 1 |
| Institut für ImplantatTechnologie und Biomaterialien e.V. | IIB | Dr. S. Siewert, Prof. Dr. K.-P. Schmitz | AP 1, 2, 4, 6 |
| Medizinische Hochschule Hannover, Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde | HNO MHH | Prof. Dr. T. Lenarz, PD Dr. G. Paasche | AP 3 |
| Universitätsmedizin Greifswald | | | |
| Zentrum für Innere Medizin, Klinik und Poliklinik für Innere Medizin A | Gastro UMG | Prof. Dr. M. M. Lerch, Dr. F. Frost | AP 5 |
| Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe | Gyn UMG | Prof. Dr. M. Zygmunt | AP 4 |
| Universitätsmedizin Rostock | | | |
| Institut für Anatomie | ANAT UR | Prof. Dr. A. Wree, Dr. J. Keiler | AP 6 |
| Institut für Biomedizinische Technik | IBMT | Dr. K. Lebahn, Prof. Dr. N. Grabow | AP 1, 3, 5, 6 |
| Zentrum für Innere Medizin; Abt. Kardiologie | Kardio UR | Prof. Dr. A. Öner, Prof. Dr. H. Ince | AP 1 |
| Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde | UAK | Prof. Dr. R. Guthoff, Prof. Dr. O. Stachs | AP 2 |

Inhalt

| | |
|---|----|
| 1. Aufgabenstellung | 1 |
| 2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde..... | 2 |
| 3. Planung und Ablauf des Vorhabens..... | 3 |
| 4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde | 5 |
| 5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen | 7 |
| 6. Verwendung der Zuwendung und erzieltes Ergebnis | 7 |
| 7. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises..... | 8 |
| 8. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit..... | 8 |
| 9. Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans..... | 9 |
| 10. Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen..... | 9 |
| 11. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse | 10 |
| 12. Anhang zu Punkt 6 – Ausführliche Darstellung der wissenschaftlich-technischen Ergebnisse und anderer wesentlicher Ereignisse..... | 11 |

1. Aufgabenstellung

Basierend auf den Erkenntnissen der durchgeführten humanen Kadavertests im Rahmen vom Forschungsvorhaben 8 hat sich das Stenting der Tuba Eustachii unter endoskopischer Kontrolle als wenig vorteilhaft erwiesen, da das Einführen des Tubenendoskops mit vergleichsweise großem Durchmesser vor der Stentlegung u.U. mit einer Verletzung der Tubenschleimhaut einhergehen kann. Mithin soll die Stentlegung in der Tube vorzugsweise auch ohne Tubenendoskop erfolgen können; dennoch ist eine intraoperative Lagekontrolle auf andere Weise zu gewährleisten. Als alternative Methode zur Stentlagekontrolle soll daher eine lumineszierende Komponente für die transtympanale Diaphanoskopie in den Applikator installiert werden. Zur Sicherung eines breiten klinischen Einsatzes ist dafür ein Einweginstrument geplant, dessen Lichtanschluss mit den gängigen Systemen kompatibel ist. Die Anwendung der transtympanalen Diaphanoskopie sowie die Lagekontrolle der gesetzten Stents wird sowohl bei ex vivo Versuchen als auch bei tierexperimentellen Studien untersucht.

Da sich aus den bisherigen ex-vivo Versuchen die Anforderung ergeben hat, dass der Bereich des Einführinstruments, auf dem sich der Stent befindet, biegsam bzw. plastisch verformbar sein soll, wird hierfür die Anfertigung eines Sonderwerkzeugs für den Crimp-Prozess notwendig.

Zur Erhöhung der Platziergenauigkeit sowie zur Gewährleistung des gewünschten Expansionsverhaltens des Tubenstents sind weiterhin submikroskopische Oberflächenmodifikationen am Einführsystem vorgesehen.

Die Gesamtheit der Modifikationen soll einen von anderen Instrumenten unabhängig einsetzbaren Tubenstentapplikator ermöglichen, welcher aufgrund seiner anatomisch formbaren Spitze ein breites Patientenspektrum abdeckt. Die Funktion dieses Instruments soll am Modell aber auch mit erfahrenen sowie unerfahrenen Nutzern in einem umfangreichen Usability Test am humanen Kadaver evaluiert werden.

Während der Projektbearbeitung ergab sich die Notwendigkeit ein weiteres Aufgabengebiet der Vorbereitung einer humanen Pilotstudie zu widmen. Auslöser für dieses neue Arbeitspaket war ein Projektmeeting mit Prof. Lenarz (MHH) am 16.10.2020 in Berlin, bei dem erste Zwischenergebnisse der Tierstudie und Arbeitsstände der Projektgruppen erörtert wurden. Während die Tierstudie (siehe FV12) voraussichtlich alle – im Rahmen eines Tiermodells erwartbaren Daten – zur Produktsicherheit liefern wird, sind keine wissenschaftlich belastbaren Daten zur Wirksamkeit des Stents zu erwarten. Auf Basis der noch zu gewinnenden Daten zur Sicherheit aus der Tierstudie soll eine zusätzliche humane „Proof of Concept“ Studie Gewissheit für die weitere Produktentwicklung bringen.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

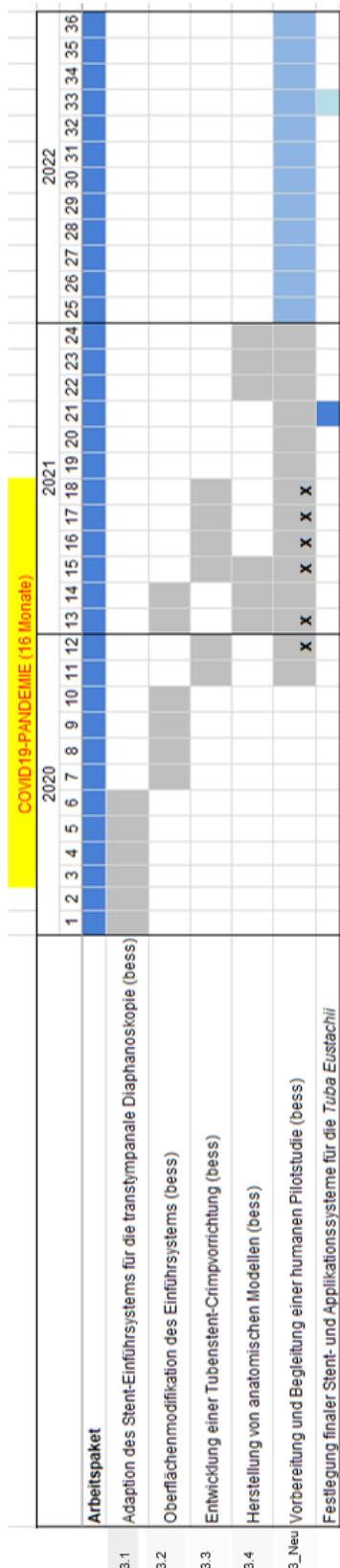
Im Forschungsvorhaben 8 wurden die Anforderungen an ein Tubenstent-System (bestehend aus Einführinstrumentarium, Tubenendoskop, Tubenstent nebst Stentapplikator) untersucht und definiert. Sämtliche Systeme wurden bis zu einem Stand entwickelt und ex-vivo getestet, der die technische Machbarkeit bescheinigt. Dazu wurden mehrere Iterationen samt Prototypentwicklungen durchlaufen. Es fehlt die Optimierung auf definierte Produktkomponenten und die Betrachtung einer wirtschaftlichen Herstellung.

Im Forschungsvorhaben 12 werden auf Basis dieser Vorarbeiten die Anforderungen für die Zulassungsvoraussetzungen definiert und bereits weitestgehend umgesetzt. Dazu zählen Arbeiten der Design-Verifizierung und -validierung, also diverse Laboruntersuchungen am finalen Produktdesign, sowie die präklinischen Untersuchungen in einer Tierstudie, einschließlich der notwendigen Dokumentation gemäß den Anforderungen der EU MDR.

Das Transfervorhaben mit den Schwerpunkten Produkthandhabung und weitere Unterstützung der Zulassungsvorbereitung soll nun ermöglichen, den Optimierungsbedarf umzusetzen. Damit soll neben dem technischen und medizinischen vor allem auch der wirtschaftliche Erfolg für das resultierende Produkt(-sortiment) erheblich befördert werden.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Die geplanten Arbeitspakete konnten erfolgreich bearbeitet werden. Der zeitliche Ablauf der Arbeitspakete ist im Folgenden dargestellt.



Meilensteine im Berichtszeitraum

MS 5 Festlegung finaler Stent- und Applikationssysteme für die Tuba Eustachii

Ziel: Festlegung finaler Designs als Voraussetzung für Validierungsstudie

Beitrag des Teilvorhabens bess: Design Freeze und Bereitstellung von Tubenstent und Applikationstool.

Ergebnis: Der Meilenstein wurde erreicht. Es wurde innerhalb des Entwicklungsprozesses ein Design-Freeze vom Stent samt Applikationstool festgelegt. Die Produktentwicklung, -validierung und -verifizierung ist soweit fortgeschritten, dass aus ingenieurtechnischer Sicht der klinische Einsatz sofort möglich ist.

4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Insgesamt leiden zwei Millionen Betroffene in Deutschland an chronischen Tubenbelüftungsstörungen, welche einen hohen Therapiebedarf nach sich ziehen. Die epidemiologischen Auswirkungen auf die medizinische Versorgung wurden umfassend untersucht [1, 2]. Bei gestörter Ventilfunktion der Ohrtrumpe ist die Equilibrierung des Mittelohrgasdruckes zur Umgebung nicht mehr hinreichend möglich. Das führt – neben Missemmpfindungen bis hin zu stärksten Ohrenschmerzen – zu einer Schallleitungs- bzw. kombinierten Schwerhörigkeit, v.a. durch entzündliche Prozesse. Diese und weitere Beeinträchtigungen und Funktionsstörungen sind bei adäquater rechtzeitiger Therapie oftmals reversibel, können aber bei schwierigem Verlauf schwerste irreversible Erkrankungen auslösen. Die Standardmethode zum aktiven Überdruckausgleich ist das sogenannte Valsalva-Manöver.

Das Valsalva-Manöver als therapeutisches Verfahren repetitiv durchgeführt bzw. apparative Hilfen, wie Otovent (Optima Pharmazeutische GmbH, Deutschland) oder Otobar (Otobar GmbH, Deutschland), gewährleisten häufig keine dauerhaft ausreichende Mittelohrbelüftung und -drainage. Somit wird eine Paracentese bzw. Paukendrainage durch einen kleinen operativen Eingriff zur hinreichenden Mittelohrbelüftung notwendig. Dabei greift die Therapie gerade an einer der empfindlichsten Stellen des Mittelohres an: dem Trommelfell. Dieser wesentliche Teil der Schallleitungskette ist bei chronisch erkranktem Mittelohr meist atroph und narbig. Paukendrainagen stellen heute die beste verfügbare Therapie als klinischer Standard. Es finden sich hierzu Patente und eine Vielzahl wissenschaftlicher Publikationen zur Therapieeffektivität [3, 4]. Eine separate Belüftung über ein Silikonröhren, das Paukenhöhle und äußeren Gehörgang verbindet, hat bei schwierigerer Anlage als das klassische Paukenröhren keinerlei Vorteile zeigen können [5]. Zudem ist bei der Paukendrainage die protektive Funktion der Tube ausgehebelt.

Als eine am Lumen angreifende Therapiemodalität gibt es Berichte über Therapieerfolge bei ausgewählten Patienten nach Behandlung mit einem Diodenlaser [6]. Eine interventionelle Methode bzw. Therapie der Tube selbst ist inzwischen als Ballondilatation der *Tuba Eustachii* (BET) bekannt. Analog einer kardiovaskulären Ballondilatation bei koronarer Herzerkrankung wird hier der knorpelige Anteil der Ohrtrumpe kurzfristig mit einem Ballonkatheter geweitet. Dieses Verfahren hat sich als nahezu nebenwirkungsfrei herausgestellt [7, 8]. Auf diesem Gebiet haben in 2017 zwei weitere Anbieter eine FDA-Zulassung für ihre Produkte erhalten:



TubaVent short, Tubalinsert
(SPIGGLE & THEIS
Medizintechnik GmbH)

XprESS ENT Dilation System
(Entellus Medical, Inc.)

ACCLARENT AERA
(Acclarent, Inc.)

Abbildung 1: Kommerziell erhältliche Ballondialatationssysteme zur Behandlung der chronischen Tubenfunktionsstörung

Permanente Schienungen, wie ein Golddraht, zeigten nur unbefriedigende Ergebnisse [9]. Die Auswirkungen auf die Tubenbelüftung über einen Polyethylen-Hohlenschlauch wurden für verschiedene Einführungstiefen beschrieben [10]. Weitere Schienungsversuche der Ohrtrumpe mit Silikonröhren zeigten in ausgewähltem Patientengut klinische Verbesserungen [12]. Eine Kontrolluntersuchung einer anderen Arbeitsgruppe führte zu ausgeprägten Fremdkörperreaktionen und wurde bei tympanaler Implantationstechnik als sehr schwierig beschrieben [13]. Ein weiteres US-Patent [14] beinhaltet zwei parallel verlaufende, flexibel verbundene konkave Arme, die über ihr Profil mit dem Gegenstück einen zylindrischen Hohlraum bilden. Dieser so erstellte Hohlraum schient die gesamte knöcherne und fast vollständig die knorpelige Tube. Eine Bördelung des im Protympanon liegenden Abschnittes soll eine Dislokation des Stents in den Rachen verhindern. Zudem wurde bereits hier eine Funktionalisierung bzw. Drug-Eluting-Komponente aufgenommen. Klinische Studien, die einen Therapieerfolg oder auch nur eine Einzelfallbeschreibung belegen, fehlen.

- [1] Ilan O, Marcus E-L, Cohen Y, et al. Eustachian tube dysfunction leading to middle-ear pathology in patients on chronic mechanical ventilation. *The Journal of Laryngology & Otology*. 2017;131(9):817-822.
- [2] Schappert AM, Nelson C. National Hospital Ambulatory Medical Care Survey: 1995-96 summary. *Vital Health Stat* 1999;12(142):1-122.
- [3] Bruce D, Goode RL. Middle ear ventilation tube. US-Patent 4695275, 1987.
- [4] Schmidt PH, Bolhuis van H. Transtympanic aeration of the middle ear with blocked Eustachian Tube. *Acta Oto Laryngologica*. 1964;60:277-282.
- [5] Silverstein H. Middle ear aeration and implant. US-Patent 3982545 A, 1976.
- [6] Poe DS, Grimmer JF, Metson R. Laser Eustachian Tuboplasty: Two Year Results. *Laryngoscope*. 2007;117(2):231-237.
- [7] Schröder S, Reineke U, Lehman M, Ebmeyer J, Sudhoff H. Chronic obstructive eustachian tube dysfunction in adults – long-term results of balloon eustachian tuboplasty. *HNO*. 2013;61(6):142-151.
- [8] Meyer TA, O'Malley EM, Schlosser RJ, et al. A randomized controlled trial of balloon dilation as a Treatment for persistent Eustachian Tube dysfunction with 1-year follow-up. *Otol Neurotol*. 2018;39(7):894–902.
- [9] Steinbach E. Zur Einlage eines Tubenimplantates bei Mittelohrbelüftungsstörungen. *Arch Otolaryngol* 1991, Suppl. II, 271-272.
- [10] Takahashi H, Fujita A, Honjo I. Site of Eustachian Tube Dysfunction in Patients with Otitis Media with Effusion. *Am J Otolaryngol* 1987;8:361-363.
- [12] Wright JW 3rd, Wright JW jr, Hicks GW. The Eustachian Tube prosthesis revisited otolaryngology 1978;86:834-837.
- [13] Lesinski SG, Fox JM, Seid AB, Bratcher, Glenn O, Cotton R. Does the silastic Eustachian Tube prosthesis improve Eustachian Tube function? *Laryngoscopy* 1980;90(9):1413-1428.
- [14] Litner J. Eustachian tube stent. US-Patent US000006589286B1, 2003.

Auszug aus der Gesamtvorhabensbeschreibung

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Keine.

6. Verwendung der Zuwendung und erzieltes Ergebnis

Im Laufe der Projektbearbeitung konnten die einzelnen Arbeitspakete bearbeitet und abgeschlossen werden. Die nachträgliche Einführung von AP_Neu war notwendig, um die spätere klinische Verwertung der Projektbearbeitung sicherzustellen. Hierfür wurden auch keine zusätzlichen Mittel verwendet, sondern lediglich die Ressourcen der anderen Arbeitspakete umverteilt.

Die bereitgestellten Fördermittel wurden unter anderem für Personal in der Entwicklungsabteilung eingesetzt, welches die Arbeiten aus AP 3.1, AP 3.2 und AP 3.3 federführend umgesetzt hat. Die Durchführung der Usability Tests und Studienvorbereitungen wurde durch die Zuarbeit von Technical Writing, Regulatory Affairs, Marketing, Clinical Affairs und Produktmanagement sichergestellt.

Mithilfe der Fördermittel wurden Biokompatibilitäts-Tests am Stent und am Einführsystem bei einem akkreditierten Labor durchgeführt sowie die MRI-Sicherheit vom Stent durch ein anderes Labor bewertet. Ein weiterer Kostenpunkt waren die Anmeldung eines weltweiten Patents sowie die Markeneintragung „TubaLib“ für den späteren Verkauf. Zusätzlich wurde mithilfe von externen Produktdesignern das Erscheinungsbild des Hangriffes auf ein neues Niveau gehoben. Innerhalb vom Projektzeitraum konnte ein serientaugliches Einführsystem mit einer geprüften, anwenderfreundlichen Usability entwickelt werden. Die verbesserten Features ermöglichen es auch Neuanwendern das Produkt schnell und sicher zu verwenden, was für die spätere Markteinführung unabdingbar ist. Die geplante Pilotstudie wurde soweit vorbereitet, dass sie bei ersten positiven Ergebnissen zu einer Zulassungsstudie erweitert werden kann. Die Ergebnisse der einzelnen Arbeitspakete sind nachfolgend dargestellt:

| | Ziele | Ergebnisse |
|--------|---|--|
| AP 3.1 | Integrierung einer lumineszierenden Komponente in das Einführsystem für die Diaphanoskopie | <ul style="list-style-type: none"> - Funktionale Prototypen entwickelt und hergestellt - Machbarkeitstest am humanen Kadaver erfolgreich durchgeführt - Serielle Einführung durch zusätzliche Operationsrisiken vorerst unwahrscheinlich |
| AP 3.2 | Beschichtung von ausgewählten Bereichen des Einführinstruments zur Verringerung der Reibung im System | <ul style="list-style-type: none"> - Materialauswahl am Einführsystem überarbeitet und Biokompatibilität sichergestellt - Anfertigung eines drahtverstärkten Außentubus mit Stabilität gegen Knicken - Silikonbeschichtung vom Tubenstent |

| | | |
|----------|--|---|
| AP 3.3 | Crimpen des Tubenstents auf das biegbare Einführinstrument | <ul style="list-style-type: none"> - Konstruktion + Fertigung eines Werkzeugs - Montage eines Arbeitsplatzes im Reinraum - Implementierung eines maschinellen, halbautomatischen Crimpprozesses |
| AP 3.4 | Herstellung von anatomischen Modellen und Durchführung von Usability Versuchen | <ul style="list-style-type: none"> - Herstellung einfacher Modelle - Umfangreiche Usability Tests mit verschiedenen Anwendern am humanen Kadaver - Auswertung der Tests mit anschließender Designoptimierung |
| AP 3_Neu | Vorbereitung und Begleitung einer humanen Pilotstudie | <ul style="list-style-type: none"> - Abstimmung der Studienvoraussetzungen (organisatorisch + medizinisch) - Ausarbeitung einer Produktakte - Sicherung der Projektfortführung über RESPONSE hinaus |

7. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Der Kostenrahmen des Projektes wurde eingehalten. Der Förderanteil beträgt 50%.

| Position | Gesamtnachkalkulation |
|---|-----------------------|
| 0813 Material | 3403,87 € |
| 0823 Fremdleistungen | 20167,94 € |
| 0837 Personalkosten | 306459,19 € |
| 0850 sonstige unmittelbare Vorhabenkosten | 33263,60 € |
| Summe | 363294,60 € |
| Eigenanteil | 181647,30 € |
| Bundesanteil | 181647,30 € |

8. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Aktuell existiert keine dauerhafte Behandlung einer chronischen Tubendysfunktion, alle bisherigen Therapieansätze sind gescheitert. Die Stent- sowie Applikationsentwicklung im Rahmen von RESPONSE stellt in Aussicht den Betroffenen mit einem neuartigen Medizinprodukt dauerhaft helfen zu können.

9. Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Innerhalb des Projektzeitraums wurde der Applikator mit innovativen Ansätzen überarbeitet und zu einem serientauglichen Produkt gestaltet. Mit dieser Entwicklung ist eine einfache und vor allem zügige Stentplatzierung möglich, welche die klinische Akzeptanz für das neuwertige Produkt festigen soll. Durch die Vorbereitung der klinischen Studie rückt die Behandlung von erkrankten Menschen in greifbare Nähe.

10. Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Es sind keine neuen Fortschritte auf dem Gebiet bekannt geworden. Es laufen eigene weltweite Patentanmeldungen mit Regionalisierung in Europa und den USA seitens bess.

11. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse

Publikationen im Berichtszeitraum

Keine.

Referierte Veröffentlichungen

Keine.

Nichtreferierte Veröffentlichungen/Tagungsbeiträge

Keine.

Buchbeiträge/Monographien

Keine.

Abgeschlossene studentische Arbeiten, Doktorarbeiten und Habilitationen

Keine.

Erteilte Schutzrechte

- [1] bess pro gmbh, Eintragung der Wortmarke „TubaLib“, Markennummer 30 2021 115 184, Datum der Anmeldung 09.09.2021, Datum der Eintragung 15.10.2021

Erfindungen/Schutzrechtsanmeldungen

- [1] P. Krueger; T. Lenarz; S. Lange; G. Paasche; R. Schuon, Applikator und Stent für eine eustachische Röhre, Amtliches Aktenzeichen DE: 10 2020 116 795.4, Datum der Erfindungsmeldung: 25.06.2020; Amtliches Kennzeichen PCT: PCT/DE2021/100501; Datum der Anmeldung 10.06.2021; Amtliches Kennzeichen EP: 21736962.8, Datum der Anmeldung: 02.12.2022

12. Anhang zu Punkt 6 – Ausführliche Darstellung der wissenschaftlich-technischen Ergebnisse und anderer wesentlicher Ereignisse

AP 3 Applikationsbereich Hals-Nasen-Ohrenheilkunde

AP 3.1 Adaption des Stent-Einführsystems für die transtympanale Diaphanoskopie bess

Für die Einbringung einer lumineszierenden Komponente wurden in einem ersten Schritt Standardkomponenten aus dem Bereich des Tubenstentendoskops modifiziert. Die Prototypen eigneten sich nach ersten Labortests unerwartet nicht für den weiteren Gebrauch.



Abbildung 2: Adapter externe Lichtquelle mit Lichtleitfaseranschluss

Die daraufhin begonnene Eigenherstellung dieser Komponenten im Musterbau lieferte trotz mehrerer Iterationsschritte nur unzureichende Ergebnisse. Das professionelle Schleifen, Polieren und Ätzen einer Lichtleitfaser ist essentiell für eine gute Lichtleitung. Diese Aufgaben wurden nach einiger Recherche an einen potentiellen Zulieferer mit vorhandenem Prozesswissen im Bereich der Endoskopie ausgelagert. Ein flexibler PMMA-Lichtleiter mit seitlich leuchtender distaler Spitze und einem ACM/BS Kaltlichtanschluss wurde als Handmuster entworfen und für erste Prototypen gefertigt.

Es folgte die Implementierung dieser Baugruppe in den Tubenstentapplikator. Die größte Herausforderung ist es, die dünne Lichtleitfaser beweglich im Applikator zu lagern. Hierfür wurde eine stabile PE-Führung gewählt, welche über eine Feststellschraube fixiert wird. Die Lichtleitfaserbaugruppe wird innerhalb des Handgriffs sicher geführt und kann um 25 mm vorgeschoben werden.



Abbildung 3: Erster Entwurf Tubenstentapplikator mit lumineszierender Komponente

Im abschließenden Usability Versuch am humanen Kadaver konnten die Einführsysteme mit lumineszierender Komponente erfolgreich getestet werden.

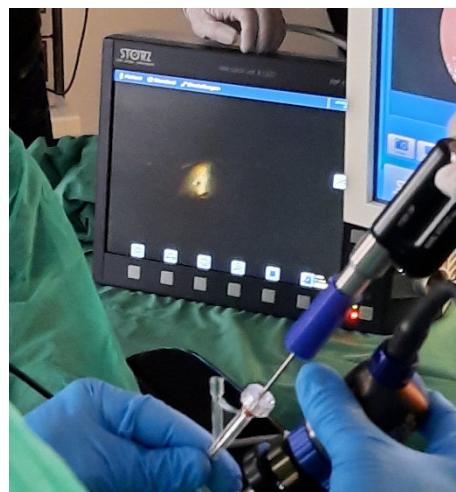


Abbildung 4: Erfolgreiche Diaphanoskopie

Die Anwenderversuche zeigten allerdings auch, dass die Nutzung der Diaphanoskopie nicht zwingend zu einer sicheren Handhabung führen muss. Obwohl die Applikatoren wie gewünscht eingeführt wurden, schien nicht immer der Lichtpunkt durch das Trommelfell. Dies kann zum einen mit den anatomischen Gegebenheiten zusammenhängen, zum anderen auch mit der technologischen Unsicherheit, beispielsweise Abknicken der Lichtleitfaser beim Vorschlieben. Im Sinne der raschen Produktzulassung wird das Applikationssystem so einfach wie möglich gestaltet und die Diaphanoskopie als Produktzusatz betrachtet, der bei einer erfolgreichen Markteinführung zur Behandlung komplexerer Fälle wieder aufgegriffen werden kann.

AP 3.2 Oberflächenmodifikation des Einführsystems

bess

Ziel des Arbeitspakets ist es die Reibung im Gesamtsystem zu verringern und die mechanische sowie biologische Sicherheit der Komponenten zu erhöhen. Hierfür wurden im Laufe des Berichtszeitraums verschiedene Oberflächen des Systems mit Plasma aktiviert, mittels CVD (Chemical Vapour Deposition) oder durch Tauchen in Silikon beschichtet. Letztere Überlegung wurde nach einem Versuch verworfen, da die Haftung des Silikons am Neusilber nicht ausreichend und zudem klebrig war.



Abbildung 5: Silikonbeschichtung ablösend

AP 3.3 Entwicklung einer Tubenstent-Crimpvorrichtung

bess

Bei der bess pro gmbh in Berlin kann auf eine Crimpmaschine zurückgegriffen werden, die variabel für sehr viele verschiedene Stenttypen und Größen verwendbar ist. Sie kann in einem breiten Durchmesserbereich Stents gleichmäßig und reproduzierbar crimpen sowie anschließend in einen Outertube schieben. Voraussetzung für die Verwendung dieser variablen Crimpmaschine ist die Anwendung eines individuell angepassten Crimpwerkzeugs. Dementsprechend wurde ein Crimpwerkzeug konstruiert und hergestellt, welches an einen Outertube mit einem Außendurchmesser von 2,65 mm angepasst wurde.

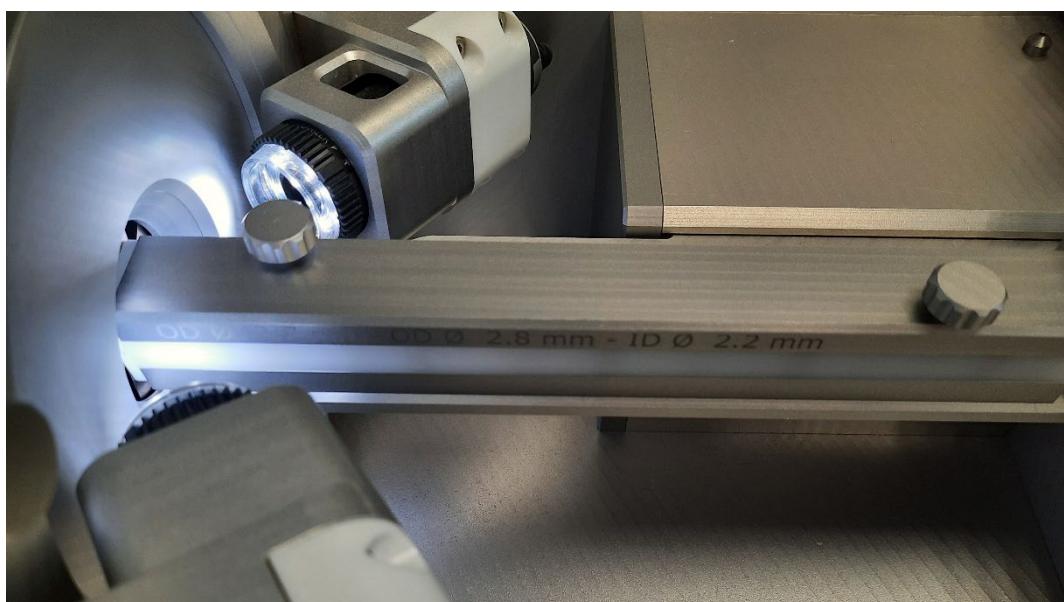


Abbildung 6: Angefertigte Crimpführung

In ersten Versuchen konnten Stents in einen transparenten Outertube geladen werden. Hierfür wurde zunächst ein Maschinenprogramm geschrieben, welches Prozessparameter wie Radialkraft, Geschwindigkeit oder Druckkräfte prozessbegleitend misst. Die exakte Anpassung der Parameter ist elementar. Je nach Prozessgeschwindigkeit kam es zu plastischen Verformungen, die das Design zerstörten.

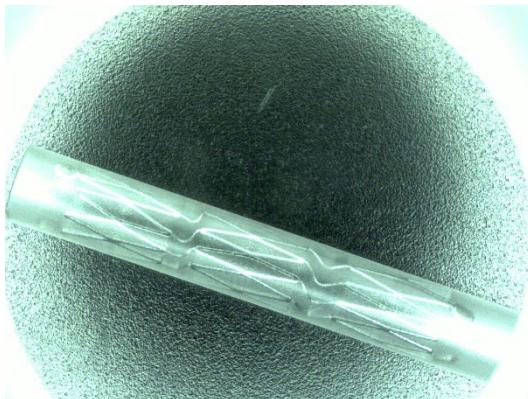


Abbildung 7: Intakter Stent nach Crimpen

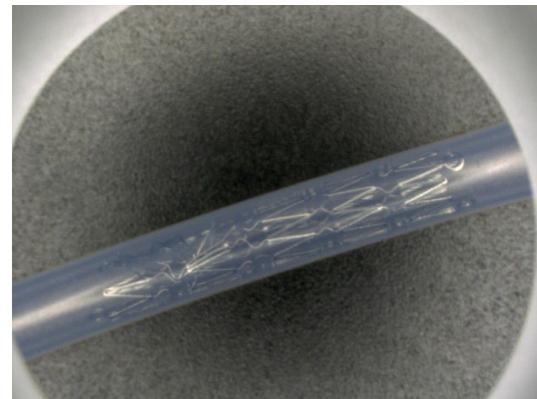


Abbildung 8: Defekter Stent nach Crimpen

Die Prozessparameter wurden angepasst, sodass eine Serienfertigung möglich ist. Die Stents werden in einer wirtschaftlichen Zeit auf den entsprechenden Durchmesser gecrimpt und mit einem automatisierten Schiebwerkzeug in den Außentubus geschoben. Für die Serienfertigung wurde im Reinraum der bess pro gmbh am Standort Berlin ein neuer Arbeitsplatz eingerichtet.



Abbildung 9: Arbeitsplatz Crimpen im Reinraum

AP 3.4 Anatomisches Modell / Usability Test

bess

Ein umfangreicher Usability Test wurde am 18.03.2021 an der Medizinischen Hochschule Hannover durchgeführt. Hierfür wurden sechs humane Körperspender zur Verfügung gestellt an denen insgesamt fünf Ärzte die entwickelten Instrumente testeten.

Testablauf

- Einleitung und Erläuterung des Versuchs
- Lesen der Gebrauchsanweisung
- Stentapplikationstest
- Feedback und Diskussion
- Zusätzlich: Doppeltes Stenting, Diaphanoskopie u.a.



Abbildung 10: Usability Test

Sowohl die erfahrenen als auch die unerfahrenen Anwender konnten die Stents platzieren.

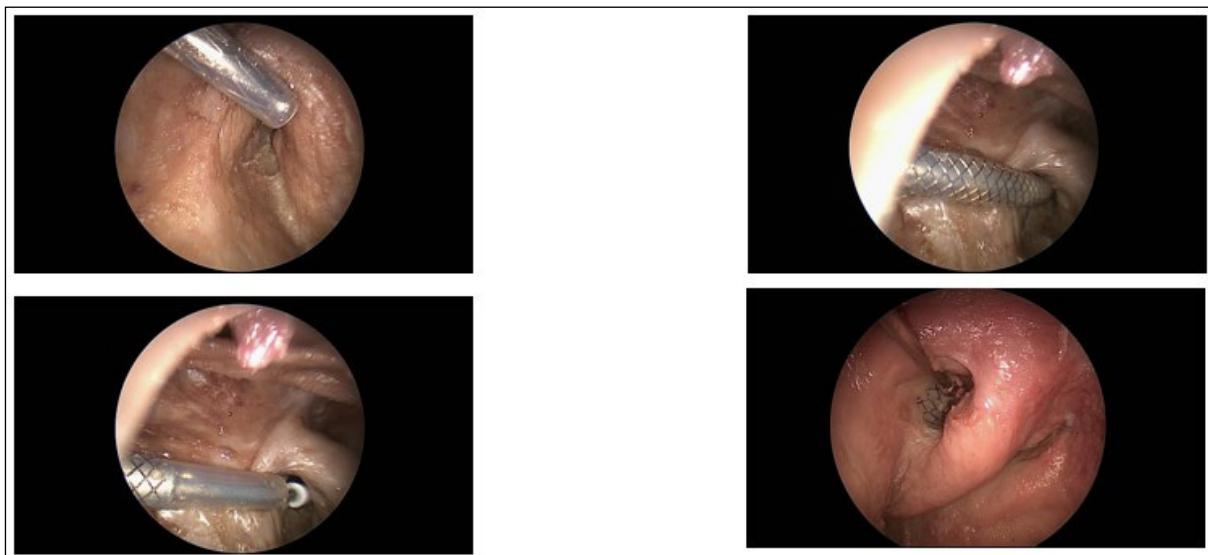


Abbildung 11: Praktische Versuchsumsetzung

Insgesamt ist das Testergebnis sehr positiv ausgefallen. Die Funktionsweise des Handgriffs sowie die Vorgehensweise bei der Stentplatzierung ist ohne aufwändiges Anwendertraining verständlich gewesen. Durch Filmen der Versuche wurden anschließend die unterschiedlichen Nutzungsformen des Handgriffs analysiert. Diese Evaluierung dient als Grundlage für ein marktorientiertes Produktdesign. Zeitgleich konnten bei dem Test die erstellte Bedienungsanleitung und die Angaben in der Risikobeurteilung diskutiert werden.

AP 3_Neu Vorbereitung und Begleitung einer humanen Pilotstudie

bess

Auslöser für dieses neue Arbeitspaket war ein Projektmeeting mit Prof. Lenarz (MHH) am 16.10.2020 in Berlin, bei dem erste Zwischenergebnisse der Tierstudie und Arbeitsstände der Projektgruppen erörtert wurden. Während die Tierstudie (siehe FV12) voraussichtlich alle – im Rahmen eines Tiermodells erwartbaren Daten – zur Produktsicherheit liefern wird, sind keine wissenschaftlich belastbaren Daten zur Wirksamkeit des Stents zu erwarten. Auf Basis der noch zu gewinnenden Daten zur Sicherheit aus der Tierstudie soll eine zusätzliche humane „Proof of Concept“ Studie Gewissheit für die weitere Produktentwicklung bringen.

Zu Beginn des Arbeitspakets gab es vermehrten Kontakt zwischen den Projektpartner der MHH und bess zu dem Thema, wie eine Proof of Concept Studie aufgesetzt kann:

- Videomeeting: 02.02.2021
- Videomeeting: 24.02.2021
- Absprache beim Usability-Test in Hannover: 18.03.2021

Das vorläufige Ergebnis war, dass es ohne erweiterte histologische Tierstudienergebnisse nicht zielführend ist eine Studie anzumelden. Unabhängig davon wurden bei bess die Abteilungen Entwicklung, Zulassung, Produktmanagement, Medical Affairs zur Festlegung wesentlicher Produktdetails, wie Intended Use, Indications – Contraindications, Intended User und Intended Lifetime aktiv.



Schlussbericht

Transfervorhaben 1

„Stenttechnologien für innovative minimalinvasive Therapieverfahren“

Teilvorhaben

„Prototypisierung von gecoverten Stents zur Behandlung von akuten Gefäßrupturen“

FKZ 03ZZ0931C

Förderzeitraum 1.1.2020 – 31.12.2022

im Unternehmen Region-Programm

„Zwanzig20 – Partnerschaft für Innovation“
des Bundesministeriums für Bildung und Forschung

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.

