

ENTWICKLUNG VON NEUARTIGEN TINTEN FÜR DAS 3D-DRUCKEN VON BIOLOGISCHEN GEWEBEN

BMWi INNO-KOM-Ost MF 140154 | Laufzeit: 02.2015 – 01.2017 | Ina Prade, Michaela Schröpfer, Michael Meyer, FILK Freiberg

Categories: Kollagen Verfahren/Prozesse

AUSGANGSSITUATION

Die Herstellung lebender Gewebe ex vivo (Tissue Engineering) besitzt großes Potential, der steigenden Nachfrage nach funktionellem Ersatz von irreversibel geschädigtem Gewebe und Organmaterial nachkommen zu können. Aktuelle Ansätze verfolgen die Erzeugung dieser dreidimensionalen Gewebe mittels 3D-Druckverfahren. Die Auswahl des Biomaterials ist neben den Gewebezellen die kritischste Komponente im Tissue Engineering. Das Biomaterial Kollagen ist aufgrund der ausgezeichneten biologischen Verträglichkeit und der geringen Immunogenität für die medizinische Anwendung hervorragend geeignet. Die Verarbeitung von Kollagen mittels Plott- oder Drucktechnik ist möglich, aber die Stabilität der hergestellten Strukturen gegenüber mechanischen und biochemischen Einflüssen ist nicht zufriedenstellend. Derzeit wird Kollagen hauptsächlich in Form von Hydrogelen gedruckt. Dabei handelt es sich um stark wasserhaltige, aber wasserunlösliche Polymernetzwerke, die zwar zellverträglich, aber nur zur Fertigung von sehr weichen Gewebestrukturen geeignet sind.

PROJEKTZIEL

Ziel des Projektes war daher die Entwicklung neuartiger, biologisch verträglicher Materialien auf Basis von Kollagen, die zur Verarbeitung im 3D-Drucker geeignet sind und gleichzeitig die Fertigung mechanisch stabiler Tissue Engineering Konstrukte ermöglichen. Dazu war vorgesehen, sowohl hochviskose, faserhaltige Kollagensuspensionen als auch niedrigviskose Kollagenlösungen so aufzubereiten, dass sie mittels additiver Fertigung und in Gegenwart von Zellen den Aufbau dreidimensionaler Gerüststrukturen ermöglichen.

LÖSUNGSWEG

Das Drucken lebender Zellen sollte mit Hilfe einer niedrigviskosen Tinte erfolgen. Um die Sedimentation der Zellen während des Druckens zu verhindern, wurden Kollagenfibrillen in die Tinte eingearbeitet. Sie bildeten eine netzartige Matrix, die das Absetzen der Zellen verminderte und dennoch tropfbar war. Da die

Sedimentation durch die Kollagenfibrillen aber nicht vollständig unterbunden werden konnte, wurde der Tinte Gelatine zugemischt. Die Kombination aus Kollagenfibrillen und Gelatine ermöglichte das Drucken einer konstanten Zellzahl über mehrere Stunden hinweg. Es stellte sich heraus, dass die Anwesenheit des Kollagens in der Tinte zusätzlich das Überleben der Zellen bei langen Druckprozessen verbessert. Hohe Gelatinegehalte in der Tinte wirkten sich hingegen negativ auf die Zellviabilität aus. Um die Stabilität der gedruckten Zelltinte zu erhöhen, wurden das Kollagen und die Gelatine chemisch modifiziert. Es wurden photosensitive Methacrylatgruppen angekoppelt, die über einen licht-induzierten Mechanismus eine Vernetzung der Kollagen- und Gelatinemoleküle bewirkten. Die Vernetzung konnte mittels dynamischer Differenzkalorimetrie nachgewiesen werden und führte zu einer Verfestigung der Materialien. Diese Derivatisierung verhinderte zudem das Auflösen der Tinte bei der Zugabe von Zellkulturmedium nach dem Druckprozess und hielt die Zellen auf dem gedruckten Konstrukt. Die Zellverträglichkeit und die biochemischen und physikalischen Eigenschaften der Tinte wurden innerhalb des Projektes analysiert.

ERGEBNISSE

Für das Drucken dreidimensionaler Gerüststrukturen wurde eine Tinte auf Basis nicht-löslicher Kollagenfasern entwickelt. Die Fasergröße und die Wasserbindekapazität der Kollagensuspension wurde an die Verarbeitung mittels 3D-Drucker angepasst. Dazu wurde der Mahlgrad optimiert und Additive zugemischt, die eine Quellung und damit eine gesteigerte Wasserbindung der Kollagenfasern induzierten. Als Additive wurden Natriumcitrat, Kaliumdihydrogenphosphat, Tris-base, Hepes und Natriumacetat in verschiedenen Konzentrationen untersucht. Lediglich Kaliumdihydrogenphosphat und Tris-base führten jedoch zu guten Druckergebnissen. Intensive rheologische Untersuchungen ergaben, dass die Druckbarkeit der Kollagentinte von der Viskosität und dem elastischen Anteil im Material abhängig war. So zeigten alle druckbaren Kollagensuspensionen neben einer Wasserbindung von $\geq 94\%$, eine Viskosität $< 30 \text{ kPa}\cdot\text{s}$ (bei geringer Scherrate) und ein Speichermodul $G' \leq 2 \text{ kPa}$. In Zytotoxizitätstests konnte ein starker Einfluss der Additive auf die Stoffwechselaktivität von Zellen festgestellt werden. Die Kollagen-Tris-Tinte, die letztlich entwickelt wurde, war biokompatibel und zeigte sehr gute Druckeigenschaften.

DANKSAGUNG

Das Forschungsvorhaben „Entwicklung von neuartigen Tinten für das 3D-Drucken von biologischen Geweben“, Reg.-Nr.: MF140154 wurde anteilig vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie (BMWi) aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages innerhalb des Förderprogramms „FuE-Förderung gemeinnütziger externer Industrieforschungseinrichtungen in Ostdeutschland – Modul Marktorientierte Forschung und Entwicklung (MF)“ über den Projektträger EuroNorm GmbH gefördert. Wir bedanken uns für die gewährte Unterstützung.

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages