

# Bioartifizielle Gewebe:

## Entwicklung, Herstellung und Kryokonservierung

**Implantate sollten individuell angepasst werden und müssen vom Körper angenommen werden.**

**Wissenschaftler\*innen vom Institut für Mehrphasenprozesse arbeiten an der Entwicklung, Herstellung und Langzeitlagerung patientenspezifischer Implantate.**

Im Forschungsfeld der Biomedizintechnik besteht wissenschaftlicher Konsens dahingehend, dass die Implantate der Zukunft spezifisch auf die Patient\*innen abgestimmt sein müssen. Nur hierdurch werden sie den individuellen Ansprüchen gerecht und erhöhen die Erfolgswahrscheinlichkeit der Behandlung.

Diese Anpassung erfolgt sowohl hinsichtlich der makroskopischen (Design) und mikroskopischen (Struktur) Form als auch der mechanischen Eigenschaften. Nicht zuletzt muss das Implantat jedoch vom Körper akzeptiert werden, also biokompatibel sein. Hierfür werden im Forschungsfeld des *Tissue Engineering* Strategien entwickelt, die bioartifizielle Gewebe aus körpereigenen Materialien sowie Trägerstrukturen (engl. *scaffolds*) ermöglichen.

Das Institut für Mehrphasenprozesse (IMP) bildet in diesem Kontext die gesamte Prozesskette ab, beginnend mit der Entwicklung und Herstellung entsprechender Trägerstrukturen, deren Charakterisierung, biologischer Funktionalisierung sowie on-demand Langzeitlagerung. Hierbei wird der Prozess vom Ende her gedacht und an der Frage orientiert „Wie lassen sich patientenspezifische Implantate permanent und ohne Qualitätsverlust verfügbar machen“?

Eine Lösungsstrategie stellt die Kryokonservierung dar. Hierbei werden Methoden der Kryotechnik genutzt, um lebende Materialien optimal unterhalb der Glasübergangstemperatur von Wasser von  $-135\text{ °C}$  zu lagern und bei Bedarf kontrolliert wieder aufzutauen. Eine präzise Anpassung der Schritte des kontrollierten Einfrierens und Auftauens an die Anforderungen der jeweiligen biologischen sowie synthetischen Materialien ermöglicht bei sehr tiefen Temperaturen eine nahezu unendliche Lagerdauer bei Erhalt sämtlicher Materialeigenschaften.

In Kooperation mit dem TECHNION (Haifa, Israel) und gefördert aus dem „Niedersächsischen Vorab (Volkswagen Stiftung)“ forscht das IMP an Methoden zur Konservierung zellbesiedelter elektrogesponnener Trägerstrukturen unter hypothermen (oberhalb des Gefrierpunktes) und kryogenen Temperaturen (unterhalb des Gefrierpunktes). Das Elektrosponnen ist ein Verfahren zur Herstellung von Nano- und Mikrofasern, vornehmlich aus Polymeren. Es ermöglicht die Herstellung von 3D-Trägerstrukturen, welche beispielsweise für das *Tissue Engineering* von Blutgefäßen oder Herzklappen genutzt werden können. Im Zuge des Projekts werden sowohl unterschiedliche bioabbaubare Polymere für die Herstellung der Fasern erforscht als auch Variationen

des Prozesses. Mittels konventionellem Elektrosponnen können die Faserzwischenräume („Poren“) derart manipuliert werden, dass sich Zellen in diesen anlagern können. Mittels koaxialem Elektrosponnen können Zellen sogar direkt in die Fasern eingebracht werden. Die technisch unterschiedlichen Ansätze haben unter anderem Einfluss auf die Wärmeübertragung während des Einfrier- und Auftauprozesses und können hierdurch zur individuellen Anpassung des Kryokonservierungsverfahrens genutzt werden. In Untersuchungen mit zwei unterschiedlichen Zelllinien zeigte sich, dass die Zellen erfolgreich auf den gesponnenen Trägerstrukturen kultiviert und konserviert werden können. Neben der Optimierung der notwendigen Konservierungsadditive konnte der Wärmeübergang während des Kryokonservierungsprozesses durch die Verwendung spezieller Einfrierbeutel verbessert werden. Parallel wird an der hypothermen Konservierung für die Kurzzeitlagerung zellbesiedelten Konstrukte geforscht. Hierdurch könnte der technische und energetische Aufwand im Vergleich zur Kryokonservierung deutlich reduziert werden.