Verbundpartner:

| Antragsteller/Einrichtungen | | Ansprechpartner | Hauptarbeitspunkt |
|--|------------|--|-------------------|
| bess pro GmbH | bess | M. A. Eisenhut, T. Stein | AP 3 |
| CORTRONIK GmbH Rostock | COR | Dr. C. Momma | AP 1 |
| Institut für ImplantatTechnologie und Biomaterialien e.V. | IIB | Dr. S. Siewert, Prof. Dr. K.-P. Schmitz | AP 1, 2, 4, 6 |
| Medizinische Hochschule Hannover, Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde | HNO MHH | Prof. Dr. T. Lenarz, PD Dr. G. Paasche | AP 3 |
| Universitätsmedizin Greifswald | | | |
| Zentrum für Innere Medizin, Klinik und Poliklinik für Innere Medizin A | Gastro UMG | Prof. Dr. M. M. Lerch, Dr. F. Frost | AP 5 |
| Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe | Gyn UMG | Prof. Dr. M. Zygmunt | AP 4 |
| Universitätsmedizin Rostock | | | |
| Institut für Anatomie | ANAT UR | Prof. Dr. A. Wree, Dr. J. Keiler | AP 6 |
| Institut für Biomedizinische Technik | IBMT | Dr. K. Lebahn, Prof. Dr. N. Grabow | AP 1, 3, 5, 6 |
| Zentrum für Innere Medizin; Abt. Kardiologie | Kardio UR | Prof. Dr. A. Öner, Prof. Dr. H. Ince | AP 1 |
| Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde | UAK | Prof. Dr. R. Guthoff, Prof. Dr. O. Stachs | AP 2 |

Inhalt

| | |
|---|---|
| 1. Aufgabenstellung | 1 |
| 2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde..... | 2 |
| 3. Planung und Ablauf des Vorhabens..... | 2 |
| 4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde | 2 |
| 5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen | 3 |
| 6. Verwendung der Zuwendung und erzieltes Ergebnis | 3 |
| 7. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises..... | 5 |
| 8. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit..... | 5 |
| 9. Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans..... | 6 |
| 10. Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen..... | 7 |
| 11. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse | 7 |

1. Aufgabenstellung

Das übergeordnete Ziel der durchgeführten Arbeiten im Rahmen des Transfervorhabens 1 war es, - angesichts der medizinischen, gesellschaftlichen und gesundheitspolitischen Herausforderungen des demografischen Wandels - eine unabhängige Lebensführung, Selbstbestimmung und Lebensqualität der Patienten zu erhalten. Das vorliegende Transfervorhaben beinhaltete innovative Stenttechnologien für den Applikationsbereich Kardiologie, speziell die Entwicklung und Produktisierung einer multifunktionalen Polymer-/Wirkstoffbeschichtung zur Steuerung der Stützdauer und Degradationsprozesse von Magnesium-Scaffolds sowie die Prototypisierung von permanenten oder (teil-)degradierbaren gecoverten Stents zur Behandlung von akuten Gefäßrupturen. Dabei verfolgte CORTRONIK drei wesentliche Arbeitsziele:

1. Erprobung von Methoden zur Festigkeits- und Duktilitätssteigerung von abbaubaren Implantatprototypen, deren Strutdimensionen stark reduziert wurden sowie eine entsprechende mechanische und mechano-korrosive Prüfung
 - Zielgrößen: Wandstärken und Stegbreiten von $\leq 90 \mu\text{m}$
 - Prüfgrößen: Rated Fracture Diameter, Radial Stiffness, radialer Druck F_{15}
2. Transfer von Konzepten zur Degradationssteuerung von biologisch abbaubaren Mg-Scaffolds auf Prototypen sowie Erprobung von neuen und modifizierten Polymerschichten
 - Zielgrößen: Crimpfähigkeit auf 5 French
 - Prüfgrößen: Expansionsdurchmesser, Passivierungsvermögen und Degradationsgeschwindigkeit des Grundkörpers
3. Verbesserung der Gebrauchseigenschaften von Stentgrafts durch Transfer von Elektro-Spinning-Technologien sowie neuen Stent-Designs; Applikation von permanenten und biologisch abbaubaren Covern auf Prototypen für in vitro und in vivo Versuche
 - Zielgrößen: funktionales Cover $\leq 50 \mu\text{m}$ Dicke
 - Prüfgrößen: Biostabilität und Biokompatibilität des Covers

Im Rahmen dieser Arbeiten sollten zulassungsrelevante in vitro Prüfmethoden sowie numerische Verfahren zur Designoptimierung für gecovertete Stents etabliert werden. Darauf aufbauend war die Translation und Korrelation der in vivo und in vitro Ergebnisse von Perforationsversuchen zur medizinischen Versorgung von kardialen Perforationen geplant.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

RESPONSE verfolgt mit der Optimierung und Neuentwicklung von innovativen Implantaten u.a. das allgemeine Ziel, der immer älter werdenden Bevölkerung mit innovativen Implantaten eine hohe Lebensqualität zu ermöglichen. CORTRONIK besitzt als Industriepartner signifikantes Fachwissen, um innovative metallische Stentmaterialien unter fertigungstechnischen Aspekten zu analysieren und weiterzuentwickeln. Die erfolgreiche Kooperation mit der Universität Rostock verbunden mit einer langjährigen Erfahrung auf dem Gebiet der Implantatentwicklung und -produktion bildeten die Basis für die erfolgreichen Beiträge in diesem Forschungsvorhaben, insbesondere für die Herstellung von Prototypen.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Die geplanten Arbeitspakete konnten erfolgreich bearbeitet werden. Der zeitliche Ablauf der Arbeitspakete ist im Folgenden dargestellt.

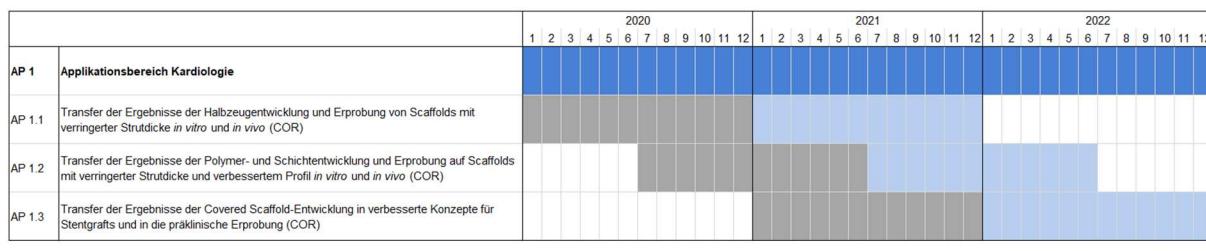


Abb. 1: Zeitliche Planung Teilprojekt CORTRONIK

Meilensteine im Berichtszeitraum

MS4: Bereitstellung verbesserter Stentgrafts für die klinische Erprobung wurde erreicht.

4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Durch die demografische Entwicklung, die dazu führt, dass im Jahr 2030 etwa 29 % der deutschen Bevölkerung über 65 Jahre alt sein werden, wird die Multimorbidität der Bevölkerung bei gleichzeitig chronischem Krankheitsverlauf ein immer größeres gesellschaftliches Problem darstellen. Somit wird mit steigender Lebenserwartung der mehrfach erkrankte und in seiner Funktionalität beeinträchtigte Mensch die bestimmende Realität in der Versorgung darstellen, die auch in der Medizintechnik Berücksichtigung finden muss. Ausgangspunkt für dieses Vorhaben war der in der RESPONSE-Vorhabenbeschreibung im Detail dargestellte Stand der Forschung und Entwicklung.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Die Auswahl der Forschungspartner und Unternehmen erfolgte als Teil der RESPONSE-Strategieentwicklung durch Systematisierung der zu bearbeitenden Problemstellungen, hierzu erforderlicher Kompetenzen und bestehender Unternehmensinteressen. Ausgewiesene Wissenschaftler aus der Medizin und den Ingenieur- und Naturwissenschaften sicherten die wissenschaftliche, wirtschaftliche und klinische Translation entlang der gesamten Innovationskette. Durch die direkte Zusammenarbeit mit den klinischen Anwendern wurde die Schnittstelle zur medizinischen Bewertung weiter optimiert. Für das im Forschungsvorhaben adressierte medizinische Applikationsfeld wurde als klinischer Partner die Universitätsmedizin Rostock einbezogen. Die entsprechend der wissenschaftlich/technischen Expertise und der unternehmerischen Kompetenz ausgewählten Antragsteller des Forschungsvorhabens ermöglichen eine interdisziplinäre Bearbeitung des Themas.

6. Verwendung der Zuwendung und erzieltes Ergebnis

AP 1.1 Transfer der Ergebnisse der Halbzeugentwicklung und Erprobung von Scaffolds mit verringriger Strutdicke in vitro und in vivo

In diesem Arbeitspaket wurde die Erprobung von Magnesium-Scaffolds mit verringriger Wandstärke erfolgreich durchgeführt. Grundlage für die Realisierung von verringerten Wandstärken war zunächst einmal die Steigerung der Festigkeit des Ausgangsmaterials. Hierzu wurden Legierungen mit erhöhtem Legierungsgehalt hergestellt und mit einem modifizierten Umformverfahren zu dünnwandigen Präzisionsröhren verarbeitet. Durch einen erhöhten Legierungsgehalt konnten, infolge der verstärkten Partikelhärtung, höhere Festigkeiten erreicht werden. Um ein vorzeitiges Brechen der Scaffolds bei der Expansion zu vermeiden, wurde gleichzeitig darauf geachtet, dass die Festigkeitssteigerung nicht zu einer Versprödung des Materials führt.

Durch die Erhöhung der Legierungsgehalte und der Modifikation des Umformverfahrens konnte eine Festigkeitssteigerung bis zu ca. 15% erreicht werden. Für eine ausreichende Verformbarkeit der Scaffolds bei der Expansion wird eine Bruchdehnung von ca. 12%, gemessen im Zugversuch, benötigt.

AP 1.2 Transfer der Ergebnisse der Polymer- und Schichtentwicklung und Erprobung auf Scaffolds mit verringriger Strutdicke und verbessertem Profil in vitro und in vivo

Wie in Arbeitspaket 1.1, mussten auch hier zunächst die Grundlagen für die Verwendung von geringeren Strudicken geschaffen werden. Da korrosive Vorgänge so lange verstärkt verlaufen bis sich eine Deckschicht aufgebaut hat, die die Diffusionsvorgänge verlangsamt, sind dünnere Struts überproportional vom Verlust des tragenden Querschnitts betroffen.

Deshalb ist es wichtig, Beschichtungen bereitzustellen, die nach der Expansion der Scaffolds, möglichst intakt bleiben und einen Zutritt der physiologischen Elektrolyte verhindern.

Mit den in FV 11 entwickelten Spray- und Plasmapolymer-Beschichtungen stehen zwei geeignete Beschichtungskonzepte zur Verfügung. Speziell im Fall der Plasmapolymer-Beschichtungen können sehr dünne, absolut defektfreie Beschichtungen bereitgestellt werden (vgl. Abb. 2).

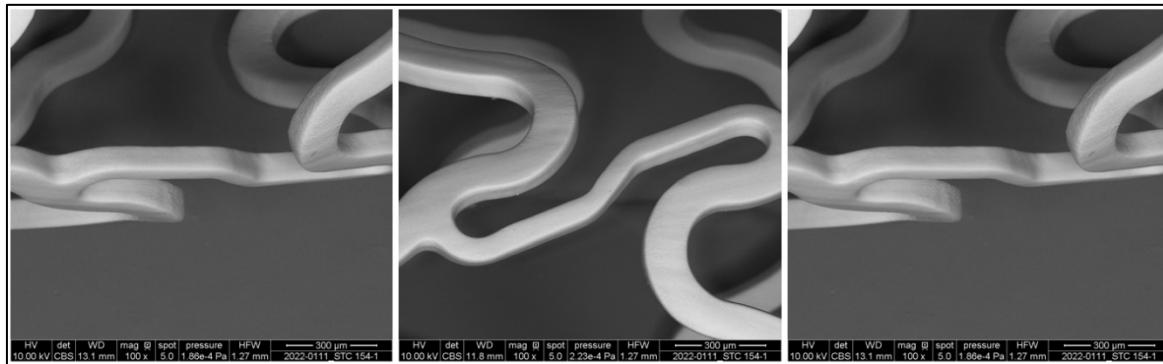


Abb. 2: Defektfreie Plasmapolymer-Beschichtungen nach Expansion der Scaffolds auf den maximal zulässigen Durchmesser

AP 1.3 Transfer der Ergebnisse der Covered Scaffold-Entwicklung in verbesserte Konzepte für Stentgrafts und in die präklinische Erprobung

In diesem Arbeitspaket wurden die weiterführenden Untersuchungen an den in FV 12 entwickelten biologisch abbaubaren PLLA-Cover, hinsichtlich der relevanten Gebrauchseigenschaften abgeschlossen. Mit diesen Tests konnte belegt werden, dass die Stent-Grafts mit biologisch abbaubarem PLLA-Cover in allen Gebrauchseigenschaften vergleichbar oder besser abschneiden als aktuelle kommerzielle Produkte, die parallel dazu getestet wurden.

Auf Basis dieser Ergebnisse wurden entsprechende Prototypen für einen Tierversuch hergestellt. Dieser wurde beim Projektpartner Universitätsmedizin Rostock, beginnend mit einer Kohorte mit 4-wöchiger Implantationsdauer, durchgeführt und somit der Transfer in die präklinische Erprobung begonnen.

Die Proben der 4-Wochen-Kohorte wurden im November 2021 explantiert und eingelagert. Da seitens der Projektpartner kurzfristig keine Möglichkeit zur Durchführung einer Histologie bestand, wurde die Durchführung der histologischen Untersuchungen von der CORTRONIK bei einem externen Labor veranlasst.

Die Ergebnisse dieser Histologie sollten vor allem Aufschluss darüber geben, inwieweit der Abbau des PLLA-Covers zum Explantationszeitraum fortgeschritten war und inwieweit der Abbauprozess ggf. bioinkompatible Reaktionen, wie z.B. eine lokale Inflammation, auslösen kann.

Aufgrund der erhaltenen positiven Ergebnisse wurde in einem weiteren Iterationsschritt versucht, die Passivierung der Scaffolds durch ein modifiziertes Plasma-Coating, in dem Stickstoff-Anteile enthalten waren, weiter zu optimieren. Zur Überprüfung wurde hier ebenfalls ein sog. Radial-Fatigue Test unter korrosiver und dynamischer mechanischer Last durchgeführt. Verglichen wurden in diesem Testlauf ein konventionelles PLLA-Coating sowie Proben, bei denen ein C-H-O-Plasmapolymer-Coating und das modifizierte C-H-O-N als Basis-Coating für das PLLA-Coating verwendet wurden. Die Ergebnisse sind in Abb. 3 dargestellt.

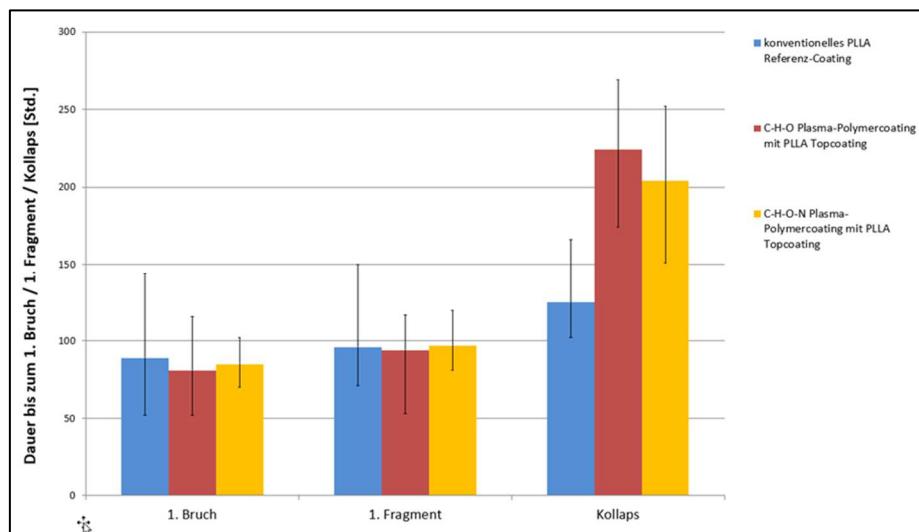


Abb. 3: Ergebnisse des Tests an Proben mit 2 verschiedenen Plasma-Polymer-Basiscoatings und einem Medikamente-eluerenden PLLA Topcoating unter zyklischer radialer Last in einem korrosiven Medium. Dargestellt sind die Zeitpunkte des ersten auftretenden Bruchs, der ersten Ablösung eines Segments und des Kollapses der stützenden Struktur.

Die Ergebnisse zeigen, dass mit dem modifizierten C-H-O-N als Basis-Coating gegenüber dem vorher bereits verwendeten C-H-O als Basis-Coating keine weitere Verbesserung erreicht werden konnte. Die Verbesserung der Standzeit bis zum Kollaps der Scaffolds betrug beim C-H-O-N-Coating ca. 65% und beim C-H-O-Coating ca. 80%, womit die Ergebnisse der ersten Versuchsreihe bestätigt werden konnten.

7. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Das vorliegende Teilvorhaben ist durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung gefördert worden. Die Verwendung der Fördermittel ist im zahlenmäßigen Nachweis detailliert dargestellt.

8. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Das Verbundprojekt RESPONSE bietet eine thematisch fokussierte Plattform zur Ausgestaltung von Kooperationen zwischen Wissenschaft und Wirtschaft zur Gestaltung des

Zukunftsfeldes Implantatforschung und -entwicklung entlang der gesamten Wertschöpfungskette – von der Idee bis zum Medizinprodukt im klinischen Einsatz – mit einem Schwerpunkt des Konsortiums in den neuen Ländern. Die transsektorale Zusammenstellung von Akteuren mit komplementären Kompetenzen entlang des Innovationsprozesses erhöht dabei insbesondere die Chancen, in einem hochkompetitiven Umfeld mit steigenden regulatorischen Anforderungen, die erhebliche Innovationsrisiken bergen, erfolgreich agieren zu können. Zum Zeitpunkt der Antragstellung war die CORTRONIK ein stark wachsendes Unternehmen. Die damit verbundenen finanziellen Aufwendungen beschränken den Anteil an Entwicklungsprojekten mit hohem Innovationsgrad, so dass hier auf öffentliche Hilfen zurückgegriffen werden muss. Die Notwendigkeit der finanziellen Zuwendung ergibt sich zudem aus der Tatsache, dass die geplanten Projektarbeiten einen hohen finanziellen Aufwand für personelle und sächliche Ressourcen erfordern. Durch die Ansiedelung des Projektes im vorwettbewerblichen Bereich kann das wirtschaftliche Risiko bei dem derzeitigen Status der Entwicklung nicht von den beteiligten Partnern allein getragen werden. Auf dem Gebiet der Implantattechnologie besteht darüber hinaus ein erhebliches wissenschaftlich/technisches Forschungs- und Entwicklungsrisiko, aufgrund der Verwendung aufwendiger Herstellungsprozesse, der Notwendigkeit der Qualitätssicherung, dem Umgang mit neuen Materialien aber auch der notwendigen Eignungsbeurteilung mit zweckmäßigen *in vitro* Methoden. Weiterhin ist durch stetig steigende Zulassungsanforderungen, eine deutlich intensivierte Durchführung von präklinischen und sowie „First-In-Man“-Studien, als noch vor einigen Jahren notwendig. Diese Studien sind sehr kostenintensiv und beinhalten zudem ein erhebliches Risikopotenzial, da sie vergleichsweise weit vor einer etwaigen Produkteinführung durchzuführen sind.

9. Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Das vorliegende Forschungsvorhaben liefert Entwicklungen für Implantatinnovationen für das Herz-Kreislauf-System und legt damit die wissenschaftlichen und technologischen Grundlagen für neue Konzepte im Sinne des Health Technology Assessments (HTA) zur Erzielung klinischer Innovationssprünge sowie der von RESPONSE angestrebten gesellschaftlichen Wertschöpfung auf dem Weg vom Forschungsergebnis zum Medizinprodukt. Neben dem Ziel der Verbesserung der klinischen Performanz durch innovative technische Lösungen werden neue theoretisch-wissenschaftliche Konzepte für Medizinprodukte durch Erschließung neuer Anwendungsbereiche für Stenttechnologien erarbeitet.

Der Geschäftsbereich der CORTRONIK GmbH umfasst Design, Entwicklung und Herstellung von koronaren und peripheren Metall-Stents sowie resorbierbaren koronaren Metallgerüsten. Die CORTRONIK hat ein starkes Interesse an der klinischen Einführung von Produktinnovationen.

Durch die enge Verbindung zwischen Produktion und Entwicklung, verfügt sie über die nötige Expertise, innovative Implantate in kurzer Zeit zu entwickeln, zu erproben und darüber hinaus zu produzieren. Aufgrund der hohen Aktualität der Fragestellungen besteht großes Potenzial für die wirtschaftliche Verwertung der erzielten Ergebnisse.

10. Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Im Projektzeitraum sind den Projektbearbeitern keine Kenntnisse über Ergebnisse Dritter bekannt geworden, welche den Erfolg des Projektes gefährden.

11. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse

Der Antragsteller wird - unter Wahrung der eigenen Interessen - relevante Forschungsergebnisse für die interessierte Öffentlichkeit in der Bundesrepublik Deutschland in deutscher Sprache in einer der nachstehend genannten Formen veröffentlichen:

- Schlussbericht
- Fachzeitschriften (in Zusammenarbeit mit den Projektpartnern)
- Internet (in Zusammenarbeit mit den Projektpartnern)

Bereits seit Beginn des Vorhabens wird auf der Internetseite des Antragstellers auf das Fördervorhaben hingewiesen.



Schlussbericht

Transfervorhaben 1

„Stenttechnologien für innovative minimalinvasive Therapieverfahren“

Teilvorhaben

Institut für ImplantatTechnologie und Biomaterialien e.V.
„Stenttechnologien für innovative minimalinvasive Therapieverfahren in der Kardiologie sowie für die Anwendung in der Augenheilkunde und Gynäkologie“

FKZ 03ZZ0931D

Förderzeitraum 1.1.2020 – 31.12.2022

im Unternehmen Region-Programm

„Zwanzig20 – Partnerschaft für Innovation“
des Bundesministeriums für Bildung und Forschung

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Verbundpartner:

| Antragsteller/Einrichtungen | | Ansprechpartner | Hauptarbeitspunkt |
|--|------------|--|-------------------|
| bess pro GmbH | bess | M. A. Eisenhut, T. Stein | AP 3 |
| CORTRONIK GmbH Rostock | COR | Dr. C. Momma | AP 1 |
| Institut für ImplantatTechnologie und Biomaterialien e.V. | IIB | Dr. S. Siewert, Prof. Dr. K.-P. Schmitz | AP 1, 2, 4, 6 |
| Medizinische Hochschule Hannover, Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde | HNO MHH | Prof. Dr. T. Lenarz, PD Dr. G. Paasche | AP 3 |
| Universitätsmedizin Greifswald | | | |
| Zentrum für Innere Medizin, Klinik und Poliklinik für Innere Medizin A | Gastro UMG | Prof. Dr. M. M. Lerch, Dr. F. Frost | AP 5 |
| Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe | Gyn UMG | Prof. Dr. M. Zygmunt | AP 4 |
| Universitätsmedizin Rostock | | | |
| Institut für Anatomie | ANAT UR | Prof. Dr. A. Wree, Dr. J. Keiler | AP 6 |
| Institut für Biomedizinische Technik | IBMT | Dr. K. Lebahn, Prof. Dr. N. Grabow | AP 1, 3, 5, 6 |
| Zentrum für Innere Medizin; Abt. Kardiologie | Kardio UR | Prof. Dr. A. Öner, Prof. Dr. H. Ince | AP 1 |
| Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde | UAK | Prof. Dr. R. Guthoff, Prof. Dr. O. Stachs | AP 2 |

Inhalt

| | |
|---|----|
| 1. Aufgabenstellung | 1 |
| 2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde..... | 2 |
| 3. Planung und Ablauf des Vorhabens..... | 4 |
| 4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde | 7 |
| 5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen | 14 |
| 6. Verwendung der Zuwendung und erzieltes Ergebnis | 15 |
| 7. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises..... | 16 |
| 8. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit..... | 16 |
| 9. Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans..... | 17 |
| 10. Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen..... | 17 |
| 11. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse | 18 |
| 12. Anhang zu Punkt 6 – Ausführliche Darstellung der wissenschaftlich-technischen Ergebnisse und anderer wesentlicher Ereignisse..... | 20 |

1. Aufgabenstellung

Das übergeordnete Ziel der geplanten Arbeiten im Rahmen des Transfervorhabens 1 galt – angesichts der medizinischen, gesellschaftlichen und gesundheitspolitischen Herausforderungen des demografischen Wandels – dem Erhalt unabhängiger Lebensführung, Selbstbestimmung und Lebensqualität der Patienten. Das vorliegende Transfervorhaben beinhaltete innovative Stenttechnologien für die Applikationsbereiche

- Kardiologie
- Ophthalmologie
- Hals-Nasen-Ohrenheilkunde
- Gynäkologie
- Gastroenterologie.

Der im Rahmen des Teilverhabens des IIB abgezielte Innovationstransfer von Stententwicklungen für die Anwendungsfelder Kardiologie, Ophthalmologie und Gynäkologie erfolgte aufbauend auf den Entwicklungen der Basisvorhaben sowie Forschungsvorhaben der Umsetzungsphasen I und II. Dabei wurden die zentralen Ziele der Produktisierung und Zulassung von Implantaten für einen Transfer der entwickelten Implantate in die klinische Anwendung bzw. der Sicherung der wissenschaftlichen Anschlussfähigkeit innovativer Implantatentwicklungen für eine zukünftige Prototypisierung verfolgt.

Applikationsbereich Kardiologie

Innerhalb des Applikationsbereiches Kardiologie war eine Fokussierung auf die Designoptimierung von Koronarstents, insbesondere im Hinblick auf eine Minimierung des Thromboserisikos geplant. Darüber hinaus sollten Implantationsstrategien für Koronarstents, bspw. für den Einsatz im Bereich von Bifurkationen, erarbeitet werden. Hierzu wurde auf der Expertise des IIB im Bereich der numerischen strömungsmechanischen Simulationen aufgebaut. Darüber hinaus sollten zulassungsrelevante *in vitro* Prüfmethoden für degradierbare covered Scaffolds etabliert werden. So erfolgte die Entwicklung einer Prüfmethode zur Bestimmung der chronischen Schichtintegrität von degradierbaren gecoverteten Scaffolds zur Beurteilung der Sicherheit des Implantates im Hinblick auf das embolische Risiko während der Implantatlebensdauer. Darüber hinaus war geplant, neue Methoden zur Untersuchung des Einflusses der Ermüdung auf die struktur- und strömungsmechanischen Eigenschaften von degradierbaren gecoverteten Scaffolds unter physiologischen Bedingungen zu etablieren.

Applikationsbereich Ophthalmologie

Innerhalb des Applikationsbereiches Ophthalmologie sollte ein Glaukomstentsystem, bestehend aus Drug-Eluting Glaukomstent und Applikator, entwickelt werden, welches eine sichere Fixierung des minimalinvasiv implantierten Glaukomstents im Auge ermöglicht. Es sollten Konzepte zur

Retardation der Pharmakafreisetzung sowie für alternative minimalinvasive Implantationsverfahren entwickelt und erprobt werden. Als Grundlage für einen erfolgreichen Transfer sollten relevante *in vitro* Prüfmethoden zur Untersuchung des Glaukomstentfixierungsmechanismus entwickelt werden. Darüber hinaus erfolgten umfassende *in vitro* Charakterisierungen der prototypisierten Glaukomstentsysteme sowie Untersuchungen zur Reproduzierbarkeit der minimalinvasiven Implantation im Rahmen okularer Implantationstests *ex vivo*.

Applikationsbereich Gynäkologie

Innerhalb des Applikationsbereiches Gynäkologie sollten alternative Konzepte für Eileitermikrostents auf der Basis biodegradierbarer und biostabiler metallischer Biomaterialien entwickelt und prototypisiert werden. Hierdurch wurde es ermöglicht, ein breiteres Eigenschaftsspektrum, bspw. in Bezug auf radiale Steifigkeit oder Degradationsverhalten des Stents, abzudecken. Darüber hinaus erfolgten die Konzeptionierung, Entwicklung und *ex vivo* Erprobung eines katheterbasierten Applikationssystems zur Behebung proximaler Tubenverschlüsse unter Verwendung eines Eileitermikrostents.

Querschnittsbereich

Innerhalb des Querschnittsbereiches erfolgte eine applikationsbereichsübergreifende Unterstützung hinsichtlich der Etablierung von applikationsbezogenen Zellsystemen und *in vitro* Testung von Stentmaterialien zur Bewertung der biologischen Kompatibilität und Funktionalität degradierbarer Scaffolds und permanenter Stentmaterialien in den Bereichen Kardiologie und Gynäkologie. Die Etablierung applikationsspezifischer Zellsysteme sollte die Grundlage für biologische *in vitro* Analysen der Stentmaterialien darstellen.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Das Institut für ImplantatTechnologie und Biomaterialien e.V. (IIB) ist ein An-Institut der Universität Rostock in der Rechtsform eines außeruniversitären gemeinnützigen Instituts für grundlagenorientierte und wirtschaftsnahe Forschung auf den Gebieten der Biomaterialtestung, Implantatentwicklung, Biomechanik und Sensorik. Neben Forschungs- und Entwicklungs-Kooperationen bietet das IIB Technologietransfer und wissenschaftlich/technische Dienstleistungen an. Hervorzuheben ist die Forschungstätigkeit des IIB auf dem Gebiet der Stenttechnologie. Die Gründung des IIB im Jahr 1998 war der wesentliche Grund für die Ansiedlung der CORTRONIK GmbH in Rostock-Warnemünde. Als Grundlage für die Implantatentwicklung dienen numerische Methoden der Struktur- und Biofluidmechanik [1–4]. Das Forschungsgebiet umfasst neben koronaren Stents zur Therapie verengter Arterien bspw. auch gecoachte vaskuläres Stents oder Mikrostents für die *Tuba uterina* und zur Anwendung im Auge

im Rahmen der Glaukomtherapie [5–8]. Darüber hinaus stehen Transkatheterherzklappensysteme und deren Prüfung sowie Embolieschutzsysteme im Fokus der Forschungstätigkeit [9, 10]. Im Rahmen von RESPONSE wurde außerdem bereits ein Prüfstand zur Untersuchung der Permeabilität gecoverteter Stents unter statischen Flussbedingungen entwickelt [5]. Am IIB wurden außerdem gemeinsam mit dem Projektpartner ANAT UR bereits intensive anatomische Studien der *Tuba uterina* durchgeführt. Auf Grundlage dieser Studien wurden bereits erste Designentwürfe eines Stents für die *Tuba uterina* abgeleitet.

Einen weiteren Schwerpunkt der aktuellen Forschungstätigkeit des IIB stellen Biokompatibilitätsuntersuchungen zur biologischen *in vitro* Bewertung von Biomaterialien dar [11, 12]. Dabei kann auf eine Vielzahl an bestehenden Methoden zur Beurteilung der Biokompatibilität von Implantatmaterialien und Wirkstoffen, u.a. mittels Bestimmung der Zellvitalität, Proliferation, Zellmorphologie und Proteinexpression zurückgegriffen werden. Dies ermöglicht eine direkte Analyse der Zellphysiologie in Antwort auf das Biomaterial und ist essentiell für die Entwicklung von verbesserten Implantatmaterialien und die Unterstützung des Transfers neuartiger Werkstoffe und Wirkstofffreisetzungssysteme für diverse medizinische Applikationsgebiete [13, 14].

Im akkreditierten Prüflabor des IIB (DAkkS, ZLG) werden unabhängig davon Prüfungen von Medizinprodukten durchgeführt. Insbesondere wurden qualitätsbestimmende Parameter von Medizinprodukten als Grundlage zur Entwicklung physiologisch relevanter Prüfmethoden identifiziert und in Prüfverfahren umgesetzt. Für die Testung sowohl von permanenten als auch biodegradierbaren Stents spezielle Prüfstände entwickelt, die entwicklungsbegleitende und zulassungsrelevante Untersuchungen ermöglichen. Das betrifft unter anderem die *in vitro* Ermüdungsprüfung von Stents bei radialer und kombinierter axialer, Biege- und Torsionsbeanspruchung oder die simulierte Anwendung. Das am IIB vorhandene Spektrum an Prüfmethoden dient auch als Grundlage für die Durchführung von Benchmarkuntersuchungen kommerzieller Produkte [15–17].

- [1] Stiehm M, Wüstenhagen C, Siewert S, Ince H, Grabow N, Schmitz KP. Impact of strut dimensions and vessel caliber on thrombosis risk of bioresorbable scaffolds using hemodynamic metrics. *Biomed Tech (Berl)*. 2018 Jun 22;
- [2] Siewert S, Sämann M, Schmidt W, Stiehm M, Falke K, Grabow N, Guthoff R, Schmitz KP. Coupled analysis of fluid-structure interaction of a micro-mechanical valve for glaucoma drainage devices. *Klin Monbl Augenheilkd*. 2015;232(12):1374-80
- [3] Pfensig S, Kaule S, Ott R, Wüstenhagen C, Stiehm M, Keiler J, Wree S, Grabow N, Schmitz KP, Siewert S. Numerical simulation of a transcatheter aortic heart valve under application-related loading. *Current Directions in Biomedical Engineering* 2018;4(1):185–189
- [4] Borowski F, Sämann M, Pfensig S, Wüstenhagen C, Ott R, Kaule S, Siewert S, Grabow N, Schmitz KP, Stiehm M. Fluid-structure interaction of heart valve dynamics in comparison to finite-element analysis. *Current Directions in Biomedical Engineering* 2018;4(1):259–262
- [5] Grossmann S, Siewert S, Kohse S, Ott R, Schmidt W, Grabow N, Schmitz KP; Standardized technique of water permeability measurement for biomedical applications. *Current Directions in Biomedical Engineering* 2018; 4(1):633–636

- [6] Kopp F, Koschmieder A, Stahnke T, Pfensig S, Specht O, Grabow N, Schmitz KP, Guthoff RF, Siewert S. Development of an oculopressor to evaluate the efficiency of glaucoma drainage devices. *Klin Monbl Augenheilkd.* 2018;235(12):1360-1365
- [7] Siewert S, Falke K, Luderer F, Reske T, Schmidt W, Pfensig S, Stiehm M, Hinze U, Chichkov B, Grabow N, Guthoff R, Schmitz KP. Development of a biodegradable flow resisting polymer membrane for a novel glaucoma micro-stent. *Biomed Microdevices.* 2017;19(4):78
- [8] Siewert S, Schmidt W, Kohse S, Pfensig S, Wulf K, Großmann S, Stiehm M, Kopp F, Guthoff R, Grabow N, Schmitz KP. Development of a drug-eluting microstent for micro-invasive glaucoma surgery. *Current Directions in Bio-medical Engineering* 2018;4(1):603-606
- [9] Kaule S, Siewert S, Pfensig S, Wüstenhagen C, Grabow N, Schmitz KP, Stiehm M. Aortic regurgitation after transcatheter aortic valve replacement. *Current Directions in Biomedical Engineering* 2018;4(1):195-198
- [10] Kurzhals A, Matthies JB, Andresen R, Wissgott C, Schmitz KP, Grabow N, Schmidt W. Efficiency test of current carotid embolic protection devices. *Biomed Tech (Berl).* 2017;62(4):349-355
- [11] Brietzke A, Siewert S, Schmidt W, Stahnke T, Kreiner C, Grabow N, Guthoff R, Schmitz KP. Hydrophilic silicone elastomer with excellent cell adhesion capability - A promising material for ophthalmologic micro-implants. *Current Directions in Biomedical Engineering* 2018;4(1):571-574
- [12] Matschegowski C, Matthies JB, Grabow N, Schmitz KP. Cell adhesion and viability of human endothelial cells on electrospun polymer scaffolds. *Curr Dir Biomed Eng* 2016;2(1)11-14
- [13] Stahnke T, Siewert S, Reske T, Schmidt W, Schmitz KP, Grabow N, Guthoff RF, Wree A. Development of a biodegradable antifibrotic local drug delivery system for glaucoma microstents. *Biosci Rep.* 2018;38(4)
- [14] Wulf K, Teske M, Matschegowski C, Arbeiter D, Bajer D, Eickner T, Schmitz KP, Grabow N. Novel approach for a PTX/VEGF dual drug delivery system in cardiovascular applications-an innovative bulk and surface drug immobilization. *Drug Deliv Transl Res.* 2018;8(3):719-728
- [15] Brandt-Wunderlich C, Ruppelt P, Zumstein P, Schmidt W, Arbeiter D, Schmitz KP, Grabow N. Mechanical behavior of in vivo degraded second generation resorbable magnesium scaffolds (RMS). *J Mech Behav Biomed Mater.* 2019;91:174-181
- [16] Schmidt W, Behrens P, Brandt-Wunderlich C, Siewert S, Grabow N, Schmitz KP. In vitro performance investigation of bioresorbable scaffolds – standard tests for vascular stents and beyond. *Cardiovasc Revasc Med.* 2016;17(6):375-83
- [17] Schmidt W, Lanzer P, Behrens P, Brandt-Wunderlich C, Öner A, Ince H, Schmitz KP, Grabow N. Direct comparison of coronary bare metal vs. drug-eluting stents: same platform, different mechanics? *Eur J Med Res.* 2018;23(1):2

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Die geplanten Arbeitspakete innerhalb des Teilverhabens des IIB e.V. konnten erfolgreich bearbeitet werden. Die mit Antragstellung zur Verlängerung und Aufstockung des Teilverhabens des IIB e.V. zur Minderung der Folgen der Pandemie angepasste zeitliche Planung der Arbeitspakete und Meilensteine entspricht dem aktuellen Stand und ist im Folgenden dargestellt.

