

Gezielte Beeinflussung der Mikro- und Makrostruktur polymerer Trägerstrukturen beim Elektrosponnen

Von der Fakultät für Maschinenbau
der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover
zur Erlangung des Grades eines

DOKTORS DER
INGENIEURSWISSENSCHAFTEN
(Dr.-Ing.)

genehmigte Dissertation

von

Dipl.-Ing. Holger Zernetsch

geboren am 4. März 1984 in Braunschweig

2016

1. Referentin: Prof. Dr.-Ing. B. Glasmacher

2. Referentin: Prof. Dr.-Ing. A. Raatz

Vorsitzender der Prüfungskommission: Prof. Dr.-Ing. G. Poll

Tag der Promotion: 14.12.2015

Vorwort

Die vorliegende Arbeit ist im Rahmen meiner Tätigkeit als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Mehrphasenprozesse der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover im Zeitraum September 2009 bis Oktober 2014 entstanden.

Mein größter Dank gilt Frau Prof. Birgit Glasmacher, die stets offen für neue Gedanken war und so die Durchführung dieser Arbeit erst ermöglicht hat. Das Institut für Mehrphasenprozesse ist der ideale Nährboden für Ideen und Konzepte abseits eingetretener Pfade. Hier lebt die Forschung für sich und kann gedeihen. Ich danke den Mitgliedern der Prüfungskommission Prof. Annika Raatz und Prof. Gerhard Poll. Weiterhin danke ich Prof. Andrea Hoffmann, Prof. Theo Doll, Prof. Henning Menzel, Prof. Dimos Mavrillas und Prof. Arno Kwade für die Beteiligung an vielen spannenden Projekten. Mein besonderer Dank gilt meinen Kollegen Andreas Szentivanyi und Tanmay Chakradeo, mit denen zusammen der Grundstein für das Elektrosinnen am Institut gelegt wurde.

Florian Evertz danke ich dafür, dass er mir die Augen geöffnet und die Scheu vor der Mikroelektronik genommen hat. Sehr wichtig war auch der regelmäßige Diskurs mit meinem ewigen Kommilitonen Benjamin Krolitzki. Die Arbeit wäre heute noch nicht abgeschlossen, wenn nicht tatkräftige Studierende wie Alexander Kern, Tim Rittinghaus, Anna Lena Hoheisel und viele mehr ihren Beitrag geleistet hätten. Dies gilt auch für die Kollegen und Kolleginnen Tatiana Chukhlova, Alexandros Repanas, Lothar Lauterböck, Fedaa Al Halabi, Nicola Hofmann, Almer Meinken, Julia Struß und Oleksandr Gryshkov, die mir viel Arbeit abgenommen haben und heute dafür sorgen, dass die begonnenen Projekte weitergeführt werden. Alle Ideen wären nichts als ein Gedanke geblieben, wenn sie nicht von der Werkstatt - insbesondere Charlotte Schulz und Daniel Gossler - in die Realität umgesetzt worden wären. Danke an Rosi Behrens, die auch die kniffligsten Terminkaskaden organisiert und mir immer mit gutem Rat zur Seite gestanden hat.

In besonderer Erinnerung werde ich auch die geselligen Abende mit Marc Müller, Andre Papke, Markus Meier, Steven Ndzengue und Lutz Dreyer behalten, die neben selbstgebrautem Gerstensaft auch häufig die Gelegenheit zum Spinnen besonderer Ideen boten. Ich danke meiner Familie, dass sie mich immer unterstützt und es mir ermöglicht hat, meine Träume zu verwirklichen.

Hannover, im Januar 2016

Holger Zernetsch

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Ziele und Gliederung der Arbeit	3
3	Grundlagen	5
3.1	Anatomie von menschlichem Gewebe	5
3.2	Kardiovaskuläres Tissue Engineering	8
3.3	Resorbierbare Polymere	10
3.3.1	Polycaprolacton (PCL)	12
3.3.2	Polylactid (PLA)	12
3.4	Lösemittel	13
3.5	Mechanische Prüfung und Charakterisierung	14
3.6	Porosität und Porengröße	17
4	Stand der Technik	21
4.1	Implantate und Tissue Engineering	21
4.1.1	Gefäßprothesen	21
4.1.2	Herzklappenprothesen	22
4.2	Herstellung von Gerüststrukturen für das Tissue Engineering	26
4.2.1	Gießverfahren	27
4.2.2	Druckverfahren	28
4.2.3	Laserbasierte Verfahren	29
4.2.4	Textile Verfahren	31
4.3	Elektrospinnen	33
4.3.1	Grundlagen	33
4.3.2	Historie	35
4.3.3	Prozess	35
4.3.4	Anlagentechnologie und Varianten	37
4.3.5	Mechanische Eigenschaften elektrogesponnener Strukturen	43
4.3.6	Abgeleitete Aufgaben	44
5	Herstellung von Gerüststrukturen	47
5.1	Gestaltung von Komponenten für Elektrospinnanlagen	47
5.1.1	Grundlegende Aspekte	47
5.1.2	Pumpe	48
5.1.3	Koaxiale Düse	50

5.1.4 Kollektor und Faserablage	51
5.2 Laserbasierte Bearbeitung von Fasermatten	57
5.2.1 Schneiden mittels Laser	58
5.2.2 Fügen mittels Laser	58
5.2.3 Perforieren mittels Laser	61
5.3 Automatisierungsumgebung	63
6 Strukturelle Eigenschaften von elektrogesponnenen Produkten	69
6.1 Beschreibung der Mikrostruktur	69
6.2 Bestimmung der mechanischen Eigenschaften	72
6.2.1 Bestimmung der Wandstärke und Porosität von Fasermatten	72
6.2.2 Statische Prüfung	73
6.2.3 Dynamische Prüfung	76
6.2.4 Computergestützte Auswertungsverfahren	78
7 Komplexe Gerüststrukturen	83
7.1 Konzeptionierung von Zielstrukturen	83
7.2 Ebene Gerüststrukturen	84
7.2.1 Auswahl und Spinnbarkeit der Polymerlösung	84
7.2.2 Größe und Position des besponnenen Bereichs	86
7.2.3 Faserdurchmesser	87
7.2.4 Porosität und Porengröße	89
7.2.5 Ausrichtung von Fasern	93
7.2.6 Mehrlagige Faserkonstrukte	97
7.2.7 Einlagige Konstrukte aus mehreren Fasertypen	100
7.2.8 Fasern mit Kern und Mantel durch koaxiales Elektrospinnen	100
7.2.9 Graduelles Mischen beim Elektrospinnen	103
7.3 Tubuläre Gerüststrukturen	104
7.4 Herzklappenförmige Gerüststrukturen	110
8 Diskussion	115
9 Zusammenfassung und Ausblick	121
A Anhang	127
Literatur	139

Abbildungsverzeichnis

3.1	Schichtweiser Aufbau von menschlichem Gewebe - Haut	5
3.2	Schichtweiser Aufbau von menschlichem Gewebe - Blutgefäß	6
3.3	Schichtweiser Aufbau von menschlichem Gewebe - Aortenklappe	7
3.4	Degradationsverhalten eines resorbierbaren Polymers	11
3.5	Strukturformeln resorbierbarer Polymere	13
3.6	Strukturformeln organischer Lösemittel	14
3.7	Charakteristische Spannungs-Dehnungs-Diagramme von Kunststoffen . . .	16
3.8	Geometrie verschiedener Porentypen	18
4.1	Prothesen für den Ersatz von menschlichen Blutgefäßen.	22
4.2	Mechanische und biologische Herzklappenprothese	23
4.3	TAVI-Herzklappenprothese	24
4.4	Gerichtete Erstarrung von porösen Gerüststrukturen	28
4.5	Aufbau für das 'rapid prototyping' mittels Schmelzschichten	29
4.6	Geflochtenes Flächengebilde zur Verwendung als Gefäßprothese	32
4.7	Grundlegender Versuchsaufbau für den Elektrosppinnprozess	34
4.8	Anzahl der Veröffentlichungen im Bereich Elektrosppinnen	36
4.9	Kollektortypen beim Elektrosppinnen	40
5.1	Spritzenpumpen zur Förderung von Polymerlösung	49
5.2	Koaxiales Elektrosppinnen von Polymerlösungen	50
5.3	Faserausrichtung auf dem Trommelkollektor	52
5.4	Faserablage beim 'gap spinning'	52
5.5	Physikalische Mechanismen und Aufladungseffekte beim 'gap spinning' . .	53
5.6	Verschiedene Ausführungen von Rotationskollektoren	54
5.7	Aufbau zum Elektrosppinnen mehrerer Fasertypen	55
5.8	Translationskollektor zum Elektrosppinnen ausgerichteter Fasern	56
5.9	Ablage von ausgerichteten Fasern auf dem Translationskollektor	57
5.10	Laserschneiden von elektrogewebenen Fasermatten	59
5.11	Verfahrensschema zum Laserfügen von Fasermatten	60
5.12	Verbindungskonzepte beim laserbasierten Fügen von Fasermatten	60
5.13	Mittels Laser gefügte Fasermatten (T-Stoß)	61
5.14	Mittels Ultrakurzpuls-Laser perforierte Fasermatten	62
5.15	Anlagenkonzept für das Elektrosppinnen	64

5.16	Gerüststruktur für das Tissue Engineering von Blutgefäßen	65
5.17	Schema der Automatisierungsumgebung auf Basis von ROS	66
5.18	Screenshot des kivy-Programms Tube Designer	67
6.1	Bestimmung des mittleren Faserdurchmessers von Gerüststrukturen	70
6.2	Interaktion von Zelle und Gerüststruktur	71
6.3	Bestimmung der Porengröße von elektrogewebenen Gerüststrukturen.	71
6.4	Messung der Wandstärke von Gerüststrukturen	73
6.5	Einspannung und Probengeometrie für den statischen Zugversuch	74
6.6	Eingießvorrichtung für die mechanische Prüfung	75
6.7	Mechanische Eigenschaften abhängig von der Eingießmethode	76
6.8	Dynamische Prüfung mit dem BOSE-ElectroForce-System	77
6.9	Spannungs-Dehnungs-Diagramm aus dynamischer Prüfung	79
6.10	Verlauf der Hysteresekurven beim dynamischem Zugversuch	80
6.11	Flächeninhalte der Hysteresekurven beim dynamischen Zugversuch	81
7.1	Limitierende Faktoren bei der Spinnbarkeit von Polymerlösungen	85
7.2	Besponnener Bereich auf dem Flachkollektor	86
7.3	Mit PCL-Fasern besponnener Bereich auf dem Flachkollektor	87
7.4	Faserdurchmesser abhängig von Konzentration und Flussrate	88
7.5	Faserdurchmesser abhängig von Konzentration und Geschwindigkeit.	89
7.6	Porendurchmesser bei unterschiedlichen Polymerkonzentrationen	92
7.7	Porendurchmesser abhängig von der Polymerkonzentration	92
7.8	Faserausrichtung abhängig von der Kollektorgeschwindigkeit	94
7.9	Faserausrichtung abhängig von Geschwindigkeit und Konzentration	95
7.10	Mechanische Eigenschaften abhängig von der Kollektorgeschwindigkeit	96
7.11	Mehrlagige Matte mit relativer Faserausrichtung	97
7.12	Mehrlagige Fasermatte aus verschiedenen Polymerlösungen	99
7.13	Delamination und Schrumpfung bei mehrlagigen Fasermatten	99
7.14	Gleichzeitiges Verspinnen unterschiedlicher Polymerlösungen	101
7.15	Koaxial gewebene Hohlfasern	101
7.16	Kumulative Freisetzung aus koaxialen Fasern	102
7.17	Faserdurchmesser beim graduellen Mischen von Polymerlösungen	104
7.18	Mit Fasern besponnener Bereich auf dem Wellenkollektor	105
7.19	Abgelegte Fasermenge auf dem Wellenkollektor	106
7.20	Elektrogewebene Röhrchen für den Einsatz als Gefäßprothese	107
7.21	Kollektor zur Produktion langer elektrogewebener Röhrchen	107
7.22	Wandstärke eines elektrogewebenen und gepressten Röhrchens	108
7.23	Zugfestigkeit von elektrogewebenen und gepressten Röhrchen	109
7.24	Lasergeschnittener Stent aus elektrogewebenen Röhrchen	109
7.25	Mit Polymerfasern besponnener Stent	110