Kryokonservierungsprozesse benötigen in der Regel Gefrierschutzadditive (engl. *cryoprotective agent, CPA*), welche die idealen Kühlraten in technisch realisierbare Be-

reiche verschieben. Einige CPAs sind bei Raumtemperatur jedoch zelltoxisch. Gefördert durch die Leibniz Young Investigator Grants der LUH wird am IMP aktuell an innovativen Strategien gearbeitet, die Reduzierung zelltoxischer synthetischer CPAs zu ermöglichen und diese durch zellverträgliche natürliche CPAs zu ersetzen. Mittels Elektroporation wird hierzu die Permeabilität der Zellmembran

Biologische Gewebe passen ihre Mikrostruktur den physiologischen mechanischen Belastungen an. Eine individuelle Versorgung von Patient\*innen muss sich daher am mikroskopischen Aufbau der Gewebe und der physiologischen Belastungssituation orientieren. Dies war eine der Aufgaben der im NIFE ansässigen DFG-Forschungsgruppe 2180 „Gradierte Implantate für Sehnen-Knochen-Verbindun-

zessschritte wie die Verarbeitung zu Garnen oder ein patentiertes Verfahren zur Einbringung zusätzlicher Verstärkungsstrukturen konnte das geforderte Zielfenster erreicht werden. Hieran anknüpfend wurden Trägerstrukturen mit einer zuvor genau definierten dreidimensionalen Gitterstruktur hergestellt. Die Kombination von gerichteten und ungerichteten Fasern wirkt sich hierbei positiv auf die

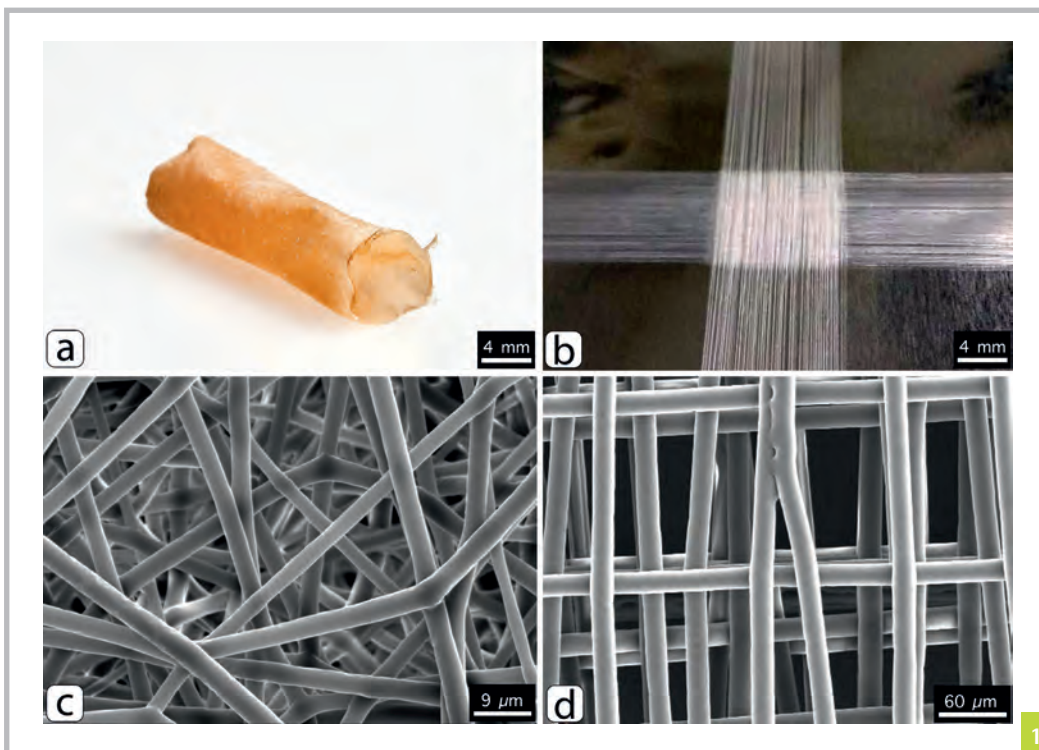


Abbildung 1  
Elektrogesponnene Trägerstruktur für den Blutgefäßersatz, hergestellt aus Eigenblut (a). Schmelz-elektrogesponnene gradierte Trägerstruktur für den Sehnenersatz (b). Zur Anpassung an die jeweilige Belastungssituation sind die Trägerstrukturen aus ungerichteten (c) oder ausgerichteten (d) Fasern aufgebaut.  
Quelle: imp