Tab. 1: Arbeitsplanung für das Teilvorhaben des IIB im Transfervorhaben 1

| Transfervorhaben 1 | | | | | | | | | | | | Transfervorhaben 1 | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|--------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|
| 01.01.2020 - 31.12.2021, Verlängerung bis 31.12.2022 | | | | | | | | | | | | 2020 | | | | | | | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| AP 1 Applikationsbereich Kardiologie | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AP 1.6 Experimentelle und numerische Analysen zur Optimierung von Stentdesigns und Implantationsstrategien für Koronarstents unter Berücksichtigung häodynamischer Aspekte (Transferzentrum für Implantate - IIB) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AP 1.7 Etablierung von zulassungsrelevanten <i>in vitro</i> Prüfmethoden für degradierbare vaskuläre Stents und Covered Scafoids (IIB) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AP 2 Applikationsbereich Ophthalmologie | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AP 2.3 Entwicklung eines minimalinvasiv implantierbaren Drug-Eluting Glaukomstents inklusive eines Verankerungssystems zur sicheren Fixierung des Implantates im Auge (IIB) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AP 2.4 Zulassungsrelevante <i>in vitro</i> Prüfung hergestellter Glaukomstent-Prototypen sowie okulare Implantationstests ex vivo (IIB) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AP 4 Applikationsbereich Gynäkologie | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AP 4.5 Entwicklung und Prototypisierung von Konzepten für bioresorbierbare und permanente Stents zur Therapie proximaler Eileiterstenosen (IIB) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AP 4.6 Entwicklung eines katheterbasierten Implantationskonzeptes für Eileiter-Mikrostents (IIB) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AP 6 Querschnittsbereich | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AP 6.3 In vitro Zellsysteme und Analyse von Zell-Stent Interaktionen zur Bewertung der biologischen Funktionalität von Stent-Materialien (IIB) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| MS1 Prototypisierung von Eileiter-Mikrostents | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| MS3 Bereitstellung zulassungsrelevanter Prüfsysteme für Glaukomstents mit Verankerungssystem | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| MS4 Bereitstellung verbesselter Stentgrafts für die klinische Erprobung | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Meilensteine im Berichtszeitraum

Alle Beiträge des IIB e.V. zu den geplanten Meilensteinen konnten entsprechend der angepassten und vom Projektträger genehmigten zeitlichen Planung vollständig erreicht werden. Die Meilensteine mit Beiträgen des IIB e.V. sind im Folgenden aufgeführt

Tab. 2: Meilensteinplanung für das Teilvorhaben des IIB im Transfervorhaben 1

| MS Nr. | Meilensteine | betreffende Arbeitspakete |
|-------------|---|---------------------------|
| Zeitpunkt | techn. Zielparameter | |
| MS 1 | Prototypisierung von Eileiter-Mikrostents | AP 4 |
| Monat 21 | <p>Ziel: Vorstellung von Stentsystemen für die <i>Tuba uterina</i> mit neuen Materialien und Bereitstellung für das Projektkonsortium für <i>in vitro</i> Prüfungen.</p> <p>Entscheidungspunkt: Durchführung einer Bewertung der entwickelten Stentsysteme hinsichtlich ihrer mechanischen und biologischen Eigenschaften und Entscheidung bzgl. erforderlicher Nachjustierung der Entwicklungskonzepte</p> <p>Beitrag des Teilvorhabens IIB: Der Meilenstein MS1 „Prototypisierung von Eileiter-Mikrostents“ wurde vom IIB e.V. erreicht. So wurde ein Anforderungskatalog für einen metallischen Eileiter-Mikrostent erstellt und relevante Lastfälle für die mechanische Charakterisierung sowie für die Finite-Elemente-Analyse definiert. Darauf aufbauend wurden Eileiterstent-Prototypen entwickelt und prototypisiert.</p> | |
| MS 3 | Bereitstellung zulassungsrelevanter Prüfsysteme für Glaukomstents mit Verankerungssystem | AP 2 |
| Monat 27 | <p>Ziel: Bereitstellung von Prüfverfahren für die <i>in vitro</i> und <i>in vivo</i> Testung von Glaukomstents für eine unabhängige und damit objektive Beurteilung der entwickelten Prototypen</p> <p>Entscheidungspunkt: Bewertung entwickelter Prüfverfahren hinsichtlich ihrer Eignung zur Analyse der Sicherheit und Wirksamkeit von Glaukomstents</p> <p>Beitrag des Teilvorhabens IIB: Der Beitrag des IIB e.V. zu MS3 „Bereitstellung zulassungsrelevanter Prüfsysteme für Glaukomstents mit Verankerungssystem“ wurde erbracht. So wurden erfolgreich relevante Prüfmethoden für die Bewertung entwickelter Glaukomstent-Systeme identifiziert und bereitgestellt.</p> | |
| MS 4 | Bereitstellung verbesserter Stentgrafts für die klinische Erprobung | AP 1 |
| Monat 30 | <p>Ziel: Optimierte Stentgrafts für eine klinische Erprobung sowie entsprechende klinische Modelle liegen vor</p> <p>Entscheidungspunkt: Entwicklung verbesserter Stentgrafts sowie Etablierung von <i>in vitro</i> und <i>in vivo</i> Prüfmethoden; Entscheidung bzgl. des Einsatzes der Entwicklungskonzepte für Stentgrafts für die klinische Erprobung</p> <p>Beitrag des Teilvorhabens IIB: Der Beitrag des IIB e.V. zu MS4 „Bereitstellung verbesserter Stentgrafts für die klinische Erprobung“ wurde erbracht.</p> | |

4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Im Folgenden wird der wissenschaftliche und technische Stand der drei vom IIB im Rahmen dieses Teilprojektes bearbeiteten Applikationsbereiche dargelegt:

- Applikationsbereich Kardiologie
- Applikationsbereich Ophthalmologie
- Applikationsbereich Gynäkologie

Hinzu kommt der wissenschaftliche und technische Stand aus dem hier definierten anwendungsübergreifenden Querschnittsbereich.

Wissenschaftlicher und technischer Stand der Stenttechnologien für den Applikationsbereich Kardiologie

In der heutigen Gesellschaft sind die Folgen des demographischen Wandels hin zu einer immer älteren Bevölkerung auch im Gesundheitssektor, vor allem auf dem Gebiet der Herzerkrankungen deutlich spürbar [1]. Die Behandlung von ischämischen Herzkrankheiten stellt dabei einen wesentlichen Teilbereich dar. Diese Entwicklung korreliert mit einer Zunahme immer komplexerer Problemstellungen, sodass der Bedarf nach neuen, innovativen und an die heutigen Ansprüche angepassten Technologien zur Behandlung von koronaren Herzerkrankungen enorm gestiegen ist. Die ständige Verbesserung von Koronarstents, welche durch Entwicklungen aus Projekten wie RESPONSE erreichbar und durch klinische Studien nachgewiesen wird, wird immer mehr zur Voraussetzung für die Behauptung der Konkurrenzfähigkeit am Weltmarkt.

Die Arterienperforation stellt mit einer Häufigkeit von 0,43%–2,9% eine eher seltene, jedoch potenziell tödliche Komplikation bei der Therapie von arteriellen Stenosen durch perkutane transluminale Koronarintervention dar [2]. Durch die Verwendung von Stentgrafts zur Behandlung von koronarerteriellen Perforationen konnte die Mortalität und die Notwendigkeit für offenchirurgische Notfalleingriffe reduziert werden [3]. Mit dem Einsatz von permanenten Stentgrafts auf der Basis biostabiler Metallgrundkörper und Polymercover ist allerdings drei Jahre postoperativ ein Thromboserisiko von bis zu 22% assoziiert [2, 4]. Kommerziell erhältliche Stentgrafts basieren aktuell entweder auf dem Sandwich-Design oder dem Single-Stent-Design. Während das Cover bei dem Sandwich-Design zwischen zwei Stentstrukturen fixiert wird, wird das Cover bei dem Single-Stent-Design abluminal auf dem Stentgerüst befestigt. Darüber hinaus unterscheiden sich die kommerziell erhältlichen Stentgrafts hinsichtlich der Werkstoffe für das Cover. Während das Cover des PK Papyrus (Biotronik, Schweiz) aus Polyurethan gefertigt wird, bestehen die Cover der Konkurrenzprodukte aus ePolytetrafluorethylen.

Biodegradierbare Stentgrafts für den akuten Verschluss einer arteriellen Perforation sind derzeit nicht am Markt verfügbar. Vollständig resorbierbare Stents haben jedoch den Vorteil, dass potenzielle Spätfolgen, wie Thrombosen, In-Stent-Stenosen und chronische Entzündungen, durch

den temporären Einsatz des Stentgrafts minimiert werden können, da u.a. die Rheologie des Blutes und Vasomotion der Blutgefäße nicht dauerhaft negativ beeinträchtigt wird [5, 6]. In der ersten Umsetzungsphase des Projekts RESPONSE wurden diesbezüglich bereits Ansätze entwickelt, die sich derzeit in der Phase der präklinischen Testung befinden. Die Entwicklung neuer Stentgrafts für die Anwendung bei iatrogenen Perforationen sollte auf die Problemstellungen in der klinischen Praxis angepasst sein.

In vielen Fällen treten Stenosen an koronaren Bifurkationen auf. Diese sind als Engstellen in den Koronararterien im Bereich der Carina definiert. Die Erfolgsaussicht der Behandlung solcher spezifischen Geometrien korreliert jedoch in der klinischen Praxis mit einer erhöhten Inzidenz von Komplikationen, wie beispielsweise einer lokalen Läsion. Mit 15–25 % aller durchgeföhrten perkutanen Koronarinterventionen stellen diese einen erheblichen Anteil dar [7]. Für die Behandlung solcher Problemstellen gibt es verschiedene Operationsstrategien, wie beispielsweise Crush, Mini-Crush, TAP oder Culotte. In der klinischen Praxis existiert jedoch bisher keine einheitliche Vorgehensweise bezüglich der Wahl des Stentgrafts sowie der Implantationsmethode. Für die medizinische Versorgung von Stenosen dieser komplexen Geometrien werden vorrangig herkömmliche Drug-Eluting Stentgrafts, welche für die Anwendung von Gefäßanatomien ohne Verzweigungen entwickelt wurden, verwendet. Bei der Behandlung von spezifischen Geometrien von Bifurkationen ergeben sich dahingehend anwendungsspezifische Komplikationen [8]. Stentgrafts für die Anwendung in diesen charakteristischen Anatomien sind bereits kommerziell erhältlich. Aufgrund der eingeschränkten Deliverability und Positionierbarkeit der Stents sowie der Komplexität des Eingriffes konnten sich die speziell für Bifurcation entwickelten Stentgrafts bisher kaum in der klinischen Praxis etablieren [8]. Der Entwicklungsbedarf nach neuen, leicht applizierbaren Stentgrafts, deren Design auch eine uneingeschränkte Behandlung verzweigter Gefäße ermöglicht, ist daher von großer Bedeutung. Auch bei der Entwicklung biodegradierbarer Stenttechnologien besteht ein hohes Innovationspotential. Nachdem der bislang am besten untersuchte abbaubare Polymerstent Absorb, Bioresorbable Vascular Scaffold (BVS), (Abbott Vascular) aufgrund eines erhöhten Risikos für (späte) Stenthrombosen 2017 vom Markt genommen wurde [9] kam es nicht zu einem Zusammenbruch des Weltmarktes, vielmehr werden erhöhte Forschungstätigkeiten im Bereich der Polymer- bzw. Magnesium-Scaffolds unternommen. Es befinden sich aktuell weltweit unterschiedliche Stentkonzepte in der Entwicklung [10, 11]. Neben abbaubaren polymeren Stentsystemen wird ein abbaubares metallisches Stentkonzept, basierend auf Magnesium und Seltenen Erden verfolgt [9]. Der Magmaris (BIOTRONIK) soll durch die werkstoffbedingt höhere mechanische Festigkeit der Magnesiumlegierung die Nachteile von Polymerstents (große Struthöhe, geringe radiale Festigkeit) überwinden. Zur Steuerung der Degradationszeit und somit der Stützdauer der Magnesium-Scaffolds werden Polymerbeschichtungen genutzt, bei denen allerdings noch Innovationsbedarf besteht. Bei der Entwicklung abbaubarer Stents für die

kardiovaskuläre Anwendung sind die abbaubaren Stentgrundkörper in Kombination mit aufgebrachten (wirkstofffreisetzenden) Beschichtungssystemen so zu gestalten, dass ausreichende Festigkeitseigenschaften sichergestellt und die Abbauprozesse sowie Abbauprodukte genau eingestellt und charakterisiert werden können.

- [1] Odden MC, Coxson PG, Moran A, Lightwood JM, Goldman L, Bibbins-Domingo K. The impact of the aging population on coronary heart disease in the United States. In: *The American journal of medicine*. 2011;124 (9), 827-33.e5. DOI: 10.1016/j.amjmed.2011.04.010.
- [2] Lemmert ME, van Bommel RJ, Diletti R, Wilschut JM, de Jaegere PP; Zijlstra F. Clinical characteristics and management of coronary artery perforations: a single-center 11-year experience and practical overview. In: *Journal of the American Heart Association*. 2017;6 (9). DOI: 10.1161/JAHA.117.007049.
- [3] Romaguera R, Waksman R. Covered stents for coronary perforations: is there enough evidence? In: *Catheterization and cardiovascular interventions: official journal of the Society for Cardiac Angiography & Interventions*. 2011;78 (2), S. 246–253. DOI: 10.1002/ccd.23017.
- [4] Lee WC, Hsueh S-K, Fang C-Y, Wu C-J, Hang C-L, Fang H-Y: Clinical outcomes following covered stent for the treatment of coronary artery perforation. In: *Journal of interventional cardiology*. 2016;29 (6), S. 569–575. DOI: 10.1111/jioc.12347.
- [5] Feng Q, Jiang W, Sun K, Sun K, Chen S, Zhao L. Mechanical properties and in vivo performance of a novel sliding-lock bioabsorbable poly-p-dioxanone stent. In: *Journal of materials science. Materials in medicine*. 2011;22 (10), S. 2319–2327. DOI: 10.1007/s10856-011-4407-3.
- [6] Lee D-H, de La Torre Hernandez JM. The newest generation of drug-eluting stents and beyond. In: *European Cardiology Review*. 2018;13 (1), S. 54. DOI: 10.15420/ecr.2018:8:2.
- [7] Suzuki N, Angiolillo D J, Kawaguchi R, Futamatsu H, Bass TA, Costa MA. Percutaneous coronary intervention of bifurcation coronary disease. In: *Minerva cardioangiologica*. 2007;55 (1), S. 57–71.
- [8] Lesiak M. The need for dedicated bifurcation stents: a critical analysis. In: *Interventional Cardiology Review*. 2016;11 (2), S. 124. DOI: 10.15420/icr.2016:22:2.
- [9] Sotomi Y, Onuma Y, Collet C, Tenekecioglu E, Virmani R, Kleiman NS, Serruys PW. Bioresorbable scaffold: the emerging reality and future directions. *Circulation research*. 2017;120(8):1341–1352.
- [10] Charpentier E, Barna A, Guillemin L, Juliard J-M, Fully bioresorbable drug.eluting coronary scaffolds: A review. ACVD-833, 2013.
- [11] Soares JS, Moore JE. Biomechanical challenges to polymeric biodegradable stents. *Annals of biomedical engineering*. 2016;44(2):560–579

Wissenschaftlicher und technischer Stand der Stenttechnologien für den Applikationsbereich Ophthalmologie

Das Glaukom bezeichnet Augenerkrankungen, die durch eine progressive Nervenfaser-schädigung im Bereich der Papille und damit einhergehenden funktionellen visuellen Defekten gezeichnet sind [1]. Das Glaukom ist weltweit die häufigste Ursache für irreversible Erblindungen. Aufgrund des globalen Bevölkerungswachstums und der steigenden Lebenserwartung wird die Anzahl der erkrankten Menschen für das Jahr 2020 auf 76 Millionen und für das Jahr 2040 auf 112 Millionen geschätzt [2]. Die mit ca. 90% häufigste Form des Glaukoms ist das primäre Offenwinkelglaukom. Bei dieser Erkrankung kommt es durch eine Abflussstörung des Kammerwassers zu einem erhöhten Intraokulardruck. Diese Abflussstörungen stellen den größten Risikofaktor bei der Ausbildung eines Glaukoms dar. In diesem

Zusammenhang gilt, dass die Erhöhung des Intraokulardruckes pro 1 mmHg oberhalb des physiologischen Intraokulardruckes das Risiko eines fortschreitenden Glaukomschadens um jeweils 11% erhöht [3]. Eine Therapie des Glaukoms ist zum jetzigen Zeitpunkt nur durch die konsequente, lebenslange Senkung des Intraokulardruckes möglich. Der im Rahmen der Therapie angestrebte Intraokulardruck ist dabei patientenindividuell abhängig vom Ausgangsdruck und der Schwere der Erkrankung [4]. Erzielt auch die medikamentöse Maximaltherapie keine ausreichende Senkung des Intraokulardruckes oder treten pharmakologisch induzierte Nebenwirkungen mit Sekundärpathologien auf, wird bei ca. 20% der Patienten im Verlauf ihrer Krankheitsgeschichte die Anwendung chirurgischer Therapieverfahren zur Ermöglichung einer Kammerwasserdrainage erforderlich [5]. Neben konventionellen chirurgischen Therapieverfahren und Glaukom-Drainage-Implantaten, die ausgehend vom Äußeren des Auges implantiert werden, kommen hierfür zunehmend minimalinvasive implantatbasierte Verfahren zur Anwendung. Unter dem Überbegriff der minimalinvasiven Glaukomchirurgie (MIGS, engl. Minimally-Invasive Glaucoma Surgery) werden alle Implantate zusammengefasst, die *ab interno*, also ausgehend vom Inneren des Auges, ohne Eröffnung der Bindegewebe, implantiert werden [4, 6, 7]. Aktuelle Marktanalysen prognostizieren eine Zunahme des weltweiten Marktvolumens dieser Implantate von 311,3 Millionen USD im Jahr 2019 auf 1.180,7 Millionen USD im Jahr 2024 [8]. Das entspricht einer durchschnittlichen jährlichen Wachstumsrate des Marktvolumens von 30,4%. Durch die minimalinvasive Glaukomchirurgie kann das Trauma im Vergleich zur konventionellen Chirurgie reduziert werden. Eine wesentliche Limitation aktueller Implantate stellt die effektive und kontrollierte Einstellung des Intraokulardruckes dar [9]. Typischerweise wird ein möglichst großer drucksenkender Effekt angestrebt, was insbesondere bei den in den Schlemm-Kanal drainierenden Implantaten aufgrund der physiologischen Druckverhältnisse im Auge nur in begrenztem Maße möglich ist. Der drucksenkende Effekt bei einer Drainage in den Suprachoroidal- oder insbesondere in den Subkonjunktivalraum ist deutlich größer [6]. Gleichzeitig steigt bei diesen Drainagezielorten aber auch die Gefahr des Auftretens einer Hypotonie, d.h. eines Intraokulardruckes unterhalb von 6 mmHg [5]. Eine langfristig effektive Drainage mit absoluter Tropfenfreiheit wird aufgrund fibrotischer Gewebereaktionen mit Implantaten der aktuellen Generation i.d.R. nicht erreicht [10]. Kombinationsprodukte, d.h. Glaukomstents, die zur Hemmung einer überschießenden Gewebereaktion lokal antifibrotische Medikamente freisetzen, sind derzeit nicht am Markt verfügbar.

Während das iStent System von Glaukos Inc. und das Xen System von Allergan plc sowohl in Europa als auch in den USA eine Zulassung besitzen, wurde der CyPass Microstent (Alcon Inc.) am 29. August 2018 nach der Veröffentlichung der Ergebnisse einer 5-jährigen Follow-Up Studie durch den Hersteller vom Weltmarkt zurückgezogen. In der Studie wurde festgestellt, dass ein durch Dislokationen verursachter Endothelschaden der Kornea zu

kornealen Schwellungen und daraus resultierenden Eintrübungen bei mehreren Patienten führte. Die veröffentlichten Daten weisen darüber hinaus darauf hin, dass eine Korrelation zwischen der Lage des Implantats in der Vorderkammer des Auges und dem Rückgang der Endothelzelldichte besteht [14, 15].

Unabhängig davon haben Implantate für die minimalinvasive Glaukomchirurgie das Potenzial die Lücke zwischen anfänglicher medikamentöser Therapie und invasiven Eingriffen, wie der Trabekelektomie, zu schließen, um möglichst langfristig und risikoarm eine hinreichende Drucksenkung zu erreichen [11].

- [1] Foster PJ, Buhrmann R, Quigley HA, Johnson GJ. The definition and classification of glaucoma in prevalence surveys. *Br J Ophthalmol.* 2002;86(2):238-242.
- [2] Tham YC, Li X, Wong TY, Quigley HA, Aung T, Cheng CY. Global Prevalence of Glaucoma and Projections of Glaucoma Burden through 2040. *Ophthalmology* 2014;121(11):2081-90.
- [3] Bengtsson B, Leske MC, Hyman L, Heijl A. Fluctuation of intraocular pressure and glaucoma progression in the early manifest glaucoma trial. *Ophthalmology*. 2007;114(2):205-209.
- [4] Quigley HA. 21st century glaucoma care. *Eye (Lond)*. 2019;33(2):254-260. doi: 10.1038/s41433-018-0227-8.
- [5] Thieme H. Current status of epibulbar anti-glaucoma drainage devices in glaucoma surgery. *Dtsch Arztebl Int.* 2012;109(40):659-664.
- [6] Pillunat LE, Erb C, Jünemann AG, Kimmich F. Micro-invasive glaucoma surgery (MIGS): a review of surgical procedures using stents. *Clin Ophthalmol.* 2017;11:1583-1600.
- [7] Gedde, S. J. et al. Treatment outcomes in the tube versus trabeculectomy (TVT) Study after five years of follow-up. *Am. J. Ophthalmol.* 153, 789–803.e2 (2012).
- [8] kbv research, Global Minimally Invasive Glaucom Surgery (MIGS) Devices Market (2018-2024), November 2018
- [9] Gedde, S. J. et al. Three-year follow-up of the tube versus trabeculectomy Study. *Am. J. Ophthalmol.* 2009;148, 670–684.
- [10] Lockwood A, Brocchini S, Khaw PT. New developments in the pharmacological modulation of wound healing after glaucoma filtration surgery. *Current Opinion in Pharmacology.* 2013;13(1):65-71.
- [11] Ansari E, An Update on implants for minimally invasive glaucoma surgery (MIGS). *Ophthalmol Ther.* 2017 September 13; 6(2): S:243.
- [12] <https://www.myalconstore.com/glaucoma-surgery/cypass-micro-stent/> (abgerufen am 21.03.2019)
- [13] <http://ophthalmologytimes.modernmedicine.com/ophthalmologytimes/news/mics-migs-combined-surgery-microstent-devices?page=0%2C2> (abgerufen am 21.03.2019)
- [14] Garcia-Feijoo J, CyPass stent withdrawal: The end of suprachoroidal MIGS?. *Arch Soc Esp Oftalmol.* 2019; 94(1):S.1-3
- [15] <https://www.fda.gov/medicaldevices/safety/alertsandnotices/ucm624283.htm> (abgerufen am 21.03.2019)

Wissenschaftlicher und technischer Stand für den Applikationsbereich Gynäkologie

Bei 25% der Frauen im gebärfähigen Alter, die eine weibliche Sterilität aufweisen, liegt ein Verschluss in der *Tuba uterina* vor [1]. Dieser Verschluss kann proximal oder distal sowie über die gesamte Länge des Eileiters vorliegen. Ein proximaler Tubenverschluss (PTO) tritt in 10%–25% der Fälle auf und hat häufig eine vorangegangene Entzündung als Ursache [2]. Der proximale Tubenverschluss ist eine nicht homogene Entität [3]. Zur Beurteilung der

Ausprägung eines proximalen Tubenverschlusses wird häufig eine Laparoskopie oder eine Chromopertubation durchgeführt. In den vergangenen Jahren war eine *in vitro* Fertilisation (IVF) die einzige klinisch praktikable Therapie, um eine Schwangerschaft trotz PTO zu ermöglichen. Als ambulant einsetzbares Rekanalisationsverfahren wurde die transzervikale Sondierung der Eileiter entwickelt und stellt eine Alternative zu IVF und chirurgischen Eingriffen dar. Eine vollständige Rekanalisation des Eileters funktioniert jedoch nur bei 50% der durchgeführten Eingriffe [4]. Eine anschließende Schwangerschaft wird sogar nur nach 35% der Eingriffe erreicht [5]. Die Einlage eines zu entwickelnden (Mikro-)Eileiter-Stents soll sowohl die Durchgängigkeit des Eileters und die Überwindung der äußeren Stenosierung (z.B. infolge von Fibrose) bewirken, als auch zur Wiederherstellung der Klappenfunktion beitragen [6]. Die Verwendung eines (Mikro-)Stents zur Behandlung einer eileiterbedingten Sterilität soll nicht nur einen therapeutischen Vorteil gegenüber einer einfachen Tubenkanalisation oder Perturbation liefern, sondern ebenfalls zu einer Reduktion der in der Literatur beschriebenen Rate der Tubengraviditäten (in bis zu 20%–50% der Fälle) führen.

Durch die Erweiterung des angedachten Einsatzspektrums des Eileiterstents um einen Biosensor werden die bislang nur in der vaskulären Medizin eingesetzten Erkenntnisse und Techniken sowohl für diagnostische (Window of Implantation, Frühdetektion des Ovarialkarzinoms) als auch therapeutische Zwecke genutzt. Derartige Lösungen sind derzeit nicht auf dem Markt verfügbar.

- [1] Smith S, Pfeifer SM, Collins JA. Diagnosis and management of female infertility. JAMA. 2003;290(13):1767-1770.
- [2] Grant A. Infertility surgery of the oviduct. Fertility and Sterility. 1971;22, 496–503.
- [3] Novy MJ. Tubal surgery of IVF - making the best choice in the 1990s. International journal of fertility and menopausal studies. 1995;40(6):292–297.
- [4] Mekaru K, Yagi C, Asato K, Masamoto H, Sakumoto K, Aoki Y. Hysteroscopic tubal catheterization under lapa-roscopy for proximal tubal obstruction. Archives of Gynecology and Obstetrics. 2011;284(6):1573-1576
- [5] Hou, Hai Yan, et al. "Outcome of laparoscopy-guided hysteroscopic tubal catheterization for infertility due to proximal tubal obstruction." Journal of minimally invasive gynecology. 2014; 272-278.
- [6] Seyam EM, Hassan MM, Tawfeek Mohamed Sayed Gad M, Mahmoud HS, Ibrahim MG. Comparison of pregnancy outcome between ultrasound- guided tubal recanalization and office-based microhysteroscopic ostial dilatation in patients with proximal blocked tubes. Int J Fertil Steril. 2016;9(4):497-505.
- [7] www.fairview.org/patient-education/85509 (aufgerufen 22.03.2019)
- [8] www.cookmedical.com/products/wh_ftc900_webds (aufgerufen 22.03.2019)

Wissenschaftlicher und technischer Stand für den anwendungsübergreifenden Querschnittsbereich

Chemische Komposition, Struktur und Oberflächenmodifikationen üben entscheidenden Einfluss auf die Biokompatibilität und biologische Funktionalität von Stentmaterialien und somit auf die Sicherheit eines Implantates aus. Im Fall abbaubarer Biomaterialien haben die bislang

noch gegenüber permanenten Materialien unterlegenen mechanischen Eigenschaften Auswirkungen auf die Strukturgröße, wie z.B. die Strutdicke von koronaren Stents, und erhöhen damit das Risiko einer späten Stenthrombose [1, 2]. Nickel-Titan- und Kobalt-Chrom-Legierungen für permanente Stents sowie neue Legierungssysteme für abbaubare Magnesiumstents sind vielversprechende Systeme für die Entwicklung innovativer Stents. Darüber hinaus stellt die Entwicklung von oberflächenaktiven Beschichtungen, der Mikrostruktur und Oberflächenmorphologie weiteres Innovationspotenzial hinsichtlich einer Optimierung von Zell-Biomaterial Interaktionen dar. Oberflächenmodifikationen können über Elektrospinning, Tauch- und Sprühbeschichtungen, aber auch über Plasmapolymerisationsbeschichtungen erfolgen. Gerade letztere stellen eine Möglichkeit zur Erzeugung sehr dünner Schichten auf Oberflächen dar [3, 4]. Die Steuerung von Implantat-Gewebe-Wechselwirkungen durch Werkstoffmodifikationen und Wirkstoffbeschichtungen zur Vermeidung von Immunreaktionen, Infektionen, Späthrombosen und Fibrosierung ist entscheidend für die Zuverlässigkeit und Sicherheit von Implantaten und damit für den langfristigen Heilerfolg. Im Bereich koronarer Drug-Eluting Stents (DES) sind hierbei Substanzen mit möglichst zellspezifischer Wirkung gefragt. Ein in dieser Hinsicht herausragender DES ist der Orsiro (BIOTRONIK), dessen Entwicklung in enger Kooperation der Konsortialpartner CORTRONIK/BIOTRONIK, IBMT und IIB erfolgte, mit ultradünnen (60 µm) Kobalt-Chrom-Struts, einem abbaubaren Polymer-Coating aus Poly-L-Milchsäure, beladen mit Sirolimus. Diese Kombination aus drei technologischen Innovationen macht den Orsiro zu einem Erfolgsprodukt mit klarer Überlegenheit gegenüber der Konkurrenz [5].

Die Etablierung applikationsspezifischer *in vitro* Zellsysteme ermöglicht die Beurteilung der Implantat-Gewebe-Wechselwirkung mit relevanten Zelltypen, u.a. auch im inflammatorischen Milieu. Die Beiträge in diesem Bereich widmen sich neben der Etablierung geeigneter *in vitro* Zellsysteme für die Organsysteme im Bereich Kardiologie, Ophthalmologie, Gynäkologie und Gastrointestinaltrakt der Untersuchung der Biokompatibilität anlehnend an DIN EN ISO 10993 zur Bewertung der Eignung und biologischer Funktionalität innovativer Stentmaterialien für den klinischen Einsatz.

Ein wichtiger Aspekt der Biokompatibilitätsprüfungen ist die Simulation physiologisch relevanter Parameter in *in vitro* Systemen. Auf dem Gebiet der Stenttechnologie betrifft dies in erster Linie die Schubspannung (engl.: shear stress).

Physiologische Strömungen (z.B. Blutstrom) beeinflussen die angrenzenden Zellen auf zwei Arten: einerseits werden die Zellen im durch den Strom deformierten Gewebe gedeht, andererseits übt die Schubspannung eine mechanische Kraft auf Endothelzellen aus und aktiviert entsprechende physiologische Prozesse. Diese Prozesse spielen eine entscheidende Rolle bei der Inflammation und Blutgerinnung. Zudem ist der Schubspannung-Effekt notwendig, damit die *in vivo* Charakteristika der Endothelzellen (z.B. Morphologie, Expressionsmuster) *in vitro*

nachgebildet werden können. Viele Studien belegen einen direkten Zusammenhang zwischen der Schubspannung und der Endothelfunktion und begründen damit den zunehmenden Einsatz von Untersuchungssystemen, welche physiologisch relevante Flussbedingungen bei der *in vitro* Charakterisierung der Material-Gewebe-Wechselwirkungen berücksichtigen [6]. Eine große Hürde besteht nach wie vor in der Durchführung derartiger Prüfungen in Kombination mit opaken Materialien, welche nicht ausreichend Licht für mikroskopische Aufnahmen durchlassen.

- [1] Ang HY, Bulluck H, Wong P, Venkatraman SS, Huang Y, Foin N. Bioresorbable stents. Current and upcoming bioresorbable technologies. In: International journal of cardiology 2017;228, S. 931–939.
- [2] Stefanini GG, Taniwaki M, Windecker S. Coronary stents: novel developments. In: Heart (British Cardiac Society) 2014;100 (13), S. 1051–1061. DOI: 10.1136/heartjnl-2012-303522.
- [3] Steinbach A, Tautzenberger A, Schaller A, Kalytta-Mewes A, Tränkle S, Ignatius A, Volkmer D. Plasma-enhanced chemical vapor deposition of n-heptane and methyl methacrylate for potential cell alignment applications. ACS applied materials & interfaces. 2012;4(10)5196–5203.
- [4] Favia P, d'Agostino R. Plasma treatments and plasma deposition of polymers for biomedical applications. Surface and Coatings Technology. 1998;98(1-3)1102–1106.
- [5] Lupi A, Schaffer A, Bongo AS. Should ultrathin strut drug eluting stents be considered the new benchmark for novel coronary stents approval? The complex interplay between stent strut thickness, polymeric carriers and antiproliferative drugs. In: Journal of thoracic disease. 2018;10 (2), S. 678–681. DOI: 10.21037/jtd.2018.01.108.
- [6] Sánchez PF, Brey EM, Briceño JC, Endothelialization mechanisms in vascular grafts. In: Journal of tissue engineering and regenerative medicine 2018;12 (11), S. 2164–2178. DOI: 10.1002/term.2747

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Die Auswahl der Forschungspartner und Unternehmen erfolgte als Teil der RESPONSE-Strategieentwicklung durch Systematisierung der zu bearbeitenden Problemstellungen, hierzu erforderlicher Kompetenzen und bestehender Unternehmensinteressen. Ausgewiesene Wissenschaftler aus der Medizin, den Ingenieur- und Naturwissenschaften sowie die Akteure aus den beteiligten Unternehmen sichern die wissenschaftliche, wirtschaftliche und klinische Translation entlang der gesamten Innovationskette. Durch die direkte Zusammenarbeit der industriellen Kooperationspartner mit den klinischen Anwendern wird die Schnittstelle zur medizinischen Bewertung weiter optimiert. Wirtschaftlich attraktive, transsektorale Verwertungsmöglichkeiten sind durch die starke Einbindung der Unternehmenspartner sowie durch die Übertragbarkeit auf eng mit der Medizintechnik verbundene Hochtechnologiesektoren gewährleistet. Das Transfervorhaben bezieht in einem multidisziplinären Ansatz die Expertise in komplementären Bereichen der Ingenieurwissenschaften, der Naturwissenschaften sowie der klinischen Partner ein und konzentriert sich dabei auf die Phase mit hohem Innovationsbedarf in der vorwettbewerblichen Entwicklung zur Vorbereitung neuer Produktzyklen und schließt hierbei Aspekte der präklinischen Prüfung und Evaluierung der Anwendbarkeit ein.

6. Verwendung der Zuwendung und erzieltes Ergebnis

Der im Rahmen des vorliegenden Transfervorhabens geplante Innovationstransfer von Stent-Entwicklungen für die Anwendungsfelder Kardiologie, Ophthalmologie, Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, Gynäkologie und Gastroenterologie erfolgte aufbauend auf den Entwicklungen der Basisvorhaben sowie Forschungsvorhaben der Umsetzungsphasen I und II. Dabei wurden die zentralen Ziele der Produktisierung und Zulassung von Implantaten für einen Transfer der entwickelten Stenttechnologien in die klinische Anwendung bzw. der Sicherung der wissenschaftlichen Anschlussfähigkeit innovativer Implantatentwicklungen für eine zukünftige Prototypisierung verfolgt.

Für das vorliegende Transfervorhaben wurden seitens des IIB e.V. Forschungs- und Entwicklungsziele in folgenden Themenschwerpunkten priorisiert und wissenschaftlich-technische Arbeitsziele definiert:

- Optimierung von Stentdesigns und Implantationsstrategien für Koronarstents unter Berücksichtigung hämodynamischer Aspekte
- Etablierung von zulassungsrelevanten *in vitro* Prüfmethoden für degradierbare vaskuläre Stents, Covered Scaffolds und Glaukomstent-Prototypen
- Entwicklung eines minimalinvasiv implantierbaren Drug-Eluting Glaukomstents inklusive eines Verankerungssystems zur sicheren Fixierung
- Entwicklung und Prototypisierung von Stentkonzepten zur Therapie proximaler Eileiterstenosen sowie notwendige katheterbasierte Implantationskonzepte

Folgende Ergebnisse konnten dabei im Rahmen des vorliegenden Teilvorhabens des IIB erzielt werden:

- Bewertung der Güte gestenteter Bifurkationen mittel numerischer Simulationen als Grundlage für die Ableitung optimierter Implantationsstrategien
- Verbesserung der Cover von Stentgrafts bzgl. Biokompatibilität, Integrität nach Expansion sowie Dicke der Cover
- Optimierung von Bail-Out-Devices bzgl. Profil, Flexibilität und Trackability
- Erweiterung der Ermüdungsprüfung um die gleichzeitige Messung der Partikelfreisetzung und um eine morphologische Partikelcharakterisierung
- Entwicklung einer Methode zur Untersuchung der Compliance gestenteter Gefäßabschnitte, bspw. unter Nutzung der optischen Kohärenztomographie (OCT) als Methode zur geometrischen Vermessung
- Entwicklung von Mehrschichtentechnologien im Bereich der Drug-Delivery-Anteile des Glaukom-Drainage-Implantates und Evaluation der Möglichkeiten zur langfristigen Freisetzung eines antifibrotischen Pharmakons
- Entwicklung eines Verankerungssystems zur sicheren Fixierung des Glaukomstents

- Entwicklung von Applikationssystemen für Glaukomstents in Form von Prototypen und Erprobung dieser im Rahmen von ex vivo Implantationsversuchen
- Durchführung zulassungsrelevanter Prüfungen an Glaukomstent-Validierungscharge
- Entwicklung eines bioabbaubaren Stents zur Therapie von proximalen Tubenokklusionen (PTO)
- Entwicklung eines katheterbasierten Applikationssystems zur Behebung proximaler Tubenverschlüsse unter Verwendung eines Eileitermikrostents und Erprobung des Systems in Modellen der anatomischen Zielstruktur
- Evaluierung der organspezifischen Biokompatibilität innovativer Stentmaterialien und Oberflächenmodifikationen

7. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Das vorliegende Vorhaben ist durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung gefördert worden. Die Verwendung der Fördermittel ist im zahlenmäßigen Nachweis detailliert dargestellt.

8. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Für das Teilvorhaben des Instituts für ImplantatTechnologie und Biomaterialien e.V. ergab sich die Notwendigkeit der finanziellen Zuwendung aus der Tatsache, dass die geplanten Projektarbeiten einen hohen finanziellen Aufwand für personelle und sächliche Ressourcen erforderten. Auf dem Gebiet der Implantatechnologie bestand ein erhebliches wissenschaftlich/technisches Forschungs- und Entwicklungsrisiko. Es bestanden jedoch hohe Chancen, die Ergebnisse des Vorhabens in wissenschaftlich und wirtschaftlich verwertbare Ergebnisse zu überführen.

Die Möglichkeit einer Förderung der Projektaktivitäten durch die EU wurde im Vorfeld geprüft: Die Förderung grenzüberschreitender Zusammenarbeit zur Unterstützung von Spitzforschung und zur Bewältigung der sozialen, wirtschaftlichen, ökologischen und industriellen Herausforderungen Europas erfolgte innerhalb des EU-Rahmenprogramms für Forschung und Innovation „Horizon 2020“. Dieses Programm bestand im Wesentlichen aus den Säulen „Wissenschaftsexzellenz“, „Führende Rolle der Industrie“ sowie „Gesellschaftliche Herausforderungen“. Einer der Kernpunkte der Förderung lagt auf dem Themengebiet „Gesundheit, demografischer Wandel und Wohlergehen“. Auf diesem Gebiet fand sich zum Zeitpunkt der Antragstellung keine passende offene oder angekündigte Ausschreibung, womit die Möglichkeit der Förderung durch die EU nicht gegeben war. (<http://ec.europa.eu/research/participants/portal/desktop/en/opportunities/h2020/index.html>, Juni 2019).

9. Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Innerhalb des Verbundvorhabens wurden Beiträge zur Translation neuer Technologien in den Applikationsbereichen Gynäkologie, Ophthalmologie und Kardiologie geleistet. Aufgrund der hohen Aktualität der Fragestellungen und aufgrund der hohen Marktnähe besteht großes Potential sowohl für die wissenschaftliche als auch für die wirtschaftliche Verwertung. Die Verwertung der Vorhabenergebnisse erfolgte innerhalb des dreijährigen Bearbeitungszeitraumes des Forschungsvorhabens 12 vorwiegend durch folgende Maßnahmen:

- die Präsentation der Forschungsergebnisse auf nationalen und internationalen Fachtagungen, wie bspw. der Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomedizinischen Technik (DGBT)
- die diskriminierungsfreie Veröffentlichung in nationalen und internationalen Fachzeitschriften
- Aus- und Weiterbildung von Studierenden, insbesondere im Studiengang Biomedizinische Technik der Universität Rostock sowie Graduierung von NachwuchswissenschaftlerInnen am IIB und an der Universität Rostock

Dabei wurden insbesondere gemeinsame, einrichtungsübergreifende Verwertungsmaßnahmen, wie bspw. gemeinsame Publikationen in wissenschaftlichen Fachzeitschriften oder gemeinsame Tagungsbeiträge angestrebt. Forschungsleistungen werden durch die Forschungseinrichtungen für weiterführende Projekte und Kooperationen verwendet.

Die erhebliche Beteiligung von Unternehmen in der Strategieentwicklung und allen daraus abgeleiteten Forschungs- und Transfervorhaben von RESPONSE sicherten im Sinne der BMBF-Programmidee von „Zwanzig20-Partnerschaft für Innovation“ den erwarteten hohen Nutzen für die angestrebte Produktisierung der Ergebnisse der Implantatforschung. Insbesondere die Abstimmung der Forschungs- und Entwicklungs-Roadmap des Konsortiums mit den Bedarfen der Wirtschaftspartner sowie deren finanzielle Beteiligung durch entsprechende Eigenanteile ermöglichten den Transfer der erzielten Ergebnisse. Auch eine Orientierung eng an den Erfordernissen des Medizinproduktmarktes und des gesellschaftlichen Umfeldes ist so gewährleistet.

10. Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Im Rahmen der Durchführung des Forschungsvorhabens sind keine relevanten neuen Fortschritte auf dem Gebiet bei anderen Stellen bekannt geworden.

11. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse

Publikationen im Berichtszeitraum

Referierte Veröffentlichungen

- [1] Rosam, P, Stiehm, M, Borowski, F, Keiler, J, Wree, A, Öner, A, Schmitz, K-P, Schmidt, W. Development of an in vitro measurement method for improved assessment of the side branch expansion capacity. *Current Directions in Biomedical Engineering.* 2020;6(3)442-445. doi: 10.1515/cdbme-2020-3114
- [2] Dierke, A, Borowski, F, Großmann, S, Brandt-Wunderlich, C, Matschegewski, C, Rosam, P, Pilz, N, Reister, P, Einenkel, R, Hinze, U, , Keiler, J, Stiehm, M, Schümann, K, Bock, A, Chichkov, B Grabow, N, Wree, A, Zygmunt, M, Schmitz, K-P, Siewert, S. Development of a biodegradable microstent for minimally invasive treatment of Fallopian tube occlusions. *Current Directions in Biomedical Engineering,* . 2020;6(3)74-77. doi: 10.1515/cdbme-2020-3019
- [3] Großmann, S, Illner, S, Oldenburg, J, Ott, R, Stiehm, M, Grabow, N, Schmitz, K-P, Siewert, S. Permeability and wettability of bioresorbable nanofiber nonwoven membranes. *Current Directions in Biomedical Engineering.* 2020;6(3)461-464. doi: 10.1515/cdbme-2020-3119
- [4] Siewert S, Großmann S, Brandt-Wunderlich C, Dierke A, Sahmel O, Stiehm M, Kischkel S, Schmidt W, Stahnke T, Grabow N, Guthoff RF, Schmitz K-P. Development of a limbal fixation mechanism for a minimally invasive implantable glaucoma microstent. *Current Directions in Biomedical Engineering.* 2020;6(3)20203056. doi: 10.1515/cdbme-2020-3056.
- [5] Sahmel, O, Siewert, S, Schmidt, W, Schmitz, K-P, Grabow, N. Cross-sectional analysis of tubular polymer semi-finished products using ultrasound in comparison with other measuring methods. *Current Directions in Biomedical Engineering.* 2020;6(3)151-154. doi: 10.1515/cdbme-2020-3039
- [6] Grabow, N, Senz, V, Schmitz, K-P. Transfer activities for cardiovascular, ophthalmologic and otolaryngologic medical device innovations. *Current Directions in Biomedical Engineering.* 2020;6(3)85-86. doi: 10.1515/cdbme-2020-3022
- [7] Öner A, Rosam P, Borowski F, Grabow N, Siewert S, Schmidt W, Schmitz KP, Stiehm M. Side-branch expansion capacity of contemporary DES platforms. *Eur J Med Res.* 2021;26(1):121. DOI: 10.1186/s40001-021-00595-7. PMID: 34641963
- [8] Dierke A, Kuske T, Frank H, Bohne E, Brandt-Wunderlich C, Knorre L, Stiehm M, Bock A, Grabow N, Wree A, Zygmunt M, Schmitz K, Siewert S. Validation of Finite Element Analysis of a selfexpanding polymeric microstent for treatment of Fallopian tube occlusions. *Current Directions in Biomedical Engineering.* 2021;7(2)700-703. DOI: <https://doi.org/10.1515/cdbme-2021-2178>

- [9] Frank H, Dierke A, Brandt-Wunderlich C, Bohne E, Kuske T, Stiehm M, Schmitz K, Siewert S. Numerical design studies of meander structures for self-expanding absorbable stents. *Current Directions in Biomedical Engineering.* 2021;7(2):735-738. DOI: <https://doi.org/10.1515/cdbme-2021-2188>
- [10] Bohne E, Grossmann S, Dierke A, Siewert S, Grabow N, Schmitz K, Stiehm M. Establishment of suitable parameters for laser machining based production of polymeric implants. *Current Directions in Biomedical Engineering.* 2021;7(2):728-730. DOI: <https://doi.org/10.1515/cdbme-2021-2186>
- [11] Siewert S, Guthoff RF, Kamke F, Grossmann S, Stiehm M, Schmidt W, Stahnke T, Grabow N, Schmitz KP. Development and validation of a test facility for pivotal characterization of glaucoma drainage devices. *Current Directions in Biomedical Engineering.* 2021;7(2):743-746. doi: 10.1515/cdbme-2021-2190.
- [12] Siewert S, Bohne E, Grossmann S, Schmidt W, Grabow N, Stahnke T, Guthoff R, Stiehm M, Schmitz K-P. Femtosecond laser manufacturing technology for microstents as innovative medical devices for glaucoma therapy. *Current Directions in Biomedical Engineering.* 2022;8(2):592-595. doi: 10.1515/cdbme-2022-1151.
- [13] Khaimov V, Strübing J, Stahnke T, Grabow N, Schmitz K-P, Siewert S. A time-resolved fibrosis model – in vitro assessment of antifibrotic implant coatings. *Current Directions in Biomedical Engineering.* 2022;8(2):297-300. doi: 10.1515/cdbme-2022-1076.
- [14] Siewert S, Kischkel S, Brietzke A, Kinzel L, Lindner T, Hinze U, Chichkov B, Schmidt W, Stiehm M, Grabow N, Guthoff RF, Schmitz KP, Stahnke T. Development of a Novel Valve-Controlled Drug-Elutable Microstent for Microinvasive Glaucoma Surgery: In Vitro and Preclinical In Vivo Studies. *Transl Vis Sci Technol.* 2023;12(3):4. doi: 10.1167/tvst.12.3.4.
- [15] Runge J, Kischkel S, Keiler J, Grabow N, Schmitz K-P, Siewert S, Wree A, Guthoff R, Stahnke T: Experimental glaucoma microstent implantation in two animal models and human donor eyes - an ex vivo micro-CT based evaluation of applicability. *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery (QIMS)*, (under review)

Abgeschlossene studentische Arbeiten, Doktorarbeiten und Habilitationen

- [1] Rosam P. Beiträge zur Optimierung der Bifurkationstherapie von Koronarstenosen - Biomechanische Grundlagen, experimentelle Untersuchungen und klinische Aspekte, Dissertation, 2021
- [2] Bode S., Knorre L., Paulsen J., Unverricht C. (2020): Entwicklung und Translation eines Drug-Eluting Mikrostents für die minimalinvasive Glaukomchirurgie. Projektarbeit, Studiengang Biomedizinische Technik

- [3] Pilz N. (2020): Mikrostents zur Behandlung proximaler Verschlüsse in der Tuba uterina – Designentwicklung, Prototypenherstellung und in vitro Prüfung. Bachelorarbeit, Studiengang Biomedizinische Technik Universität Rostock
- [4] Klose T. (2020): Optimierung von Stentdesigns hinsichtlich ihrer Thrombogenität mittels numerischer Strömungssimulation, Bachelorarbeit, Studiengang Biomedizinische Technik Universität Rostock
- [5] Knorre L. (2020): Entwicklung und Prüfung eines Mikrostent-Systems zur Behandlung proximaler Verschlüsse in der Tuba uterina. Bachelorarbeit, Studiengang Biomedizinische Technik Universität Rostock
- [6] Bonin F. (2020): Untersuchungen zu den mechanischen Eigenschaften von degradierten und undegradierten Magnesium-Scaffolds für die kardiovaskuläre Anwendung. Bachelorarbeit, Studiengang Biomedizinische Technik Universität Rostock
- [7] Kosche F. (2021): Untersuchungen zur radialen Gefäßnachgiebigkeit von porcinen Koronararterien in vitro mittels optischer Kohärenztomografie. Bachelorarbeit, Studiengang Biomedizinische Technik Universität Rostock

12. Anhang zu Punkt 6 – Ausführliche Darstellung der wissenschaftlich-technischen Ergebnisse und anderer wesentlicher Ereignisse

AP 1 Applikationsbereich Kardiologie

AP 1.6 Experimentelle und numerische Analysen zur Optimierung von Stentdesigns und Implantationsstrategien für Koronarstents unter Berücksichtigung hämodynamischer Aspekte

Eine wesentliche postoperative Komplikation einer Stentimplantation stellt die Thrombose dar. Die Bildung eines Thrombus kann innerhalb kurzer Zeit erfolgen und bedroht somit akut die vitalen Lebensfunktionen eines Patienten. Die Thrombosebildung wird mit biomechanischen Prozessen wie der Scherrate in Zusammenhang gebracht, wobei sehr hohe Scherraten zur Aktivierung von Thrombozyten führen. Sekundärströmungen transportieren diese aktivierte Thrombozyten zur Gefäßwand wo sie sich vor allem in Bereichen mit sehr geringen Wandschubspannungen anlagern können. Als mathematisches Optimierungsverfahren eignet sich dafür das Verfahren von Nelder und Mead, da keine Differenzierung der Zielfunktion nötig ist. Diese Arbeiten wurden auch durch Erkenntnisse aus der Bachelorarbeit von T. Klose unterstützt. Basierend auf den Ergebnissen senken Stentdesigns mit kleinen Intra-Strut-Winkeln an der Strukturkrümmung sowie einem Querschnitt der Stentstrebe mit großem Rundungsradius das Thromboserisiko durch Bereiche mit geringer Wandschubspannung. Aus

strukturmechanischer Sicht hingegen beeinflussen verlängerte Strebenreihen die Flexibilität des Stentsystems.

Ein weiteres Ziel dieses Arbeitspaketes war es, für die klinische Behandlung von Bifurkationen Implantationstechniken zu analysieren und evtl. Empfehlungen abzuleiten. Die Arbeiten wurden im engen Austausch mit den Projektpartnern, insbesondere Kardio UR und ANAT UR, durchgeführt. Zum Verständnis der Stenttechnologie wurden die Anatomie von Bifurkationen und die detaillierte anatomische Betrachtung der Struktur von Plaqueablagerungen in einer humanen Koronarbifurkation betrachtet. Die exemplarische Auswertung dieser Ergebnisse lässt die räumliche Ausbreitung der Plaqueablagerungen und die Notwendigkeit besonders den Hauptast mit höherer Priorität zu versorgen, erkennen. Zahlreiche Implantationsstrategien werden angewendet und wurden im Rahmen des AP bewertet. Gemein ist vielen Strategien die Aufweitung einer Stentzelle zum Seitenast der Bifurkation. Mechanische Bewertungen von Aufweitgrenzen einer einzelnen Stentzelle lagen nicht vor. Als Kriterium für die Beurteilung von Stents hinsichtlich ihrer Eignung zur Behandlung von Bifurkationen wurde daher die Seitenastexpansionskapazität eingeführt.

Die herkömmliche Expansion des Stents oder Stentsegments führt zu einer Deformation mehrerer Stentstreben. Die Seitenastexpansion hingegen führt zu einer Überdilatation einer einzelnen Stentzelle, so dass eine einzelne Strebe der Kraft des Ballons standhalten muss. Daher sind mechanische Untersuchungen der Seitenastexpansion von enormer Bedeutung, da dies den Bruch von Stentstreben verhindern kann. Fünf kommerziell erhältliche, moderne Stentplattformen wurden untersucht: Orsiro 3,00 mm x 15 mm (BIOTRONIK AG, Schweiz), Xience Sierra 3,00 mm x 15 mm (Abbott Vascular, USA), Resolute Integrity 3,00 mm x 15 mm (Medtronic, USA), Promus Premier Select 3,00 mm x 16 mm (Boston Scientific, USA) und Suprafex Cruz 3,00 x 16 mm (SAHAJANAND MEDICAL TECHNOLOGIES, SMT, Indien). Für alle Stentplattformen wurde ein mittelgroßes Workhorse-Design gewählt, das einen Gefäßdurchmesser von 3,0 mm behandeln kann. Es konnte gezeigt werden, dass Stents die ein offenzelliges Design besitzen (Zellgröße) eine signifikant höhere Seitenastkapazität aufweisen und einen geringeren Recoil besitzen. Diese Information ist für den Kardiologen äußerst wichtig, da dementsprechend andere Ballons ausgewählt werden müssen, um den Zieldurchmesser zu erreichen und Grenzen für das Aufweiten zum Seitenast (ohne das der Stent beschädigt wird) festgestellt werden konnten.

Ein weiterer Schwerpunkt dieses Arbeitspaketes war es, ein *in vitro* Modell zu entwickeln, um wesentliche Fragestellungen der Fluidmechanik in der Bifurkation vor und nach Stent-implantation experimentell zu untersuchen. Dafür wurden Bifurkationsmodelle aus Silikon hergestellt, mit marktüblichen Koronarstents versorgt und anschließend in einem Prüfstand auf Fluss- und Druckverluste hin untersucht. Auf der Grundlage von Druckmessungen bei definierten Flüssen im Hauptast wurde mittels dreier Drucksensoren (Bestandteil des

Pulsduplikatorsystems ViVitro Labs Inc., Kanada, Kalibrierung mittels integrierter Software ViVitest Data Acquisition System (DAS)), der jeweilige Druckgradient zwischen proximalem und distalem Hauptast sowie proximalem Hauptast und Seitenast der Bifurkation ermittelt. Dieser ist ein wichtiger Parameter für die Qualität des Implantationsverfahrens.

Trotz unterschiedlicher Stentdesigns und -eigenschaften der o.g. DES zeigten sich hinsichtlich der Druckgradienten keine wesentlichen Unterschiede zwischen den einzelnen Stentmodellen der Hersteller. Daher erfolgte anschließend unter Nutzung des Xience Sierra (Abbott) ein Vergleich verschiedener Stentingtechniken, die bei Bifurktionen Anwendung finden. Wie bereits theoretisch zu erwarten war, konnte bestätigt werden, dass die Aufweitung des Seitenastes einen fluidmechanischen Vorteil gegenüber dem alleinigen Setzen eines Stents im Hauptast bewirkt. Dies ist im Flusshindernis, das die Stentstruts darstellen, wenn sie vor dem Seitenast zu liegen kommen, begründet. Durch eine nachträgliche Aufweitung des Seitenastes, wie beim Provisional-Stenting durchgeführt, kann dieses Flusshindernis aus dem Strömungsfeld beseitigt werden.

AP 1.7 Etablierung von zulassungsrelevanten *in vitro* Prüfmethoden für degradierbare vaskuläre Stents und Covered Scaffolds

Im Arbeitspaket wurde ein Prüfaufbau zur Ermittlung der radialen Gefäßnachgiebigkeit von porcinen Koronararterien basierend auf der intravaskulären optischen Kohärenztomografie (engl.: intra-vascular optical coherence tomography, IV-OCT) realisiert. Zentraler Untersuchungsgegenstand ist ein porcines Herz, das so präpariert wurde, dass die Koronargefäße direkt zugänglich sind. Über ein Y-Hämostaseventil wurde sowohl eine Pumpe zur Durchströmung der jeweiligen Arterie und eine intra-arterielle Druckmessung angeschlossen, als auch der Zugang des IV-OCT-Katheters ermöglicht.

Das porcine Herz wurde während der Untersuchung unter physiologischen Bedingungen gelagert und durchströmt (Phosphat gepufferte Salzlösung, PBS, 37 °C). Die Durchströmung erfolgte druckabhängig unter stationären oder pulsatilen Bedingungen, so dass sowohl normotensive (ca. 120/80 mmHg) als auch hypertensive Druckregime (ca. 160/100 mmHg) eingestellt werden konnten. Die IV-OCT ermöglichte eine Bildgebung der Koronararterie unter definiertem intra-arteriellen Druck und die Ermittlung des luminalen Arteriendurchmessers für bis zu 540 einzelne Querschnittsbilder je Pullback-Aufnahme.

Die radiale Gefäßnachgiebigkeit ergibt sich aus den mittels IV-OCT gemessenen Durchmessern bei systolischem und diastolischem Druck d_{syst} bzw. d_{diast} und der Druckdifferenz Δp aus systolischem und diastolischem Druck, vgl. Gleichung (1).

$$C = \frac{d_{syst} - d_{diast}}{d_{diast}} \cdot \frac{1}{\Delta p} \cdot 10^4 [\% / 100 \text{ mmHg}] \quad (1)$$

Es zeigte sich, dass die radiale Gefäßnachgiebigkeit unter pulsatilen Bedingungen generell geringer im Vergleich zu den stationären Bedingungen ausfällt. Auch reduziert sich die radiale Gefäßnachgiebigkeit mit zunehmender Pulsrate. Die radiale Gefäßnachgiebigkeit ist zudem größer unter normotensivem im Vergleich zum hypertonischen Druckregime.

Die durch den beschriebenen Prüfaufbau generierten Ergebnisse können direkt für die biomechanische Auslegung von arteriellen Gefäßimplantaten, wie Stents, Scaffolds oder Stentgrafts verwendet werden.

Im Rahmen der durchgeführten Arbeiten wurde zudem ein Prüfaufbau zur Ermüdungsprüfung von degradierbaren gecoverten Scaffolds um eine Partikelsammeleinheit erweitert. Der vorhandene Prüfmediumkreislauf wurde durch Vorfilter (Porengröße 0.2 µm) zur Reinigung des Prüfmediums vor Kontakt mit den Prüfmustern und durch geeignete Analysefilter (Porengröße 5 µm) zur Sammlung der von den Prüfmustern abgegebenen Partikel ergänzt. Der gesamte Prüfaufbau wurde hinsichtlich des Einflusses von Temperatur, Volumenstrom, pH-Wert-Regelung, pH-Elektroden-Justierung, dynamischem Druck durch Rollerpumpe, statischem Druck an jeder Prüfposition, Vorfilter, Analysefilter und Partikelwiederfindung validiert. Es zeigte sich, dass mit dem Prüfaufbau eine Partikelwiederfindungsrate je nach Partikelgröße zwischen 30% und 80% erreicht werden konnte. Durch eine Pulsdämpfungsseinheit konnte der Einfluss der Rollerpumpe auf den dynamischen Druck am Prüfmuster vollständig eliminiert werden.

Der Prüfaufbau zur kombinierten Ermüdungsanalyse mit Prüfmediumdurchströmung und pH-Regelung sowie Partikelsammlung steht für zulassungsrelevante Produktprüfungen von degradierbaren gecoverten Scaffolds zur Verfügung.

AP 2 Applikationsbereich Ophthalmologie

AP 2.3 Entwicklung eines minimalinvasiven implantierbaren Drug-Eluting Glaukomstents inklusive eines Verankerungssystems zur sicheren Fixierung des Implantats im Auge

Innerhalb des Arbeitspakets erfolgte eine Fokussierung auf die Entwicklung und Prototypisierung eines Konzeptes eines limbalen Fixierungssystems für minimalinvasiv implantierbare Drug-Eluting Glaukomstents. Das Prinzip des limbalen Fixierungssystems wurde bereits innerhalb des Teilvorhabens des IIB e.V. im RESPONSE-Forschungsvorhaben 12 dargestellt. Als Grundlage für die Konzeptentwicklung wurden die folgenden wesentlichen Anforderungen an das limbale Fixierungssystem identifiziert:

- Ersatz für bisherige mikrochirurgische Nahtfixierung des Glaukomstents
- Kompatibilität mit aktuellem mit minimalinvasiven Implantationsverfahren, d.h. 22 G x 1½“ Kanüle ($d = 0,47 \text{ mm}$; $d_a = 0,70 \text{ mm}$; $l = 40 \text{ mm}$)

- Verwendung etablierter Biomaterialien
- Umsetzbarkeit mit vorhandenen Fertigungstechnologien

Als eine vielversprechende Variante für ein limbales Fixierungssystem wurde ein „Tripod-Design“ identifiziert. Dabei werden die fixierenden Mikrostrukturen auf der Basis von chirurgischem Nahtmaterial umgesetzt. Die Verbindung zwischen dem Fixierungssystem und dem Glaukomstentgrundkörper erfolgt mit Hilfe einer Polymer/Chloroform-Lösung als Klebstoff, wobei als Polymer dasselbe Biomaterial Verwendung findet, wie zur Herstellung des Glaukomstentgrundkörpers selbst.

Zur Minimierung des Außendurchmessers des Glaukomstents inkl. Fixierungssystem sind die fixierenden Mikrostrukturen auf Basis des chirurgischen Nahtmaterials in Nuten in der Wandfläche des Glaukomstentgrundkörpers positioniert. Damit ist ein Gesamtaußendurchmesser von ca. 0,4 mm und eine minimalinvasive Implantation realisierbar. Nach Optimierung des Konzeptes wurde mit Arbeiten zur technischen Realisierung derartiger Nuten unter Nutzung der Femtosekundenlaserschneidanlage am IIB e.V. begonnen. Das Verfahren zur Herstellung definierter Nuten mit Hilfe der fs-Laserablation wurde am IIB e.V. etabliert und anschließend weiter optimiert. Die Parameterstudien zur fs-Laserbearbeitung der Nuten wurde auf Polymerfolien (Dicke $t = 200 \mu\text{m}$) durchgeführt. Die Herstellung der Polymerfolien wurde unter Verwendung eines Tauchroboters und Tauchdornen mit einem Durchmesser 33,5 mm durchgeführt. Eine Tauchlösung von 4% (w/v) Polymer in Chloroform wurde verwendet.

Für die fs-Laserbearbeitung der Nuten (Länge $l_N = 2 \text{ mm}$, Breite $b_N = 60 \mu\text{m}$ und Tiefe $t_N = 30 \mu\text{m}$) wurden insgesamt sieben Schneidspuren mit abnehmendem Spurabstand zur Strukturmitte angewandt. Eine Puls-Repetitionsrate, Energie und Breite von 1 kHz, 13 μJ und 300 fs wurden bei einer Schneidgeschwindigkeit von $2,0 \text{ mm s}^{-1}$ verwendet. Die fs-lasergeschnittenen Nuten stellen einen Teil des limbalen Fixierungssystems für Glaukomstents dar. Fixierungselemente, wie z.B. monofiles chirurgisches 10-0-Nahtmaterial, wurden unter Verwendung der oben beschriebenen Tauchlösung in den Nuten befestigt. Die innerhalb des Arbeitspaketes erzielten Ergebnisse zeigen, dass die fs-Laserablation eine leistungsstarke Technologie für die Herstellung von biomedizinischen Mikroimplantaten, wie Glaukomstents darstellt.

AP 2.4 Zulassungsrelevante *in vitro* Prüfung hergestellter Glaukomstentprototypen sowie okulare Implantationstests *ex vivo*

Innerhalb des Arbeitspaketes wurde eine Validierungscharge der im Transfervorhaben entwickelten Drug-Eluting Glaukomstents entsprechend der Norm ANSI Z80.27-2014 „Implantable Glaucoma Devices“ sowie der FDA-Empfehlungen für „Premarket Studies of Implantable Minimally Invasive Glaucoma Surgical (MIGS) Devices“ umfassend physikalisch und mechanisch charakterisiert. Dabei konnte bspw. eine reproduzierbare Ventil-Charakteristik, d.h. ein Ventil-Öffnungs- bzw. -Schließdruck von 10 mmHg bzw. 11 mmHg nachgewiesen werden,

welche der angestrebten Druckdifferenz zwischen der Vorderkammer des Auges und dem Subkonjunktivalraum entspricht. Es wurden Strömungswiderstände im Bereich von $2,7 \text{ mmHg}/\mu\text{L min}^{-1}$ (Ventil geschlossen) bis $0,2 \text{ mmHg}/\mu\text{L min}^{-1}$ (Ventil geöffnet) gemessen, welche vergleichbar sind mit dem Ahmed Glaucoma Valve ($2,9 \text{ mmHg}/\mu\text{L min}^{-1}$ bis $0,1 \text{ mmHg}/\mu\text{L min}^{-1}$) dem einzigen kommerziell erhältlichen Glaukom-Drainage-Implantat mit Ventilmechanismus [1]. Als Grundlage für die durchgeführten Untersuchungen wurde ein Verfahren zur Einspannung von Glaukomstents mit Fixierungsmechanismus in den Mikrofluidik-Prüfstand entwickelt. Die Implantation der Glaukomstents erfolgte dabei in eine Silikonfolie mit einem definierten Bohrung. Referenzmessungen mit vollständig dichten Glaukomstents (ohne Ventilmechanismus) zeigten, dass es durch die realisierte Einspannung zu keinen unerwünschten paravalvulären Leckagen kommt.

Neben ex vivo Implantationsversuchen in porcinen Augen sowie in Kaninchenaugen erfolgten in Kooperation mit der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde der Universitätsmedizin Rostock Implantationen von Glaukomstents in humane Augen von Körperspendern. Die in den Tiermodellen gewonnenen Erkenntnisse konnten auf die humanen Augen übertragen werden. Die Implantation gestaltete sich aufgrund der Augengröße tendenziell einfacher als im Tiermodell. Nach der Mikrostent-Implantation wurden hochauflösende Mikro-CT Untersuchungen zur Lagekontrolle der Implantate durchgeführt. Dabei konnte eine optimale Positionierung im Bereich zwischen der Vorderkammer des Auges und dem Subkonjunktivalraum nachgewiesen werden. Die Ergebnisse der durchgeführten Untersuchungen wurden in dem Manuscript „Experimental glaucoma microstent implantation in two animal models and human donor eyes - an ex vivo micro-CT based evaluation of applicability“ zusammengefasst und sind aktuell in der Begutachtung bei dem wissenschaftlichen Journal „Quantitative Imaging in Medicine and Surgery (QIMS)“.

- [1] Prata JA, Jr, Mérroud A, LaBree L, Minckler DS. In vitro and in vivo flow characteristics of glaucoma drainage implants. Ophthalmology. 1995;102(6):894-904.

AP 4 Applikationsbereich Gynäkologie

AP 4.5 Entwicklung und Prototypisierung von Konzepten für bioresorbierbare und permanente Stents zur Therapie proximaler Eileiterstenosen

Im Rahmen des Arbeitspaketes erfolgten Analysen bzgl. der Anforderungen an alternative Werkstoffe für einen Eileitermikrostent für den permanenten sowie temporären Einsatz. Als Grundlage hierfür wurden verschiedene Werkstoffe unter Berücksichtigung der mechanischen Werkstoffeigenschaften bewertet. Dabei erfolgte eine Fokussierung auf metallische Werkstoffe. Bisher erfolgte innerhalb des RESPONSE-Forschungsvorhabens 11 eine Fokussierung auf den biodegradierbaren Polymerwerkstoff PLLA.

Weiterhin erfolgte die Erarbeitung eines Grundkonzeptes für einen metallischen Eileiterstent. Hierfür wurde ein Anforderungskatalog erstellt. Es wurde die Machbarkeit eines magnesiumbasierten Eileiterstents analysiert – insbesondere aufgrund der schnellen Degradation stellt dieser Werkstoff einen vielversprechenden Ansatz dar. Kommerzielle Anbieter von geeigneten Magnesiumhalbzeugen wurden identifiziert und potentiell geeignete Kandidaten priorisiert. Im weiteren Verlauf des Projektes wurde ein innovatives Design für einen metallischen Eileiterstent entwickelt und mit Hilfe numerischer strukturmechanischer Simulationen optimiert. Als Grundlage für die *in vitro* Charakterisierung der Prototypen wurden die folgenden mechanischen Kenngrößen sowie die entsprechend relevanten Normen identifiziert:

- Biegesteifigkeit,
- Crush-Resistance nach der Prüfnorm DIN EN ISO 25539-2,
- Kollapsdruck nach der Prüfnorm DIN EN ISO 25539-2 und
- Radialkraft nach der ISO 25539-2.

Anschließend wurde im Rahmen des Arbeitspaketes eine Machbarkeitsstudie für einen ballonexpandierbaren, biodegradierbaren Mikrostent aus Magnesium zur Behandlung proximaler Okklusionen der Tuba uterina durchgeführt. Hierfür wurde zunächst ein Stentdesign als CAD-Datei konzeptioniert, welches mit dem Design für einen ballonexpandierbaren Polymerstent übereinstimmt und ein Modell zur strukturmechanischen Simulation erstellt. Es wurde erfolgreich der Lastfall des Crimp-Prozesses charakterisiert. Hierfür wurde ein vereinfachtes bilineares Materialgesetz mit einem E-Modul von 44.800 MPa und einer Streckgrenze von 296 MPa verwendet. Anschließend wurden Prototypstrukturen hergestellt und mit Hilfe der im Rahmen von Forschungsvorhaben 11 erarbeiteten und angepassten Prüfverfahren charakterisiert.

AP 4.6 Entwicklung eines katheterbasierten Implantationskonzeptes für Eileiter-Mikrostents

Als Ausgangspunkt für die Arbeiten wurden etablierte gynäkologische Instrumente analysiert. Für den Implantationsprozess wurde ein Sensor-Ureterorenoskop mit einem Arbeitskanal von 1,2 mm Innendurchmesser und einer Länge von ca. 700 mm als Hilfsmittel ausgewählt für eine optimale Platzierung des Implantats durch die bildgebende Unterstützung und die steuerbare Instrumentenspitze.

Für die Freisetzung eines selbstexpandierbaren Stents wurden verschiedenen Mechanismen konzeptioniert und hinsichtlich vordefinierter Kriterien, wie u.a. Handhabung, Sicherheit und Genauigkeit, aus klinischer und fertigungstechnischer Sicht bewertet.

Im Hinblick auf die Kompatibilität wurde ein Applikationssystem für einen selbstexpandierbaren Mikrostent prototypisiert, bestehend aus einer 3D-gefertigten Steuereinheit, einem Führungsdraht mit einer kugelverstärkten, atraumatischen Spitze und einem Zwei-Kathetersystem. Der äußere

Katheter besteht aus Polytetrafluoroethylen (PTFE) mit einem Innendurchmesser von 1,0 mm und einem Außendurchmesser vom 1,1 mm. Das Material des inneren Katheters ist Poly(ether ether keton) (PEEK) mit einem Innendurchmesser von 0,51 mm und einem Außendurchmesser von 0,79 mm. Funktionell wird der Mikrostent durch das Zurückziehen des äußeren Katheters freigesetzt, während der innere Katheter als „Stopper“ den Stent an seiner Position hält.

Innerhalb des Arbeitspaketes erfolgten simulierte Anwendungstests *in vitro*. Hierfür wurde ein technisches Eileitermodell, aufbauend auf Mikro-CT-Daten humaner Eileiter, konzeptioniert und in einem Prüfaufbau überführt. Unter Berücksichtigung von Aspekten der Handhabbarkeit und der Stentpositioniergenauigkeit wurden simulierte Anwendungstests *ex vivo* in porcinen Eileitern durchgeführt. Nach erfolgreicher Implantation wurden die Proben mit dem Mikro-CT digitalisiert und hinsichtlich der Platzierung, der Adaption des anatomischen Verlaufs des Eileters, der Öffnungsfläche und des Feret-Durchmessers charakterisiert. Dabei konnten neue Erkenntnisse für das Implantat und das Applikationssystem generiert werden.

Aufbauend auf dem Konzept des Applikationssystems für die minimalinvasive Freisetzung eines selbstexpandierbaren Mikrostents wurden anschließend verschiedene Optimierungsansätze identifiziert. Ein wichtiger Punkt war dabei die Untersuchung der Verbindungsstellen zwischen den Kathetern und der 3D-gefertigten Steuereinheit. So wurde die Fügeverbindung des inneren Katheters und des Applikationsgehäuses hinsichtlich der Druckbelastung und die Fügeverbindung des äußeren Katheters und des Freisetzungsmechanismus hinsichtlich der Zugbelastung optimiert, wodurch die Belastbarkeit um das 7-fache gesteigert werden konnte.

Unter Berücksichtigung der wirkenden Kräfte während der Freisetzung des selbstexpandierbaren Implantates wurde die Reibung zwischen dem Sensor-Ureterorenoskop und dem Applikationssystem reduziert durch die Verwendung eines neuen Schlauchs aus Polytetrafluoroethylen (PTFE) mit einem Außendurchmesser von 1,0 mm. Durch die angepasste Dimension wurde die Implantation im Isthmusbereich der Eileiter ebenfalls erleichtert.

Weiterhin wurden Arbeiten zur Weiterentwicklung der atraumatischen Katheterspitze durchgeführt. Es wurden dabei verschiedene Varianten geprüft: manuell geschnittene Form A, lasergeschnittene Form A und lasergeschnittene Form B. Form A beschreibt eine gerade Kante mit verrundeten Kanten, während Form B eine Schnabelform aufweist. Die Qualität der Schneidkanten der einzelnen Varianten wurde mittels Rasterelektronenmikroskopie analysiert. Alle drei Varianten wurden im *in vitro* Testmodell und *ex vivo* geprüft.

AP 6 Querschnittsbereich

AP 6.3 *In vitro* Zellsysteme und Analyse von Zell-Stent Interaktionen zur Bewertung der biologischen Funktionalität von Stent-Materialien

Zur Bewertung der biologischen Funktionalität von Stentmaterialien wurde die Zelladhäsion auf Stentstrukturen untersucht. Hierfür wurden aus Poly-(L-Laktid)-Folien runde 6-mm-Prüfkörper mit

zwei verschiedenen Stentdesigns mittels fs-Lasertechnologie hergestellt. Die Prüfkörper wurden in Vertiefungen einer 96-Well-Mikrotiterplatte eingesetzt und zusammen mit Fibroblasten (Fibroblasten-Zelllinie L929 und primäre porcine Fibroblasten) für 48 h bei 37 °C inkubiert. Nach der Inkubation wurden die Zellen fixiert und zur Visualisierung mittels konfokaler Mikroskopie mit fluoreszierenden Farbstoffen angefärbt. Zusätzlich wurde vor den mikroskopischen Analysen die Zellvitalität (CellQuanti Blue Cell Viability Assay) auf den Materialproben gemessen.

Die Untersuchungen ergaben, dass die Stentstrukturen grundsätzlich ein gutes Substrat für die untersuchten Zellen darstellen, jedoch ergaben sich auch deutliche Unterschiede hinsichtlich der Zelladhäsion. Diese war bei immortalisierten Zellen stärker im Vergleich zu primären Zellen und resultierte in einer höheren Zelldichte der L929-Zellen auf den getesteten Materialproben. Hinsichtlich der Zellvitalitätswerte hingegen, konnten nur geringfügige Unterschiede zwischen den untersuchten Zellen und den analysierten Stentdesigns festgestellt werden. Damit konnte gezeigt werden, dass keine zytotoxischen Effekte von den Prüfkörpern ausgehen und die Stentstrukturen grundsätzlich von den Zellen am Zielort für eine optimale Implantat-Gewebe-Wechselwirkung besiedelt werden können.