7.26	Kollektoren für die Herstellung von elektrogewebenen Herzklappen . . .	111
7.27	Entwicklungsstufen von elektrogewebenen Gerüststrukturen	112
7.28	Gerüststruktur für den Ersatz menschlicher Herzklappen	113
8.1	Morphologie abhängig von Kollektorgeschwindigkeit und Konzentration . .	118
9.1	Prozessparameter und Eigenschaften elektrogewebener Gerüststrukturen .	123
A.1	Faserablage beim 'gap spinning' in Abhängigkeit vom Winkel	127
A.2	Mechanische Eigenschaften des Polymers Polycaprolacton	128
A.3	Belastbarkeit von Fügeverbindungen	128
A.4	Flächeninhalte der Hysteresekurven bei verschiedenen Vordehnungen . . .	129
A.5	Niedrige und hohe E-Module von Fasermatten mit Vordehnung	130
A.6	Porosität abhängig vom Lösemittel	131
A.7	Porosität abhängig von der Polymerkonzentration	131
A.8	Porosität abhängig von der elektrischen Spannung	132
A.9	Hysteresekurve abhängig von der Kollektorgeschwindigkeit	132
A.10	Korrelationsmatrix Faserausrichtung	133
A.11	Korrelationsmatrix Faserdurchmesser	134
A.12	Korrelationsmatrix Porosität	135
A.13	Korrelationsmatrix besponnener Bereich	136
A.14	Korrelationsmatrix Reißfestigkeit	136
A.15	Korrelationsmatrix Dehnung	136
A.16	Korrelationsmatrix E-Modul	137

Tabellenverzeichnis

3.1 Schichtstruktur der menschlichen Aortenklappe	8
3.2 Chemische, physikalische und mechanische Eigenschaften von Polymeren . .	11
3.3 Chemische und physikalische Eigenschaften von Lösemitteln	14
4.1 Vergleich von Herstellungsverfahren für Gerüststrukturen	33
4.2 Zustandsgrößen und Einflussparameter beim Elektrosponnen	37
6.1 Herstellungs- und Prüfparameter für mechanische Untersuchung	78
7.1 Löslichkeit von Polymeren	85
7.2 Porosität abhängig vom Lösemittel	90
7.3 Porosität abhängig von der Polymerkonzentration und der Flussrate	91
7.4 Porosität abhängig von der elektrischen Spannung	91
7.5 Mechanische Kennwerte und Faserdurchmesser abhängig von Vordehnung .	98

Formelzeichen

Symbol	Einheit	Bedeutung
A	cm	Abstand zwischen Düse und Kollektor
c	mg/ml	Konzentration
Δp	Pa	Differenzdruck
ϵ	mm/mm	Dehnung
ϵ_B	mm/mm	Reißdehnung
E	MPa	Elastizitätsmodul
γ_{lg}	N/m	Grenzflächenspannung (flüssig-gasförmig)
n	1/s	Drehzahl
p_e	kPa	Dampfdruck
Φ	–	Porosität
Q	ml/h	Flussrate
rF	%	Relative Luftfeuchte
r_p	m	Porenradius
r_K	m	Kollektorradius
ρ	g/cm ³	Dichte
R_e	MPa	Streckgrenze
$R_{p0,2}$	MPa	Dehngrenze
σ	MPa	Zugspannung
σ_B	MPa	Reißfestigkeit
σ_M	MPa	Zugfestigkeit
T_g	°C	Glasübergangstemperatur
T_M	°C	Schmelztemperatur
Θ	°	Benetzungswinkel
U	kV	elektrische Spannung (Düse)
v_K	m/s	Kollektorgeschwindigkeit
V	ml	Volumen
dV/dt	ml/min	Volumenstrom

Abkürzungen

Abkürzung	Bedeutung
EZM	Extrazelluläre Matrix
GUI	Graphical user interface
HFIP	Hexafluorisopropanol
LIFT	Laser Induced Forward Transport
PCL	Polycaprolacton
PEEK	Polyetheretherketon
PEG	Polyethylenglykol
PEO	Polyethylenoxid
PESU	Polyethersulfon
PET	Polyethylenterephthalat
PHB	Polyhydroxybuttersäure
PLA	Polylactid
PLDA	Poly(L-lactid-co-D-lactid)
PLGA	Poly(lactid-co-glycolid)
PLLA	Poly(L-lactid)
PP	Polypropylen
PS	Polystyrol
PTFE	Polytetrafluorethylen
PVC	Polyvinylchlorid
REM	Rasterelektronenmikroskop
ROS	Robot Operating System
SLS	Selektives Lasersintern
TAVI	Transkatheter-Aortenklappenimplantation
TFE	Trifluoroethanol

Kurzfassung

Stichworte: Tissue Engineering, Elektrosponnen, Faser, extrazelluläre Matrix, Herzklappe

Durch das Elektrosponnen von Polymeren zu Feinstfasern lassen sich Gerüststrukturen herstellen, welche im Menschen implantiert werden und die Regeneration von Gewebe unterstützen. Im Rahmen dieser Arbeit wird evaluiert, wie sich solche Gerüste durch das Elektrosponnen von Polymerlösungen erzeugen lassen und ob sich die native, extrazelluläre Matrix auf mikrostruktureller Ebene nachbilden lässt. Die zentrale Fragestellung ist dabei, wie die Variation eines Prozess- oder Lösungsparameters die Eigenschaften eines Fasergerüsts beeinflusst und ob die Parameter unabhängig voneinander verändert werden können, um ein Merkmal definiert einzustellen. Außerdem werden Konzepte vorgestellt, wie sich mit Hilfe neu entwickelter Anlagenkomponenten mehrlagige Strukturen herstellen lassen, bei denen Ausrichtung und Zusammensetzung der Fasern schichtweise variiert werden können. Um dies im großen Maßstab bei komplexen dreidimensionalen Geometrien zu realisieren, wird das Fügen, Trennen und Perforieren solcher Gerüste mittels Laser umgesetzt. Die einzelnen Verfahrensschritte werden dazu automatisiert und in einen Gesamtprozess integriert. So können Matten, Garne, tubuläre und herzklappenförmige Gerüste mit auf den Anwendungsfall abgestimmter Mikrostruktur (extrazelluläre Matrix, EZM) sowie Zusammensetzung hergestellt werden.

Abstract

Defined manipulation of micro- and macrostructure of electrospun scaffolds

Keywords: tissue engineering, electrospinning, fiber, extracellular matrix, heart valve

Electrospinning of polymers is a process suitable for producing scaffold structures that can be implanted in the human body and support tissue regeneration. This study evaluates how such scaffolds can be produced by electrospinning and if it is possible to mimic the extracellular matrix on a microstructural level. The central hypothesis focuses on the correlation between scaffold properties and variations of process- and solution-parameters. In addition, it will be clarified if it is possible to vary parameters independently to adjust a property in a defined manner.

Furthermore, it will be shown how hierarchical structures can be produced with newly developed system components and concepts. Using these it is possible to vary fiber alignment and composition layer-wise. To upscale these methods for complex, three-dimensional macrogeometries, laser-based cutting and joining of scaffolds will be presented. For this, the production process is automated and the individual steps are integrated in a comprehensive concept. This allows for the production of mats, tubes or heart-valve-shaped scaffolds with customized microstructure mimicking the native, extracellular matrix.

1 Einleitung

Im Zuge des demografischen Wandels wird die Häufigkeit altersbedingter Erkrankungen in den nächsten Jahren deutlich zunehmen. Dabei beanspruchen besonders die Folgen kardiovaskulärer Erkrankungen die Gesundheitssysteme in hohem Maße [1]. Gleichzeitig steht nur eine begrenzte Anzahl von Organ- und Gewebespenden für eine Therapie der Patienten zur Verfügung. Neben altersbedingten Krankheiten existieren auch eine große Zahl genetisch bedingter Defekte, deren Auswirkungen besonders junge Menschen treffen. Es ist daher notwendig, neue Technologien und Konzepte zu entwickeln, die eine Regeneration oder sogar den vollständigen Ersatz von menschlichem Gewebe oder Organen ermöglichen.

In den letzten Jahrzehnten hat es im Bereich der Biomedizintechnik bedeutende Fortschritte gegeben, so dass heute schon die Symptome und häufig auch die Ursachen vieler Krankheiten behandelt werden können. Eine Möglichkeit ist der Einsatz von Implantaten zur Wiederherstellung der Funktion einer defekten Komponente des menschlichen Körpers. Dafür werden meist konventionelle, metallische, keramische oder polymere Werkstoffe verwendet. Dies hat den Vorteil, dass auf bewährte Fertigungstechnologien zurückgegriffen werden kann und die Eigenschaften der Werkstoffe weithin bekannt sind. Es wurde in der Vergangenheit jedoch unterschätzt, in welchem hohem Maße sich der menschliche Organismus mit Hilfe des Immunsystems gegen die Einbringung von Fremdmaterial wehrt und so die Funktionalität des Implantats an sich sowie die Gesundheit des Patienten beeinträchtigt wird. Eine Strategie, um Fremdkörperreaktionen zu begegnen, ist die Modifikation der Implantatoberfläche. Das Implantat soll dadurch für den Organismus unsichtbar werden und Fremdkörperreaktionen nicht mehr auftreten. Diese Strategie wird z.B. bei mechanischen Herzklappen angewendet, die mit pyrolytischem Kohlenstoff beschichtet sind, um das Anhaften von Blutbestandteilen zu unterbinden. So wird die thrombogene Wirkung des Implantats herabgesetzt und die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von Komplikationen durch Blutgerinnsel verringert. Häufig müssen Patienten trotz dieser Fortschritte bei der Implantatgestaltung lebenslang Medikamente einnehmen, um das Risiko von Fremdkörperreaktionen zu minimieren [2].

Ein auf die nachhaltige Behebung des Problems fokussierter Ansatz sieht daher die Verwendung von resorbierbaren Werkstoffen vor [3]. Derartige Implantate sollen die Neubildung von patienteneigenem Gewebe unterstützen und werden mit der Zeit vom Körper rückstandsfrei abgebaut, so dass keine dauerhafte Angriffsfläche für das Immunsystem existiert. Bekanntestes Beispiel ist polymeres, resorbierbares Nahtmaterial, das keine nachfolgende Entfernung durch den Arzt erfordert. Hierdurch verringern sich der Behandlungsaufwand und die Kosten. Zudem werden neue Operationsmethoden wie Nähte an inneren Organen möglich (z.B. im Bauchraum). Nach der Etablierung von resorbierbaren Polymeren zum Vernähen von oberflächlichen Verletzungen wird nun angestrebt, größere Teile nativen Gewebes auf gleiche Art und Weise wiederherzustellen [4]. Das im Rahmen dieser Arbeit untersuchte Konzept sieht dazu die Verwendung einer dreidimen-

sionalen, polymeren Gerüststruktur zur Regeneration von Gewebe vor. Das Gerüst soll dabei die anfänglich notwendige, mechanische Stabilität bereitstellen und als formgebende Komponente bei der Gewebeneubildung bzw. Leitung von Zellen wirken. Im Verlauf des Einsatzes wird es vom Körper resorbiert und von nativem Gewebe ersetzt. Hier hat sich in den letzten Jahren die Herstellung von Faservliesen mittels Elektrosponnen in den Fokus des Interesses gestellt. Das Verfahren ist seit über 100 Jahren bekannt und wird bereits in anderen Bereichen der Industrie erfolgreich eingesetzt - u.a. für die Herstellung von Membranen zur Filtration von Luft [5]. Elektrogesponnene Strukturen sind faserförmig, haben eine hohe Porosität und eine auf das Volumen bezogene große Oberfläche. Dieser Umstand soll im Zuge der Regeneration von menschlichem Gewebe genutzt werden, um die Ansiedlung von patienteneigenen Zellen innerhalb des Fasergestüts zu begünstigen [6]. Gleichzeitig sind elektrogesponnene Strukturen mechanisch sehr stabil, so dass sie formgebend und funktional wirken können.

