

## Teil I: Kurzbericht

### 1. Ursprüngliche Aufgabenstellung sowie wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Das ursprüngliche Ziel des Verbundprojektes „Implantierbare kraniofaziale Weichteilmatrix“ (ImkraWe) war die Entwicklung eines 3D-gedruckten, biologischen Weichgewebes zur humanen Implantation im Mund-, Kiefer- und Gesichtsbereich (MKG). Es sollte die Biokompatibilität eines neuartigen Biomaterials nach ISO 10993 nachgewiesen und dessen Einsatz in der additiven Fertigung von Weichteilimplantaten validiert werden, um zusammen die Grundlage für eine industrielle Anwendung zu bilden. Der Fokus lag auf der Behandlung von Weichgewebedefekten nach Tumorresektionen oder Traumata, da bisherige klinische Verfahren – autologe Lappenplastik oder dermale Filler – begrenzte Anwendbarkeit haben, hohe Entnahmemorbidität verursachen und die Defektabdeckung oft unzureichend ist.

Die Innovation der Projektidee lag in der Kombination aus einem rekombinanten, xenofreien Biomaterial und Stereolithographie-basiertem 3D-Druck, die die präzise Herstellung funktionaler biologischer Weichgewebeimplantate ermöglicht. Dies erlaubt eine optimale Integration mit dem Körper und die Förderung der zellulären Besiedlung und Vaskularisierung zum Erhalt einer permanenten, biologischen Lösung für den Weichgewebeaufbau. Als führendes Biotech-Unternehmen im Bereich der Herstellung von humanen Geweben (Tissue Engineering) brachte Cellbricks seine einzigartige, proprietäre Bioprinting-Technologie ein, während KLS Martin als erfahrenes Medizinprodukteunternehmen die Expertise zur Zulassung und klinischen Anwendung beitrug. Des Weiteren stellte Cellbricks sämtliches Knowhow zur Bereitstellung des rekombinanten Peptids für die Projektarbeit zur Verfügung sowie seine jahrelange Erfahrung im Biodruck-basierten Herstellen von humanen Geweben ein.

Ziel von speziell Cellbricks' Teilvorhaben war die Entwicklung eines Weichgewebeimplantat-Prototypens mit dem rekombinanten Biomaterial und dessen Biokompatibilitätsprüfung im Labor als auch in einem Tierversuch nach Vorgabe von ISO 10993.

### 2. Ablauf des Vorhabens

Die ursprüngliche Planung sah folgenden Projektablauf, gegliedert in sechs Arbeitspakete, vor:

- **AP1 – Anforderungen und Qualitätsmanagement:** Entwicklung eines Qualitätsmanagementsystems nach ISO 13485:2016 und Definition von projektspezifischen Prozessen.
- **AP2 – Mikroarchitektur:** Erforschung der mikrostrukturellen Eigenschaften des Implantats, einschließlich Kanalsystemen zur besseren Zellbesiedelung.
- **AP3 – Makroarchitektur:** Entwicklung der Gesamtform und biomechanische Optimierung des Implantats.
- **AP4 – Sterilität, Lagerfähigkeit, Charakterisierung:** Etablierung von analytischen Methoden (z.B. NMR, mechanische Prüfverfahren), Sterilisierbarkeitstests und Langzeitlagerung.
- **AP5 – *In-vitro*-Biokompatibilität:** Testung der Zellvitalität, Differenzierung und Biokompatibilität.
- **AP6 – *In-vivo*-Experimente:** Prüfung der Biokompatibilität im Tiermodell.