gezielt manipuliert, wodurch Stoffe mit höherem Molekulargewicht die Zellmembran passieren können. So werden unterschiedliche Zuckerlösungen untersucht, deren Anwesenheit sich zudem vorteilhaft auf die intrazelluläre Eiskristallbildung auswirkt und damit die Überlebensrate der Zellen steigert. Für Saccharose sowie Trehalose konnte im Rahmen des Projekts bereits gezeigt werden, dass die Überlebensrate der Zellen nach dem Auftauen von etwa 20 Prozent ohne auf mindestens 80 Prozent mit Elektroporation gesteigert wird.

gen“. Im Rahmen der beiden Förderperioden wurden am IMP Modifikationen des Elektrosponnen entwickelt, mit denen lasttragende, gradierte Trägerstrukturen für Anwendungen im Bereich der Rotatorarmmanschette hergestellt werden können. Hierzu zählt ein Verfahren zur Verarbeitung von Polymerschmelzen mittels Schmelz-Elektrosponnen, das unter anderem eine hochpräzise Ausrichtung der Fasern in Belastungsrichtung ermöglicht. Hierdurch können die mechanischen Eigenschaften gezielt eingestellt werden. Durch weiterführende Pro-

mechanische Festigkeit aus. Zusätzlich zur mechanischen Anpassung an die Bedingungen am Implantationsort sind weiterführend auch Strategien zur Steigerung der Biokompatibilität, also der Verträglichkeit zwischen Implantat und Körper, nötig. Ein vielversprechender Ansatz basiert hierbei auf der Nutzung körpereigener Stoffe und Gewebe zur Herstellung der Trägerstrukturen. Gefördert durch das Caroline Herschel Programm der LUH wird gegenwärtig ein Prozess entwickelt, in dessen Rahmen humane Amnionmembranen (innerste

Schicht der Plazenta) zu Trägerstrukturen für das *Tissue Engineering* verarbeitet werden. Die vorteilhaften entzündungshemmenden Eigenschaften der Amnionmembran werden bereits erfolgreich in der Augenheilkunde sowie Dermatologie genutzt. Der am IMP entwickelte Prozess besteht aus der Gefriertrocknung, gefolgt von der Pulverherstellung mittels Kryomühle und abschließender Verarbei-

Implantatwerkstoff aufgrund der höheren Verfügbarkeit einen vielversprechenden Ansatz dar. Gefördert durch die Leibniz Young Investigator Grants der LUH wurde am IMP in den vergangenen Jahren ein Prozess erforscht, validiert und zum Patent angemeldet, der die Herstellung von Gefäßimplantaten aus Eigenblutspenden ermöglicht. Hierzu werden Blutbestandteile aus dem Blut der

kopisch nachweisen, dass die Prothesen nach dem Herstellungsprozess nur noch aus Plasmaproteinen bestehen und Prozessadditive vollständig entfernt werden konnten.

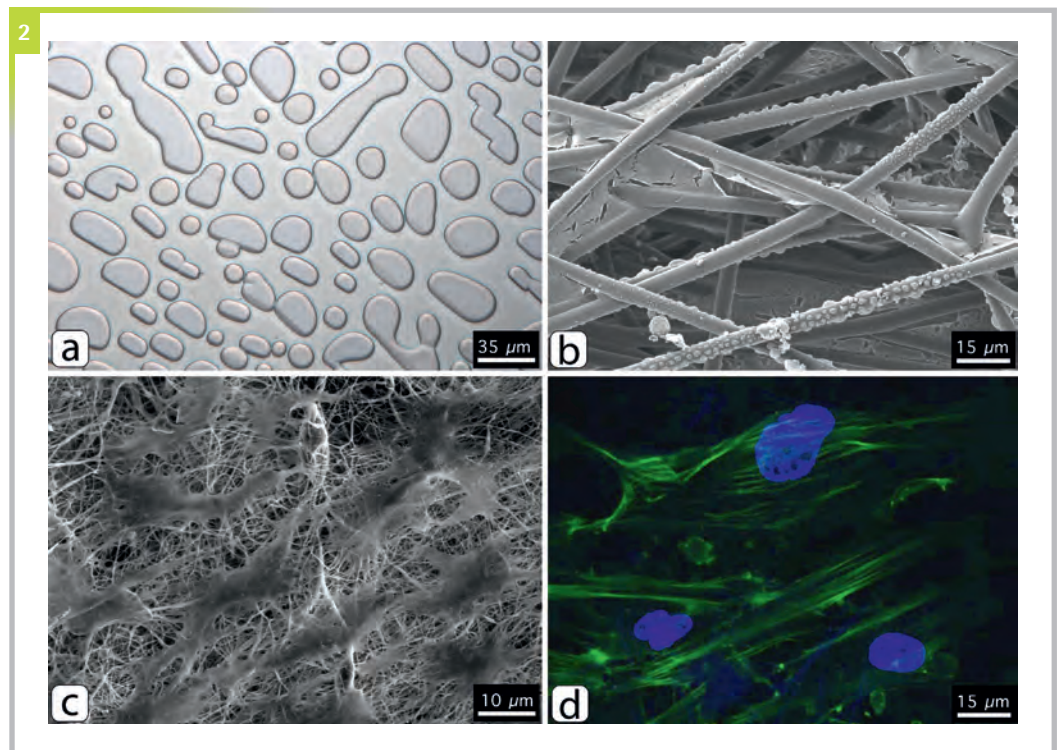
Zusammenfassend konnte das IMP in enger Kooperation mit Partnern aus dem NIFE in den vergangenen Jahren einen „Technologiekasten“ für die Herstellung und Langzeitlagerung patientenspezifischer

Abbildung 2

Kryomikroskopische Aufnahme der Eiskristallrekristallisation in einer Lösung aus Zellkulturmedium und Gefrierschutzadditiv während des Auftauprozesses (a). Kryo-Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer eingefrorenen elektrogenesponnenen Trägerstruktur aus einem Polycaprolacton-Polylaktid-Blend (b).

Aufnahmen mittels Rasterelektronenmikroskopie sowie Laser-Scanning-Mikroskopie von elektrogenesponnenen Trägerstrukturen aus prozessierter humaner Amnionmembran (c, d). Die Trägerstrukturen wurden mit humanen mesenchymale Stammzellen des Knochenmarks besiedelt.

Quelle: imp



zung zu Trägerstrukturen durch das *Electrospinning*. Die aktuell vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass das Zellwachstum vom Proteingehalt des Amnionpulvers abhängt und mit steigenden Konzentration das Zellwachstum gefördert wird. Darüber hinaus weisen die Trägerstrukturen eine bessere Zellerholung nach der Kryokonservierung auf, wodurch die Verfügbarkeit für klinische Anwendungen begünstigt wird.

Neben der Verwendung von körpereigenen Geweben stellt die Verwendung von Blut als

Patient\*innen separiert. Nach Erhöhung der Proteinkonzentration erfolgt die Verarbeitung zu den Gefäßstrukturen mittels Electrospinning, wobei die biokompatible prozessintegrierte Vernetzung der Proteine eine Kerntechnologie darstellt. Die Fasern werden zusätzlich durch Integration von plättchenreichem Plasma funktionalisiert, welches aufgrund enthaltener Wachstumsfaktoren die Gewebeneubildung fördert. Wir konnten eine hohe Verträglichkeit gegenüber Gefäßzellen sowie eine hohe Blutverträglichkeit zeigen und zudem spektros-

Implantate entwickeln. Die aufgezeigten Strategien lassen sich auf zusätzliche Fragestellungen individuell anpassen und können daher zielführend für die Entwicklung zukunftsfähiger Implantate genutzt werden.

**Marc Müller**  
**Sven-Alexander Barker**  
**Gesine Hentschel**  
**Kai Höltje**  
**Sara Leal-Marin**  
**Tim Rittinghaus**  
**Birgit Glasmacher**

→ Weitere Informationen siehe Autor\*innenseiten.