Der erfolgreiche Einsatz von Gerüststrukturen hängt maßgeblich von deren Besiedelbarkeit bzw. Infiltrierbarkeit mit Zellen ab. Dieser Vorgang lässt sich durch eine an die natürliche extrazelluläre Matrix (EZM) angepasste Mikrostruktur des Implantats beeinflussen. Wichtige Kriterien sind dabei Faserdurchmesser und Porosität des Vlieses. Aufgabe dieser Arbeit ist es, Möglichkeiten zur definierten Beeinflussung der Mikrostruktur des Gerüsts aufzuzeigen und produktionstechnisch umzusetzen. Außerdem werden Verfahren vorgestellt, um verschiedene Makrogeometrien - also die mit bloßem Auge sichtbare Gestalt und Form von Implantaten - zu erzeugen. Dies beinhaltet flache Konstrukte für den Ersatz von Haut oder Sehnen, tubuläre Strukturen für den Einsatz als Gefäßprothese und komplexe dreidimensionale Geometrien, wie sie u.a. bei einer menschlichen Herzklappe auftreten. Weiterhin wird erläutert, wie sich automatisierte Verfahren zur Mikrostrukturierung, also z.B. das Realisieren einer Faserausrichtung oder unterschiedlicher Faserdurchmesser mit der Herstellung bestimmter Makrogeometrien kombinieren lassen.

Fernziel ist die Bereitstellung von mikro- und makroskopisch individuell angepassten Gerüststrukturen für die Regeneration von menschlichem Gewebe und Organen. Zukünftig sollen so maßgeschneiderte Lösungen für eine Vielzahl von Erkrankungen, jederzeit und für jeden Menschen verfügbar gemacht werden.

2 Ziele und Gliederung der Arbeit

Wissenschaft ist ein kontinuierlicher Prozess.

Es ist wie mit einer Kathedrale im Mittelalter, die langsam entsteht.

Am Ende hat man etwas, worauf man stolz sein kann.

THOMAS SÜDHOF

Die Vielseitigkeit und Relevanz des Elektrospleinprozesses und der herstellbaren Gerüste wurde bereits in zahlreichen Publikationen nachgewiesen [7]. Auch am Institut für Mehrphasenprozesse wurden schon Studien bezüglich des strukturellen Einflusses von elektrosponnenen Feinstfasermatten auf den Besiedlungserfolg mit Zellen durchgeführt. Zudem wurde die Freisetzung von Wirkstoffen aus Fasermatten untersucht. Es konnte festgestellt werden, dass sowohl die Zelldichte pro Fläche [8] als auch die freigesetzte Wirkstoffmenge pro Zeit vom Durchmesser der Einzelfaser abhängen [9]. Bei der Durchführung besagter Studien wurde jedoch deutlich, dass prozessbedingte Schwankungen des Durchmessers einen starken Einfluss auf die Zellbesiedlung haben, was signifikante Aussagen erschwerte. Diese Schwankungen wurden vor allem auf Defizite bei der Anlagentechnologie zurückgeführt. Die bestehende Arbeit knüpft direkt an den vorangegangenen Forschungen an und hat zum Ziel, diese Defizite durch Neugestaltung der Anlage und ihrer Komponenten zu beheben. Außerdem wird eine weitere Ursache untersucht, die zu den beschriebenen Abweichungen geführt haben könnte: die gegenseitige Beeinflussung von Lösungs- und Prozessparametern und eine daraus resultierende Änderung der Fasereigenschaften. Liegt eine solche Beeinflussung vor, ist zu klären, ob sie sich systematisch beschreiben lässt. Neben dem Faserdurchmesser, der Faserausrichtung und der Porosität werden auch die mechanischen Eigenschaften elektrosponnener Proben evaluiert und in Abhängigkeit variierender Prozessparameter charakterisiert. So steht ein weiteres Qualifikationskriterium für folgende initiale Hypothese bereit:

Hypothese 1 *Die mechanischen und morphologischen Eigenschaften von elektrosponnenen Fasermatten lassen sich definiert über Lösungs- und Prozessparameter einstellen.*

Im nächsten Schritt werden bestehende Prozessvarianten und Anlagenkomponenten aus der Literatur erfasst, konstruktiv am Institut umgesetzt und erprobt. Die identifizierten Vor- und Nachteile sowie die Kombinationsmöglichkeiten verschiedener Prozessvarianten bilden die Basis für ein Anlagenlayout, das sich für die Herstellung von Gerüststrukturen für das Tissue Engineering eignet. Um die Funktionsfähigkeit zu validieren, werden abschließend Gerüststrukturen mit unterschiedlicher Mikrostruktur und Makrogeometrie produziert, wobei der Grad der Komplexität bei der Herstellung sukzessive erhöht wird: Von der einlagigen Matte aus einem Fasertyp bis zur aus mehreren Lagen und verschiedenen Fasertypen bestehenden tubulären Gerüststruktur für den Ersatz von Blutgefäßen oder einer Herzklappe. In diesem Zusammenhang wird auch die

Wechselwirkung bei der Erzeugung einzelner Gestaltungsmerkmale untersucht und die zweite Hypothese dieser Arbeit geprüft:

Hypothese 2 *Die Mikrostruktur und makroskopische Geometrie lassen sich unabhängig voneinander einstellen, so dass der hierarchische Aufbau von natürlichem Gewebe nachgebildet werden kann.*

Weiterhin werden die Rahmenbedingungen für einen reproduzierbaren Produktionsprozess ermittelt. Die Reproduzierbarkeit stellt dabei den Flaschenhals ('bottle neck') auf dem Weg zur Nachbildung komplexer Gewebestrukturen und damit den Sprung von der Petrischale zum lebenden Organismus dar. Dazu wird eine Automatisierung des Prozesses durch Integration aller Anlagenkomponenten in ein gemeinsames System angestrebt. Dies betrifft vor allem die Steuerlektronik, die Datenverarbeitung und die graphische Benutzerschnittstelle. Zukünftig ergeben sich so neue Möglichkeiten bei der Gestaltung des Prozesses und es können komplexe Abläufe eingerichtet werden, die manuell nicht umzusetzen sind. Dies umfasst zum einen Prozessschritte, die häufig wiederholt werden müssen, und zum anderen Handgriffe, die eine Gefahr für den Bediener darstellen. Vor dem Hintergrund der strengen Regulatorien für Medizinprodukte ist eine Reduktion des Einflussfaktors Mensch und eine Erhöhung der Wiederholgenauigkeit durch Automatisierung zusätzlich von Vorteil.

3 Grundlagen

3.1 Anatomie von menschlichem Gewebe

Biologische Strukturen setzen sich aus Zellen und den von ihnen synthetisierten Komponenten wie z.B. Kollagen oder Proteoglykanen zusammen. Die räumliche Anordnung der Zellen erfolgt dabei durch die Einbettung in der extrazellulären Matrix. Hierbei können in der Matrix befindliche Zellen miteinander kommunizieren und interagieren, um biologische Abläufe wie z.B. die Heilung von Verletzungen umzusetzen [2].

Ein Verbund von gleichartig differenzierten Zellen wird als Gewebe bezeichnet, wobei vier Grundtypen unterschieden werden: Epithel-, Binde-, Muskel- und Nervengewebe. Natives Gewebe ist dabei im Allgemeinen aus verschiedenen Stoffen bzw. Bestandteilen aufgebaut, die häufig in mehreren Schichten vorliegen (s. Abb. 3.1). Der Verbund aus verschiedenen Zelltypen und Proteinen ist mechanisch sehr stabil und stellt eine dichte Barriere gegen das Eindringen von Fremdstoffen in den Organismus dar [2]. Die Oberflächen des Körpers (Haut, Schleimhaut) werden von Epi-

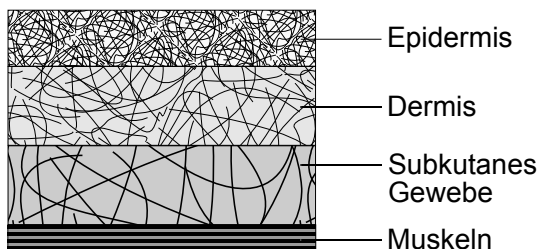


Abbildung 3.1: Schichtweiser Aufbau von menschlichem Gewebe am Beispiel der Haut. In den oberen Schichten, der Epidermis, der Dermis und dem subkutanen Gewebe liegt keine Ausrichtung der faserförmigen Bestandteile vor. Die unterste Schicht besteht aus gerichteten Muskelfasern (nach [3]).

thelgewebe gebildet, welches ein- oder zweilagig ausgeprägt ist. Binde- bzw. Stützgewebe dient dem Erhalt der strukturellen Integrität und füllt den Raum zwischen den Funktionseinheiten des Körpers. Die Erzeugung entsprechender Füllsubstanz und faserförmiger Proteine erfolgt durch Fibroblasten. Dieser Zelltyp ist zudem maßgeblich an Reaktionen auf Verletzungen oder das Einbringen von Implantaten beteiligt. Muskelgewebe wirkt in biologischen Systemen als Akteur zum Ausführen von Bewegungen. Dabei wird zwischen der für schnelle Bewegungen zuständigen quergestreiften Muskulatur (z.B. Herzmuskel) und der für langsame Kontraktionen nötigen glatten Muskulatur (z.B. Blutgefäß) unterschieden. Nervengewebe dient der Weiterleitung von Reizen und der Steuerung sowie Regelung von biologischen Funktionen. Dieser Gewebetyp ist aus Netzwerken von verknüpften Nervenzellen aufgebaut [2].