Zu Beginn der Forschungsarbeit wurde eine standardisierte Analytik für die beim licht-basierten 3D-Druck eingesetzten Materialien, Phototinten etabliert, inklusive Kernspinresonanz, Rheologie und mechanischer Testprotokolle, um kontrollierbare und reproduzierbare Materialeigenschaften der damit gedruckten Strukturen zu gewährleisten. Parallel dazu wurden unterschiedliche perfundierbare Mikroarchitekturen entworfen sowie die Makroarchitektur der Weichgewebematrix-Prototypen in Absprache mit KLS Martin an den MKG-Anwendungsbereich angepasst. Zusammen mit mechanischen Belastbarkeitstests wurde die Basis für funktionale, patientenspezifische Implantate geschaffen. Es wurden weiterhin Langzeitlagerversuche des Biomaterials durchgeführt, nach geeigneten Sterilisierungsverfahren gesucht und Methoden zum Produktqualitätsnachweis definiert. Biologische Tests mit den entwickelten Weichgewebematrix-Prototypen wurden durch Cellbricks in diversen *in-vitro*-Assays (MTT-Test, Viabilitätsfärbung, metabolischer Aktivitätsnachweis) durchgeführt. Parallel zu den frühen F&E-Arbeiten wurde ein Labordokumentationssystem aufgesetzt und sowie ein Plan zur Integration eines Qualitätsmanagementsystems mithilfe externer Konsultationen und Workshops erarbeitet.

Alle frühen Arbeiten zur Prototypenentwicklung fußten auf dem Einsatz eines kommerziellen Biomaterialersatzes, Gelatinemethakrylat (GelMA). Dies wurde als notwendig erachtet, da es zu diesem Zeitpunkt nicht möglich war, das rekombinante Biomaterial in ausreichend großen Mengen bei gleichzeitigem Erhalt der Biokompatibilität herzustellen. Im späteren Projektverlauf, nach erfolgreicher Herstellung des rekombinanten Biomaterials in ausreichender Menge und Qualität für Versuche im kleineren Maßstab, wurden damit Prototypenarbeiten wiederholt. Des Weiteren musste im Verlauf des Projekts die Zielanwendung strategisch angepasst werden. Die ursprüngliche Fokussierung auf den

MKG-Bereich wurde nach einer wirtschaftlichen und technischen Analyse aufgegeben und der Schwerpunkt auf die Brustrekonstruktion gelegt. Dabei konnten die im MKG-Bereich entwickelten Methoden für Materialcharakterisierung, Mikro- und Makrostrukturierung sowie 3D-Druck direkt übertragen und auf die biologisch komplexeren Anforderungen der Fettgeweberekonstruktion angepasst werden. Anders als ursprünglich geplant erfolgte im Rahmen des Projektes keine Prüfung der Biokompatibilität des Biomaterials nach ISO 10993. Eine Norm-externe Bewertung der Biokompatibilität *in vitro* konnte durch die oben genannten biologischen Charakterisierungsarbeiten teilweise abgedeckt werden, die Prüfung *in vivo* entfiel aber ersatzlos.