Des Weiteren wurde ein neues Zellkulturmodell zur Analyse der Gewebe-Implantat-Wechselwirkungen zwischen dem Pankreasgewebe und Biomaterialien, die in diesem Bereich zum Einsatz kommen, etabliert. Im ersten Schritt wurde der Versuch unternommen primäre Epithelzellen aus dem Pankreasgang des Schweins zu isolieren. Hierfür wurde Pankreas aus der regulären Schlachtung zur Lebensmittelproduktion am FBN Dummerstorf verwendet. Die lockere Beschaffenheit des exokrinen Drüsengewebes des Pankreas verhinderte eine saubere Präparation des Pankreasgangs, sodass eine Isolation der porcinen primären Pankreasepithelzellen nicht möglich war. Als Alternative dazu wurde die Zellkultur der humanen Pankreasgangepithel-Zelllinie h6c7 etabliert. Bei diesen Zellen handelt es sich um retroviral immobilisierte primäre Zellen aus dem Pankreasgang, die hiermit ein physiologisch relevantes Zellkulturmodell für Biokompatibilitätsstudien an Pankreasimplantaten darstellt. Nach der Etablierung der Zellkultur wurden im zweiten Schritt die Parameter für die Eluat- sowie Direktkontaktprüfungen mit diesen Zellen etabliert. Hierfür wurde mit dem dynamischen Lebendzell-Analysesystem am Transferzentrum mittels Echtzeitmikroskopie die optimale Zellzahl für das jeweilige Prüfsystem in Abhängigkeit von der Testdauer (24, 48 und 72 h) ermittelt.

Im Anschluss wurden mit einer Auswahl von im Rahmen von RESPONSE verwendeten Polymerbiomaterialien Eluat- und Direktkontakttests durchgeführt. Darunter befanden sich Nanofaservliese sowie Folien aus PLLA und PCU-co-Si. Als Negativkontrolle im Eluat-Test diente Zellkulturmedium ohne Zugabe von Biomaterial bzw. Zellkulturpolystyrol im Direktkontakttest. Die Bewertung der Biokompatibilität der Biomaterialien im Direktkontakt erfolgte nach einer Resazurin-basierten Messmethode mit anschließender mikroskopischen

Analyse der Zellmorphologie. Hierfür wurde das Aktinzytoskelett mit fluoreszenzmarkiertem Phalloidin angefärbt. Im Eluat-Test lag die relative Zellvitalität aller hier getesteten Biomaterialien über 70%. Diese werden daher als nicht zytotoxisch eingestuft. Im Direktkontakttest zeigte sich bei PLLA-basierten Prüfkörpern eine flächige Zellmorphologie (vergleichbar mit der Morphologie der Negativkontrolle) und hohe Zelldichte, während bei PCU-co-Si-basierten-Werkstoffen die Zelldichte niedriger war und vermehrt kugelartige Zellen detektiert wurden.

Das etablierte Zellkultursystem wurde anschließend dem Projektpartner IBMT für Biokompatibilitätsprüfungen unter GLP-Bedingungen im AP 5.6 zur Verfügung gestellt.



Schlussbericht

Transfervorhaben 1

„Stenttechnologien für innovative minimalinvasive Therapieverfahren“

Teilvorhaben

„Tubenstent – vorbereitende Untersuchungen zum Transfer in die Anwendung“

FKZ 03ZZ0931E

Förderzeitraum 1.1.2020 – 31.12.2022

im Unternehmen Region-Programm

„Zwanzig20 – Partnerschaft für Innovation“
des Bundesministeriums für Bildung und Forschung

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.

Verbundpartner:

| Antragsteller/Einrichtungen | | Ansprechpartner | Hauptarbeitspunkt |
|--|------------|--|-------------------|
| bess pro GmbH | bess | M. A. Eisenhut, T. Stein | AP 3 |
| CORTRONIK GmbH Rostock | COR | Dr. C. Momma | AP 1 |
| Institut für ImplantatTechnologie und Biomaterialien e.V. | IIB | Dr. S. Siewert, Prof. Dr. K.-P. Schmitz | AP 1, 2, 4, 6 |
| Medizinische Hochschule Hannover, Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde | HNO MHH | Prof. Dr. T. Lenarz, PD Dr. G. Paasche | AP 3 |
| Universitätsmedizin Greifswald | | | |
| Zentrum für Innere Medizin, Klinik und Poliklinik für Innere Medizin A | Gastro UMG | Prof. Dr. M. M. Lerch, Dr. F. Frost | AP 5 |
| Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe | Gyn UMG | Prof. Dr. M. Zygmunt | AP 4 |
| Universitätsmedizin Rostock | | | |
| Institut für Anatomie | ANAT UR | Prof. Dr. A. Wree, Dr. J. Keiler | AP 6 |
| Institut für Biomedizinische Technik | IBMT | Dr. K. Lebahn, Prof. Dr. N. Grabow | AP 1, 3, 5, 6 |
| Zentrum für Innere Medizin; Abt. Kardiologie | Kardio UR | Prof. Dr. A. Öner, Prof. Dr. H. Ince | AP 1 |
| Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde | UAK | Prof. Dr. R. Guthoff, Prof. Dr. O. Stachs | AP 2 |

Inhalt

| | |
|---|----|
| 1. Aufgabenstellung | 1 |
| 2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde..... | 1 |
| 3. Planung und Ablauf des Vorhabens..... | 2 |
| 4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde | 3 |
| 5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen | 5 |
| 6. Verwendung der Zuwendung und erzieltes Ergebnis | 5 |
| 7. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises..... | 6 |
| 8. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit..... | 7 |
| 9. Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans..... | 7 |
| 10. Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen..... | 8 |
| 11. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse | 8 |
| 12. Anhang zu Punkt 6 – Ausführliche Darstellung der wissenschaftlich-technischen Ergebnisse und anderer wesentlicher Ereignisse..... | 10 |

1. Aufgabenstellung

Das übergeordnete Ziel der Arbeiten im Rahmen des Transfervorhabens 1 galt dem Erhalt unabhängiger Lebensführung, Selbstbestimmung und Lebensqualität der Patienten. Das Transfervorhaben beinhaltete daher innovative Stenttechnologien für unterschiedliche Applikationsbereiche. Für die HNO-Klinik der MHH steht die bestmögliche Versorgung unserer Patienten im Mittelpunkt. In den bisherigen Forschungsvorhaben innerhalb von RESPONSE (FV 8 und FV 12) wurden ein neuartiger Tubenstent sowie erste Varianten von Insertionstools entwickelt und ex vivo getestet. Eine in vivo Prüfung des Stents erfolgte in FV 12. In diesem Transfer-Vorhaben ging es darum, einen Transfer des Tubenstents in die klinische Anwendung vorzubereiten. Hierzu wurden die Grunddaten für ein anatomisches Trainingsmodell generiert und dem Partner bess zur Erstellung des Modells übergeben, um innerhalb der Projektlaufzeit mit nicht im Projekt involvierten Ärzten die Stentung der Tube und das zugehörige Instrumentarium testen zu können. Hierfür musste ebenso basierend auf den Arbeiten in FV 8 das Insertionstool für die humane Anwendung finalisiert werden (bess) und an Körperspendern wiederholt getestet werden (HNO). Weiterhin hatte sich bei der Bearbeitung des FV12 ergeben, dass für eine Zulassung des Stents nach Ende der in vivo Beobachtungsdauer auch Daten zur allgemeinen Pathologie vorgelegt werden müssen. Daher sollten die parallel zum beantragten Förderzeitraum in FV 12 laufenden Tierversuche (Schwarzkopfschaf) um die zulassungsrelevanten Untersuchungen der allgemeinen Pathologie ergänzt werden.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Die Klinik und Poliklinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde (HNO) der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH) wird von Prof. Dr. T. Lenarz geleitet und ist führend in der Hörforschung und international als größtes Cochleaimplantat-Zentrum auf dem Gebiet der wissenschaftlichen Weiterentwicklung von Implantatelektroden ausgewiesen. Darüber hinaus wird neben weiteren Implantaten zur Verbesserung der Versorgung der Patienten mit HNO Erkrankungen unter anderem an der Entwicklung eines Tubenstents zur Verbesserung der Mittelohrbelüftung bei betroffenen Patienten geforscht. Durch den stetigen Ausbau der implantatorientierten Grundlagenforschung im Rahmen zahlreicher Forschungsverbünde wurde ein interdisziplinäres Team mit wissenschaftlicher Exzellenz etabliert. Auf dieser Basis konnten Mitarbeiter unterschiedlicher Fachdisziplinen in die Bearbeitung der Fragestellungen des TV 1 eingebunden werden. Auf Grund der sehr personalintensiven in vivo Versuche in FV 12 waren beide Projekte nur durchführbar mit großer Unterstützung durch die Freistellung ärztlicher Mitarbeiter aus der Klinik für projektrelevante Arbeiten. Auf Grund der starken Verzahnung mit FV 12 erfolgte die

Bearbeitung des TV 1 im Einklang mit dem Fortschritt der in vivo Versuche in FV 12. Die Bearbeitung des Projektes war grundsätzlich sehr durch die Corona-Pandemie geprägt. Durch verordnetes Homeoffice, Verbot der Einstellung von Versuchstieren, Verzögerung von Arbeiten bei den Partnern sowie Lieferverzögerungen bzw Ausfall von Lieferanten gab es dann große Abweichungen vom ursprünglichen Plan. Dankenswerterweise konnte die Zeit für die Bearbeitung des Projektes um ein Jahr verlängert werden und es wurden zusätzliche Personalmittel zur Verfügung gestellt. Letzteres allerdings so spät in der Verlängerungsphase bzw schleppend, dass Arbeiten nicht mehr vorausgeplant werden konnten und bewilligte Gelder genutzt werden mussten, um alle RESPONSE Projekte (FV 15, FV 12, TV 1, TV 3) am Laufen zu halten. Dies führte dazu, dass die Mitarbeiter aller dieser Projekte vier verschiedene nur kurz laufende Arbeitsverträge in 2022 erhielten. Die Folge davon war, dass wir Mitarbeiter vorfristig verloren haben und unsere langjährige, erfahrene technische Mitarbeiterin nach RESPONSE keinen neuen Arbeitsvertrag erhalten durfte (Maximalzahl der möglichen Verlängerungen erreicht (Wissenschaftszeitgesetz)).

Im Laufe der Bearbeitung des FV 12 hatte sich ein Mehrbedarf an Tieren ergeben um die Fragestellungen entsprechend sinnvoll bearbeiten zu können. Dies hatte natürlich hinsichtlich Arbeitsumfang und Beanspruchung der zur Verfügung stehenden Ressourcen auch Auswirkungen auf das TV 1.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Grau: ursprüngliche Zeitplanung; blau: Corona-bedingte Verschiebung bzw Verzögerung

Meilensteine im Berichtszeitraum

| MS Nr. | Meilensteine | betreffende Arbeitspakete |
|----------------------------|--|---------------------------|
| Zeitpunkt | techn. Zielparameter | |
| MS 5 | Festlegung finaler Stent- und Applikationssysteme für die <i>Tuba Eustachii</i> | AP 3 |
| Monat 21 geändert 33 | <p>Ziel: Festlegung finaler Designs als Voraussetzung für Validierungsstudie</p> <p>Entscheidungspunkt: Bewertung der entwickelten Stent- und Applikationssysteme und Entscheidung bzgl. des Einsatzes in Validierungsstudie und ggf. erforderlicher Optimierungen</p> | |

| | |
|--|--|
| | Beitrag des Teilvorhabens HNO MHH: Testung der Applikations-Tools im Labor und im humanen Körperspender zur Optimierung der Handhabbarkeit und Sicherheit |
|--|--|

Beitrag MS 5:

Der MS 5 ist aus Sicht der HNO der MHH erreicht. Auf Basis der Tests im Labor und im Körperspender auch mit vorher nicht involvierten Ärzten konnten die Applikationssysteme optimiert und finalisiert werden. Das Design der Stents wurde auf Basis der in vivo Versuche in FV 12 noch leicht modifiziert und ebenfalls final festgelegt.

4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Insgesamt leiden zwei Millionen Betroffene in Deutschland an chronischen Tubenbelüftungsstörungen, welche einen hohen Therapiebedarf nach sich ziehen. Die epidemiologischen Auswirkungen auf die medizinische Versorgung wurden umfassend untersucht [1, 2]. Bei gestörter Ventilfunktion der Ohrtröhre ist die Equilibrierung des Mittelohrgasdruckes zur Umgebung nicht mehr hinreichend möglich. Das führt – neben Missemmpfindungen bis hin zu stärksten Ohrenschmerzen – zu einer Schallleitungs- bzw. kombinierten Schwerhörigkeit, v.a. durch entzündliche Prozesse. Diese und weitere Beeinträchtigungen und Funktionsstörungen sind bei adäquater rechtzeitiger Therapie oftmals reversibel, können aber bei schwierigem Verlauf schwerste irreversible Erkrankungen auslösen. Die Standardmethode zum aktiven Überdruckausgleich ist das sogenannte Valsalva-Manöver.

Das Valsalva-Manöver als therapeutisches Verfahren repetitiv durchgeführt bzw. apparative Hilfen, wie Otovent (Optima Pharmazeutische GmbH, Deutschland) oder Otobar (Otobar GmbH, Deutschland), gewährleisten häufig keine dauerhaft ausreichende Mittelohrbelüftung und -drainage. Somit wird eine Paracentese bzw. Paukendrainage durch einen kleinen operativen Eingriff zur hinreichenden Mittelohrbelüftung notwendig. Dabei greift die Therapie gerade an einer der empfindlichsten Stellen des Mittelohres an: dem Trommelfell. Dieser wesentliche Teil der Schallleitungskette ist bei chronisch erkranktem Mittelohr meist atroph und narbig. Paukendrainagen stellen heute die beste verfügbare Therapie als klinischer Standard. Es finden sich hierzu Patente und eine Vielzahl wissenschaftlicher Publikationen zur Therapieeffektivität [3, 4]. Eine separate Belüftung über ein Silikonröhrchen, das Paukenhöhle und äußeren Gehörgang verbindet, hat bei schwierigerer Anlage als das klassische Paukenröhrchen keinerlei Vorteile zeigen können [5]. Zudem ist bei der Paukendrainage die protektive Funktion der Tube ausgehebelt.

Als eine am Lumen angreifende Therapiemodalität gibt es Berichte über Therapieerfolge bei ausgewählten Patienten nach Behandlung mit einem Diodenlaser [6]. Eine interventionelle Methode bzw. Therapie der Tube selbst ist inzwischen als Ballondilatation der Tuba Eustachii

(BET) bekannt. Analog einer kardiovaskulären Ballondilatation bei koronarer Herzerkrankung wird hier der knorpelige Anteil der Ohrtrumpe kurzfristig mit einem Ballonkatheter geweitet. Dieses Verfahren hat sich als nahezu nebenwirkungsfrei herausgestellt [7, 8]. Auf diesem Gebiet haben in 2017 zwei weitere Anbieter eine FDA-Zulassung für ihre Produkte erhalten.

Permanente Schienungen, wie ein Golddraht, zeigten nur unbefriedigende Ergebnisse [9]. Die Auswirkungen auf die Tubenbelüftung über einen Polyethylen-Hohlzschlauch wurden für verschiedene Einfürtiefen beschrieben [10]. Weitere Schienungsversuche der Ohrtrumpe mit Silikonröhren zeigten in ausgewähltem Patientengut klinische Verbesserungen [12]. Eine Kontrolluntersuchung einer anderen Arbeitsgruppe führte zu ausgeprägten Fremdkörperreaktionen und wurde bei tympanaler Implantationstechnik als sehr schwierig beschrieben [13]. Ein weiteres US-Patent [14] beinhaltet zwei parallel verlaufende, flexibel verbundene konkave Arme, die über ihr Profil mit dem Gegenstück einen zylindrischen Hohlraum bilden. Dieser so erstellte Hohlraum schient die gesamte knöcherne und fast vollständig die knorpelige Tube. Eine Bördelung des im Protympanon liegenden Abschnittes soll eine Dislokation des Stents in den Rachen verhindern. Zudem wurde bereits hier eine Funktionalisierung bzw. Drug-Eluting-Komponente aufgenommen. Klinische Studien, die einen Therapieerfolg oder auch nur eine Einzelfallbeschreibung belegen, fehlen.

Hinsichtlich der Entwicklung eines Tubenstents wurden nach umfangreichen ex vivo Tests [15] zwei Langzeitstudien zur Tubenstentung am Schaf erfolgreich durchgeführt [16] und die Methode der Tympanometrie zur Untersuchung der Mittelohrbelüftung erfolgreich auf die Anwendung im wachen Schaf übertragen [17]. Die Anwendung eines luminalen OCT zur Untersuchung der Tube zeigte eine grundsätzliche Eignung, aber auch dringend notwendige technische Modifikationen vor einem in vivo Einsatz [18].

- [1] Ilan O, Marcus E-L, Cohen Y, et al. Eustachian tube dysfunction leading to middle-ear pathology in patients on chronic mechanical ventilation. *The Journal of Laryngology & Otology*. 2017;131(9):817-822.
- [2] Schappert AM, Nelson C. National Hospital Ambulatory Medical Care Survey: 1995-96 summary. *Vital Health Stat* 1999;12(142):1-122.
- [3] Bruce D, Goode RL. Middle ear ventilation tube. US-Patent 4695275, 1987.
- [4] Schmidt PH, Bolhuis van H. Transtympanic aeration of the middle ear with blocked Eustachian Tube. *Acta Oto Laryngologica*. 1964;60:277-282.
- [5] Silverstein H. Middle ear aeration and implant. US-Patent 3982545 A, 1976.
- [6] Poe DS, Grimmer JF, Metson R. Laser Eustachian Tuboplasty: Two Year Results. *Laryngoscope*. 2007;117(2):231-237.
- [7] Schröder S, Reineke U, Lehman M, Ebmeyer J, Sudhoff H. Chronic obstructive eustachian tube dysfunction in adults – long-term results of balloon eustachian tuboplasty. *HNO*. 2013;61(6):142-151.
- [8] Meyer TA, O'Malley EM, Schlosser RJ, et al. A randomized controlled trial of balloon dilation as a Treatment for persistent Eustachian Tube dysfunction with 1-year follow-up. *Otol Neurotol*. 2018;39(7):894–902.
- [9] Steinbach E. Zur Einlage eines Tubenimplantates bei Mittelohrbelüftungsstörungen. *Arch Otolaryngol* 1991, Suppl. II, 271-272.

- [10] Takahashi H, Fujita A, Honjo I. Site of Eustachian Tube Dysfunction in Patients with Otitis Media with Effusion. Am J Otolaryngol 1987;8:361-363.
- [12] Wright JW 3rd, Wright JW jr, Hicks GW. The Eustachian Tube prosthesis revisited otolaryngology 1978;86:834-837.
- [13] Lesinski SG, Fox JM, Seid AB, Bratcher, Glenn O, Cotton R. Does the silastic Eustachian Tube prosthesis improve Eustachian Tube function? Laryngoscopy 1980;90(9):1413-1428.
- [14] Litner J. Eustachian tube stent. US-Patent US000006589286B1, 2003.
- [15] Miller F, Burghard A, Salcher R, Scheper V, Leibold W, Lenarz T, Paasche G. Treatment of middle ear ventilation disorders: Sheep as animal model for stenting the human Eustachian tube – A cadaver study. PLoS One. 2014;9(11):e113906.
- [16] Pohl F, Schuon RA, Miller F, Kampmann A, Bültmann E, Hartmann C, Lenarz T, Paasche G. Stenting the Eustachian tube to treat chronic otitis media - a feasibility study in sheep. Head Face Med. 2018;14(1):8. doi: 10.1186/s13005-018-0165-5.
- [17] Pohl F, Paasche G, Lenarz T, Schuon R. Tympanometric measurements in conscious sheep - a diagnostic tool for pre-clinical middle ear implant studies. Int J Audiol. 2017;56(1):53-61.
- [18] Schuon R, Mrevlje B, Vollmar B, Lenarz T, Paasche G. Intraluminal three-dimensional optical coherence tomography – a tool for imaging of the Eustachian tube? J Laryngol Otol. 2019 Feb 18:1-8. doi: 10.1017/S002221511800230X

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Im Rahmen des Vorhabens wurde mit unterschiedlichen Partnern innerhalb und außerhalb des RESPONSE Konsortiums zusammengearbeitet. Zu nennen ist hier insbesondere das Zentrale Tierlabor (ZTL) der MHH ohne deren Unterstützung die Durchführung der Großtierversuche einschließlich der Pathologie nicht möglich gewesen wäre. Prof. A. Bleich und Prof.in M. Bankstahl übernahmen zusätzlich die veterinärmedizinische Betreuung unserer tierärztlichen Doktoranden. Die Blutuntersuchungen erfolgten durch Laboklin. Hinsichtlich der Untersuchung von Speichelproben gab es Kooperationen mit der Synlab GmbH in Berlin und der Klinischen Chemie der MHH (Prof. Lichtenhagen). Die Körperspender kamen aus der Anatomie der Universitätsmedizin der Universität Rostock. Die Rohdaten aus der Segmentierung eines Kopfes zur Erstellung eines Trainingsmodells sind vom IMES der LUH (L. Budde) in ein gedrucktes 3D-Modell als Anschauungsmaterial umgesetzt worden. Zur Bildgebung der Tube vor (Diagnostik) oder nach Stentinsertion wurde mit dem „INKA - Application driven Research“ Zentrum der OVG Universität in Magdeburg (Dr. A. Boese) hinsichtlich Anwendung des OCT sowie mit der Firma Philips (Leihstellung eines IVUS Gerätes) hinsichtlich Ultraschalluntersuchung der Tube kooperiert.

6. Verwendung der Zuwendung und erzieltes Ergebnis

Die Zuwendung wurde für Personalkosten, Sach- und Reisekosten verwendet. Die finanziellen Mittel wurden ausschließlich projektbezogen eingesetzt. Nach beantragter und genehmigter Umwidmung wurden Gelder aus den Positionen 0812 und 0846 in 0843 verschoben, da sich die Untersuchungen zur Pathologie der Schafe (Blut- und Speicheluntersuchungen, Untersuchung der Organe und Gewebe) als deutlich teurer erwiesen, als bei Beantragung erwartet. Ansonsten lag der Schwerpunkt darauf, in der Phase der Corona-bedingten Projektverlängerung alle RESPONSE-Projekte (03ZZ0922E; 03ZZ0925A; 03ZZ0931E; 03ZZ0933H) möglichst entsprechend Zeitplan zum Erfolg zu führen.

Das übergeordnete Ziel dieses Vorhabens war es, die *in vivo* Versuche aus FV 12 mit zusätzlichen notwendigen Untersuchungen zu ergänzen. Darüber hinaus sollten Stents und Tools getestet, weiterentwickelt und hinsichtlich ihres Designs finalisiert werden.

| | Ziele | Ergebnis |
|--------|--|---|
| AP 3.5 | Bereitstellung der anatomischen Daten zur Entwicklung eines Trainingsmodells sowie Validierung der Stentinsertion am Modell oder im <i>ex vivo</i> Versuch | <ul style="list-style-type: none"> - Scandaten von humanen Köpfen aufbereitet und segmentiert und Partner zur Verfügung gestellt - Zweiter, reduzierter Datensatz eines „mittleren“ Kopfes ebenfalls - Stent und Tools samt „Gebrauchsanleitung“ (bess) getestet - Nicht involvierte Ärzte deckten Trainingsbedarf auf - 3D Modell von (halbem) Kopf gedruckt |
| AP 3.6 | Testung der weiterentwickelten Applikationssysteme im humanen Körperspender, um ein optimales Design für die Übertragung in die klinische Anwendung zu erreichen | <ul style="list-style-type: none"> - <i>ex vivo</i> Testung (Körperspender) unter klinischen Bedingungen (Exp. OP) durchgeführt - Designanpassungen definiert, von bess umgesetzt und erneut getestet - Test der vom Partner integrierten Diaphanoskopie war erfolgreich - Bildgebung in Tube weiterentwickelt - OCT erscheint unter Nutzung eines äußeren Katheters in knorpeliger Tube einsetzbar - IVUS auch ohne äußeren Katheter nutzbar - für beide wäre humane Studie der nächste Schritt |
| AP 3.7 | Untersuchung der Pathologie von Geweben und Organen nach <i>in vivo</i> Untersuchung der Stents in FV 12 | <ul style="list-style-type: none"> - Blutuntersuchungen zur Einstallung und zu jeder Narkose durchgeführt – keine Auffälligkeiten in Zusammenhang mit der Implantation - Organe aller Tiere untersucht – keine behandlungsbedingten Auffälligkeiten; in Einzelfällen waren vertiefende Untersuchungen notwendig - Stresslevel der Tiere reduziert sich durch Training, war insgesamt aber auf niedrigem Niveau |

7. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

| | | |
|------|-----------------------|--------------|
| 0824 | Personalmittel | 111.373,21 € |
| 0843 | Verbrauchsmaterial | 29.254,43 € |
| 0831 | Gegenstände bis 410 € | 0,00 |

| | | |
|------|---------------|---------------------|
| 0846 | Reisekosten | 85,00 € |
| | Gesamt | 140.712,64 € |

Angaben ohne PP und vor Abschluss der internen Prüfung

8. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die geleistete Arbeit ist dem vorwettbewerblichen Bereich zuzuordnen. Sie besitzt einen Umfang hinsichtlich Personal- und Sachmitteln, der aus Mitteln der universitären Grundausstattung nicht geleistet werden kann.

Bei 2 Mio. Patienten mit chronischer Mittelohrentzündung allein in Deutschland und mehreren Therapieansätzen von denen keiner grundsätzlich Erfolg verspricht, wird mit der Entwicklung eines Stents für die ET ein wichtiges Krankheitsbild der HNO Heilkunde adressiert. Eingebettet in das RESPONSE Konsortium wurden im Basisvorhaben 1 Grundlagen für die geplanten Entwicklungen gelegt. In FV 8 wurden ausgehend von einer Analyse der anatomischen Gegebenheiten degradable und permanente Stents zur Anwendung in der humanen ET entwickelt und getestet sowie erste Tools zur sicheren Applikation der Stents entwickelt. Diese entwickelten Stents konnten in FV 12 erstmalig *in vivo* getestet werden. Um die in FV 12 erhobenen Daten zu vervollständigen und grundsätzlich für eine spätere Zulassung verwendbar zu machen, mussten die *in vivo* Untersuchungen um Untersuchungen zur Pathologie ergänzt werden. Regelmäßig wurden Blutproben genommen und das Blutbild analysiert. Darüber hinaus wurden die inneren Organe nach Abschluss der Versuche inspiziert und auf etwaige Hinweise auf Veränderungen oder auch Entzündungen kontrolliert. Verschiedene Entwicklungsstufen der Insertionstools wurden getestet. Um sich der klinischen Situation möglichst anzunähern, erfolgten diese Tests zum Teil an Körperspendern. In die Tests wurden auch HNO Ärzte eingebunden, die bisher nicht in die Entwicklung zum Tubenstent involviert waren. Hier offenbarten sich neben einer guten Handhabbarkeit auch einige Schwachstellen und diese Versuche machten Trainingsbedarf vor der Applikation in der Klinik deutlich. Um Training zu ermöglichen, wurden Scan-Daten von Patienten so aufbereitet und an die Partner gegeben, dass ein 3D Model von Kopf und ET erstellt werden kann. Von Tests mit externen Ärzten musste auf Grund der Corona-Pandemie Abstand genommen werden.

9. Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Die im TV 1 vorgenommenen ergänzenden Untersuchungen im Rahmen der in vivo Versuche fließen in die Beantragung einer ersten klinischen Studie zum permanenten (Nitinol) Stent ein. Sie bilden genauso wie die Ergebnisse zum degradablen Stent die Grundlage für weitere Forschungsprojekte, welche aktuell in Vorbereitung sind. Da im Rahmen der ex vivo Untersuchungen auch hinsichtlich der Bildgebung (Diagnostik, aber auch Kontrolle des Stents) weiter gearbeitet wurde, wäre hier eine Übertragung in die Anwendung am Patienten der logische nächste Schritt.

Im Rahmen des Projektes ist eine Doktorarbeit im Entstehen. Darüber hinaus unterstützten fünf Studentinnen der Veterinärmedizin das Projekt als Teil ihres praktischen Jahres im Rahmen des Studiums. Ergebnisse des Projektes sind auf nationalen und internationalen Fachtagungen präsentiert worden. Weiterhin wurden erste Ergebnisse in internationalen Fachzeitschriften publiziert, weitere werden folgen.

Zusätzlich zu dem fortgeschriebenen Verwertungsplan wird aktuell mit dem IMES der LUH überlegt, ob das 3D Modell im Rahmen einer studentischen Arbeit weiterentwickelt werden kann mit herausnehmbaren Tuben zwecks Positionskontrolle und Wiederverwendbarkeit.

10. Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Auf der ARO 2020 hat eine koreanische Gruppe ebenfalls ein Poster zur Stentung der Tube vorgestellt. Seither sind mehrere Publikationen dieser Gruppe erschienen, die unter anderem das Schwein als geeignetes Tiermodell vorstellen. Auch erste in vivo Daten von Stents in der ET von Schweinen wurden publiziert. Darunter waren auch beschichtete Stents, jedoch war bei allen vorgestellten Untersuchungen die Tierzahl so gering, dass eine verlässliche statistische Auswertung aus unserer Sicht nicht möglich ist. Darüber hinaus sind weitere Publikationen erschienen, die die Anwendbarkeit von OCT in der ET untersuchen.

11. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse

Publikationen im Berichtszeitraum

Referierte Veröffentlichungen

- [1] Schuon R, Schwarzensteiner J, Paasche G, Lenarz T, John S. Functional aspects of the Eustachian tube by means of 3D-modeling. PLoS One. 2021 Aug 12;16(8):e0244909. doi: 10.1371/journal.pone.0244909. eCollection 2021. PMID: 34383758

- [2] Lebahn K, Stöffler K, Oschatz S, Arbeiter D, Reske T, Schmitz K-P, Paasche G, Lenarz T, Grabow N. Polymer selection for Eustachian tube stent application based on mechanical, thermal and degradation behavior. Current Directions in Biomedical Engineering. <https://doi.org/10.1515/cdbme-2021-2167>
- [3] Oppel N, Paasche G, Bleich A, Lenarz T, Schuon R. Intravascular Ultrasonography (IVUS)-A Tool for Imaging the Eustachian Tube? Bioengineering (Basel). 2022 Nov 28;9(12):733. doi: 10.3390/bioengineering9120733.
- [4] Boese A, Fritzsche H, Paasche G, Lenarz T, Schuon R. A new method for OCT Imaging of the Eustachian tube. Current Directions in Biomedical Engineering, vol. 8, no. 2, 2022, pp. 113-116. <https://doi.org/10.1515/cdbme-2022-1030>.

Nichtreferierte Veröffentlichungen/Tagungsbeiträge

- [1] Schümann K, Wilfling T, Paasche G, Schuon R, Tautorat C, Schmitz KP, Lenarz T, Grabow N. Polymeric stents for the Eustachian tube: development and human cadaver study. Vortrag auf der DGBMT 2020, 29.09.-01.10.2020, online.
- [2] Oppel N, Ezzat M, Krüger P, Schmitt K, Napp A, Pohl F, Bleich A, Lenarz T, Stein T, Paasche G, Schuon R. Development of a model for Eustachian tube dysfunction. Vortrag auf der DGBMT 2021, 05..-07.10.2021
- [3] Ezzat M. Development of the eustachian tube stent - an update. Vortrag auf der DGBMT 2021, 05..-07.10.2021
- [4] Rosenbusch L, Schuon R, Wilfling T, John S, Krüger P, Lebahn K, Pohl F, Ezzat M, Stein T, Grabow N, Lenarz T, Paasche G. Ex Vivo Investigation of Different Prototypes of a Eustachian Tube Stent. ARO Abstracts 2022. 45:535.

Abgeschlossene studentische Arbeiten, Doktorarbeiten und Habilitationen

- [1] Senker H. Entwicklung und Auswertung von Fragebogen zur Untersuchung der Akzeptanzkriterien eines Tubenstents. Dissertation zum Dr. med. dent., Hannover 2021.
- [2] Oppel N. Funktionsstörungen der Eustachischen Röhre: Entwicklung eines Tiermodells sowie ein Beitrag zur endoluminalen Diagnostik. Dissertation zum Dr. med. vet., Hannover, 2023.
- [3] Geplant: Napp A. Evaluation der Stressbelastung im Rahmen des Trainings mit und ohne Clicker und anschließender tympanometrischer Messung am Tiermodell Schaf. Dissertation

Erfindungen/Schutzrechtsanmeldungen

- [1] Krüger P, Lenarz T, Lange S, Paasche G, Schuon R. Applikator und Stent für eine eustachische Röhre. DE 10 2020 116 795.4

12. Anhang zu Punkt 6 – Ausführliche Darstellung der wissenschaftlich-technischen Ergebnisse und anderer wesentlicher Ereignisse

AP 3 Applikationsbereich Hals-Nasen-Ohrenheilkunde

AP 3.5 Trainingsmodell und Validierung (HNO MHH)

Existierende Scandaten von humanen Köpfen wurden aufbereitet und segmentiert. Auf Basis der Auswertungen zur Tubenanatomie im Basisvorhaben 1 wurden Köpfe ausgewählt, die in ihren Tubendimensionen in etwa den mittleren Werten entsprachen. Diese wurden im Detail segmentiert und Knochen, Weichgewebe sowie luftgefüllte Hohlräume entsprechend markiert (Abb. 1A). Die Daten wurden an den Projektpartner bess pro GmbH übergeben. Bei ersten Druckversuchen dort stellte sich heraus, dass die Datensätze zu komplex waren. Daher wurde eine zweite Segmentierung durchgeführt, bei der auf Details, die nicht zwangsläufig für die Stentinsertion wichtig sind, verzichtet und die vorhandenen Strukturen „flächiger“ dargestellt wurden (Abb. 1B). Diese Daten wurden erneut dem Partner zur Verfügung gestellt.

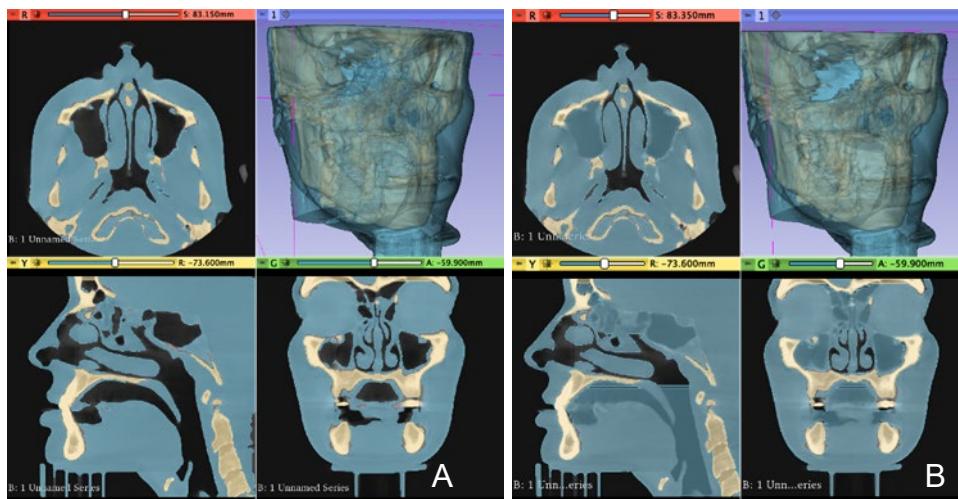


Abb. 1: (A) Detailreiche Segmentierung eines humanen Kopfes als Vorlage für die Generierung des Modells. (B) Reduzierte Segmentierung zur besseren Druckbarkeit.

Tests am Trainingsmodell zur Validierung der Stents und Tools waren auch mit externen Ärzten vorgesehen. Diese konnten auf Grund der Corona Pandemie so nicht durchgeführt werden. Intern wurden aber zwei erfahrene Ärzte die bisher nicht am Projekt beteiligt waren zu den Versuchen am Körperspender (AP 3.6) hinzugezogen. In diesem Rahmen wurde durch

den Partner bess eine erste Version einer „Gebrauchsanleitung“ getestet. In einem Fall lief die Insertion sehr glatt, im zweiten Fall war etwas mehr Unsicherheit zu spüren. Die Nachuntersuchung ergab eine via falsa bei diesen beiden Insertionen.

Gegen Ende des Projektes ist auf Basis der zu Beginn des Projektes durchgeföhrten Segmentierung durch das IMES der LUH noch ein Druckversuch eines 3D Modelles unternommen worden (Abb. 2).

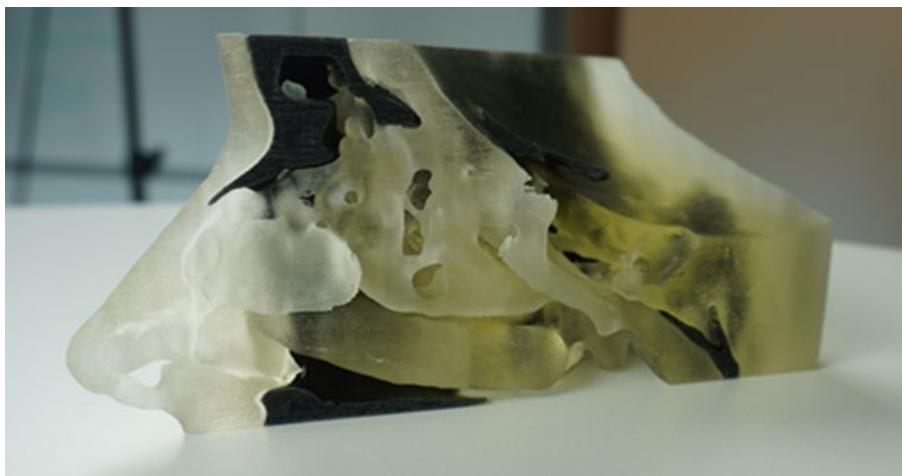


Abb. 2: Gedrucktes 3D Modell eines Teils des mittleren Kopfes. © L Budde, IMES

AP 3.6 Testung der Tools im Labor und am Körperspender

(HNO MHH)

Weiterentwickelte Applikationssysteme (zB. schlankeres Design des Handstücks, modifizierte Spitze) wurden vom Projektpartner zur Verfügung gestellt (Abb. 3A). Diese wurden trocken sowie in einem ersten Schritt im Schafskadaver getestet (Abb. 3B) und entsprechend Rückmeldung an den Partner gegeben. So war zum Beispiel das neue Material der transparenten Hülle der Stents nicht für eine Insertion mit abgewinkelte Spitze des Tools geeignet, da es knickte und ein Freisetzen des Stents verhinderte (Abb. 3C). Tests weiterentwickelter Tools wurden im Experimental OP der HNO MHH an humanen Körperspendern der Anatomie der Uni Rostock durchgeföhrte.