Das natürliche Gewebe von Haut, Blutgefäßen oder Herzklappen weist eine auf den Anwendungsfall optimierte und im Rahmen der Evolution bewährte Makrogeometrie und Mikrostruktur auf. Ausschlaggebende Kriterien sind u.a. die mechanischen Eigenschaften oder die spezifische Durchlässigkeit für einzelne Substanzen. Eine hohe Belastbarkeit oder Dehnbarkeit wird durch mehrschichtige und aus verschiedenen Gewebearten bestehenden Verbundstrukturen erreicht. Dies ermöglicht es dem Körper, durch die Kombination einer überschaubaren Bandbreite von Bausteinen (Proteine, Zellen) eine Vielzahl von Anwendungs- und Belastungsfällen abzudecken bzw. dafür geeignete Gewebetypen zu synthetisieren. Zudem können die Eigenschaften verschiedener Gewebelagen superpositioniert werden, so dass z.B. eine selektive Durchlässigkeit für bestimmte Stoffe bei gleichzeitiger, spezifischer Anpassung der mechanischen Kennwerte erreicht wird [2]. Der Aufbau von Blutgefäßen illustriert diese Vielseitigkeit: die innere Schicht (*Tunica intima*) besteht aus Endothelzellen, die den Übergang von Substanzen aus dem Blut in das umliegende Gewebe ermöglichen und Entzündungsreaktionen regulieren (s. Abb. 3.2). Die Zellen dieser Ge-

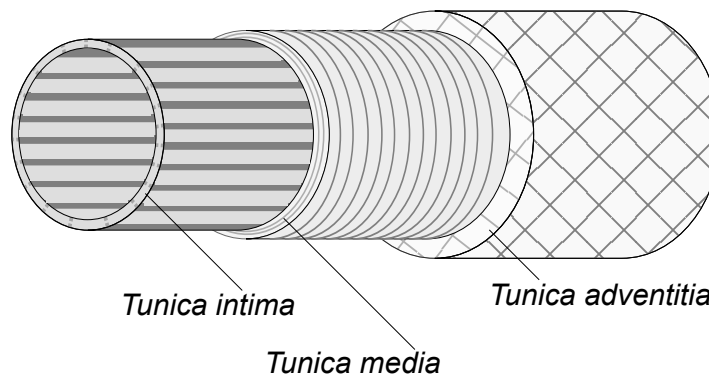


Abbildung 3.2: Schichtweiser Aufbau von menschlichem Gewebe am Beispiel des Blutgefäßes. Die *Tunica intima* besteht aus Endothelzellen und stellt die Grenzschicht zwischen Blut und Gewebe dar. Die *Tunica media* besteht aus glatten Muskelzellen, die den Spannungszustand des Gefäßes regulieren. Die aus Kollagen und Fibroblasten aufgebaute *Tunica adventitia* bindet das Gefäß in das umliegende Gewebe ein (nach [10]).

webeschicht sind in Richtung der Blutströmung, also in Längsrichtung (longitudinal) des Gefäßes, ausgerichtet. Die mittlere Gewebeschicht, die *Tunica media*, besteht aus in Umfangsrichtung (zirkumferentiell) ausgerichteten glatten Muskelzellen sowie Elastin- und Kollagenfasern. Über die Muskelzellen kann eine mechanische Spannung aufgebracht werden, die das Blutgefäß verengt. Dadurch wird der Blutdruck und die Strömungsform gezielt reguliert [2]. Die Einbindung des Gefäßes in das umliegende Gewebe des Körpers erfolgt über die *Tunica adventitia*, die überwiegend aus Kollagen und Fibroblasten besteht. Arterien und Venen haben grundlegend den gleichen Aufbau, jedoch unterscheidet sich die Dicke der einzelnen Schichten und teilweise die Ausrichtung der enthaltenen Zellen, was auf das geringfügig unterschiedliche Anforderungsprofil beim Transport von Blut in Richtung des Herzen bzw. in Gegenrichtung zurückzuführen ist. Dies demonstriert wiederum die Vielseitigkeit des Baukastensystems der Natur und die Möglichkeit, mit einer überschaubaren Anzahl an Bausteinen für viele unterschiedliche Bedingungen maßgeschneiderte Lösungen zu realisieren. Diese Variabilität ist auch beim Vergleich von Gefäßen des

selben Typs an unterschiedlichen Orten des Körpers zu beobachten: so weisen Arterien in Nähe des Herzens eine ausgeprägtere *Tunica intima* auf, während weiter vom Herzen entfernte Arterien eine dickere *Tunica media* besitzen, um sich den lokalen Strömungs- und Lastbedingungen optimal anzupassen [2]. Bei der Durchlässigkeit des Endothels liegen ähnliche Unterschiede vor, so dass z.B. die im Gehirn befindlichen Gefäßwände eine Barriere für viele Substanzen darstellen, aber andernorts der Übergang widerstandslos möglich ist.

Eine der wichtigsten Funktionen des menschlichen Organismus ist der gerichtete Fluss von Blut, der durch Herzklappen reguliert wird. Die dauerhafte Funktionsfähigkeit dieser Ventile stellt die Natur durch eine Kombination aus komplexer Geometrie und optimaler Mikrostruktur sicher. Die menschliche Herzklappe ist dadurch im Idealfall in der Lage, sich im Laufe des Lebens ca. 3 Milliarden Mal zu öffnen und sicher zu schließen. Dazu setzt sich der schichtweise Aufbau von Blutgefäßen in den Klappen fort (s. Abb. 3.3). Der zylindrische Teil einer Herzklappe stellt einen

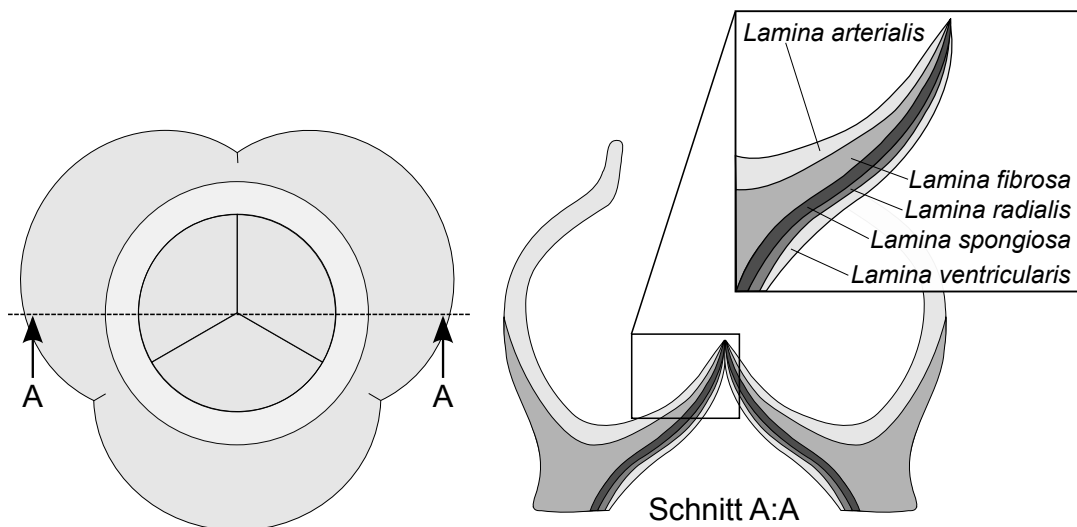


Abbildung 3.3: Schichtweiser Aufbau von menschlichem Gewebe am Beispiel der Aortenklappe. Der Aufbau der Segel ähnelt dem von Blutgefäßen und wird ergänzt durch drei innenliegende Schichten mit unterschiedlicher Komposition und Faserausrichtung (nach [11, 12]).

Abschnitt eines Blutgefäßes dar und gleicht diesem im Aufbau mit innenliegender *Tunica intima*, zwischenliegender *Tunica media* und äußerer *Tunica adventitia*. Die *Tunica intima* geht an der Vorderseite der Segel der Aortenklappe in die als *Lamina ventricularis* bezeichnete Deckschicht über. Die Hinterseite der Segel wird als *Lamina arterialis* bezeichnet und geht am Austritt der Klappe in die *Tunica intima* des anschließenden Gefäßes über. Der Kern der Segel wird aus drei Gewebeschichten mit unterschiedlicher Zusammensetzung und Faserausrichtung gebildet. Die *Lamina radialis* besteht aus feinen, radial ausgerichteten Kollagen- und Elastinfasern. Die *Lamina spongiosa* stellt eine stabilisierende Grenzschicht dar, die überwiegend aus Proteoglykanen zusammengesetzt ist. Die *Lamina fibrosa* besteht aus dichten Kollagenfaserbündeln, die in Umfangsrichtung bezogen auf das Gefäß verlaufen. Die Ausrichtung und Dicke der einzelnen Schichten bewirkt im Zusammenspiel die hohe mechanische Belastbarkeit und sorgt dafür, dass die Herzklappe suffizient schließt (s. Tab. 3.1) [11, 12].

3.2 Kardiovaskuläres Tissue Engineering

Das Verfahren des Tissue Engineerings bezeichnet die Zucht von künstlichem Gewebe zur Regeneration oder zum Ersatz von Komponenten des menschlichen Körpers. Aufgrund der klinischen Relevanz hat besonders das kardiovaskuläre Tissue Engineering großes wirtschaftliches Potential [1]. Erfahrungen mit bewährten, konventionellen Methoden und Produkten bieten zudem eine optimale Ausgangsposition für neue Entwicklungen. Erkrankungen des kardiovaskulären Systems sind schon heute eine der weltweit häufigsten Todesursachen. Mit steigender Lebenserwartung und ungesunder Lebensführung wird die Zahl der Erkrankungen weiter zunehmen [1]. Dabei weisen bestehende Behandlungsmethoden hohe Fehlerraten auf oder sind nur limitiert verfügbar. Das Verfahren des kardiovaskulären Tissue Engineerings soll helfen, diese Situation zu entschärfen und neue Behandlungsmöglichkeiten eröffnen [2]. Es wird zwischen Ansätzen mit und ohne Einsatz einer Gerüststruktur unterschieden. So wird u.a. erforscht, ob sich Minderdurchblutung (Ischämie) durch die direkte Injektion von Endothelzellen in betroffenes Gewebe beheben lässt. Die Zellen sollen die Vaskularisierung dieses Gewebeabschnitts einleiten. Anschließend verbinden sich die neugebildeten Gefäße mit dem bestehenden Gewebe. Auch die Injektion von Stammzellen zur Regeneration des Herzmuskels wird erprobt [13]. Bei auf einem Gerüst basierenden Ansätzen werden Zellen auf porösen Strukturen in Form des zu ersetzenden Gewebes oder Organs kultiviert. Das Gerüst dient als temporäre, extrazelluläre Matrix und kann aus synthetischen oder biologischen Werkstoffen erzeugt werden [14]. Damit es zur Ausbildung von funktionellem Gewebe kommt, müssen die Bedingungen des natürlichen zellulären Umfelds nachgeahmt werden. Ziel ist es, die Viabilität der Zellen zu maximieren und sie bei der Synthese von nativen, extrazellulären Matrixbestandteilen zu unterstützen. Die Gerüststruktur muss dazu u.a. die Interaktion

Benennung	Dicke [μm]	Aufbau/Funktion
<i>Lamina ventricularis</i>	21 - 48	Dichtes Geflecht aus Kollagen- und Elastinfasern
<i>Lamina radialis</i>	58 - 108	Radial ausgerichtete Kollagen- und Elastinfasern
<i>Lamina spongiosa</i>	40 - 300	Überwiegend Proteoglykane → Stabilisierende Grenzschicht
<i>Lamina fibrosa</i>	80 - 170	In Umfangsrichtung ausgerichtete Kollagenfaserbündel → Mechanische Belastbarkeit
<i>Lamina arterialis</i>	1 - 5	Grenzschicht zu Endothel → Suffizientes Schließverhalten der Klappe

Tabelle 3.1: Benennung, Dicke und Aufbau bzw. Funktion der einzelnen Schichten eines Segels der menschlichen Aortenklappe. Besonders wichtig für die mechanischen Eigenschaften ist die Kombination unterschiedlicher Faserausrichtungen [11, 12].

der Zellen im dreidimensionalen Raum und die Versorgung mit Nährstoffen ermöglichen. Für die Handhabung und mögliche weitere Verfahrensschritte, wie die mechanische Konditionierung im Bioreaktor, muss das Gerüst zudem mechanisch stabil sein [15]. Weitere Voraussetzungen sind Biokompatibilität nach ISO 10993 und die Abstimmung der geometrischen sowie mechanischen Eigenschaften auf das Zielgewebe [13]. Über die Freisetzung von im Gerüst eingebetteten Wirkfaktoren kann das Wachstum bestimmter Zellen verstärkt oder auch für die Gewebeneubildung schädliche Effekte wie z.B. die Ausbildung von Bindegewebe unterdrückt werden [13, 16].