### 3. Wesentliche Ergebnisse sowie ggf. Zusammenarbeit mit anderen Forschungseinrichtungen

Im Verlauf des Projekts konnte eine Reihe von wissenschaftlich-technischen Fortschritten erzielt werden, die den gesamten Prozess von der Materialentwicklung über die Prototypenherstellung bis hin zur Validierung der biologischen Funktionalität abdeckten. Zu Beginn wurden die auf dem rekombinanten Peptid fußenden Phototinten, die als Basis für Cellbricks' licht-basiertes 3D-Druckverfahren dienen, umfassend charakterisiert. Hierfür wurden Tinten mit unterschiedlichen Funktionalisierungsgraden hergestellt und mittels Kernspinresonanz und rheologischer Analytik untersucht, um eine standardisierte, reproduzierbare Materialqualität zu gewährleisten. Parallel wurden mechanische Prüfprotokolle für Zug- und Kompressionstests von Cellbricks entwickelt und validiert, in Teilen gemeinschaftlich mit KLS Martin. Erste gedruckte Prüfkörper demonstrierten die erfolgreiche Umsetzung einer Makroarchitektur mit gleichzeitig perfundierbaren Mikrokanälen, die eine gezielte Zellbesiedlung ermöglichten. Spätere Prototypen wurden erfolgreich mit unterschiedlichen Mikroarchitekturen versehen, die eine gezielte Zellbesiedlung durch humane Endothelzellen und Fibroblasten erlaubten, und deren mechanisches Verhalten unter realitätsnahen Bedingungen überprüft. Langzeitlagerungsversuche von 3D-gedruckten Hydrogelproben, die teilweise in Kooperation mit KLS Martin durchgeführt wurden, zeigten Lagerungsbedingungen für stabile Materialeigenschaften über mehrere Wochen auf, was die Perspektive einer späteren produktionsnahen Lagerung unter industriellen Bedingungen eröffnete. Versuche zur Sterilisierbarkeit zeigten die Auswirkungen verschiedener Verfahren auf die Materialeigenschaften sowie auf dessen Biokompatibilität und unterstrichen die Bedeutung einer aseptischen Produktherstellung. In Zusammenarbeit mit KLS Martin lieferte eine Grenzflächenanalyse zwischen dem gedruckten Biomaterial und etablierten Implantatmaterialien (z.B. Titan) wichtige Erkenntnisse für die spätere Integration der Weichgewebematrizen in den menschlichen Körper. Im Bereich des Qualitätsmanagements wurden bei Cellbricks die Grundlagen für ein ISO 13485-konformes System gelegt, indem Schulungen durchgeführt und eine Roadmap für die spätere Implementierung entwickelt wurden.

Im weiteren Verlauf konnte der Projektmeilenstein MS18 erreicht werden, d.h. die Fertigstellung eines Prototypen für die finale *in-vitro*- und *in-vivo*-Testung, wobei gleichzeitig eine Umstellung auf kommerziell verfügbares GelMA als Hauptkomponente der Tinten erfolgte. Dieser Prototyp wurde in Zusammenarbeit mit KLS Martin an einem MKG-Pilotanwendungsfall ausgelegt. Parallel dazu wurde die rekombinante Biomaterialherstellung weiter optimiert, einschließlich grundlegenden Verbesserungen am Up- und Downstreaming des Biosyntheseprozesses. Zudem erfolgte die Methakryloyl-Funktionalisierung und rheologische Charakterisierung des rekombinanten Biomaterials, wobei die mechanischen Eigenschaften von vergleichbar zu GelMA waren, jedoch ein thermisches Gelierverhalten vorlag, das den licht-basierten 3D-Druck erleichterte.

Nach der strategischen Neuausrichtung des Projekts wurde der Fokus auf die Anwendung in der Brustrekonstruktion gelegt, wobei die entwickelten Methoden und Erkenntnisse aus dem MKG-Bereich direkt übertragen und angepasst werden konnten. Die biogedruckten Fettgewebe-Prototypen zeigten *in vitro* eine hohe Überlebensrate der eingebetteten Fettstammzellen, eine erfolgreiche Differenzierung zu funktionalen Adipozyten und die Bildung von biogedruckten Weichgewebematrizen mit Fettgewebe-ähnlichen Eigenschaften, was den biologischen Funktionalitätsnachweis erbrachte.

Insgesamt wurde damit der Großteil der Arbeitsplanziele erreicht: Ein rekombinantes, tierfreies Peptid-basiertes Biomaterial wurde funktionalisiert und für den 3D-Druck vorbereitet, Prototypen mit relevanter Mikro- und Makroarchitektur konnten hergestellt und mechanisch charakterisiert werden, und die biologische Funktionalität *in vitro* wurde erfolgreich demonstriert. Einschränkungen ergaben sich durch die unzureichende Materialmenge für großmaßstäbliche Tests und die fehlenden *in-vivo*-Experimente, die aufgrund technischer und strategischer Anpassungen am Projekt nicht durchgeführt wurden. Die Arbeiten lieferten jedoch umfassende Erkenntnisse für die Translation neuartiger Biomaterialien in die medizinische Anwendung und bilden eine Grundlage für künftige Entwicklungen im Bereich biogedruckter Weichgewebeimplantate.