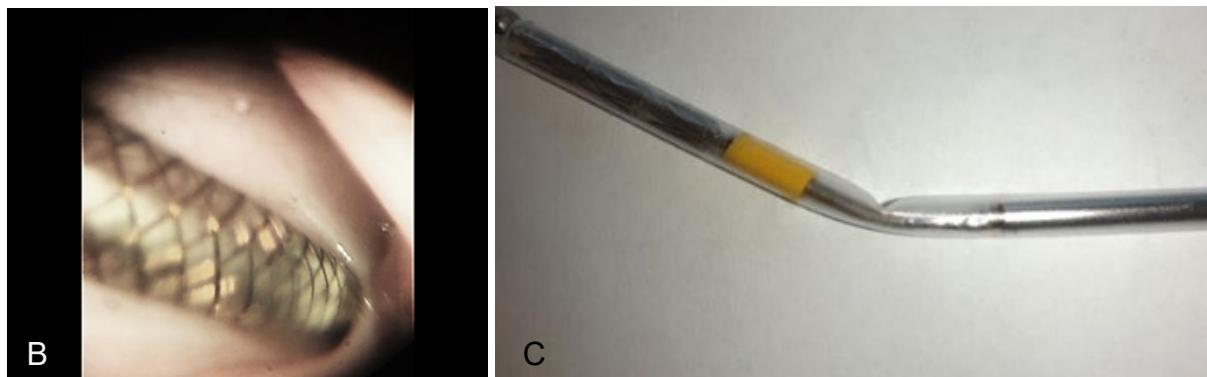


Abb. 3: (A) Tool mit schlankem Handstück. (B) Test eines deutlich schlankeren Tools im Kadaver. (B) Abknicken der transparenten Hülle eines modifizierten Tools.

Es standen insgesamt 6 Spender zur Verfügung. Diese wurden durch 5 HNO-Ärzte beidseitig mit Stents versorgt. Unter diesen 5 Ärzten waren zwei Ärzte, die bisher in die Entwicklung des Stents nicht involviert waren. Es konnten 15 von 15 Stents platziert werden. Auch die beiden neu involvierten Ärzte kamen gut mit dem Design und der Technik zurecht (Abb 4), zeigten aber naturgemäß noch einige Unsicherheiten (Training!). Die Auswertung der DVT Aufnahmen hierzu ergab, dass es 3x zu einer via falsa kam (1x davon ein neuer Arzt). In diesem Rahmen wurde ebenfalls erfolgreich getestet, ob es möglich wäre, einen Stent im Stent zu platzieren, falls sich die klinische Notwendigkeit ergeben sollte. Der letzte Spender wurde dann genutzt, um die in das Tool integrierte Diaphanoskopie zu testen. Diese Tests waren nur bei Nutzung des längeren Instrumentes erfolgreich, jedoch bestand auch hier noch die Gefahr eines Knickens der Faser. Diese Möglichkeit wird im Tool aber weiterhin vorgesehen. Als notwendige Modifikationen für die Tools haben sich in diesen Versuchen und den *in vivo* Versuchen eine Designänderung an der atraumatischen Spitze des Tools ergeben. Je nach Position von Tool und Stent in der Tube und der zur Verfügung stehenden Bewegungsfreiheit bei der Insertion durch die Nase kann es passieren, dass das Tool den Stent beim Entfernen leicht zurückzieht. Hier ist ein noch sanfterer Übergang von der Spitze des Tools zum Schaft angedacht (vgl. Abb 5).

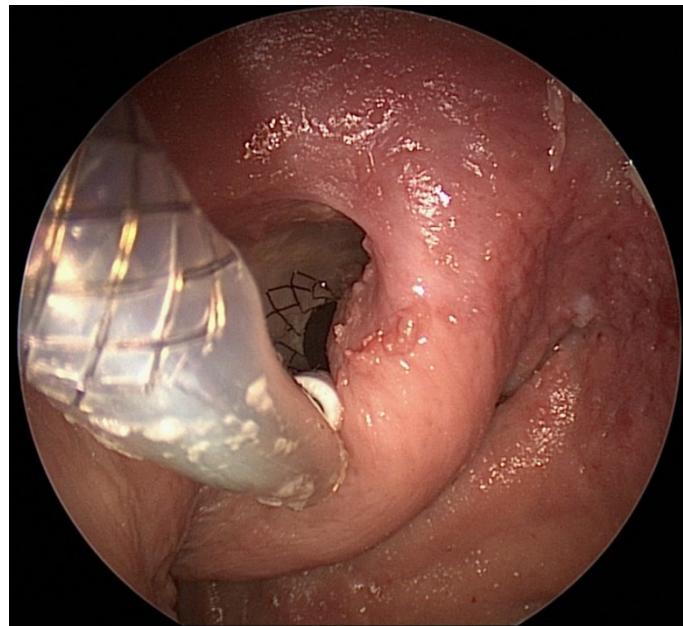


Abb. 4: Insertion eines Stents in die Tube eines Spenders. Der Stent ist positioniert, das Tool kann entfernt werden.

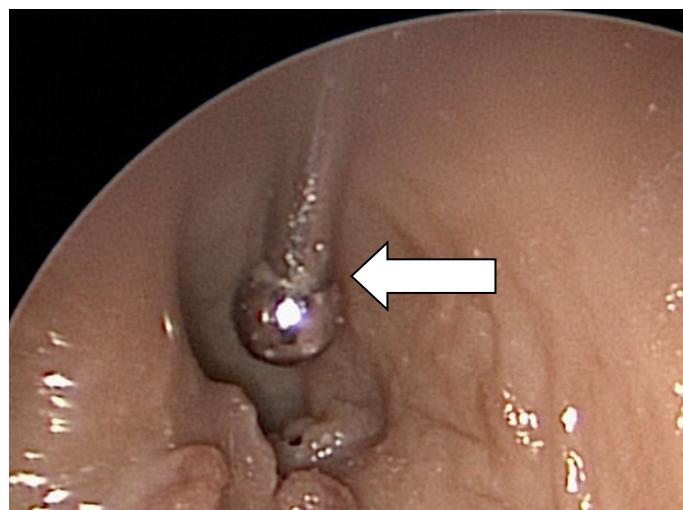


Abb. 5: Atraumatische Spitze des Tools. Der Übergang zum Schaft (Pfeil) muss noch sanfter gestaltet werden.

Über die beschriebenen Arbeiten hinaus ist es gelungen, ein IVUS-Gerät (intravaskularer Ultraschall) als Leihgabe der Firma Philips für ex vivo Untersuchungen nach Hannover zu holen. Diese Methode wurde hinsichtlich ihrer Anwendbarkeit in der ET mit und ohne Stent getestet. Mit dieser Methode ist es möglich, die Tube mit und ohne Stent zu untersuchen. Die verwendete Faser passt durch den Isthmus, es muss also sehr auf die Insertionstiefe geachtet werden, um keine Schäden im Mittelohr zu riskieren. Knochen und Weichgewebe ließen sich gut abgrenzen (Abb 6), im Schafskadaver konnte mittels IVUS auch die Unterspritzung der Tube sichtbar gemacht werden. Um eine sichere Zuordnung der dargestellten

Gewebestrukturen zu erreichen, wurde das anatomische 3D Modell der Schäfttube (vgl RESPONSE BV 1) zu Hilfe genommen.

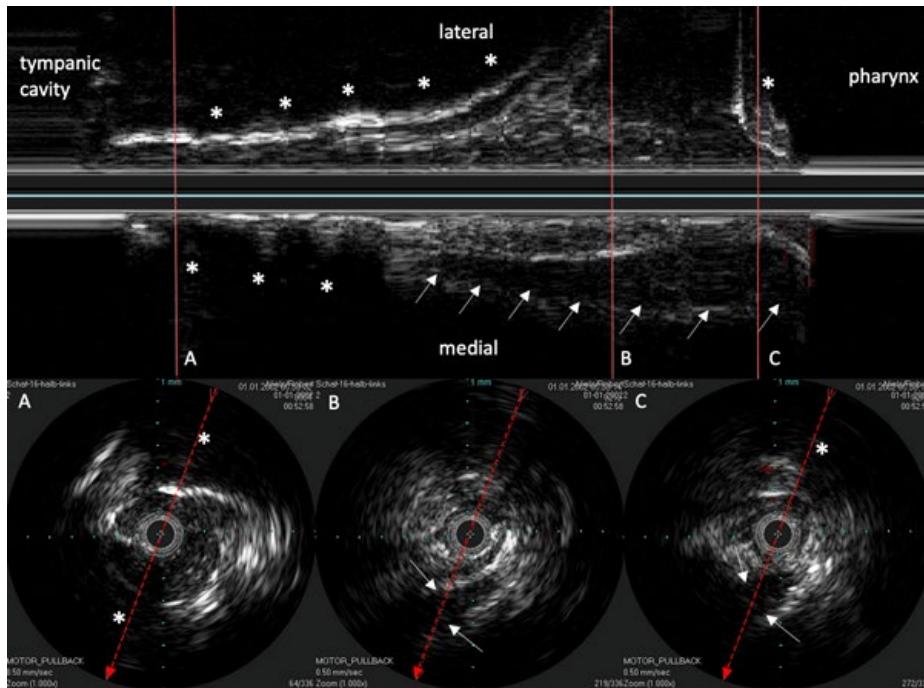


Abb. 6: Ultraschallaufnahme der ET (Oppel et al 2022). Im oberen Teil ist ein Längsschnitt durch die ET dargestellt, im unteren Teil die Querschnitte an den Positionen a, b und c. Die gestrichelte rote Linie markiert die Lage des Längsschnittes in den Querschnitten. Knorpel erscheint Echo-arm (Pfeile). Knochenstrukturen sind durch * markiert.

Aus früheren Untersuchungen war bekannt, dass OCT als Methode der Bildgebung aus der ET grundsätzlich geeignet ist, die verfügbaren Fasern aber eine Anwendung im Patienten nicht erlauben. Durch die Kooperation mit der OVG Uni Magdeburg (A. Boese) konnten modifizierte (abgeschnittene) Fasern mit einem äußeren, transparenten Katheter in der Tube platziert werden und so die ET untersucht werden (Abb. 7). Diese Art der Anwendung erscheint grundsätzlich praktikabel auch im Patienten, reduziert sie doch das Risiko eines generierten Schadens im Mittelohr sowie das Verletzungsrisiko auf Grund einer abgeschnittenen OCT-Faser.

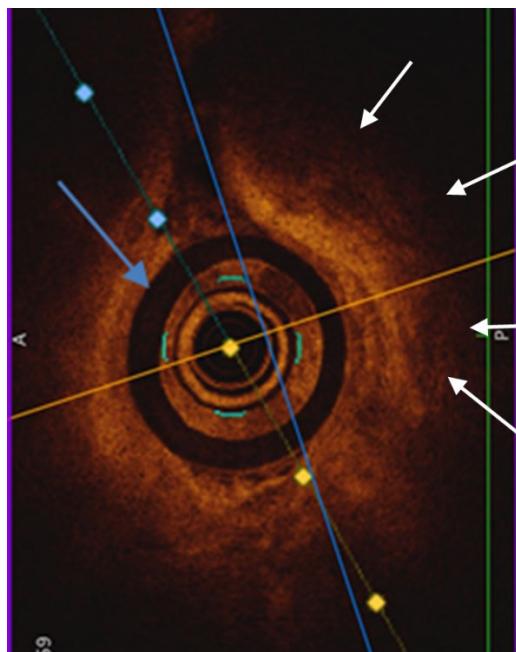


Abb. 7: OCT Aufnahme der ET durch den Katheter. Der blaue Pfeil weist auf den echoarmen äußeren Katheter, die weißen Pfeile zeigen den Tubenknorpel.

AP 3.7 Pathologie der in vivo Versuche (HNO MHH)

Die Untersuchung der Pathologie von Geweben und Organen nach in vivo Untersuchung der Stents war direkt mit dem Fortschritt der Arbeiten in FV 12 verbunden. Es wurden bei den Tieren regelmäßig Blutproben entnommen und im Labor (Laboklin) hinsichtlich Blutbild untersucht. Die meisten Werte lagen für alle Tiere innerhalb der in der Literatur angegebenen Grenzwerte. Die Zahl der Leukozyten war, wenn sie außerhalb der Normwerte lag, eher zu niedrig, als zu hoch. Wenn es Abweichungen gab, dann lagen die Werte auch schon vor der Stentinsertion außerhalb oder sehr nahe an der Grenze der Normwerte. Bei genauerer Analyse der Leukozyten stellte sich heraus, dass ausschließlich die Werte für die Lymphozyten außerhalb des Normbereichs lagen. Abweichende Werte konnten teilweise auch mit anderen Auffälligkeiten (zB Entzündung am Huf) erklärt werden. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass im Blutbild kein Hinweis auf eine Beeinflussung durch Setzung eines Stents gefunden wurden.

Weiterhin wurden regelmäßig Speichelproben entnommen und untersucht. Die Speichelproben sollten hinsichtlich Lipase und Cortisol-Gehalt untersucht werden. Bei der Etablierung der Untersuchung wurde festgestellt, dass der Lipase-Nachweis, wie er in der Literatur beschrieben ist, offensichtlich nicht funktioniert. Speichel-Lipase ist nicht zur Bestimmung der Stressbelastung geeignet (Abb. 8).

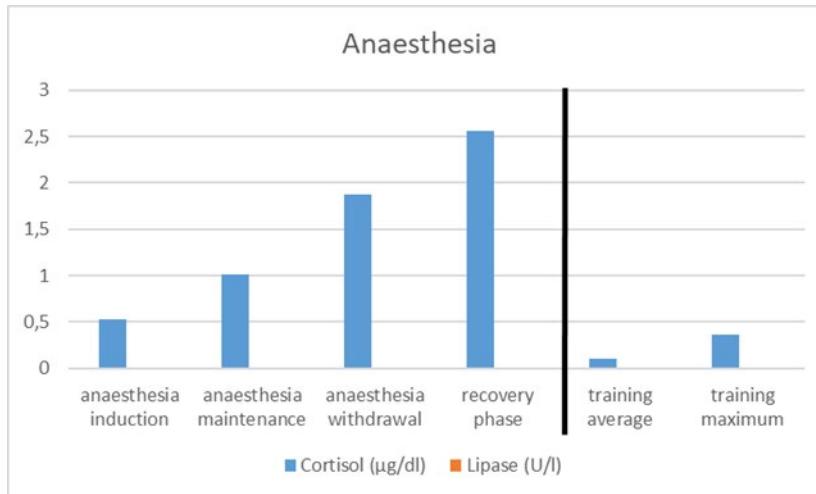


Abb. 8: Nachweisbare Cortisol und Lipase-Gehalte im Speichel als Folge der Narkose(-einleitung) im Vergleich zu Werten aus der Trainingsphase. Lipase konnte hier nicht nachgewiesen werden.

Die Stressbelastung der Tiere konnte durch unser Training vor Versuchsbeginn reduziert werden (Abb. 9). Ein Anstieg des Stresslevels wurde im weiteren Verlauf nur bei „besonderen“ Beanspruchungen der Tiere, wie Narkosen oder das Scheren der Schafe gesehen, jedoch keine Änderung im Zusammenhang mit der Stentimplantation.

Row means with SD - salivary cortisol

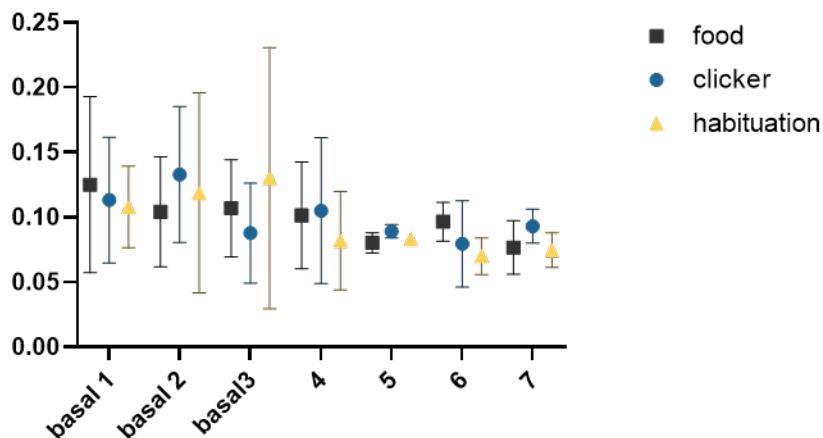


Abb. 9: Der Cortisolgehalt im Speichel wird durch das Training der Tiere während der Eingewöhnungszeit reduziert, was als Stressreduktion interpretiert werden kann. Die unterschiedlichen Symbole entsprechen verschiedenen Trainingsmethoden.

Nach Abschluss der jeweils vorgesehenen Beobachtungszeiträume wurden die inneren Organe hinsichtlich möglicher pathologischer Auffälligkeiten, die im Zusammenhang mit der Stentimplantation stehen könnten, untersucht. Die Sektion der Tiere (Abb 10) zeigte, wenn es denn Auffälligkeiten gab, diese ausschließlich an Lunge und Herz bzw. Lungenlymphknoten und Herzbeutel. Betroffen waren Tiere der Gruppen A (1x), C (2x) und D (1x). Bei den

Auffälligkeiten handelte es sich um knotenförmige Verhärtungen bzw Abzesse. Bei einem dieser Tiere wurden mehrere abgekapselte eitrige Bereiche verteilt über den gesamten Körper gefunden. Bei diesen Auffälligkeiten müssen wir daher davon ausgehen, dass die Ursache nicht mit der Stentimplantation zusammenhängt. Der verlorene Stent (vgl. Schlussbericht FV 12 HNO MHH) wurde nicht im Tier gefunden. Maul und Rachenhöhle (Gaumen, Lymphknoten sowie Speicheldrüsen) waren bei allen Tieren physiologisch.



Abb. 10: Beispieldaufnahmen von der pathologischen Untersuchung der Tiere (hier Tier D6). Links: Überblick. Mitte: Lunge. Rechts: geöffnete Lunge.



Schlussbericht

Transfervorhaben 1

„Stenttechnologien für innovative minimalinvasive Therapieverfahren“

Teilprojekt

„Applikationsbereich Gastroenterologie“

FKZ 03ZZ0931F

Förderzeitraum 1.1.2020 – 31.12.2022

im Unternehmen Region-Programm

„Zwanzig20 – Partnerschaft für Innovation“
des Bundesministeriums für Bildung und Forschung



GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Verbundpartner:

| Antragsteller/Einrichtungen | | Ansprechpartner | Hauptarbeitspunkt |
|--|------------|--|-------------------|
| bess pro GmbH | bess | M. A. Eisenhut, T. Stein | AP 3 |
| CORTRONIK GmbH Rostock | COR | Dr. C. Momma | AP 1 |
| Institut für ImplantatTechnologie und Biomaterialien e.V. | IIB | Dr. S. Siewert, Prof. Dr. K.-P. Schmitz | AP 1, 2, 4, 6 |
| Medizinische Hochschule Hannover, Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde | HNO MHH | Prof. Dr. T. Lenarz, PD Dr. G. Paasche | AP 3 |
| Universitätsmedizin Greifswald | | | |
| Zentrum für Innere Medizin, Klinik und Poliklinik für Innere Medizin A | Gastro UMG | PD Dr. F. Frost Prof. Dr. M. M. Lerch | AP 5 |
| Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe | Gyn UMG | Prof. Dr. M. Zygmunt | AP 4 |
| Universitätsmedizin Rostock | | | |
| Institut für Anatomie | ANAT UR | Prof. Dr. A. Wree, Dr. J. Keiler | AP 6 |
| Institut für Biomedizinische Technik | IBMT | Dr. K. Schümann, Prof. Dr. N. Grabow | AP 1, 3, 5, 6 |
| Zentrum für Innere Medizin; Abt. Kardiologie | Kardio UR | Prof. Dr. A. Öner, Prof. Dr. H. Ince | AP 1 |
| Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde | UAK | Prof. Dr. R. Guthoff, Prof. Dr. O. Stachs | AP 2 |

Inhalt

| | |
|---|---|
| 1. Aufgabenstellung | 1 |
| 2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde..... | 1 |
| 3. Planung und Ablauf des Vorhabens..... | 2 |
| 4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde | 2 |
| 5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen | 3 |
| 6. Verwendung der Zuwendung und erzieltes Ergebnis | 3 |
| 7. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises..... | 4 |
| 8. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit..... | 5 |
| 9. Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans..... | 5 |
| 10. Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen..... | 5 |
| 11. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse | 5 |
| 12. Anhang zu Punkt 6 – Ausführliche Darstellung der wissenschaftlich-technischen Ergebnisse und anderer wesentlicher Ereignisse..... | 7 |

1. Aufgabenstellung

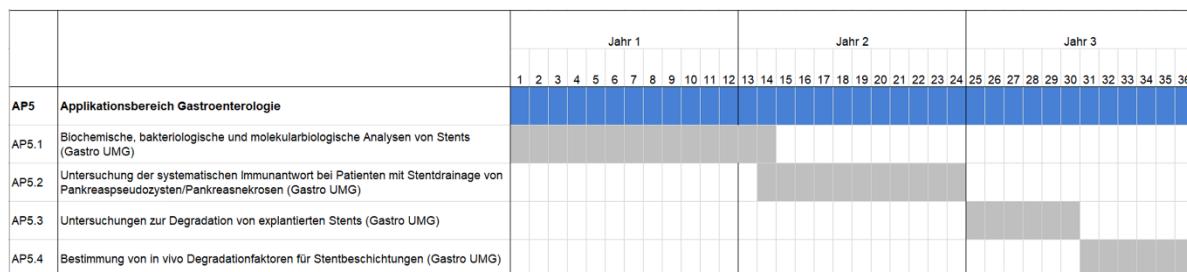
Pankreatische und peripankreatische Verhalte umfassen akute Nekroseverhalte (acute necrotic collections, ANC), akute peripankreatische Flüssigkeitsverhalte (acute peripancreatic fluid collections, APFC), Pseudozysten und abgekapselte Nekrosen (walled-off necrosis, WON). Typische Komplikationen durch lokale Verdrängungseffekte auf Nachbarstrukturen sind Cholestase, Fistelbildung, Magenausgangs- oder Darmstenose und (Analgetika-resistente) Schmerzen. Darüber hinaus kann es jederzeit zur bakteriellen Superinfektion der Verhalte und ggf. einer Sepsis kommen. Tritt eine der genannten Komplikationen auf, so ist in der Regel die Entlastung bzw. Drainage des Verhalts indiziert. Dies wird in erster Linie endoskopisch durch die transgastrale oder transduodenale Implantation von Plastik- oder verschiedenen Typen von Metallstents erreicht. Typische Komplikationen der Stentimplantation umfassen die Stentdislokation, Stentobstruktion sowie akute oder verzögerte Blutungen, Superinfektion des Verhalts oder das „buried LAMS syndrome“. Darüber hinaus gibt es Fälle bei denen die Drainage nur partiell gelingt und Rezidiveingriffe erforderlich werden. Die Gründe für das Auftreten von Komplikationen während der Drainagetherapie von (peri-) pankreatischen Flüssigkeitsverhalten und Nekrosen sind nur unzureichend erforscht. Es ist wahrscheinlich, dass die Zusammensetzung der Verhalte und die mikrobielle Komposition (sog. Mikrobiom) maßgebend das Risiko für das Auftreten von Therapie-assoziierten Komplikationen beeinflussen können. Hauptziel der Analysen im TV1 AP 5 Applikationsbereich Gastroenterologie war die Erforschung der biochemischen, morphologischen und mikrobiellen Faktoren die mit dem Erfolg oder Misserfolg einer Stenttherapie assoziiert sind, um die Datengrundlage für eine konzeptionelle Verbesserung der Stentsysteme zu schaffen.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Derzeit auf dem Markt verfügbare Systeme zur Drainage von (peri-) pankreatischen Flüssigkeitsverhalten und Nekrosen verwenden entweder Plastik- oder verschiedene Typen von Metallstents mit unterschiedlicher Geometrie wie z. B. den Hot Axios Stent (Boston Scientific) oder Niti-S Nagi Stent (Taewoong). Bislang konnte sich keines der Markt-verfügbarren Systeme gegenüber seinen Konkurrenzprodukten durch eine eindeutig bessere Performance während oder nach der Drainagetherapie absetzen. Insbesondere gibt es bislang kein etabliertes Stentsystem auf dem Markt, dass eine spezifisch antimikrobielle Beschichtung aufweist und durch Manipulation des Nekrosemikrobioms Einfluss auf den klinischen Verlauf nehmen kann. Die erstmalige Charakterisierung der mikrobiellen Flora und ihrer Umweltfaktoren in den Flüssigkeitsverhalten und Nekrosen erlaubt es daher Konzepte für eine Weiterentwicklung der bestehenden Systeme zu entwickeln.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Die geplanten Arbeitspakete konnten erfolgreich bearbeitet werden. Der zeitliche Ablauf der Arbeitspakete ist im Folgenden dargestellt



Meilensteine im Berichtszeitraum

Meilenstein 12 Monate: Evaluierung am Markt erhältlicher Stents zur Anwendung im AP5 Gastrointestinaltrakt.

4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Ein vergleichsweise neuer Anwendungsbereich von Stents im Gastrointestinaltrakt ist ihr transmuraler Einsatz zur Behandlung von peripankreatischen Flüssigkeitsansammlungen. Ein Verfahren zur transgastralen endoskopischen Drainage solcher Nekrosen und Pseudozysten wurde erstmals in Deutschland entwickelt und etabliert [1] und hat bereits zu einer starken Senkung der Letalität bei betroffenen Patienten geführt [2]. Anders als bei Stents, die in Blutgefäße oder andere präformierte Lumen wie Gallenwege oder Tränenkanäle eingelegt werden, muss für diese Stents erst endoskopisch interventionell ein Lumen geschaffen werden. Stents zur Drainage von (peri-) pankreatischen Flüssigkeitsverhalten und Nekrosen werden durch den Arbeitskanal eines Endosonographiegerätes gelegt (Magenspiegelung mit aufgesetztem Ultraschall). Dabei wird zunächst durch die Magenwand hindurch der Verhalt sonographisch angesteuert und je nach System beispielsweise ein Zugangsweg mittels eines elektrischen Messers eröffnet und anschließend durch Einlage eines Stents gesichert. Die Stents ermöglichen sowohl eine längerfristige Drainage als auch ein wiederholtes Eingehen in die Höhle zur sukzessiven Entfernung von nekrotischem Gewebe [4]. Generell sind auf dem Markt sowohl Plastikstents (üblicherweise Pigtail-Stents, **Abb. 1a**) als auch selbstexpandierende Metallstents mit unterschiedlichen Haltevorrichtungen (Tulpen) verfügbar (**Abbildung 1b**). Die Vielzahl der angebotenen Modelle zeigt, dass sich bisher kein Stent-Typ vollständig durchgesetzt hat.

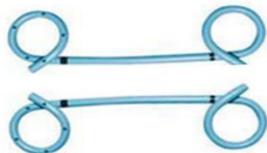
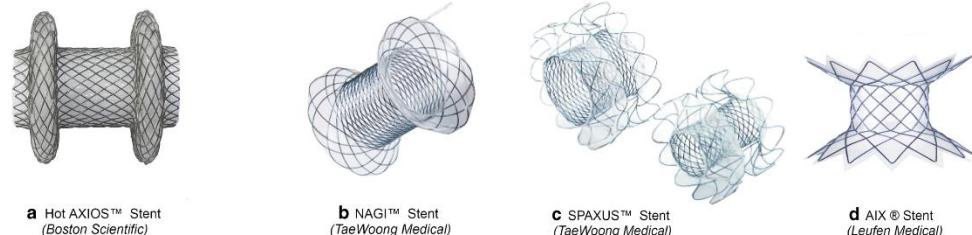
A)

B)


Abb. 1. Übersicht über Markt-verfügbare Stentsysteme. A) Plastik double-pigtail Stents. B) Verschiedene Typen von selbstexpandierenden Metallstents.

Quellen (13.12.2022): www.bostonscientific.com/DE-Deutsch/produkte/stents-gastrointestinal/hot-axios-stent-und-einfuehrsystem.html, www.taewoongmedical.com/in/product/product_list.php?ckattempts=1, www.leufen-medical.eu/de/aixstentr-gastroenterologie/pankreas-pseudozysten-stent/.

Literatur:

- [1] Seifert H, Wehrmann T, Schmitt T, et al. Retroperitoneal endoscopic debridement for infected peripancreatic necrosis. *Lancet*. 2000 Aug 19;356(9230):653-5.
- [2] van Brunschot S, Hollmans RA, Bakker OJ, et al. Minimally invasive and endoscopic versus open necrosectomy for necrotising pancreatitis: a pooled analysis of individual data for 1980 patients. *Gut*. 2017 Aug 3. pii: gutjnl-2016-313341. doi: 10.1136/gutjnl-2016-313341.
- [3] Kraft M, Simon P, Nitsche C, et al. Successful drainage of recurrent pancreatic pseudocyst via a transpapillary and transpancreatic approach, using a conventional cystotome. *Endoscopy*. 2012;44 Suppl 2 UCTN:E186-7. doi: 10.1055/s-0032-1306793.
- [4] Lerch MM, Stier A, Wahnschaffe U, et al. Pancreatic pseudocysts: observation, endoscopic drainage, or resection? *Dtsch Arztbl Int*. 2009 Sep;106(38):614-21.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Das Projekt erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Institut für Implantat Technologie und Biomaterialien e. V. (IBMT), wo rasterelektronenmikroskopische (REM) Aufnahmen sowie μ -Computertomographieuntersuchungen (μ CT) durchgeführt wurden (siehe AP 5.3 und AP 5.4).

6. Verwendung der Zuwendung und erzieltes Ergebnis

Der Kernauftrag im vorliegenden Projekt lag in der Akquirierung, Bearbeitung und Analyse von Stentexplantaten und Bioproben von Patienten mit Erkrankungen des Pankreas und (peri-)pankreatischen Flüssigkeitsverhalten oder Nekrosen. Der Schwerpunkt der Zuwendung lag in der Bereitstellung von Personalmitteln. Es musste eine kontinuierliche personelle im Präsenz im

Labor etabliert werden, um die in unregelmäßigen Zeitabständen eintreffenden klinischen Proben akquirieren und aufarbeiten zu können. Ferner waren Personalmittel für Datenanalysten zur Analyse der Hochkomplexen Multi-OMICS Datensätze aus den Mikrobiom- und Proteomanalysen erforderlich. Die genannten Punkte wurden im Laufe der Projektphase von verschiedenen auf dem Projekt eingestellten Mitarbeitern mit laborexperimentellem biologischen oder datenanalytischen Schwerpunkt durchgeführt. Der Großteil der im AP5 Applikationsbereich Gastroenterologie vorgesehenen Verbrauchsmittel wurden im Rahmen dieser Experimente verwendet. Ein zweiter Schwerpunkt der Zuwendung lag in der Bereitstellung von Mitteln zur Auftragsvergabe für die Stentmikrobiomanalyse am Institut für Klinische Molekularbiologie (IKMB, Universität Kiel). Durch die eingesetzten Zuwendungen konnten alle wesentlichen im Projekt verfolgten Ziele erreicht werden:

- Erfolgreiche Charakterisierung des Stentmikobioms und der antimikrobiellen Wirtsreaktion im Stentbiofilm. Nachweis eines homogenen Stentmikobioms unabhängig von der Lokalisation am Stent (AP 5.1).
- Nachweis eines ähnlichen Stentmikobioms und antimikrobieller Wirtsreaktion bei Verwendung unterschiedlicher Stenttypen (AP 5.1).
- Nachweis eines erhöhten Inflammationstonus beim Auftreten von Drainagetherapie-assoziierten Komplikationen während der Therapie von (peri-) pankreatischen Flüssigkeitsverhalten und Nekrosen (AP 5.2).
- Charakterisierung typischer Degradationsmuster bei Plastik- und Metallstents im Rahmen der Drainagetherapie (AP 5.3).
- Analyse des Nekrose- und Stentproteoms. Die Zusammensetzung des Nekrose- und Stentproteoms korreliert nicht mit dem klinischen Verlauf bzw. der Hospitalisierungsdauer bei Patienten während der Drainagetherapie (AP 5.4).

7. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Der Schwerpunkt der Aufwendungen war für Personal- und Sequenzierungsleistungen (durchgeführt am Sequenzierungszentrum des Instituts für Klinische Molekularbiologie, Kiel Universität) vorgesehen. Der Personalaufwand war sowohl für die Sammlung der Proben, deren Aufarbeitung als auch für die biomathematische Analyse der komplexe Sequenzierungsdaten notwendig. Der Umfang der Personalkosten im TV1 sowohl für die gastroenterologischen (AP5, PD Dr. F. Frost und Prof. M. M. Lerch) als auch gynäkologischen Projektteile (AP4, Prof. M. Zygmunt) betrug 281.157,76 €. Für Sequenzierungsleistungen (V1/V2 16S rRNA-Gensequenzierungen, Full-length 16S rRNA-Gensequenzierungen und metagenomische Sequenzierungen) wurden 7.108,60 € aufgewendet.

8. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die durchgeführten Forschungsarbeiten im Arbeitspaket 5 sowie die dafür aufgewandten Ressourcen waren notwendig und angemessen, da sie der im Projektantrag formulierten Planung entsprachen und alle wesentlichen im Arbeitsplan formulierten Aufgaben erfolgreich bearbeitet wurden. Es waren keine zusätzlichen Ressourcen für das Projekt notwendig.

9. Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Die primäre Verwertung der Ergebnisse aus dem vorliegenden Projekt ist wissenschaftlicher Natur. Die Ergebnisse weißen in Summe auf das mögliche Potential antimikrobieller Beschichtungen für bei der Drainage von (peri-) pankreatischen Flüssigkeitsverhalten und Nekrosen eingesetzten Stents hin. Es gibt bislang auf dem Markt keine Stentsysteme mit antimikrobieller Beschichtung welche durch Modulation des Stentbiofilms Einfluss auf den Therapie- und Krankheitsverlauf nehmen. Die Entwicklung eines solchen Systems böte daher einen potentiellen funktionalen Vorteil gegenüber bisher bestehenden Produkten. Die tatsächliche Überlegenheit des noch zu entwickelnden Produkts gegenüber bereits vorhandenen Stentsystemen muss allerdings im Rahmen weiterführender Studie im klinischen Alltag noch bewiesen werden.

10. Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Im Bezug auf die Fragestellung des Projekts ist im Rahmen des Vorhabens kein wesentlicher Fortschritt in diesem Gebiet von anderen Stellen publiziert worden. Insbesondere gibt es weiterhin kein Markt-verfügbares Drainagesystem mit einer antimikrobiellen Beschichtung.

11. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse

Publikationen im Berichtszeitraum

Referierte Veröffentlichungen

- [1] **Glaubitz, Juliane; Wilden, Anika; Frost, Fabian; ...; Lerch, Markus M.; ...; et al.** (2023). Activated regulatory T-cells promote duodenal bacterial translocation into necrotic areas in severe acute pancreatitis. In *Gut*. DOI: 10.1136/gutjnl-2022-327448. IF 31.793 (2021)

- [2] **Frost, Fabian**; Schlesinger, Laura.; Wiese Mats; ...; **Lerch, Markus M.** et al. (2022). Infection of (Peri-) Pancreatic Necrosis Is Associated with Increased Rates of Adverse Events during Endoscopic Drainage: A Retrospective Study. In *Journal of Clinical Medicine*. DOI: 10.3390/jcm11195851. **IF 4.964 (2021)**
- [3] Pietzner, Maik; Budde, Kathrin; Rühlemann, Malte; ...; **Lerch, Markus M.**; **Frost, Fabian**. (2021). Exocrine Pancreatic Function modulates Plasma Metabolites through changes in Gut Microbiota Composition. In *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. DOI: 10.1210/clinem/dgaa961. **IF 6.134**
- [4] **Frost, Fabian**; Kacprowski, Tim; Rühlemann, Malte; ...; **Lerch, Markus M.** Long-term instability of the intestinal microbiome is associated with metabolic liver disease, low microbiota diversity, diabetes mellitus and impaired exocrine pancreatic function. (2021). In: *Gut* 70:522-530. DOI: 10.1136/gutjnl-2020-322753. **IF 31.793**
- [5] **Frost, Fabian**; Kacprowski, Tim; Rühlemann, Malte; ...; **Lerch, Markus M.** (2021): Carrying asymptomatic gallstones is not associated with changes in intestinal microbiota composition and diversity but cholecystectomy with significant dysbiosis. In *Scientific reports*. DOI: 10.1038/s41598-021-86247-6. **IF 4.996**

Nichtreferierte Veröffentlichungen/Tagungsbeiträge

- [1] **Frost, Fabian**; Weiss, Frank-U.; **Lerch, Markus M.** (2022). The role of the microbiome in diseases of the pancreas. DOI: 10.1007/s00108-022-01276-1
- [2] **Frost, Fabian & Lerch, Markus M.** Pankreas und Mikrobiom - Erkenntnisse für die Praxis. *Zeitschrift für Gastroenterologie* (2021).
- [3] Wiese, Mats; Urban, Steffi; von Rheinbaben, Sabrina, ..., **Frost, Fabian**; ...; **Lerch, Markus M.** et al. September 13th - 18th. Viszeralmedizin (2021): Entwicklung eines prädiktiven Modells zur frühzeitigen Detektion der infizierten Pankreasnekrose bei akuter Pankreatitis.
- [4] **Glaubitz, Juliane**; Wilden, Anika; Weiss, Frank U.; ...; **Frost, Fabian**; ...; **Lerch, Markus M.** et al. June 9th - 11th. 53rd meeting of the European Pancreatic Club (2021). The way to infected necrosis during severe acute pancreatitis: How regulatory T-cells impact on the intestinal barrier function.