Gerüststrukturen können außerhalb des Körpers in einer statischen Zellkultur (Kulturplatte, Petrischale) oder in einer dynamischen Umgebung (Bioreaktor) *in vitro* kultiviert werden. Für diesen Ansatz werden dem Patienten Zellen entnommen und diese zunächst vermehrt. Dann wird das Gerüst in eine Nährlösung mit Zellen gelegt und unter physiologischen Kulturbedingungen besiedelt. Bei dynamischen Verfahren wird die Gerüststruktur nach dem Anwachsen der Zellen in einen Bioreaktor eingebracht und mechanischer Belastung ausgesetzt. Durch die mechanischen Stimuli sollen die Zellen zur Bildung von nativem Gewebe angeregt werden [17, 18]. Vorteil von dynamischen Verfahren ist die Ähnlichkeit der Belastungsfälle zu denen im menschlichen Körper, jedoch ist der Betrieb eines Bioreaktors zeit- und kostenintensiv. Genereller Vorteil von *in vitro*-Techniken ist die Möglichkeit, die Zellkonzentration und Zugabe von Wachstumsfaktoren sowie Antibiotika jederzeit frei wählen zu können.

Beim reinen *in vivo*-Ansatz wird die Gerüststruktur unbesiedelt direkt in den menschlichen Körper implantiert und dort durch das Einwandern von Zellen aus umliegendem Gewebe besiedelt. Diese Technik ist aktuell jedoch noch wenig verbreitet. Vielmehr werden hybride Ansätze mit Vorkonditionierung *in vitro* verfolgt [19, 20]. Aus produktionstechnischer Sicht stellt die Phase in Kulturschale oder Bioreaktor einen regulatorisch problematischen Prozessschritt dar, weil hohe Anforderungen an die Sterilität und Beaufschlagung mit Substanzen wie Antibiotika erfüllt werden müssen. Es existieren verschiedene Verfahren zur Herstellung von Gerüststrukturen für das Tissue Engineering (s. Kapitel 4.2), die auch kombiniert werden können, um die gewünschten Eigenschaften zu erzielen [21]. Allgemein gilt, dass ein Netzwerk aus miteinander verbundenen Poren, also eine Struktur mit einer insgesamt hohen Porosität und einem hohen Verhältnis von Oberfläche zu Volumen, geeignet ist. Das Gerüst muss dabei eine hohe Affinität für Proteine und Peptide aufweisen, damit sich die Zellen erfolgreich anhaften können [15]. Mögliche Zielgewebe beim Tissue Engineering sind u.a. Haut, Knochen, Knorpel, Sehnen und Komponenten des kardiovaskulären Systems wie Blutgefäße oder Herzklappen.

Dabei lassen sich die Ansätze in zwei Kategorien unterteilen: Eine Möglichkeit ist die Verwendung einer nicht-degradierbaren Prothese, die mit Zellen besiedelt wird, um dadurch die Eigenschaften der Grenzfläche von Implantat und Organismus hinsichtlich der biologischen Verträglichkeit zu optimieren. Die strukturelle Stabilität wird bei diesem Ansatz aber maßgeblich durch künstliches Material bereitgestellt und ein Übergang der strukturellen Integrität auf körpereigenes Gewebe wird nicht angestrebt. Beim zweiten Ansatz wird dagegen ein Implantat verwendet, das die körpereigenen Zellen integriert, so dass die Funktionsweise des nativen Vorbilds wieder hergestellt wird. Üblicherweise ist bei Verwendung einer Stützstruktur zur Formgebung eines solchen Implantats die vollständige Degradation körperfremder Komponenten mit einhergehender Resorption vorgesehen. So bleibt nach erfolgreicher Behandlung kein Fremdmaterial zurück, das vom Immunsystem des Patienten angegriffen werden könnte [13].

Ein Gerüst, das übergangsweise als Matrix für Zellen dienen soll, muss neben der Formgebung auch den Transport von Nährstoffen und Molekülen ermöglichen [2]. Dies betrifft zum einen von außerhalb eingebrachte Wachstumsfaktoren oder -hemmer und zum anderen die intrazelluläre Kommunikation durch Botenstoffe, die von den Zellen selbst synthetisiert werden. Außerdem sollte die Struktur des Gerüsts auf das native, im Zielgewebe vorherrschende, mechanische Belastungsprofil ausgelegt sein.

Die Herausforderung beim kardiovaskulären Tissue Engineering stellt sich aktuell bei der gleichzeitigen Abstimmung von mechanischen Eigenschaften, selektiver Durchlässigkeit und der Ausbildung einer nativen Zellkomposition. Vollständig autologe Ansätze unter Verwendung patienteneigener Zellen sind dabei nur begrenzt praktikabel, da der Bedarfsfall (Unfall, Erkrankung) für ein Implantat häufig spontan eintritt und selten zeitlich planbar ist [2]. In diesem Zusammenhang werden auch Konzepte erforscht, die eine Lagerung von unbesiedelten oder vorkonditionierten Gerüsten vorsehen.

3.3 Resorbierbare Polymere

Polymere sind kettenförmige Moleküle, meist auf Basis von Kohlen- und Wasserstoff, die aus sich wiederholenden Untereinheiten (Monomere) zusammensetzen und mittels Polyaddition oder -kondensation synthetisiert werden [2]. Neben der kettenförmigen Anordnung können Polymere auch Verzweigungen aufweisen oder sich aus verschiedenen Monomerarten zusammensetzen (Copolymer) [22]. Polymere können künstlich auf Basis von Erdöl oder biologischen Rohstoffen (z.B. Mais) synthetisiert werden. Im Bereich des Tissue Engineering kommen zudem häufig natürlich synthetisierte Biopolymere in Form von Proteinen (z.B. Kollagen, Fibrinogen) als physiologisches Substrat zum Einsatz [21, 23, 24]. Es ist daher zwischen Polymeren zu unterscheiden, die auf Basis biologischer Ausgangsstoffe synthetisiert werden, und Biopolymeren, die direkt in biologischen Systemen wie dem menschlichen Körper synthetisiert werden.

In Verbindung mit der Biomedizintechnik ist vor allem die Unterscheidung in resorbierbare und nicht resorbierbare Polymere wichtig. Nicht resorbierbare Polymere sind dabei per Definition über ihre Einsatzdauer hin stabil und behalten ihre Eigenschaften. Resorbierbare Polymere dagegen degradieren über die Zeit im Körper und werden im Rahmen des Stoffwechsels des Patienten abgebaut (s. Abb. 3.4). Dabei hängt die Abbaurate maßgeblich von der Art und Zusammensetzung des Polymers sowie der Kristallinität ab. Aliphatische Polyester wie Polycaprolacton (PCL) oder Polylactid (PLA) werden im Körper bzw. unter physiologischen Bedingungen hydrolytisch und enzymatisch degradiert [26]. Die hydrolytische Degradation erfolgt aufgrund der Diffusion von Wasser in das Polymer und der dadurch hervorgerufenen Depolymerisation - dies entspricht einer umgekehrten Polykondensation [2]. Die Anwesenheit von Säuren, Basen oder Enzymen kann dabei katalytisch wirken, so dass eine genaue Aussage zur patientenspezifischen Dauer der Degradation nicht möglich ist. Zudem hängt die Anfälligkeit für eine durch Enzyme katalysierte Degradation von der Art des Polymers ab. So hat sich gezeigt, dass für PCL eine katalytische Wirkung zu verzeichnen ist, für PLA und PGA jedoch nicht [2]. Großen Einfluss auf die Degradation hat zudem die Kettenlänge (Molekulargewicht) des Polymers: Je höher die Kettenlänge ist, desto länger ist der Degradationszeitraum [2]. Der Abbau ist dabei weitestgehend

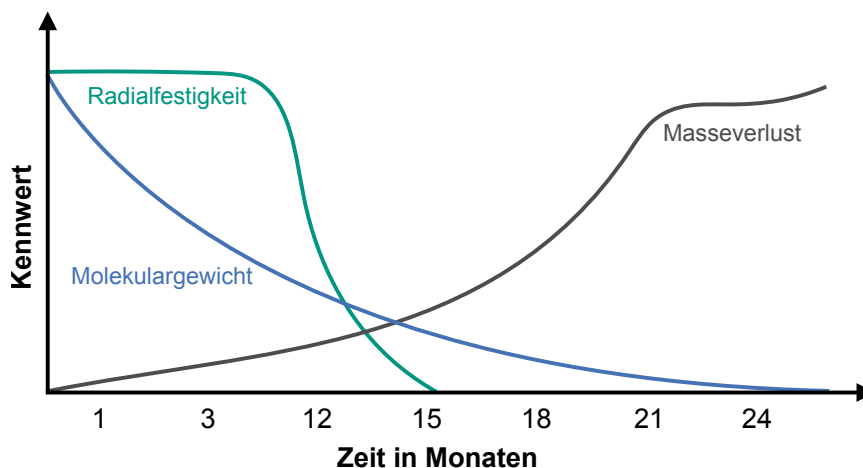


Abbildung 3.4: Degradationsverhalten eines resorbierbaren Polymers: Dargestellt ist die Abnahme der Radialfestigkeit, des Molekulargewichts und der Masseverlust (Evaluation einer Gefäßprothese über einen Zeitraum von 24 Monaten) [25].

	PCL	PLA	PLLA
Strukturformel	s. 3.5(a)	s. 3.5(b)	s. 3.5(c)
Dichte in g/cm ³	1,1 - 1,2	1,2 - 1,4	1,2 - 1,3
Glasübergangstemperatur in °C	-60	54	45 - 60
Schmelztemperatur in °C	58 - 65	150 - 160	170 - 200
Zugfestigkeit (bulk) in MPa	20 - 42	10 - 60	15 - 150
E-Modul (bulk) in MPa	210 - 440	350 - 2800	2700 - 4140
Bruchdehnung in %	300 - 1000	2 - 380	2 - 10
Hydrophilie	gering	gering	gering
Degradationszeitraum 1)	2 - 4 J.	6 M. - 2 J.	2 - 5 J.

Tabelle 3.2: Chemische, physikalische und mechanische Eigenschaften von Polymeren.

1) Dauer bis zur vollständigen Degradation (in Kochsalzlösung, bei 37 °C) [2, 27–30].

nicht-toxisch, bei großen Mengen eingebrachten Implantatmaterials und hohen Abbauraten kann es jedoch zu einer Absenkung des pH-Wertes im umliegenden Milieu durch die Freisetzung von sauren Abbauprodukten kommen [2, 31]. Die Bio- und Hämkompatibilität von aliphatischen Polyestern ist in der Regel hoch, muss jedoch für jedes Polymer und seine Modifikationen in Zusammenhang mit dem Anwendungsfall überprüft werden [31, 32]. Gleiches gilt für natürliche Biopolymere: Allein die Umwandlung von Kollagen zur denaturierten Form Gelatine kann eine veränderte Wirkung auf die Zellverträglichkeit zur Folge haben. Shekhar et al. verglichen die Wirkung von Matten aus Kollagen und aus Gelatine als Gerüst zur Regeneration von Wunden

bei Mäusen. Die Wundheilung verlief mit Kollagen schneller als mit Gelatine, was unter anderem darauf zurückzuführen ist, dass bei Gelatine aufgrund der Aufbereitungsschritte die Struktur der Polymerkette nicht intakt ist und dadurch entzündungsfördernd wirkt. Kollagen weist dagegen eine intakte Struktur auf und fördert so die Wundheilung [24]. Im Zusammenhang mit dem Elektrospinprozess und Tissue Engineering sollte ein Polymer einfach zu verarbeiten sein sowie das Zellwachstum fördern und geeignete mechanische Eigenschaften für die geplante Anwendung aufweisen. Weitere wichtige Aspekte sind die Sterilisier- und Lagerbarkeit.

