

## DREIDIMENSIONALES PLOTTEN VON KOMPLEXEN UND INDIVIDUELLEN WEICHGEWEBS-IMPLANTATEN

BMW IGF 306 ZBR | Laufzeit: 01.2009 – 09.2011 | Michael Meyer, FILK Freiberg; Frank Sonntag, Fraunhofer IWS Dresden; Michael Gelinsky, TU Dresden (MTZ)

Categories: Biomaterials Collagen

---

### PROJEKTZIEL & ERGEBNISSE

Ziel des Projektes war die Entwicklung eines 3D-Plotsystems zur Erzeugung Patienten-individueller, komplex zusammengesetzter Weichgewebeimplantate. Mit Hilfe einer zu entwickelnden Software sollten ausgehend von 3D-Datensatz und Zielparametern des geplanten Weichgewebeersatzes Plotpläne erstellt werden, in denen der Anwender für jeden Strang ein bestimmtes Material vorgeben kann. Aus diesen Daten sollten anschließend aus mehreren verschiedenen Hydrogelen auf Basis des Biopolymers Kollagen mit hoher Ortsauflösung automatisiert Scaffolds mit definierter, komplexer äußerer wie innerer Geometrie für die Weichgewebsrekonstruktion erzeugt werden. Weiterhin sollten passende Perfusionszellkultursysteme zur optimalen Versorgung der neuen Scaffolds während der anschließenden Zellbesiedlung entwickelt werden. Für das 3D-Plotten sollten neben dem eigentlichen Plotsystem geeignete Kollagenpasten entwickelt und die erzeugten 3D-Matrices in Zellkulturexperimenten getestet werden. Dazu sollten zum einen die Eigenschaften der Kollagenpasten auf das Plotverfahren abgestimmt und entsprechend optimiert werden. Zum anderen sollten die verwendeten Kollagenrohwaren sowie die Rezepturen der Pasten in Bezug auf eine Zellkultivierung untersucht und angepasst werden. Die durch 3D-Plotten hergestellten Scaffolds sollten letztlich sowohl zur Zellkultivierung, als auch zur Herstellung unterschiedlicher Gewebetypen im Sinne des Tissue Engineering für die Behandlung von dreidimensionalen Weichteildefekten in der Chirurgie eingesetzt werden. Zuletzt sollte das System auch hinsichtlich der Verarbeitung bereits Zellen enthaltender Hydrogele erweitert und getestet werden.

Am FILK wurde Schweineschwarte als geeignete Rohwarenquelle ausgewählt, diese wurde von einem zertifizierten Zerlegebetrieb bezogen. Es wurde eine Technologie entwickelt, aus der Rohware eine Kollagensuspension herzustellen. Diese Suspension war im sauren pH-Bereich und im neutralen pH-Bereich mit Zusätzen plottbar. Es wurden erfolgreich verschiedene Scaffoldgeometrien hergestellt und diese mit unterschiedlichen Methoden stabilisiert. Mit Langzeittests (1 Monat) bei 37 °C in Zellkulturlösung konnte die Stabilität der verschiedenen Scaffoldpräparationen nachgewiesen werden. Für das simultane Plotten von

Kollagensuspension und Zellen wurde die Suspension gefriergetrocknet, gammasterilisiert, und anschließend in Puffer (pH: neutral) resuspendiert und erfolgreich geplottet.

Die am IWS entwickelten 3-Kanal-Plotsysteme wurden inklusive Software erfolgreich bei den Projektpartnern TU Dresden (unter sterilen Bedingungen) und FILK Freiberg etabliert und zur Herstellung komplexer Scaffolds eingesetzt. Das Plotten von Scaffolds aus verschiedenen Materialien wurde demonstriert. Für die pneumatische Dosierung bestimmter Materialien (Agarose, Polycaprolacton) muss die Viskosität des Mediums über die Kartuscentemperatur geregelt werden. Dazu wurde eine Dosierkartuscentemperierung entwickelt, getestet und beim Projektpartner TU Dresden etabliert. Durch die Integration von Heizelementen (Widerstand, Peltier-Element) und Temperatursensoren sowie die thermische Isolation zum Dosierkopf können Temperaturen im Bereich von 30 bis 100 °C realisiert werden. Entwicklung angepasster Perfusionzellkultursysteme: Basierend auf den modularen Zellkultur- und Mikrofluidikplattformen des IWS wurde ein miniaturisiertes Perfusionssystem entwickelt, umgesetzt und erfolgreich getestet.

Am MBZ/TFO wurden zur mikroskopischen Charakterisierung REM-Analysen von geplotteten Kollagenscaffolds durchgeführt, die eine interkonnektierende Mikroporenstruktur der Materialstränge, geeignet für das Einwachsen von Zellen zeigten. Die geplotteten Scaffolds wiesen eine ausreichende Stabilität auf, um unter Zellkulturbedingungen über mehrere Wochen gut handhabbar zu bleiben. Zellkultorexperimente zur Charakterisierung der Besiedlungsfähigkeit, Zellverteilung und Adhäsion: Geplottete Kollagenscaffolds waren sehr gut mit Zellen besiedelbar (zufriedenstellende Besiedlungseffizienz und Verteilung auf dem gesamten Scaffold bei Anwendung einer semidynamischen Besiedlungsmethode). Die Zellen adhäreren sehr gut am Material. Proliferation und Differenzierung von mesenchymalen Stammzellen (hMSC): In Abhängigkeit von den Kultivierungsbedingungen konnte eine leichte Zunahme der Zellzahl bzw. konstante Zellzahl nachgewiesen werden. REM-Aufnahmen zeigten, dass die Stränge nach 28 Tagen Kultivierung komplett mit Zellen bedeckt waren. Adipogene bzw. osteogene Differenzierung der hMSC unter den entsprechenden Kultivierungsbedingungen wurden ebenfalls nachgewiesen.

Erweiterung und Testung des Systems hinsichtlich Verarbeitung von bereits Zellen enthaltenden

Lebende, in Alginat-basierten Hydrogelen (mit und ohne Kollagen) resuspendierte Zellen konnten mittels 3D-Plotten verarbeitet werden. Die zellen-enthaltenden Scaffolds konnten zellverträglich stabilisiert werden und sind über mehrere Wochen unter Zellkulturbedingungen stabil. Die Prozessbedingungen wurden soweit optimiert, dass ein großer Teil der Zellen überlebt, auch nach mehreren Wochen waren lebende Zellen in den Strukturen nachweisbar.

## **Bericht anfragen**

## DANKSAGUNG

Das IGF-Vorhaben BMWi IGF 306 ZBR der Forschungsvereinigung "Forschungsgesellschaft für Messtechnik, Sensorik und Medizintechnik e. V. Dresden" (einreichende) und „Verein zur Förderung des Forschungsinstitutes für Leder und Kunststoffbahnen (FILK) Freiberg/Sachsen e. V." (kooperierende) wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der „Industriellen Gemeinschaftsforschung und -entwicklung (IGF)" vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (BMWi) aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert. Wir bedanken uns für die gewährte Unterstützung.