Abgeschlossene studentische Arbeiten, Doktorarbeiten und Habilitationen

- [1] **Frost, Fabian**. (2021). Die Bedeutung von gastrointestinalen und metabolischen Erkrankungen für die Komposition und Stabilität der Darmmikrobiota. **Habilitationsschrift**. Universitätsmedizin Greifswald.
- [2] **Juliane, Glaubitz** (2021). Untersuchungen zur suppressiven Wirkung regulatorischer T-Zellen auf den Verlauf der Pankreatitis im Mausmodell. **Promotionsschrift**. Universitätsmedizin Greifswald.

12. Anhang zu Punkt 6 – Ausführliche Darstellung der wissenschaftlich-technischen Ergebnisse und anderer wesentlicher Ereignisse

AP 5 Applikationsbereich Gastroenterologie

Aufgabenstellung

Pankreatische und peripankreatische Verhalte umfassen akute Nekroseverhalte (acute necrotic collections, ANC), akute peripankreatische Flüssigkeitsverhalte (acute peripancreatic fluid collections, APFC), Pseudozysten und abgekapselte Nekrosen (walled-off necrosis, WON). Typische Komplikationen durch lokale Verdrängungseffekte auf Nachbarstrukturen sind Cholestase, Fistelbildung, Magenausgangs- oder Darmstenose und (Analgetika-resistente) Schmerzen. Darüber hinaus kann es jederzeit zur bakteriellen Superinfektion der Verhalte und ggf. einer Sepsis kommen. Tritt eine der genannten Komplikationen auf, so ist in der Regel die Entlastung bzw. Drainage des Verhalts indiziert. Dies wird in erster Linie durch die Implantation von Plastik- oder verschiedenen Typen von Metallstents erreicht. Typische Komplikationen der Stentimplantation umfassen die Stentdislokation, Stentobstruktion sowie akute oder verzögerte Blutungen, Superinfektion des Verhalts oder das „buried LAMS syndrome“. Darüber hinaus gibt es Fälle bei denen die Drainage nur partiell gelingt und Rezidiveingriffe erforderlich werden. Die Gründe für das Auftreten von Komplikationen während der Drainagetherapie von (peri-) pankreatischen Flüssigkeitsverhalten und Nekrosen sind nur unzureichend erforscht. Es ist wahrscheinlich, dass die Zusammensetzung der Verhalte und die mikrobielle Komposition (sog. Mikrobiom) maßgebend das Risiko für das Auftreten von Therapie-assoziierten Komplikationen beeinflussen kann. Hauptziel der Analysen im TV1 AP 5 Applikationsbereich Gastroenterologie war die Erforschung der biochemischen, morphologischen und mikrobiellen Faktoren die mit dem Erfolg oder Misserfolg einer Stenttherapie assoziiert sind, um die Datengrundlage für eine konzeptionelle Verbesserung der Stentsysteme zu schaffen

AP 5.1 Biochemische, bakteriologische und molekularbiologische Analysen von Stents

Im vorliegenden Arbeitspaket wurde die Komposition des Biofilms bezüglich der mikrobiellen Zusammensetzung (Mikrobiom) sowie antimikrobieller Faktoren (z. B. antimikrobielle Peptide und Proteine) untersucht und der Zusammenhang dieser zum Stentmaterial (Metall- vs. Plastikstent) und Oberflächeneigenschaften analysiert. Ziel war es die Frage zu untersuchen, ob das Material und die Geometrie des Stents einen Einfluss auf die Zusammensetzung des Stentmikrobioms haben.

Zunächst wurde untersucht, ob die Lokalisation der Probenentnahme (Innen- oder Außenseite des Stents) die Zusammensetzung des Stentmikrobioms beeinflusst. **Abb. 1** zeigt im Ergebnis, dass die Lokalisation der Probe auf dem Stent keinen wesentlichen Einfluss auf die Zusammensetzung des Stentmikrobioms hat. Dies zeigt, dass die Besiedlung des Stents durch das Nekrosemikrobiom homogen erfolgt. Die Zusammensetzung des Stentmikrobioms mit einer hohen Abundanz von *Enterococcus* sowie Gram-negativen Pathogenen wie *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella* und anderen *Enterobacteriaceae* dabei ähnlich wie im Nekrosemikrobiom bei akuten Pankreatitispatienten oder im Mikrobiom von Personen mit reduzierter exokriner Pankreasfunktion (*Frost et al., 2021; Frost et al., 2022; Glaubitz et al., 2023*).

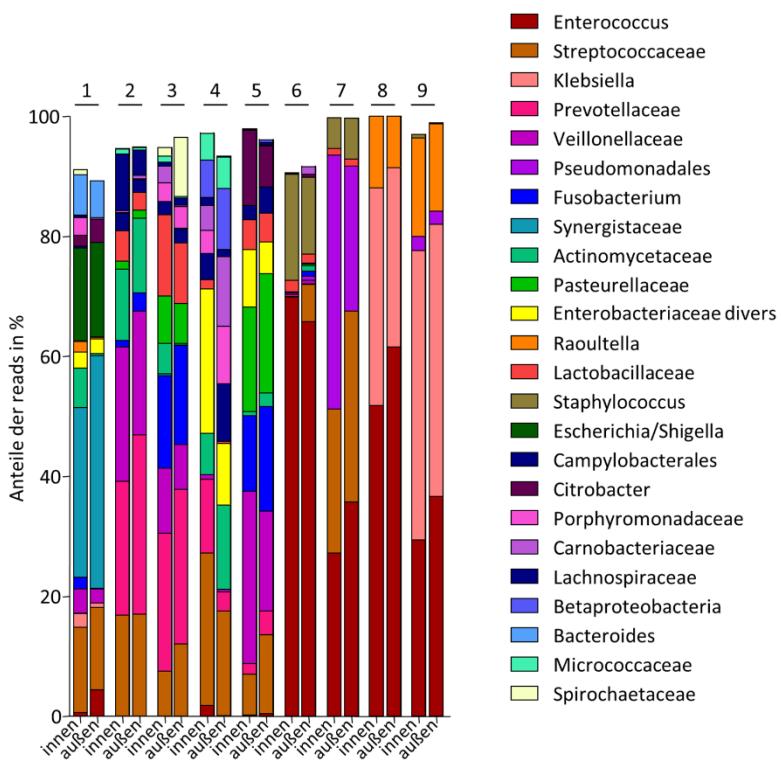


Abb. 1: Analyse der mikrobiellen Stentbesiedlung. Die geschichteten Barplots zeigen die Zusammensetzung des Mikrobioms auf der Innen- und Außenseite der Stentssysteme.

Als nächstes wurde das Stentmikrobiom im Hinblick auf das Material untersucht. Insgesamt wurden 29 Metallstents und 15 Plastikstents bezüglich ihrer Mikrobiomkomposition analysiert. Es zeigte sich kein wesentlicher Unterschied in der Zusammensetzung des Stentmikrobioms zwischen Metall- und Plastikstents (**Abb. 2A**). Die mikrobielle Diversität war in beiden Systemen ähnlich (**Abb. 2B**). Lediglich bei genauerer Betrachtung der Einzelorganismen zeigte sich eine höhere relative Abundanz des Gram-negativen opportunistischen Pathogens *Escherichia* auf den Plastikstents (**Abb. 3**). Die anderen häufigen opportunistischen Pathogene *Streptococcus*,

Enterococcus oder *Klebsiella* sowie Anaerobier wie *Veillonella* oder *Prevotella* zeigten eine ähnliche Häufigkeitsverteilung bei Plastik- und Metallstents. Alle genannten Bakterien sind typische Vertreter aus dem Darmmikrobiom, die bei Patienten mit Pankreatitis häufig in höherer Abundanz zu finden sind (Frost et al., 2020; Frost et al., 2022).

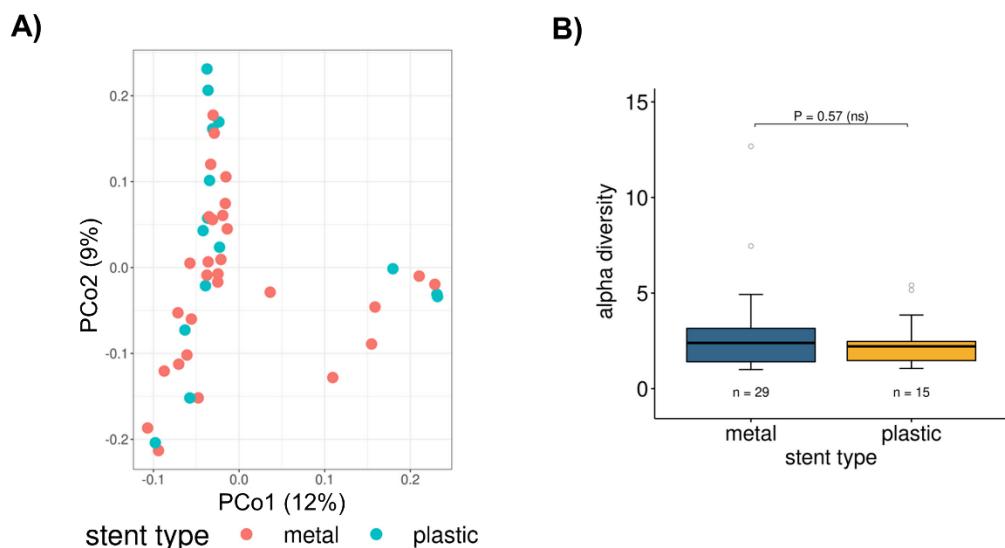


Abb. 2. Analyse des Stentmikrobioms nach Stentmaterial. **(A)** Dargestellt sind die ersten beiden Hauptkoordinaten (PCo1 und PCo2) aus einer Hauptkoordinatenanalyse basierend auf den Stentmikrobiomen von 29 Metallstents (rot, „metal“) und 15 Plastikstents (blau, „plastic“). **(B)** Der Boxplot bildet die Verteilung der mikrobiellen Alphadiversität der Stentmikrobiome im Vergleich von Metall- und Plastikstents ab. Es findet sich kein signifikanter Unterschied.

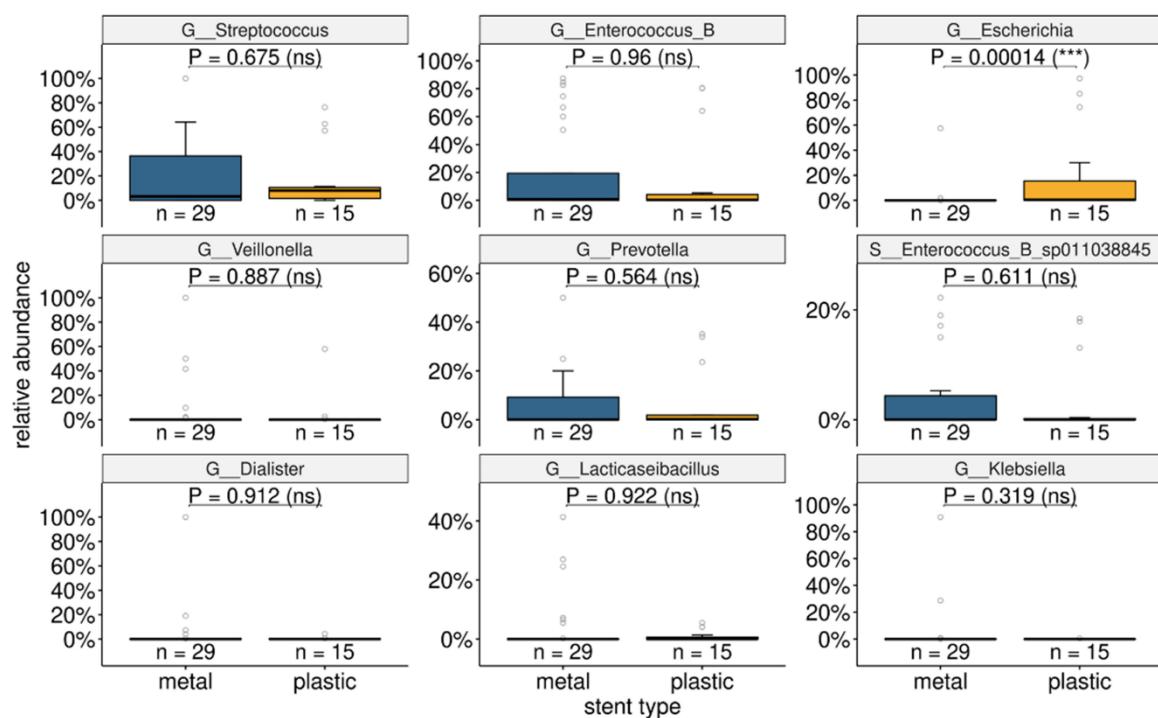


Abb. 3. Vergleich der häufigsten Bakterien im Stentmikrobiom von Metall- und Plastikstents.

Dargestellt sind Boxplots der 9 häufigsten Mikroben im Vergleich von Metall- und Plastikstents. Ein signifikanter Unterschied lässt sich nur für *Escherichia* mit höherer Abundanz im Plastikstentmikrobiom nachweisen. Die übrigen Bakterien zeigen eine ähnliche Verteilung in beiden Gruppen. * kennzeichnet ein signifikantes Ergebnis ($p<0.05$).

Des Weiteren wurde die Frage untersucht, ob sich die Wirtsreaktion im Hinblick auf das mikrobielle Milieu auf der Stentoberfläche von der Nekrosehöhle unterscheidet. Hierzu wurden die antimikrobiellen Faktoren Cathelicidin (CAMP), (Ahuja et al. 2017) und Glycoprotein-2 (GP2) in der Nekrose und auf der Stentoberfläche bestimmt und miteinander verglichen. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der Konzentration von CAMP und GP2 (Abb. 4). Somit deutet auch dieses Ergebnis daraufhin, dass auf der Stentoberfläche die gleichen mikrobiellen (und antimikrobiellen) Prozesse wie in der Nekrosehöhle selbst ablaufen. Auch im Vergleich der Konzentration antimikrobieller Peptide und Proteine von Plastik- und Metallstents ließ sich bei insgesamt hoher Streuung kein signifikanter Unterschied in der Konzentration von GP und CAMP aufzeigen (Tab. 1). In der Analyse des Stentmikrobioms mit den klinischen Verläufen konnte die bereits aus den Analysen des Nekrosemikrobioms im FV11 bekannte Assoziation zwischen der Abundanz von *Enterococcus* (Glaubitz et al., 2023) und der stationären Aufenthaltsdauer repliziert werden ($r=0.60$, $p=0.002$). Eine stark positive Assoziation zeigte sich ebenfalls für die Summe der Gentamicin-sensiblen Erreger ($r=0.68$, $p<0.001$). Zusätzliche zeigte sich eine negative Korrelation der stationären Aufenthaltsdauer mit der Abundanz des obligaten Anärobiers *Prevotella* ($r=-0.43$, $p=0.040$).

In Zusammenschau der Analysen aus dem AP 5.1 zeigt sich, dass Plastik- und Metallstents trotz unterschiedlicher Geometrie und Materialzusammensetzung ein ähnliches mikrobielles Milieu aufweisen. Die mikrobielle Besiedlung auf dem Stent (Außen- oder Innenseite) ist dabei sehr homogen.

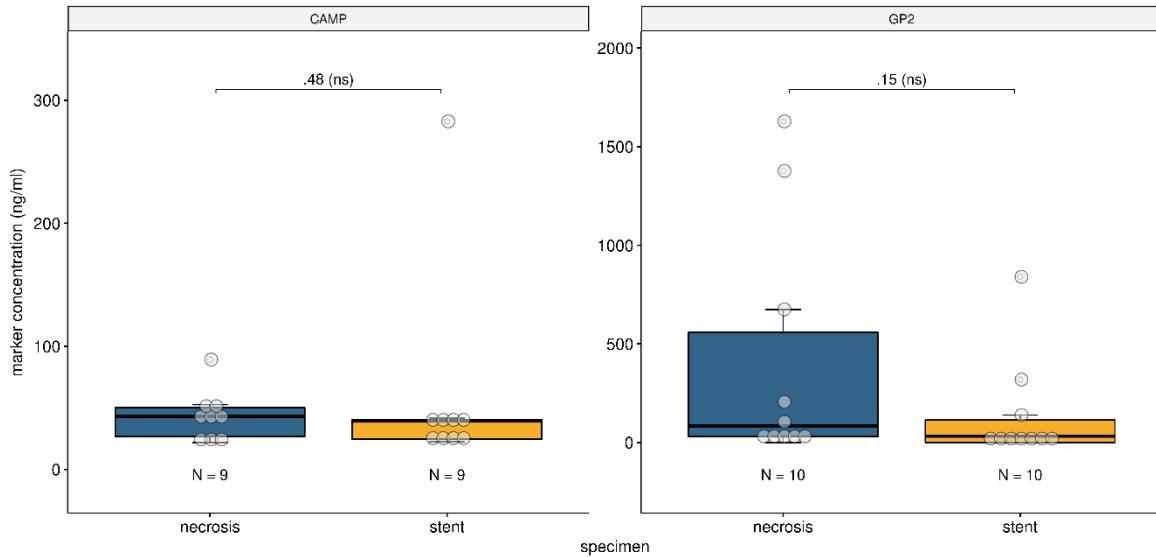


Abb. 4: Antimikrobielle Wirtsfaktoren. Abgebildet sind Boxplots die die Konzentration der antimikrobiellen Wirtsfaktoren Cathelicidin (CAMP) und Glycoprotein-2 (GP2) in der Nekrose bzw. den zugehörigen Stents aus der Drainagetherapie zeigen. Statistik: Gepaarte t-test.

Tab. 1. Vergleich der Konzentration antimikrobieller Peptide und Proteine von Plastik- und Metallstents

| | Metallstents | Plastikstents | p-value |
|--------------|---------------|-------------------|---------|
| GP2 (ng/ml) | 12 (0 – 89,5) | 19.5 (0 – 439.5) | 0.928 |
| CAMP (ng/ml) | 40 (32 – 111) | 25.5 (11.5 – 158) | 0.349 |

Daten sind dargestellt als Median (Interquartilsabstand). P-Werte wurden mittels Mann-Whitney-U-Test berechnet. GP2: Glycoprotein-2. CAMP: Cathelicidin antimicrobial peptide.

AP 5.2 Untersuchung der systemischen Immunantwort bei Patienten mit Stentdrainage von Pankreaspseudozysten/Pankreasnekrosen

Die zugrunde liegende Hypothese des AP 5.2 war, dass vor allem die bakteriell getriggerte Entzündungsreaktion den Haupttreiber von Komplikationen wie Arrosionsblutungen aber auch Stentdislokationen und Stentobstruktionen darstellt. Im Zuge des AP 5.2 wurden daher sequentiell Serumproben von Patienten im Rahmen einer Drainagetherapie gesammelt und der Entzündungsverlauf mit klinischen Ereignissen korreliert. Ziel war die Identifikation von inflammatorischen Biomarkern für das Auftreten der Komplikationen im Rahmen der Stenttherapie. Hierfür wurden die Konzentrationen der proinflammatorischen Zytokine IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12p70 und TNF-alpha sowie des antiinflammatorischen Zytokins IL-10 bestimmt. **Abb. 5** zeigt, dass häufig der Zeitpunkt der stärksten systemischen Inflammation bzw. kurz danach mit dem Auftreten von Komplikationen während der Stenttherapie vergesellschaftet ist. Außerdem zeigt auch ein fehlender Abfall der systemischen Entzündungsreaktion nach Drainageanlage das Auftreten von Komplikationen an. Dies bezog sich nicht nur auf Blutungsergebnisse, sondern insbesondere auch auf Stentdislokationen oder einen Fall mit Stentobstruktion. Somit kann das Monitoring des Immun- bzw. Inflammationsstatus das (drohende) Versagen einer Stenttherapie anzeigen.

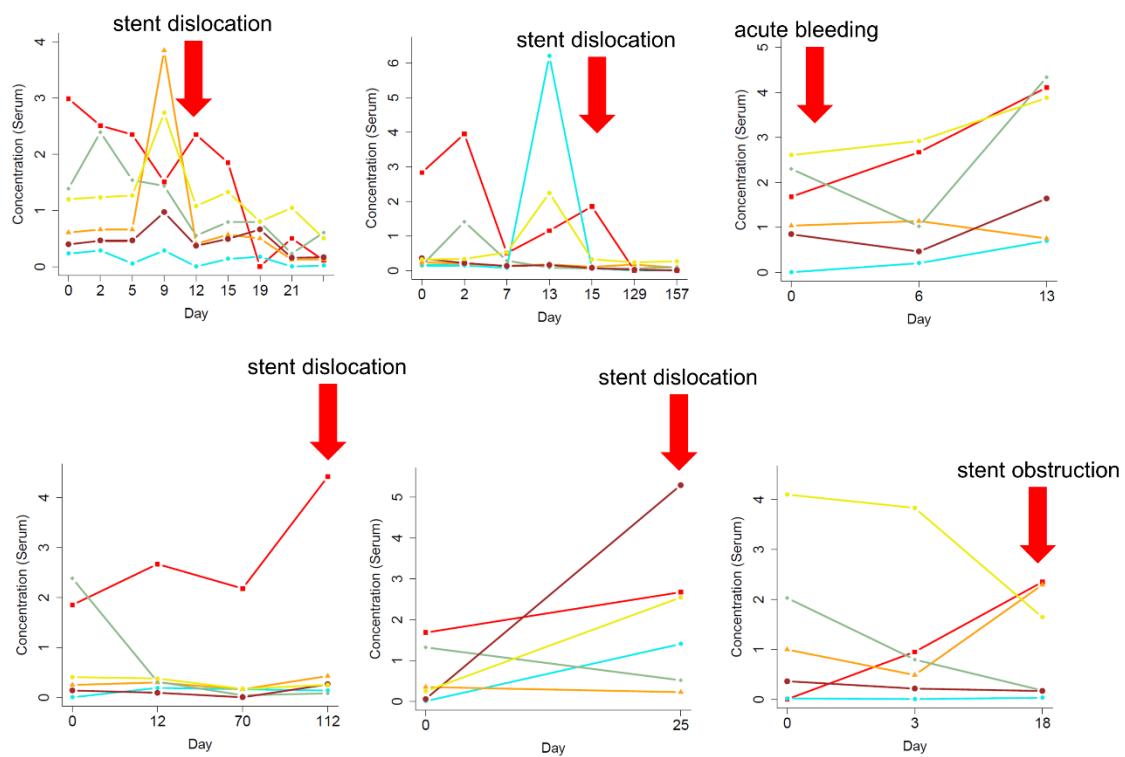
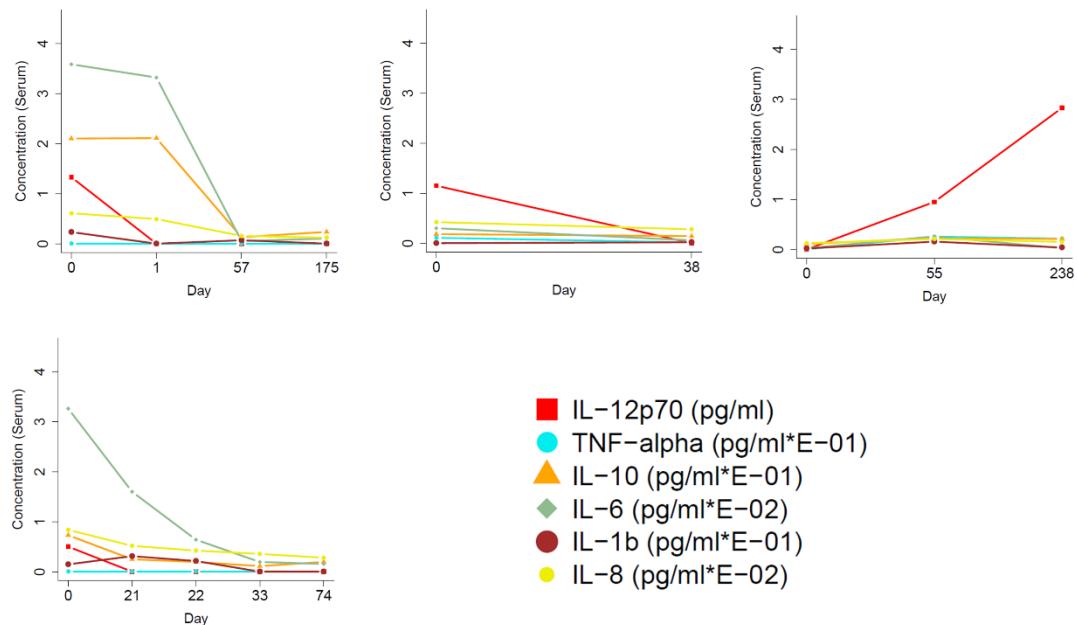
A

B


Abb. 5. Zytokinverlauf während der Drainagetherapie von pankreatischen Flüssigkeitsverhalten und Nekrosen. (A) Fälle mit Komplikationen. (B) Fälle ohne Komplikationen.

AP 5.3 Untersuchungen zur Degradation von explantierten Stents

Innerhalb dieses Arbeitspaketes wurde der Materialverschleiß der Stents und das mikrobielle Besiedlungsmuster mittels rasterelektronenmikroskopischer (REM) Aufnahmen untersucht (Khamov et al., 2020). Es wurden insgesamt 12 Metallstents und 5 Plastikstents untersucht. Generell zeigten sämtliche Explantate eindeutige Verschleißerscheinungen. Exemplarische REM-Fotografien sind in **Abb. 6** dargestellt. Bei den Plastikstents ließen sich häufig Materialrisse in der Oberfläche und analog bei den Metallstents in der Kunststoffbeschichtung finden. Nekrosematerial war sowohl auf den Plastik- und Metallstents regelhaft anzutreffen. Die Fälle mit einer signifikanten Superinfektion zeigten dabei einen ausgeprägteren mikrobiellen Biofilm mit einer stärkeren Abnutzung der Beschichtung auf den Metallstents und einer gehäuften Okklusion der Perforation an den distalen Enden der Plastik(pigtail)stents. Insgesamt unterstützen die Beobachtungen im AP 5.3 die bisherigen Annahmen, dass insbesondere die (übermäßige) bakterielle Besiedlung den Materialverschleiss und damit das Auftreten von unerwünschten Ereignissen während der Drainagetherapie von peripankreatischen Nekrosen triggert (Frost et al., 2022).

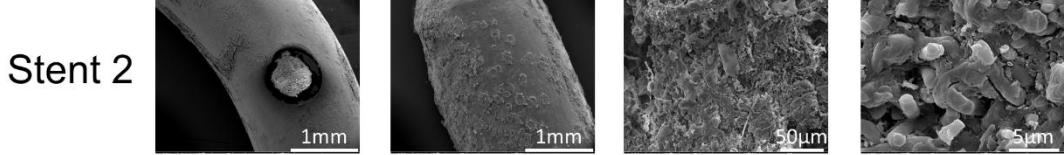
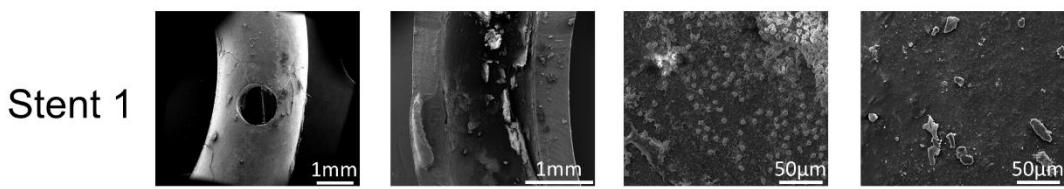
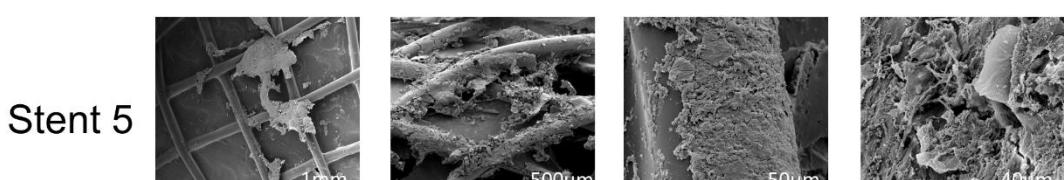
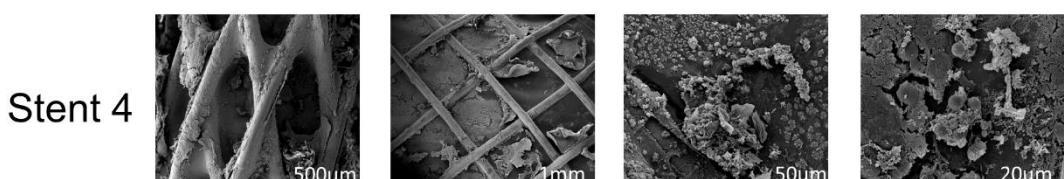
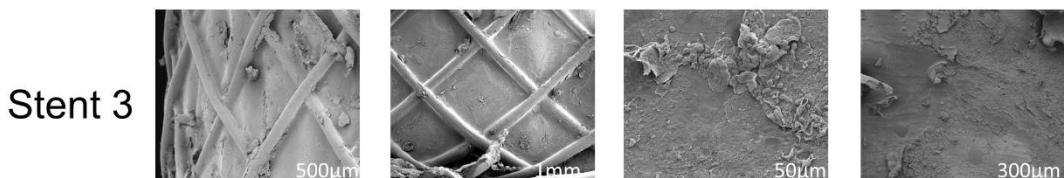
A)

B)


Abb. 6. Analyse von Stentoberflächen. Dargestellt sind rasterelektronenmikroskopische (REM) Fotografien der Oberflächen von explantierten Stents. **(A)** Abbildungen von Plastikstents. Stent 1 stammt von einem Patienten mit niedriger mikrobieller Besiedlung, wohingegen Stent 2 von einem Patienten mit starker mikrobieller Besiedlung (Streptokokken-dominiert) stammt. **(B)** Abbildungen von Metallstents. Stent 3 wurde aus einem Patienten mit niedriger mikrobieller Besiedlung explantiert. Von Patienten mit hoher Erregerdichte des Stentmikrobioms stammen Stent 4 (Streptokokken-dominiert) und Stent 5 (Escherichia-dominiert). Explantate von Patienten mit signifikanter Superinfektion zeigen qualitativ stärkere Veränderungen am Stentgerüst und der Beschichtung. *Bildquelle: Zusammenarbeit mit dem IIB e. V. und IBMT.*

AP 5.4 Bestimmung von in vivo Degradationsfaktoren für Stentbeschichtungen

Das Ziel im AP 5.4 war die Identifizierung bakterieller Degradationsfaktoren sowie agglutinierender Faktoren die für das Versagen der Stenttherapie z. B. Stentobstruktion oder Stentdislokation verantwortlich sein könnten. Insbesondere die Bestimmung von bakteriellen Strukturkomponenten war hier von Interesse. μ -Computertomographieuntersuchungen (μ -CT, **Abb. 7**) zeigten, dass die Verteilung der Nekrose bzw. des Biofilms auf dem zur Drainage verwendeten Stent sowohl in luminaler als auch abluminaler Richtung ähnlich ist.

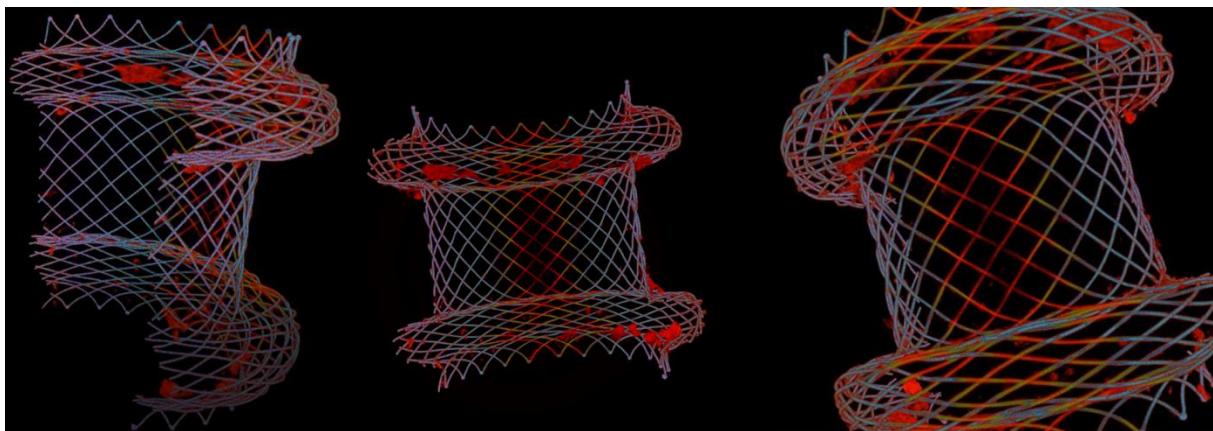


Abb. 7. μ -Computertomographie eines extrahierten HotAxios-Stents verwendet zur Drainage einer bakteriell superinfizierten Pankreasnekrose. Bildquelle: Zusammenarbeit mit dem IIB e. V.

Zur Detektion bakterieller Degradations- und Adhäsionsfaktoren wurde massenspektrometrisch das Proteom des Stentbiofilms bestimmt. Hierfür wurde in Vorversuchen zunächst geklärt, ob es einen Unterschied zwischen der Proteomstruktur auf der luminalen und abluminalen Seite des Stents gibt (**Abb. 8**). Hierbei zeigte sich, dass sich das Proteom auf einem Stent zwischen der luminalen und abluminalen Seite nicht relevant unterscheidet. Diese Analysen unterstützen auch die Beobachtung aus der Mikrobiomanalyse der Innen- und Außenseite der extrahierten Stentsysteme, bei der sich ebenfalls eine sehr ähnliche mikrobielle Struktur zeigte. Zusammenfassend zeigten die Ergebnisse, aus Mikrobiom-, Proteom- und μ -CT-Analyse, dass der Biofilm auf einen Stentsystem unabhängig von der Lokalisation eine ähnliche Struktur aufweist. Insofern wäre bei der Entwicklung von bspw. antimikrobiellen Beschichtungen für die Stents eine homogene Beschichtung über die Stentoberfläche bereits ausreichend.

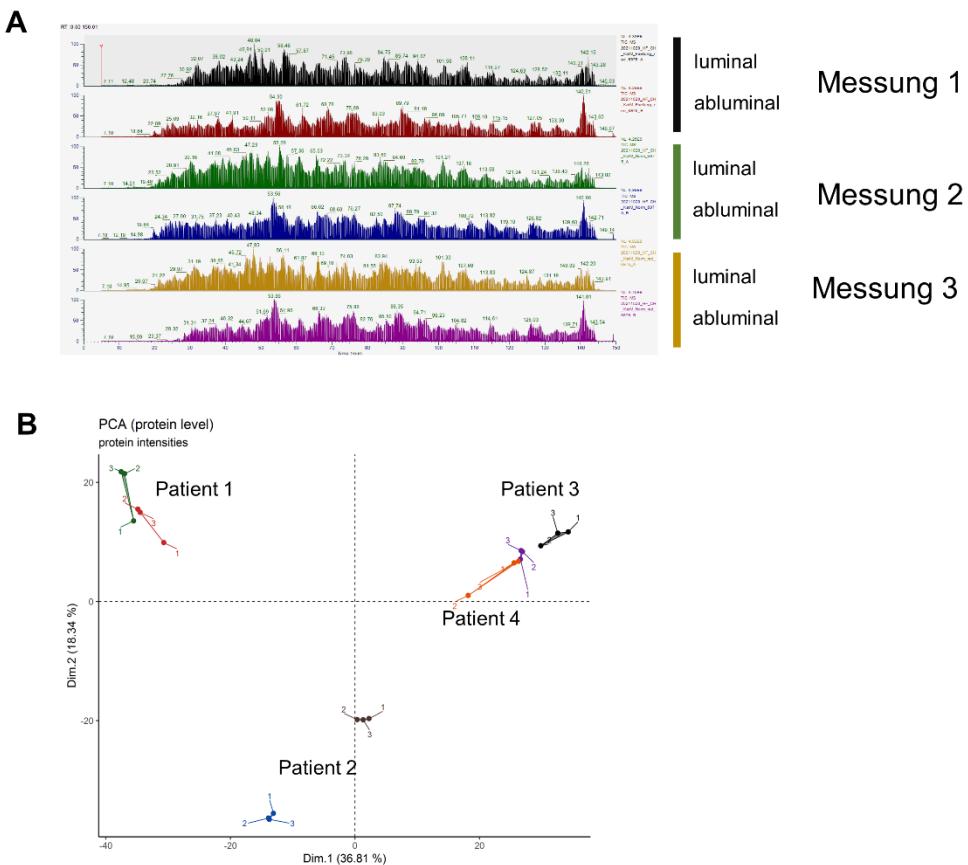


Abb. 8. Proteomanalyse des Stentbiofilms. **(A)** Dargestellt sind beispielhafte Spektren aus massenspektrometrischen Analysen des Stentbiofilms. Die erste und zweite Reihe, die dritte und vierte Reihe sowie die fünfte und sechste Reihe stellen die Spektren der jeweils luminalen und abluminalen Seite eines extrahierten Stentssystems dar. Die Spektren der luminalen und abluminalen Seite sind dabei jeweils ähnlich. **(B)** Dargestellt ist eine Hauptkomponentenanalyse basierend auf den Proteinintensitäten aus der massenspektrometrischen Analyse des Biofilms bzw. Nekrosematerials. Es zeigt sich auch hier, dass die lumineale und abluminale Seite des Stentsystems (siehe beispielsweise Patient 1 grün bzw. rote Punkte) eine sehr ähnliche Proteomstruktur aufweist, die sich von der Proteomstruktur aus den Biofilm/Nekrosematerial von anderen Patienten deutlich unterscheidet.