3.3.1 Polycaprolacton (PCL)

Polycaprolacton ist ein resorbierbarer Polyester, dessen Abbau im menschlichen Körper innerhalb von zwei bis vier Jahren erfolgt (s. Abb. 3.5(a)). Beim hydrolytischen Zerfallsprozess entsteht 6-Hydroxycapronsäure, die vom Körper abgebaut wird, jedoch zu einer Absenkung des pH-Wertes im umliegenden Gewebe führen kann. Hierbei degradieren zunächst die amorphen Domänen der Polymerkette, bevor die kristallinen Bereiche zersetzt werden [26, 33]. PCL weist hydrophobes Verhalten auf, woraus auch eine vergleichsweise hohe Beständigkeit gegen Hydrolyse resultiert, was im Gegensatz zu anderen resorbierbaren Polymeren den Einsatz als Werkstoff für Implantate über einen längeren Zeitraum ermöglicht. Die Anhaftung und Migration von Zellen werden durch die Hydrophobie negativ beeinflusst, so dass häufig eine Modifikation der Oberfläche durch Plasma- oder Beschichtungsverfahren nötig ist [34]. PCL ist in vielen organischen Lösemitteln löslich und mit anderen Polymeren mischbar ('blend') [35–37]. Dies ermöglicht im Rahmen des Elektrospinverfahrens vielfältige Variationen der Zusammensetzung und Morphologie von Gerüststrukturen für das Tissue Engineering. Auch die Kombination mit natürlichen Polymeren wie Kollagen oder Gelatine ist möglich, wobei diese vorher gründlich aufgereinigt werden müssen, damit eine homogene Lösung entsteht. Neben der Vermischung zweier Polymere können auch verschiedene Monomere in Form eines Copolymers chemisch aneinander gebunden werden (z.B. PCL und Polyethylenglykol)[22].

3.3.2 Polylactid (PLA)

Polylactid ist ein resorbierbarer Polyester auf Basis von Milchsäure mit einem Degradationszeitraum von einigen Monaten bis zu wenigen Jahren (s. Abb. 3.5(b)). Durch die Entstehung eines sauren Milieus im Umfeld des degradierenden Implantats können Irritationen, Nekrosen und Gewebeschädigungen auftreten [38]. PLA ist für den klinischen Einsatz im Menschen freigegeben [39]. PLA weist hydrophobes Verhalten auf. Bei elektrogenesponnenen Fasermatten kann der Kontaktwinkel von Wasser abhängig von Faserdurchmesser und Porengröße zwischen 100 und 140 Grad betragen [40]. Die Vermischung mit hydrophilen Biopolymeren wie Gelatine oder Copolymeren wie Poly(lactid-b-ethylenglykol) oder Poly(lactid-co-glykolsäure) (PLGA) sind eine Möglichkeit, um die Hydrophobie abzuschwächen [40–42]. Häufig können daraus jedoch negative Effekte auf die mechanischen Eigenschaften resultieren. So kann ein Copolymer eine geringere Festigkeit und Flexibilität als reines PLA aufweisen, was für die Verwendung als tragfähige Gerüststruktur nachteilig ist - z.B. bei der Regeneration von stark belasteten Komponenten wie

	TFE	HFIP	CHCl ₃
Strukturformel	s. 3.6(a)	s. 3.6(b)	s. 3.6(c)
Dichte in g/cm ³ (20 °C)	1,382	1,596	1,492
Schmelztemperatur in °C	-45	-4	-63
Siedetemperatur in °C	74	58	61
Dampfdruck in kPa (20 °C)	6,66	0,17	21,33
Typ	organisch	organisch	organisch

Tabelle 3.3: Chemische und physikalische Eigenschaften von Lösemitteln [47–49].

gasförmigen Lösemittels aus der Prozessatmosphäre eine wichtige Rolle. Im Zusammenhang mit der Verwendung von zuvor gelösten Polymeren als Implantatwerkstoff im menschlichen Körper ist besonders die vollständige Entfernung des Lösemittels von hoher Bedeutung. Es darf zu keinem Kontakt von Lösemittelresten mit menschlichem Gewebe kommen, da diese toxisch wirken können [50].

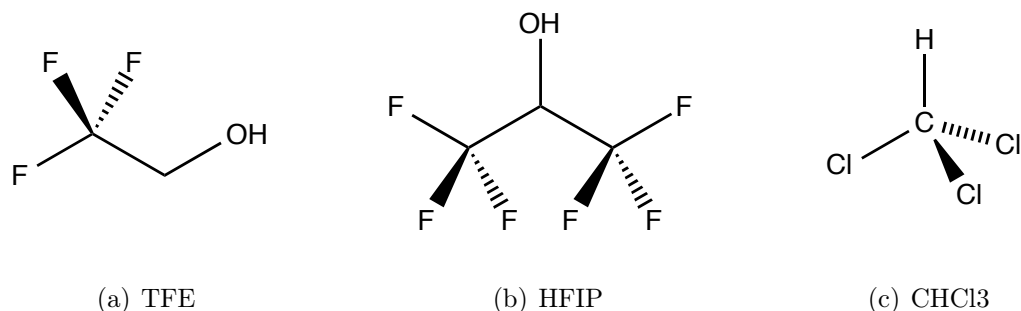


Abbildung 3.6: Strukturformeln organischer Lösemittel. 2,2,2-Trifluoroethanol (a), Hexafluoro-2-propanol (b), Chloroform (c).

3.5 Mechanische Prüfung und Charakterisierung

Die mechanische Prüfung von Werkstoffen stellt eine klassische Unterdisziplin der Ingenieurwissenschaften dar. Für etablierte Materialien sind daher eine Vielzahl von theoretischen Abhandlungen und in der Praxis anwendbaren Normen verfügbar. Im Zusammenhang mit der Biomedizintechnik ist die Materialprüfung jedoch weniger ausführlich beschrieben. Weiterhin existieren in der englischsprachigen Literatur variierende Bezeichnungen für die gleichen mechanischen Kenngrößen. Es soll daher an dieser Stelle eine Bestandsaufnahme der grundlegenden Kenngrößen vorgenommen und diese einleitend erklärt werden. Gleichzeitig werden deutsche sowie englische Bezeichnungen einander zugeordnet, so dass eine einheitliche Interpretation von in der Literatur genannten Werten möglich wird. Weiterhin kann aus der Definition einzelner Kenngrößen abgeleitet werden, ob diese relevante Kennwerte zur Charakterisierung elektrogessponnener Proben liefern. Die Kennwerte zur Beschreibung der mechanischen Eigenschaften eines polymeren

Werkstoffe sind in der Norm ISO 527 definiert [51, 52]. Die statische Prüfung erfolgt mit einer Zugprüfmaschine, in die eine knochen- oder streifenförmige Probe eingespannt wird. Nun wird unter Vergrößerung des Abstands zwischen den Einspannungspunkten (Klemmbacken) eine Dehnung der Probe hervorgerufen. Während des Dehnungsvorgangs wird an der Einspannung die Kraft mit einer Messdose aufgezeichnet. Grundlage für die weitere Berechnung sind die so gewonnenen Wertepaare aus Kraft und Weg zu einem bestimmten Zeitpunkt des Versuchs.

Die Zugspannung σ ('tensile stress') beschreibt allgemein den Quotienten aus der Kraft bezogen auf den Querschnitt (s. Gl. 3.1). In der Regel dient der anfängliche Querschnitt der Probe als Bezug, mit optischen Messvorrichtungen kann aber auch während des Zugversuchs der zu einem bestimmten Zeitpunkt tatsächlich vorliegende Querschnitt bestimmt werden und mit der aktuell anliegenden Kraft ins Verhältnis gesetzt werden.

$$\text{Zugspannung} \quad \sigma = \frac{F}{A_0} \quad (3.1)$$

σ : Zugspannung in MPa; F : Zugkraft in N; A_0 : Anfangsquerschnitt in mm^2

Die Zugfestigkeit σ_M ('ultimate tensile strength') ist die maximal auftretende Spannung innerhalb eines Zugversuchs (s. Abb. 3.7, Punkt c). Sie setzt sich aus der maximal erreichten Zugkraft bezogen auf den anfänglichen Querschnitt der Probe zusammen (s. Gl. 3.2). Die Zugfestigkeit gibt somit Auskunft über die statische Belastbarkeit eines Werkstoffs.

$$\text{Zugfestigkeit} \quad \sigma_M = \frac{F_{\max}}{A_0} \quad (3.2)$$

Im Vergleich dazu gibt die Bruchspannung bzw. Reißfestigkeit σ_B ('tensile stress at break') an, bei welcher Spannung es zum Bruch oder Riss einer Probe kommt (s. Gl. 3.3). Dieser Wert liegt daher unterhalb der Zugfestigkeit und markiert das Ende des Zugversuchs (s. Abb. 3.7, Punkt d).

$$\text{Reißfestigkeit} \quad \sigma_B = \frac{F_B}{A_0} \quad (3.3)$$

Die Streckgrenze R_e ('yield point') wird auch als Streckspannung σ_y ('yield strength', 'tensile stress at yield') bezeichnet und ist die Spannung, ab der die plastische Verformung eines Werkstoffs einsetzt (s. Gl. 3.4). Es kommt hierbei erstmals zu einem Anstieg der Dehnung, ohne dass die Spannung größer wird (s. Abb. 3.7, Punkt b)[51, 52]. Die Probe setzt die Auslenkung durch die Prüfmaschine und damit die in das System eingebrachte Arbeit in bleibende Verformung um. Im elastischen Bereich (s. Abb. 3.7, Ursprung bis Punkt a) hingegen wird die Energie in der Probe gespeichert und bei Rückgang der Auslenkung zurückgeführt (Feder-Modell).

$$\text{Streckgrenze} \quad R_e = \frac{F_e}{A_0} \quad (3.4)$$

R_e : Streckgrenze in MPa; F_e : Kraft bei beginnender plastischer Verformung in N; A_0 : Anfangsquerschnitt der Probe in mm^2

Da bei Polymeren auch unterhalb der Streckgrenze eine plastische Deformation auftreten kann, ist diese Größe nicht uneingeschränkt von z.B. metallischen Werkstoffen übertragbar. Häufig wird daher die Spannung bei einer definierten Dehnung ('tensile stress at x% strain'), bezeichnet als

Dehngrenze (z.B. $R_{p0,2}$ - Zugspannung bei 0,2 % Dehnung), als Kennwert definiert (s. Gl. 3.5) oder es werden Versuche bei konstanter Kraft (Kriechversuch) durchgeführt.

$$\text{Dehngrenze} \quad R_{p0,2} = \frac{F_{p0,2}}{A_0} \quad (3.5)$$

Die Dehnung ϵ ('tensile strain') einer Probe wird durch Bezug der Längenänderung einer Probe - also der Differenz aus aktueller Länge und Anfangslänge - auf die Anfangslänge berechnet (s. Gl. 3.6). Der Wert ist daher einheitenlos und wird häufig prozentual angegeben.

$$\text{Dehnung} \quad \epsilon = \frac{l-l_0}{l_0} = \frac{\Delta l}{l_0} \quad (3.6)$$

ϵ : Dehnung in mm/mm; l_0 : Anfangslänge in mm; l : bezogene Länge in mm; Δl : Längenänderung in mm