Zur genauen Differenzierung der Spektren aus der Proteomanalyse und zur Identifikation funktional relevanter Proteine erfolgte ein Abgleich mit der Datenbank UNIPEPT. Bei der Aufarbeitung der Daten aus dem Proteom zeigte sich, dass das Proteom zu einem hohen Grad (i. d. R. > 75 %) mit nicht-bakteriellem Material kontaminiert war. Dieses nicht-bakterielle Material bestand überwiegend aus den Überresten der nekrotischen Pankreaszellen und führte zu einer Überlagerung der Spektren aus der bakteriellen Proteinsignatur. Nach Herausrechnung des humanen Anteils mittels Datenbankabgleich zeigte sich, dass ungefähr 16 % der detektierter Peptide und Proteine eine Funktion in den Bereichen der bakteriellen Zellemembran, Zelloberfläche und extrazellulären Bereich aufwiesen (**Abb. 9**). Der Großteil des Gesamtproteoms war an Prozessen zur ATP- und Proteinbiosynthese beteiligt. Die einzelnen Prozessabläufe zur bakteriellen Biosynthese von bakteriellen Wandstrukturen wie bspw. Peptidoglykanen konnten nur mit deutlich eingeschränkter Auflösung in geringer Abundanz dargestellt werden. Ursächlich hierfür war die hohe Kontamination der Proben mit humanen Material und ein daraus resultierende erhebliche Unschärfe bei der Detektion nieder-abundanter Synthesewege.

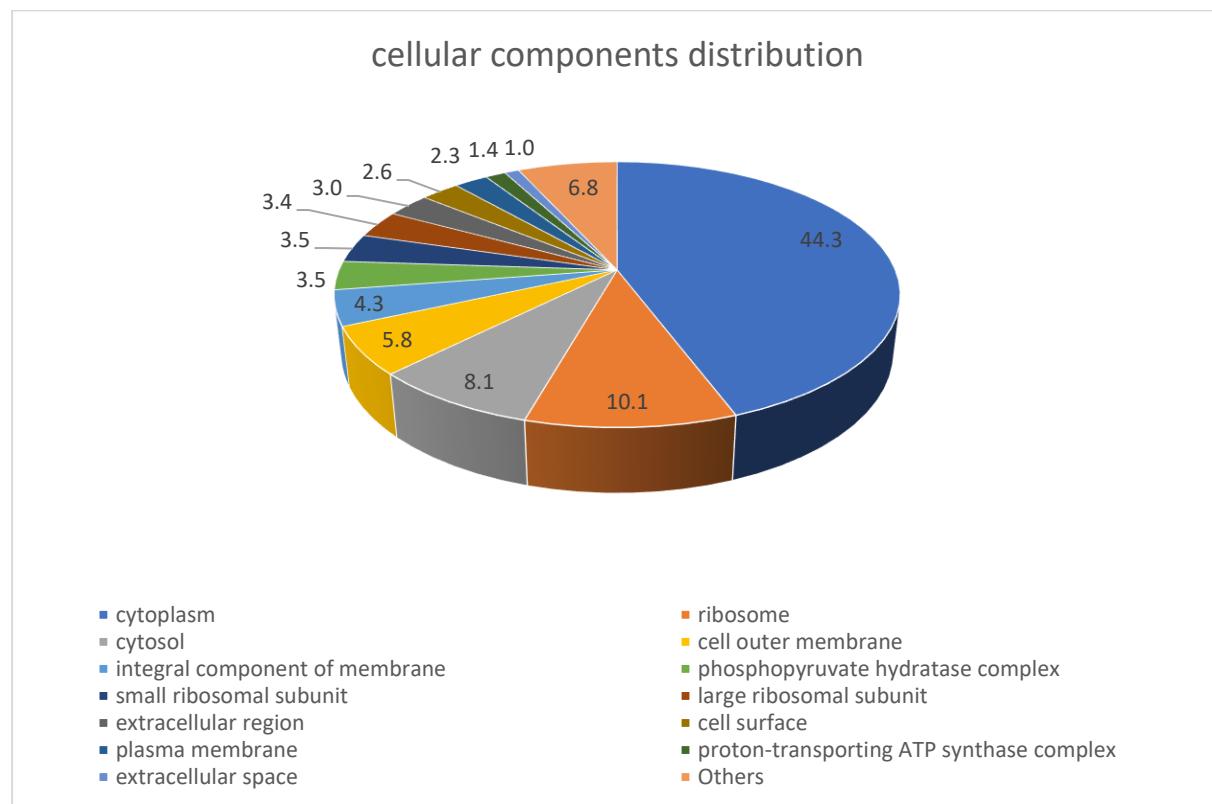


Abb. 9. Stuktur des Stentbiofilmproteoms. Dargestellt sind die Anteile (prozentual) der einzelnen Kompartimente am Gesamtproteom. Zum Bereich Zellmembran oder Zelloberfläche zugehörige bakterielle Proteine bzw. Peptide machen ungefähr 16 % des Gesamtspektrums aus.

Im nächsten Schritt wurde nun untersucht, ob die Proteomprofile der Stentbiofilme mit dem klinischen Verlauf bzw. der Krankhausaufenthaltsdauer korrelieren (**Abb. 10A**). Hier zeigte sich zwischen den Gruppen mit unterschiedlich langer Krankhausaufenthaltsdauer kein signifikanter Unterschied bezüglich des Stentproteoms. Auch zwischen Metall- und Plastikstents ließ sich in Bezug auf die Struktur des Stentproteoms kein signifikanter Unterschied zeigen (**Abb. 10B**). Dies unterstreicht die Ergebnisse aus dem AP 5.1 dass der Stentbiofilm bzw. das Stentmikrobiom keine relevanten Unterschiede im Bezug auf die Stentgeometrie oder das (wirkstofffreie) Stentmaterial (Metall vs. Plastik) aufweist.

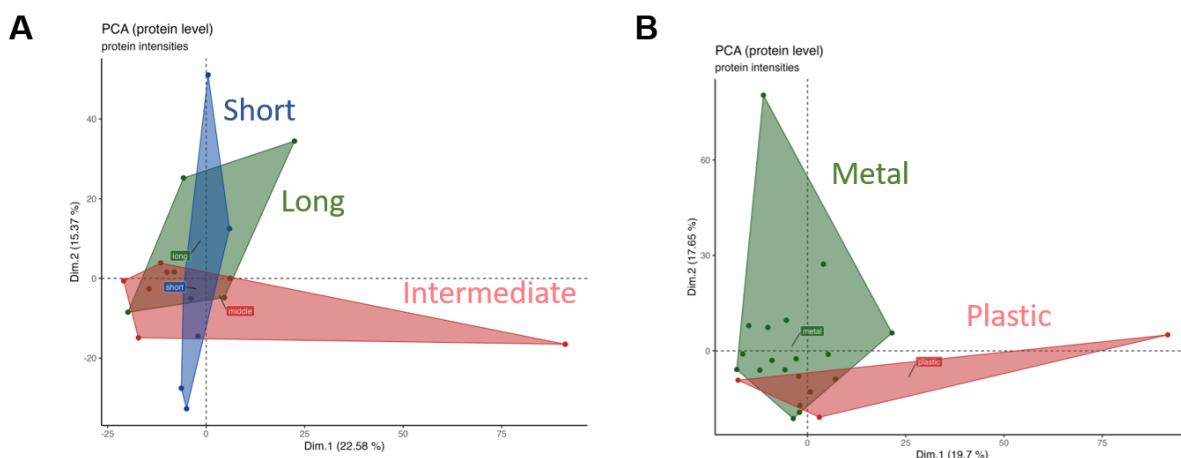


Abb. 10. Klinische Korrelationen des Stentbiofilms. **(A)** Dargestellt ist eine Hauptkomponentenanalyse. Jeder Datenpunkt entspricht einem Stentbiofilmproteinom ($n=19$). Die Farbe der Datenpunkt entspricht der stationären Liegedauer unterteilt in drei Terzile (blau: kurz/1. Terzil, rot: intermediär/2. Terzil und grün: lang/3. Terzil). **(B)** Dargestellt sind Stentproteinprofile in einer Hauptkomponentenanalyse. Stentproteinome von Metallstents sind grün und von Plastikstents rot gefärbt.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse aus dem AP 5.4 gemischte Ergebnisse. Einerseits verhinderte der hohe Anteil von humanen Material in den Proben eine detaillierte Analyse der bakteriellen Funktionskapazität und somit die spezifische Identifikation degradierender oder agglutinierender Faktoren. Auf der anderen Seite konnten wir zeigen, dass sich auch auf der Funktionsebene des Mikrobioms - dem Proteom - sich keine Unterschiede in Bezug auf die Lokalisation der Probenentnahme oder des Stentmaterial zeigen. Hieraus ergibt sich unter Berücksichtigung der bisherigen Ergebnisse die Hypothese, dass eine reine Veränderung der Geometrie oder der Einsatz eines anderen wirkstofffreien Stentmaterials keinen relevanten Einfluss auf die Struktur des Stentbiofilms haben dürfte. Insofern erscheint die Applikation einer wirkstoffhaltigen Beschichtung die höchsten Erfolgsaussichten zur Einflussnahme auf den klinischen Verlauf bei der Drainagetherapie von Pankreasnekrosen bzw. infizierten Flüssigkeitsverhalten bereitzuhalten. Diese Beschichtung könnte beispielsweise das Antibiotikum Gentamicin enthalten, welches eine bakterizide Wirkung gegen relevante Komponenten des

Stentbiofilms wie *Enterobacteriaceae* oder Enterokokken aufweist (Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie, 2019). Der Einsatz von Gentamicin als Beschichtung wurde bereits präklinisch für Gallengangs(plastik)stents erfolgreich getestet (Obermeier et al., 2019). Gentamicin wird darüber hinaus nur in geringem Ausmaß über den Darm resorbiert, wodurch systemische Nebenwirkungen wenig wahrscheinlich sind. Die Kombination aller Erreger des Stentbiofilms die durch eine lokale Antibiotikatherapie durch Gentamicin erfasst würden (*Escherichia*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, übrige *Enterobacteriaceae* sowie *Enterococcus*), zeigte eine starke positive Assoziation zur Krankenhaus-Verweildauer ($r=0.68$; $p<0.01^*$). Eine solche Beschichtung sollte möglichst homogen über die Stentoberfläche verteilt sein, da sich der Biofilm in seiner Zusammensetzung an den unterschiedlichen Positionen nicht relevant unterscheidet. Im Nachgang des RESPONSE-Projekts laufen gegenwärtig erste Vorversuche zur Applikation einer Gentamicin-Formulierung auf Plastik-Doppelpigtailstents sowie Metallstents in Kooperation mit dem IBMT, um die Adhäsion und das Freisetzungerverhalten zu untersuchen. Je nach Verlauf der Vorversuche ist eine klinische Pilotstudie zum Einsatz einer Gentamicin-Beschichtung angedacht, um *in vivo* zu überprüfen, ob das Ziel einer Nekrosemikrobiom-Beeinflussung auf diesem Wege erzielt werden kann.

Literatur

Ahuja M., Schwartz D.M., Tandon M., et al. Orai1-Mediated Antimicrobial Secretion from Pancreatic Acini Shapes the Gut Microbiome and Regulates Gut Innate Immunity, Cell Metabolism, Volume 25, Issue 3. (2017)

Frost, F.; Weiss, F.U.; Sendler, M.; et al The Gut Microbiome in Patients With Chronic Pancreatitis Is Characterized by Significant Dysbiosis and Overgrowth by Opportunistic Pathogens. Clin Transl Gastroenterol 11 (9), e00232. (2020)

Frost, F.; Kacprowski, T.; Rühlemann, M.; et al. Long-term instability of the intestinal microbiome is associated with metabolic liver disease, low microbiota diversity, diabetes mellitus and impaired exocrine pancreatic function. In: Gut 70:522-530. (2021)

Frost, F.; Schlesinger, L.; Wiese, M.L.; et al. Infection of (Peri-)Pancreatic Necrosis Is Associated with Increased Rates of Adverse Events during Endoscopic Drainage: A Retrospective Study. J. Clin. Med., 11, 5851. (2022)

Frost, F.; Weiss, F. U.; Lerch, M.M. The role of the microbiome in diseases of the pancreas. Der Internist 63 (4), 372-378. (2022)

Glaubitz J.; Wilden A.; Frost F.; et al Activated regulatory T-cells promote duodenal bacterial translocation into necrotic areas in severe acute pancreatitis. Gut. (2023)

Khaimov V.; Frost, F.; Lerch M. M.; et al. Systematic microscopic analysis of retrieved stents from a patient with pancreatic necrosis. Current Directions in Biomedical Engineering 6(3): 20203116 (2020)

Obermeier, A.; Würstle, S.; Tuebel, J.; et al. Novel antimicrobial coatings based on polylactide for plastic biliary stents to prevent post-endoscopic retrograde cholangiography cholangitis. J. Antimicrob. Chemother. 74, 1911–1920. (2019)

Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V. (PEG). S2k-Leitlinie Kalkulierte parenterale Initialtherapie bakterieller Erkrankungen bei Erwachsenen. (2019)



Schlussbericht

Transfervorhaben 1

„Stenttechnologien für innovative minimalinvasive Therapieverfahren“

Teilvorhaben

„Applikationsbereich Gynäkologie“

FKZ 03ZZ0931F

Förderzeitraum 1.1.2020 – 31.12.2022

im Unternehmen Region-Programm

„Zwanzig20 – Partnerschaft für Innovation“
des Bundesministeriums für Bildung und Forschung

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung



Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.

Verbundpartner:

| Antragsteller/Einrichtungen | | Ansprechpartner | Hauptarbeitspunkt |
|--|------------|--|-------------------|
| bess pro GmbH | bess | M. A. Eisenhut, T. Stein | AP 3 |
| CORTRONIK GmbH Rostock | COR | Dr. C. Momma | AP 1 |
| Institut für ImplantatTechnologie und Biomaterialien e.V. | IIB | Dr. S. Siewert, Prof. Dr. K.-P. Schmitz | AP 1, 2, 4, 6 |
| Medizinische Hochschule Hannover, Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde | HNO MHH | Prof. Dr. T. Lenarz, PD Dr. G. Paasche | AP 3 |
| Universitätsmedizin Greifswald | | | |
| Zentrum für Innere Medizin, Klinik und Poliklinik für Innere Medizin A | Gastro UMG | Prof. Dr. M. M. Lerch, Dr. F. Frost | AP 5 |
| Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe | Gyn UMG | Prof. Dr. M. Zygmunt | AP 4 |
| Universitätsmedizin Rostock | | | |
| Institut für Anatomie | ANAT UR | Prof. Dr. A. Wree, Dr. J. Keiler | AP 6 |
| Institut für Biomedizinische Technik | IBMT | Dr. K. Lebahn, Prof. Dr. N. Grabow | AP 1, 3, 5, 6 |
| Zentrum für Innere Medizin; Abt. Kardiologie | Kardio UR | Prof. Dr. A. Öner, Prof. Dr. H. Ince | AP 1 |
| Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde | UAK | Prof. Dr. R. Guthoff, Prof. Dr. O. Stachs | AP 2 |

Inhalt

| | |
|--|---|
| 1. Aufgabenstellung..... | 1 |
| 2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde..... | 1 |
| 3. Planung und Ablauf des Vorhabens | 1 |
| 4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde | 4 |
| 5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen..... | 5 |
| 6. Verwendung der Zuwendung und erzieltes Ergebnis..... | 5 |
| 7. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises | 5 |
| 8. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit..... | 6 |
| 9. Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans | 6 |
| 10. Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen..... | 6 |
| 11. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse | 6 |
| 12. Anhang zu Punkt 6 – Ausführliche Darstellung der wissenschaftlich-technischen Ergebnisse und anderer wesentlicher Ereignisse | 8 |

1. Aufgabenstellung

Aufbauend auf dem parallelaufenden Forschungsvorhaben 11 lag der Fokus von Transfervorhaben 1 auf der Produktisierung bzw. Zulassungsinitiative für einen Transfer der entwickelten Implantate in Richtung der klinischen Anwendung. Es galt eine Verstärkung der neuen Stentkonzepte für den Applikationsbereich Gynäkologie zur wissenschaftlichen Anschlussfähigkeit zu erzielen, welcher zukünftig mit neuen Industriepartnern in Produkte überführt werden kann.

Die Weiterentwicklung des Eileiter-Stents kann nicht nur dabei helfen, Frauen durch die Behandlung proximaler Tubenverschlüsse eine „natürliche“ Schwangerschaft zu ermöglichen, sondern kann auch über die therapeutische Funktion hinaus durch den Einsatz von Biosensoren eine nichtinvasive Diagnostik des sogenannten „*window of implantation*“ ermöglichen. Zusätzlich könnten wichtige Informationen zu eventuell koexistierenden fertilitätseinschränkenden Umständen gewonnen werden. Ein weiteres mögliches Anwendungsgebiet in der *Tuba uterina* stellt die Karzinomfrüherkennung dar. Für alle diese Applikationen sollten in diesem Teilprojekt (Gyn UMG) *in vitro* Methoden zur Einschätzung des biologischen Wirkungsspektrums des Stents und potenzieller Beschichtungen etabliert sowie Konzepte für die klinische Anwendung erarbeitet werden.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Die UMG konnte sich in den letzten Jahren immer wieder in verschiedenen Bereichen der Implantatforschung einbringen. Dazu gehören die Expertise im Bereich Kardiologie sowie die Arbeiten auf dem Gebiet der biomedizinischen Materialforschung im RESPONSE Konsortium - der Frauenklinik (Gyn UMG) zur Entwicklung eines Eileiterstents und der Gastrologie (Gastro UMG) zur Anwendung von Stents im Gastrointestinaltrakt.

Die Arbeitspakete AP 4.1 bis AP 4.4 des Teilvorhabens wurden durch die Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Universitätsmedizin Greifswald (Gyn UMG) bearbeitet. Die Arbeitsgruppe kann auf jahrelange Erfahrung im Bereich der Reproduktionsbiologie und ein gut ausgestattetes Labor zurückgreifen. Unterstützt wird diese Expertise durch nationale und internationale Kooperationspartner und die enge Zusammenarbeit mit den Projektpartnern aus Rostock-Warnemünde (IIB und IBMT). Technisch wurden die Arbeiten durch die Gewährung von Investitionsmaßnahmen für RESPONSE (Bioplex-System und Falloposkop) gewinnbringend vorangetrieben.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

2021 wurde Pandemie-bedingt ein Antrag auf Laufzeitverlängerung gestellt und die zeitliche Planung für TV1 angepasst. Die geplanten Arbeitspakete konnten erfolgreich bearbeitet werden. Der zeitliche Ablauf der Arbeitspakete ist im Folgenden dargestellt (Tab. 1).

Meilensteine im Berichtszeitraum

Der Beitrag der Gyn UMG zur Erreichung von Meilenstein 1 „Prototypisierung von Eileiter-Mikrostents“ wurde planmäßig erfüllt. Der Beitrag bestand in der Bereitstellung von Methoden für die *in vitro* Prüfung der biologischen Eigenschaften von neuen Materialien und Beschichtungen sowie erster Konzepte für die Integration von Biosensoren. Zu den etablierten *in vitro* Methoden gehören die Zellviabilitätsbestimmung (CTB Assay), Genexpressions- und Sektionsanalysen entzündungsfördernder Zytokine und schwangerschaftsregulierender Proteine und die Isolation von primären Eileiterepithelzellen. Diese Methoden ermöglichen eine umfassende Charakterisierung des Einflusses von Stentmaterialien und Beschichtungen auf reproduktionsrelevante Zelltypen. Für die Biosensorik wurden vielversprechende Kandidaten identifiziert und erste Konzepte zur minimalinvasiven Probengewinnung und geeignetem Probenmaterial erstellt.

Tab. 1: Balkenplan nach zeitlicher Anpassung der Planung und Laufzeitverlängerung

| | | 2020 | | | | | | | | | | | | 2021 | | | | | | | | | | | | 2022 | | | | | | | | | | | | |
|-------------|---|------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|--|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | |
| AP 4 | Applikationsbereich Gynäkologie | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AP 4.1 | Charakterisierung von Beschichtungen von Eileiter-Stents (Gyn UMG) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AP 4.2 | Entwicklung von Konzept und Design für einen Biosensor-Eileiter-Stent (Gyn UMG) | X | X | X | X | X | X | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AP 4.3 | Biomarker in der Karzinom-Früherkennung (Gyn UMG) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AP 4.4 | Rolle der chronischen Inflammation in der Eileiterpathologie (Gyn UMG) | | | | | | | X | X | X | X | X | X | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| MS1 | Prototypisierung von Eileiter-Mikrostents | | | | | | | | | X | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

In grau hinterlegt ist die ursprüngliche Planung zu sehen, in hellblau die Änderungen der Personenmonate und „x“ markiert Streichungen bzw. Verschiebungen.

4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Bei 25 % der Frauen im gebärfähigen Alter, die eine weibliche Sterilität aufweisen, liegt ein Verschluss in der *Tuba uterina* vor. Ein proximaler Tubenverschluss (PTO) tritt in 10–25 % der Fälle auf und hat häufig eine vorangegangene Entzündung als Ursache. Zur Beurteilung der Ausprägung eines proximalen Tubenverschlusses wird häufig eine Laparoskopie oder eine Chromopertubation durchgeführt. Um eine Schwangerschaft trotz PTO zu ermöglichen war bislang eine *in vitro* Fertilisation (IVF) die einzige klinisch praktikable Therapie. Die Einlage eines zu entwickelnden (Mikro-)Eileiter-Stents soll sowohl die Durchgängigkeit des Eileters und die Überwindung der äußeren Stenosierung (z. B. infolge von Fibrose) bewirken, als auch zur Wiederherstellung der Klappenfunktion beitragen. Die Verwendung eines (Mikro-)Stents zur Behandlung einer eileiterbedingten Sterilität soll nicht nur einen therapeutischen Vorteil liefern, sondern ebenfalls zu einer Reduktion der Rate der Tubengraviditäten (in bis zu 20–50 % der Fälle) führen. Darüber hinaus stellt die Entwicklung eines Eileiter-Stents einen neuen, innovativen Einsatzort für die Mikrostenttechnologie dar. Die Erweiterung des angedachten Einsatzspektrums des Eileiter-Stents um einen Biosensor macht ihn sowohl für diagnostische (*Window of Implantation*, Karzinomfrüherkennung) als auch therapeutische Zwecke interessant. Derzeit sind keine dafür geeigneten Instrumente auf dem Markt verfügbar.

- [1] Smith S, Pfeifer SM, Collins JA. Diagnosis and management of female infertility. *JAMA*. 2003;290(13):1767-1770.
- [2] Grant A. Infertility surgery of the oviduct. *Fertility and Sterility*. 1971;22, 496–503.
- [3] Novy MJ. Tubal surgery of IVF - making the best choice in the 1990s. *International journal of fertility and meno-pausal studies*. 1995;40(6):292–297.
- [4] Mekaru K, Yagi C, Asato K, Masamoto H, Sakumoto K, Aoki Y. Hysteroscopic tubal catheterization under laparoscopy for proximal tubal obstruction. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 2011;284(6):1573-1576
- [5] Hou, Hai Yan, et al. "Outcome of laparoscopy-guided hysteroscopic tubal catheterization for infertility due to proximal tubal obstruction." *Journal of minimally invasive gynecology*. 2014; 272-278.
- [6] Seyam EM, Hassan MM, Tawfeek Mohamed Sayed Gad M, Mahmoud HS, Ibrahim MG. Comparison of pregnancy outcome between ultrasound- guided tubal recanalization and office-based microhysteroscopic ostial dilatation in patients with proximal blocked tubes. *Int J Fertil Steril*. 2016;9(4):497-505.
- [7] www.fairview.org/patient-education/85509 (aufgerufen 22.03.2019)
- [8] www.cookmedical.com/products/wh_ftc900_webds (aufgerufen 22.03.2019)

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Es besteht eine enge Zusammenarbeit mit dem Institut für ImplantatTechnologie und Biomaterialien e.V. (iiB e.V., Rostock-Warnemünde) und dem Institut für Biomedizinische Technik (IBMT, Rostock-Warnemünde). Hier kam es zu einem regelmäßigen Austausch und gegenseitigen Besuchen in den jeweiligen Instituten. Darüber hinaus besteht eine enge Kooperation mit allen beteiligten Partnern der UMG und dem Institut für Anatomie der Universitätsmedizin Rostock. Die Zusammenarbeit mit Rostock-Warnemünde soll auch nach Projektende über das RESPONSE Konsortium hinaus fortbestehen und intensiviert werden.

6. Verwendung der Zuwendung und erzieltes Ergebnis

Ein wesentlicher Teil der Zuwendung wurde für Personalkosten verwendet. Die Ausgaben für Verbrauchsmaterial belaufen sich vor allem auf Kits und Reagenzien, die für die *in vitro* Methodenabstimmung und -durchführung benötigt wurden (Genexpressionsanalysen, Bioplex-Assay).

Im Abschnitt 12 (Anhang zu Punkt 6) werden die angestrebten und erreichten Ziele in den einzelnen Arbeitspaketen ausführlich dargestellt.

7. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Den größten Kostenpunkt machen die Personalkosten aus. Hier wurde eine wissenschaftliche Mitarbeiterin mit 65 % E13 für 7 Monate, eine wissenschaftliche Mitarbeiterin mit 100 % E13 für 6 Monate und ein wissenschaftlicher Mitarbeiter mit 100 % E14 für 11 Monate an der Universitätsmedizin Greifswald beschäftigt. An zweiter Stelle stehen die Ausgaben für Verbrauchsmaterialien. Die teuersten Positionen waren dabei Reagenzien für die Real-Time PCR (qPCR) zur Genexpressionsanalyse funktioneller und inflammatorischer Zytokine, sowie Bioplex-Kits zur Quantifizierung der Proteinsekretion durch verschiedene Zellen in Reaktion auf unterschiedliche Stentmaterialien und Beschichtungs-kandidaten.

Tab. 2: Wichtigste Positionen des Teilvorhabens.

| Nr. | Kostenart | Position | Kosten |
|-----|------------------------|--------------------------------------|--------------|
| 1 | 812 Personalkosten | 65-100 % E13/E14 | 141 135,96 € |
| 2 | 838 Verbrauchsmaterial | SYBR Green PCR Master Mix | 4 617,91 € |
| 3 | | High cap. cDNA rev.Trans.Kit | 2 927,54 € |
| 4 | | Bioplex-Kit (Procartaplex & Simplex) | 3 729,09 € |

8. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die geplanten Projektarbeiten waren mit einem hohen finanziellen Aufwand für personelle und sachliche Ressourcen verbunden. Die aufgewandten Ressourcen waren notwendig und angemessen, um die Aufgaben und Meilensteine des Projektantrages zu erfüllen.

9. Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Die in TV 1 erzielten Ergebnisse bieten breite wirtschaftliche Verwertungsmöglichkeiten und sind von großem Nutzen für eine zukünftige klinische Einführung eines Eileiter-Stents. Zusammen mit den Projektpartnern vom Institut für ImplantatTechnologie und Biomaterialien e.V. (iiB e.V., Rostock-Warnemünde) wird die aktive Zusammenarbeit fortgesetzt und die Weiterentwicklung des Eileiter-Stents vorangetrieben.

10. Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Vor und während der Durchführung des Vorhabens wurden regelmäßig fallbasierten Patentrecherchen und umfangreiche Literaturrecherchen in biomedizinisch relevanten Datenbanken durchgeführt. Bei diesen sowie beim wissenschaftlichen Austausch mit Fachkollegen auf Fachtagungen und Projekttreffen ergaben sich keine Hinweise auf die Bearbeitung der vorliegenden Aufgabenstellung in einem anderen Forschungsvorhaben.

11. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse

Publikationen im Berichtszeitraum

Referierte Veröffentlichungen

- [1] Dierke A, Kuske T, Frank H, Bohne E, Brandt-Wunderlich C, Knorre L, Stiehm M, Bock A, Grabow N, Wree A, Zygmunt M, Schmitz KP, Siewert S. Validation of Finite Element Analysis of a self-expanding polymeric microstent for treatment of Fallopian tube occlusions. Current Directions in Biomedical Engineering, vol 7, no. 2, 2021. doi: <https://doi.org/10.1515/cdbme-2021-2178>

Nichtreferierte Veröffentlichungen/Tagungsbeiträge

- [1] Normann N, et al. The Biodegradable Polymer PLLA L210 Offers a Safe and Suitable Material for Gynecological Applications (SRI Kongress 2023)

Buchbeiträge/Monographien

Keine

Abgeschlossene studentische Arbeiten, Doktorarbeiten und Habilitationen

Keine

Erteilte Schutzrechte

Keine

Erfindungen/Schutzrechtsanmeldungen

Keine

12. Anhang zu Punkt 6 – Ausführliche Darstellung der wissenschaftlich-technischen Ergebnisse und anderer wesentlicher Ereignisse

AP 4 Applikationsbereich Gynäkologie

AP 4.1 Charakterisierung von Beschichtungen von Eileiter-Stents und **AP 4.4** Rolle der chronischen Inflammation in der Eileiterpathologie
(Gyn UMG)

Ziel: Analyse der biologischen Eigenschaften von neuen Materialien und Beschichtungen in Ovidukt-Zellkultursystemen. Einschätzung des biologischen Wirkungsspektrums des Stents und Untersuchung der Wirkung eines beschichteten Stents auf die zellulären Komponenten der *Tuba uterina*.

Als Ausgangsmaterial für den Eileiter-Stent wurden zunächst drei verschiedene Polymere getestet. Dabei überzeugte PLLA L210 sowohl durch seine mechanischen als auch biologischen Eigenschaften und wurde für die weiteren Experimente verwendet.

Die Erstellung einer Liste mit potenziellen Beschichtungskandidaten erfolgte in Zusammenarbeit mit den Projektpartnern aus Rostock-Warnemünde (IBMT und IIB). Im Fokus stand dabei die Relevanz der Kandidaten für den gynäkologischen Applikationsbereich. Für eine mögliche Beschichtung wurden daher neben bekannten entzündungshemmenden und anti-fibrotischen Substanzen auch Zyklus-unterstützende und schwangerschaftsfördernde Faktoren, Zytokine und Hormone in Betracht gezogen (Tab. 2).

Tab. 2: Übersicht über potenzielle Beschichtungsmaterialien und deren biologische Wirkung.

| Beschichtungsmaterial | Begründung/Eigenschaft |
|-----------------------|------------------------|
| Heparin | anti-fibrotisch |
| Estrogen | immun-modulatorisch |
| TGF-β | anti-inflammatoryisch |
| Progesteron | immun-suppressiv |
| Gestagen | immun-modulatorisch |

Parallel wurden durch den Projektpartner in Rostock-Warnemünde (IBMT) verschiedene Beschichtungsverfahren entwickelt und getestet. Da besonders die *layer-by-layer*-Beschichtung (LbL) sehr zeitintensiv ist und es Pandemie-bedingt zu zeitlichen Verzögerungen kam, wurden vorerst nur Heparin-beschichtete Prüfkörper hergestellt. Heparin vereint dabei gleich mehrere positive Eigenschaften. Aufgrund seiner entzündungshemmenden und anti-fibrotischen Wirkung wird es in anderen medizinischen Bereichen

bereits eingesetzt. Darüber hinaus gibt es Hinweise auf einen zyklusunterstützenden Einfluss von Heparin.

Gegenüber der herkömmlichen Beschichtung bietet die *layer-by-layer*-Beschichtung den Vorteil, dass durch den mehrstufigen Beschichtungsprozess, eine kontinuierliche Wirkstofffreisetzung über einen längeren Zeitraum erreicht werden kann. In den *in vitro* Experimenten mit einer Eileiterepithelzelllinie (OE-E6/E7) wurde die biologische Wirkung von Heparinbeschichteten Prüfkörpern im Vergleich zu unbeschichteten Prüfkörpern und Heparin alleine untersucht. Die Beurteilung der Wirkung erfolgte durch Bestimmung der Zellviabilität sowie durch Analysen der Sekretion (Bioplex-System) und Expression (qPCR) pro- und anti-inflammatorischer Zytokine (Tab. 3).

Der Heparin-beschichtete Prüfkörper, nicht aber der Prüfkörper mit Zugabe von Heparin, zeigte eine deutliche Reduktion der Zellviabilität, was auf eine verminderte Zellproliferation hindeuten kann. Der Grenzwert für eine zytotoxische Wirkung von 70% wurde jedoch nicht unterschritten. Die Heparinbeschichtung (*layer-by-layer*-Verfahren) zeigte keine signifikante Wirkung auf IL-6, TGF β und OVGP1. Tendenziell sieht man jedoch eine Abnahme des pro-inflammatorischen Zytokins IL-6 durch den Prüfkörper sowie eine leichte Zunahme des anti-inflammatorischen Zytokins TGF β durch Heparin.

Tab. 3: Kandidaten für die Genexpressionsanalyse und Zytokinmessung von Ovidkutepithelzellen.

| Kandidat | Gruppe | Genexpression | Bioplex-Assay |
|---------------|----------------------|---------------|---------------|
| IL-6 | Pro-inflammatorisch | X | X |
| IL-1 β | Pro-inflammatorisch | X | X |
| TNF α | Pro-inflammatorisch | X | X |
| GM-CSF | Pro-inflammatorisch | X | X |
| MCP-1 | Pro-inflammatorisch | X | X |
| RANTES | Pro-inflammatorisch | | X |
| MIP-1 β | Pro-inflammatorisch | | X |
| IL-13 | Anti-inflammatorisch | | X |
| IL-10 | Anti-inflammatorisch | | X |
| TGF β | Anti-inflammatorisch | X | |
| LIF | Funktionell | X | X |
| Elafin | Funktionell | X | X |
| OVGP1 | Funktionell | X | |

Die anti-inflammatorische Wirkung des beschichteten Eileiter-Stents wurde neben dem Tubenepithel auch auf den Trophoblast untersucht. Hierzu wurde eine Trophoblastenzelllinie (HTR-8/SVneo) auf Heparin-beschichteten und unbeschichteten Prüfkörpern sowie in Anwesenheit einer der Beschichtung entsprechenden Konzentration an Heparin kultiviert. Auch hier zeigt sich eine entzündungshemmende Wirkung von Heparin anhand von IL-6, IL-8 und IL-1 β .

AP 4.2 Entwicklung von Konzept und Design für einen Biosensor-Eileiter-Stent und AP 4.3

Biomarker in der Karzinom-Früherkennung

(Gyn UMG)

Ziel: Entwicklung eines Konzeptes eines innovativen Biosensors für den Einsatz in der *Tuba uterina*. Die spezifischen Biomarker der ovariellen Karzinogenese werden sowohl *in vitro* als auch *in vivo* (Tierexperiment) getestet.

Bekannte, aber auch neue potenzielle Biomarker für die Echtzeitbeurteilung des Fertilitätszustands und der Karzinomfrüherkennung wurden zusammengetragen und mit den Projektpartnern diskutiert (Tab. 4). Zudem wurde die Literaturrecherche zu den folgenden Punkten stets aktualisiert: (1) geeignete Kandidaten, (2) bereits bekannte Biomarker, (3) klinische Studien, (4) ähnliche (ggf. bereits erhältliche) Produkte und (5) Patente.

Tab. 4: Übersicht über bekannte und neue Biomarker und deren Anwendungsgebiet.

| Einsatzgebiet | Biomarker |
|---|---|
| Endometriale Rezeptivität | Prolaktin IGF-BP1 Integrine Matrix-Metalloproteininasen (MMP-7, MMP-11) Leukämiehemmender Faktor (LIF) miRNAs Oxytocin Estradiol |
| Karzinomfrüherkennung | betaHCG CA125 (Eierstockkrebs) Inhibin A & B (Eierstockkrebs) |
| Weitere Pathologien der weiblichen Fortpflanzungsorgane | miRNAs Estradiol (Endometriose) PGF2a (Endometritis) AMH (PCOS) Mikrobiom |

Exosomen

Die Methodenabstabilisierung für die *in vitro* Untersuchungen erfolgte zunächst mit Eileiterepithelzelllinie OE-E6/E7. Dazu zählen u. a. die RNA-Isolation mit anschließender Real-Time PCR (qPCR), die Isolation von Exosomen, miRNA-Analysen (u. a. miRNAs 27a, 181a, 423 und 1291) und ein Multiplex-Assay (Bioplex-System) zur Quantifizierung von bis zu 80 Analyten im Zellkulturüberstand oder anderen Körperflüssigkeiten.

Mit Hilfe von *ex vivo* Untersuchungen an Hysterektomie-Präparaten wurde die Eignung des Falloposkops zur Karzinom-Früherkennung getestet. Im Fokus standen hier Eigenschaften wie (1) die Bildqualität der integrierten Kamera, (2) die Flexibilität des Endoskops, (3) die intuitive Handhabung, (4) der Durchmesser und die Länge des Endoskops, (5) der Durchmesser des Arbeitskanals. Die Integrität der Tube und Position des Stents wurden mittels Sonographie, Mikro-CT und MRT überprüft. Für die Durchführung von Tiermodellen wurde zudem die Eignung des Falloposkops zum Einsatz bei Kleintieren wie dem Kaninchen und Meerschweinchen erprobt. Diese weisen häufig eine deutlich andere Anatomie der weiblichen Geschlechtsorgane auf (z. B. Länge des Uterus, Hörner zwischen Uterus und Tube oder verwinkelte Eileiter). Hier konnten bereits wichtige strukturelle Informationen für weiterführende Studien und die Planung von Tierversuchen gewonnen werden.