Es existieren mehrere relevante Dehnungswerte, die sich in ihren Randbedingungen unterscheiden: Die Bruch- oder Reißdehnung ϵ_B ('tensile strain at break') setzt die bleibende Verlängerung (plastische Verformung) der Probe nach dem Bruch bzw. Riss ins Verhältnis zur Anfangsmeslänge (s. Gl. 3.7). Die Reißdehnung kann so zur Charakterisierung der Verformungsfähigkeit eines Werkstoffes herangezogen werden. Im Zusammenhang mit elektrogenesponnenen Proben ist die genaue Messung der Verlängerung schwierig, weil die Proben meist nicht geradlinig über den Querschnitt reißen und teilweise relaxieren. Dadurch lässt sich die Probe nur bedingt vergleichbar zum Ausgangszustand anordnen und ihre Dimensionen messen. Korrespondierend zur Streckspannung wird die Streckdehnung ϵ_y ('tensile strain at yield', 'yield strain') als die Dehnung definiert, bei der eine plastische Verformung einsetzt. Analog ist die Reißdehnung als Verformung

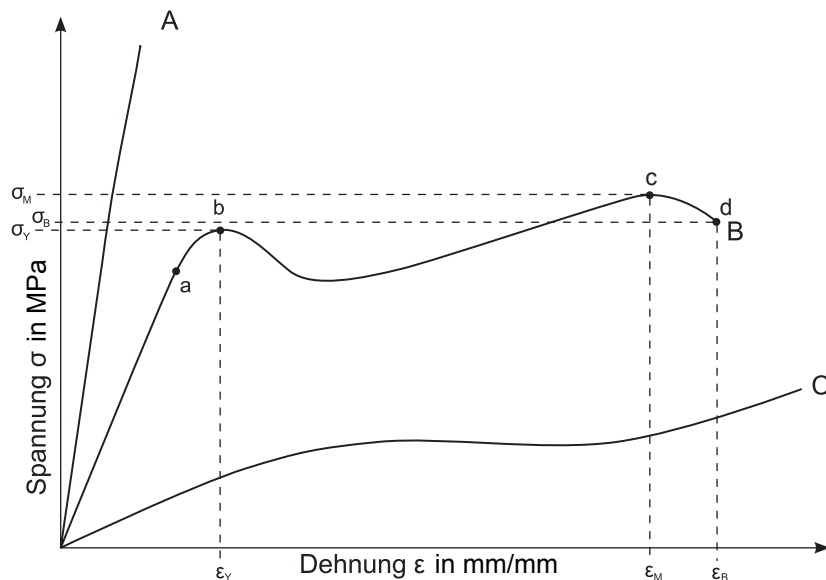


Abbildung 3.7: Charakteristische Spannungs-Dehnungs-Diagramme von Kunststoffen. Kennwerte sind die Dehngrenze (a), Streckgrenze (b), Zugfestigkeit (c) und Reißfestigkeit (d). In Abhängigkeit von der Molekularstruktur des Polymers unterscheidet sich der Verlauf der Kurve: spröde (A), zäh mit Streckgrenze (B), zäh ohne Streckgrenze (C) (nach [51]).

der Probe bei der Reißfestigkeit definiert, was der maximalen Dehnung vor dem Bruch oder Riss der Probe entspricht.

$$\text{Reißdehnung} \quad \varepsilon_B = \frac{\Delta l_B}{l_0} \quad (3.7)$$

Der Elastizitätsmodul (E-Modul, 'elastic modulus') beschreibt den Zusammenhang von der auf einen Körper wirkenden Spannung in Relation zu seiner Verformung. Der E-Modul ist eine allgemeine Beschreibungsgröße für das Verhalten eines Materials in Folge von jeglicher Krafteinwirkung. In der Regel wird der auf Zugspannungen ausgerichtete Modulus nach YOUNG zur Charakterisierung von festen Werkstoffen herangezogen (s. Gl. 3.8). Neben diesem existiert der Kompressionsmodul, der den Widerstand eines Materials gegen Kompression beschreibt, und der Schubmodul, der die Verformung in Folge von Schub- oder Scherkräften beschreibt. Werkstoffe mit hohem E-Modul wie z.B. Stahl erfordern demnach eine höhere Spannung zur Erreichung einer elastischen Verformung als Werkstoffe mit niedrigem E-Modul wie z.B. Gummi. Dabei lässt sich ein E-Modul nur für den Bereich bestimmen, in dem die Probe linear elastisch gedehnt wird, also keine plastische Verformung auftritt. Für viskoelastische Stoffe wie Polymere ist demnach die Bestimmung eines E-Moduls nur in einem sehr kleinen Bereich zulässig, ab dem die reversible Verformung in eine zeit- und frequenzabhängige bleibende Dehnung übergeht.

$$\text{E-Modul (YOUNG)} \quad E = \frac{\Delta\sigma}{\Delta\varepsilon} \quad (3.8)$$

E: Elastizitätsmodul (linearer Bereich, HOOK'sche Gerade) in MPa; $\Delta\sigma$: Differenz der Spannungen (im HOOK'schen Bereich) in MPa; $\Delta\varepsilon$: Differenz der Dehnungen (im HOOK'schen Bereich) in mm/mm

Da Polymerwerkstoffe eine Überlagerung aus elastischem und viskosem Verhalten aufweisen und dieses von der Wirkungsdauer bzw. im Falle eines statischen Zugversuchs von der Geschwindigkeit des Dehnungsvorgangs bei der Prüfung abhängig ist, muss die Prüfung zwecks Vergleichbarkeit bei gleichen Prüfbedingungen erfolgen. Zudem sind die mechanischen Eigenschaften von Polymeren stark von der Temperatur und der relativen Luftfeuchtigkeit bei der Prüfung abhängig, so dass reproduzierbare und konstante Umgebungsbedingungen gewährleistet sein müssen [53].

3.6 Porosität und Porengröße

Die Porosität stellt das Verhältnis vom Hohlraum- zum Gesamtvolumen eines Körpers oder Werkstoffs dar. Sie wird entweder durch die Bildung des Quotienten aus diesen beiden Größen direkt bestimmt oder über die Masse, Dichte und Abmessungen des zu untersuchenden Körpers berechnet (s. Gleichung 3.9). Meist wird die Porosität als prozentualer Wert angegeben.

$$\text{Porosität} \quad \Phi = \frac{V_L}{V_{\text{gesamt}}} = \left(1 - \frac{\frac{m}{\rho}}{s \cdot b \cdot l} \right) \quad (3.9)$$

Φ : Porosität; V_L : Luft-/Leervolumen in cm^3 ; V_{gesamt} : Gesamtvolumen in cm^3 ; m : Masse in g; ρ : Dichte des Polymers in g/cm^3 ; s : Dicke in cm; b : Breite in cm; l : Länge in cm

Die Porosität einer Gerüststruktur hat u.a. Auswirkungen auf die Durchströmbarkeit (z.B. mit Nährmedium) und die mechanischen Eigenschaften. Die Porengröße einer Gerüststruktur beeinflusst zudem das Potential für Zellwachstum beim Tissue Engineering [8, 54]. Wichtiges Kriterium ist dabei auch die Form und Art der Poren. Möglich sind durchgängige, längliche Poren oder auch kugelförmige Poren mit geringer Interkonnektivität (Geschlossenenzelligkeit). Im Fall von faserförmigen Gerüsten kann zwar von einer übergeordneten Porosität gesprochen werden, also das Luft- zum Gesamtvolumen bestimmt werden, jedoch liegen keine Poren im klassischen Sinne vor. Vielmehr handelt es sich im Fall von Fasermaterialien um vollständig miteinander verbundene, durchgängige Lufträume ohne klare Begrenzung (s. Abb. 3.8) [50, 55].

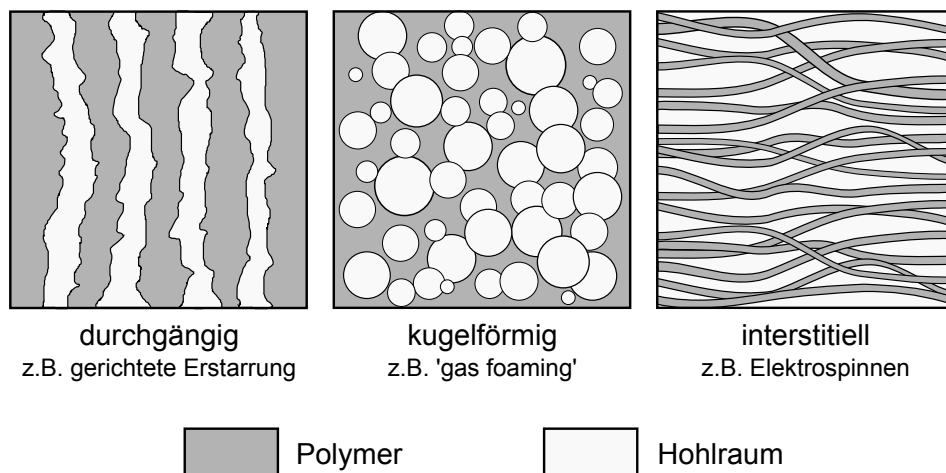


Abbildung 3.8: Geometrie verschiedener Porentypen. Dargestellt ist das Polymer (Vollmaterial) und die durch die Poren entstehenden Hohlräume (Luft). Es wird deutlich, dass bei einem faserförmigen Vollmaterial (rechts) keine klar begrenzten Hohlräume vorliegen wie bei gerichtet-erstarrten (links) oder gas-geschäumten Materialien (Mitte). Bei elektrogesponnenen Fasern liegen die Hohlräume zwischen den Fasern und sind alle vollständig miteinander verbunden.

Die Bestimmung der Porosität kann mit gravimetrischen Methoden, mittels Intrusion von Quecksilber oder Durchströmung mit einem Gas erfolgen. Bei der gravimetrischen Bestimmung wird ein genau definiertes Probenvolumen gewogen und unter Berücksichtigung der Dichte des Polymers mit Gleichung 3.9 berechnet. Diese Methode erfordert neben einer genauen Bestimmung der Probenabmaße lediglich eine Feinwaage und ist weniger zeit- und kostenintensiv als die folgenden Techniken. Zur Bestimmung unbekannter Stoffdichten kann ein Pyknometer verwendet werden [56].

Bei intrusiven Methoden wird in der Regel mittels eines Porosimeters Quecksilber unter Druck in die Hohlräume eines definierten Probenvolumens eingeleitet. Dazu muss ein Differenzdruck überwunden werden, um die Poren zu benetzen und zu füllen. Dieser Differenzdruck steigt aufgrund kapillarer Kräfte mit abnehmendem Porendurchmesser (vgl. HAAGEN-POISEUILLE). Zum Füllen der Poren wird der Druck stetig erhöht und gleichzeitig der Volumenstrom des eingeleiteten Quecksilbers gemessen. Da aus Referenzuntersuchungen zudem bekannt ist, welcher Druck erforderlich ist, um Poren eines bestimmten Durchmessers zu füllen, kann unter Annahme eines ideal kreisförmigen Porenvolumens die absolute Anzahl von Poren verschiedener Durchmesser in einer Probe bestimmt werden. Dieser Zusammenhang wird durch die WASHBURN-Gleichung definiert (s. Gl. 3.10) [57].

$$\text{WASHBURN-Gleichung} \quad \Delta p = \frac{2 \cdot \gamma_{lg} \cdot \cos(\Theta)}{r_p} \quad (3.10)$$

Δp : Differenzdruck in Pa; γ_{lg} : Grenzflächenspannung (flüssig-gasförmig) in N/m; Θ : Benetzungswinkel in $^\circ$; r_p : Porenradius in m

Aus dem Zusammenhang der bei einem bestimmten Druck intrudierten Quecksilbermenge kann so das Gesamtvolumen von Poren einer bestimmten Größe ermittelt werden [56]. Auf gleicher Überlegung basiert auch die Messung durch Füllung der Leerräume innerhalb einer Probe mit einer benetzenden Flüssigkeit und anschließender Durchströmung der Probe mit einem Gas, um die Poren wieder zu entleeren ('capillary flow porometry'). Auch hier steigt der aufzubringende Differenzdruck mit Abnahme des Porendurchmessers, jedoch wird die Probe im Vergleich zur Quecksilberporosimetrie kontinuierlich durchströmt und nicht nur statisch beaufschlagt. Es ist zu beachten, dass intrusive Untersuchungen die Probe bzw. ihre Porenstruktur zerstören können, weil das eingeleitete Fluid den Werkstoff exzessiv expandiert. Unter solchen Umständen weichen die ursprünglichen Porendurchmesser stark von den gemessenen Werten ab [54]. Daher ist die Messung der Porosität elastischer Werkstoffe im Allgemeinen problematisch.

4 Stand der Technik

4.1 Implantate und Tissue Engineering

Es bestehen aktuell umfangreiche Bestrebungen, verschiedene Komponenten des menschlichen Körpers durch regenerative Therapien mittels Gerüststrukturen wiederherzustellen: Dies umfasst flache Gebilde wie Haut [58], Sehnen oder Bänder [59–62], zylindrische Hohlräume wie Blutgefäße [63, 64] oder Nerven [62, 63, 65, 66] sowie komplexe, dreidimensionale Organe wie das Herz [67, 68] oder die Leber [69, 70].

Die Gestaltung von Implantaten für das Tissue Engineering hängt maßgeblich von der gewünschten Wirkung am Einsatzort im menschlichen Körper ab. Evident ist dabei die Wiederherstellung der angestrebten Funktion - so z.B. die Wirkung einer künstlichen Herzklappe als Ventil. Außerdem ist die Biokompatibilität und die Reaktion des Körpers auf das Implantat von Bedeutung. Im Rahmen dieses Kapitels werden kardiovaskuläre Implantate vorgestellt, die sich bereits im klinischen Einsatz befinden und Verfahren aufgezeigt, die neuartige Behandlungsmethoden ermöglichen. Dabei werden die Limitationen bestehender Produkte verdeutlicht und unter Berücksichtigung ihrer positiven Eigenschaften, Konzepte zur Weiterentwicklung aufgezeigt.

4.1.1 Gefäßprothesen

Gefäßprothesen werden verwendet, um defekte Arterien oder Venen zu ersetzen. Dies wird notwendig, wenn der Fluss des Blutes im nativen Gefäß durch einen Verschluss (Okklusion), eine Verengung (Stenose) oder eine Aufweitung (Aneurysma) gestört ist. Aktuelle Prothesen bestehen aus nicht resorbierbaren Polymeren wie Polyethylenterephthalat (PET) oder Polytetrafluorethylen (PTFE), die z.B. unter den Markennamen DACRON oder GORE-TEX erhältlich sind.

Es stehen einfache schlauchförmige und auch mit Bifurkation versehene Varianten in verschiedenen Durchmessern zur Verfügung. Ein wichtiges Gestaltungsmerkmal ist dabei die Makrogeometrie der Prothese, welche durch Einprägung einer Faltenbalgstruktur (plissieren) flexibilisiert werden und bei Biegebeanspruchung nicht knicken (s. Abb. 4.1) [21].

Um eine Aufweitung der Prothese innerhalb eines Gefäßes zu ermöglichen, existieren Modelle, die einen metallischen Stent enthalten, der mittels eines Ballonkatheters expandiert werden kann. Die Erfolgswahrscheinlichkeit für die Wiederherstellung der Funktion von Gefäßen durch ein Implantat hängt von dem einzusetzenden Durchmesser ab: für Gefäßdurchmesser über 6 mm besteht für 5 bis 10 Jahre eine hohe Erfolgswahrscheinlichkeit der Behandlung. Kleinere Durchmesser werden häufiger durch die übermäßige Bildung von neuem Gewebe verstopft. Generell kann es zu Komplikationen durch Infektionen oder auch zur Bildung von Aneurysmen im Bereich des Übergangs von Prothese zu nativem Gewebe kommen. Zudem ist meist die langfristige

Einnahme von gerinnungshemmenden Medikamenten erforderlich, um Thrombosen zu vermeiden [71–73]. Auf Tissue Engineering basierende Prothesen sollen in diesem Kontext helfen, die Reaktion des Organismus auf den eingebrachten Fremdkörper zu reduzieren. Ein hybrider Ansatz wurde bereits zur Behandlung atherosklerotischer Ablagerungen mittels einer expandierbaren Gefäßprothese untersucht. Diese wurde zuvor mit Endothelzellen besiedelt und so expandiert, dass sie die atherosklerotische Ablagerung überdeckte und keine schädigenden Bestandteile mehr in den Blutkreislauf gelangen konnten [21].

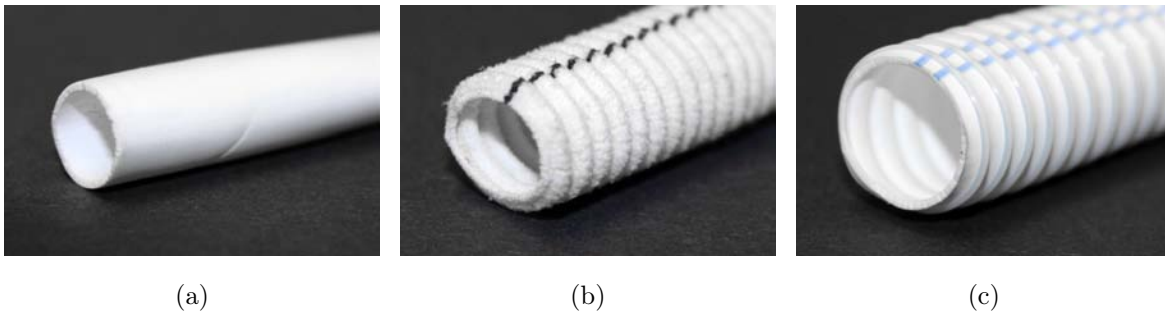


Abbildung 4.1: Prothesen für den Ersatz von menschlichen Blutgefäßen. Glatte (a), plissierte (b) und mit einer umlaufenden Metallspirale bewehrte (c) Gefäßprothese aus Polymerwerkstoffen.

4.1.2 Herzklappenprothesen

Kommerziell verfügbare Prothesen

Der Einsatz einer Herzklappenprothese wird nötig, wenn erblich bedingte Defekte oder Erkrankungen die Funktionstüchtigkeit der nativen Klappe beeinträchtigen: Neben Deformationen und dem Zusammenwachsen der Flügel können Stenosen des umliegenden Gefäßes auftreten, die einen geordneten Fluss des Blutes verhindern [74]. Dabei kommt es zu einer Verringerung des Strömungsquerschnitts auf bis zu ein Drittel der ursprünglichen Fläche [75].

Ein Implantat muss die Schließwirkung wiederherstellen und in bestimmten Fällen eine Aufweitung des Gefäßes bewirken. Der aktuelle Goldstandard sind mechanische Prothesen, die seit über 50 Jahren erfolgreich eingesetzt werden und über einen langen Zeitraum im Patienten verbleiben können (s. Abb. 4.2). Sie bestehen aus Metall, Kunststoff oder pyrolytischem Kohlenstoff und sind in verschiedenen Formen verfügbar (einflügelig, mehrflügelig, etc.). Die Oberflächen- und Strömungseigenschaften solcher Klappen wurden über die Jahre optimiert, so dass die Beeinträchtigung für den Träger minimiert werden konnte. Mechanische Prothesen werden in Serie gefertigt; daher sind ihre Eigenschaften reproduzierbar. Wegen ihres artifiziellen Charakters reagiert der menschliche Organismus jedoch auf das Implantat und erkennt es als Fremdoberfläche, so dass die lebenslange Einnahme gerinnungshemmender Substanzen nötig ist.

Mechanische Klappen sind in verschiedenen Durchmessern verfügbar und können so in Abhängigkeit von Alter und Größe des Patienten individuell passend ausgewählt werden. Da sie nicht mitwachsen, ist es gerade bei Kindern erforderlich, die Prothese nach vergleichsweise kurzer Einsatzdauer durch ein Modell mit größerem Durchmesser zu ersetzen. Die dafür nötige Operation

birgt ein hohes Risiko - besonders wenn z.B. wegen Begleiterkrankungen Komplikationen bei der Anästhesie zu erwarten sind [2, 75, 76]. Neben mechanischen haben sich biologische Prothesen bewährt. Dabei handelt es sich um chemisch fixiertes Gewebe von Schwein oder Rind, das in Form von Flügeln geschnitten und in einem kreisförmigen Rahmen aus Kunststoff oder Metall befestigt wird (s. Abb. 4.2). Klappen vom Schwein werden dabei auch in ihrer ursprünglichen Form ohne Einsatz eines Stents verwendet und teilweise nur mit einer Nahtverstärkung versehen. Mit aus Rinderperikard zusammengesetzten Klappen kann die Taschenform aufgrund der Materialstärke und -festigkeit nur bedingt angenähert werden, so dass es zu Fehlverteilungen der mechanischen Spannungen kommt, die eine Kalzifizierung begünstigen.

Weiterhin werden die biologischen Funktionen des artfremden Gewebes durch die im Vorfeld

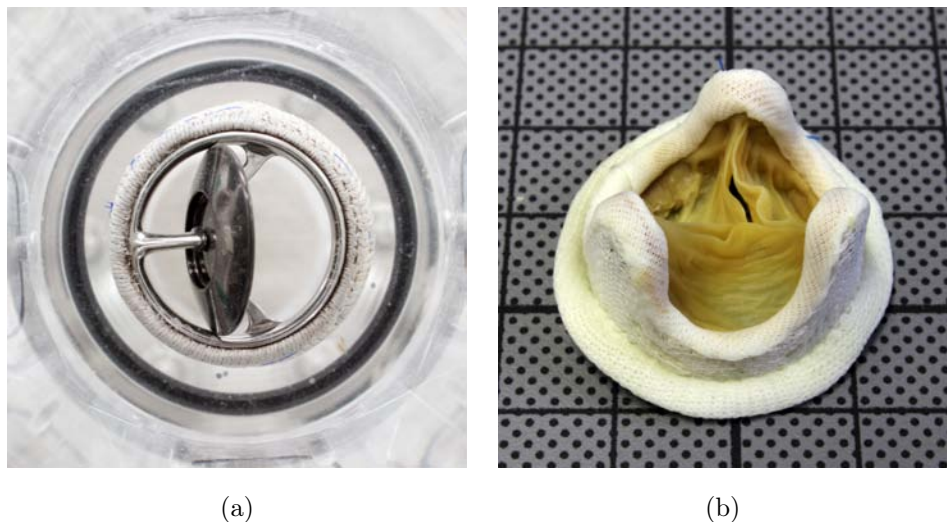


Abbildung 4.2: Mechanische (a) und biologische (b) Prothese für den Ersatz einer menschlichen Herzklappe. Mechanische und biologische Prothese gelten als Goldstandard und werden patientenspezifisch ausgewählt.

durchgeführte chemische Fixierung weitestgehend inaktiviert, so dass keine Immunreaktionen des Patienten auftreten. Biologische Prothesen haben den Vorteil, dass die Einnahme von gerinnungshemmenden Substanzen nicht erforderlich ist. Mit der Fixierung verliert der Prothesenwerkstoff jedoch auch seine Regenerationsfähigkeit, so dass es zu einer Kalzifizierung der Flügel kommen kann und ein suffizientes Schließverhalten nicht mehr gewährleistet ist. Als Kalzifizierung wird die Ablagerung von unlöslichem Calciumphosphat (Hydroxylapatit) auf der Oberfläche und innerhalb des Gewebes der Klappe bezeichnet. Die Ursache ist noch nicht endgültig geklärt, aber es wird ein Zusammenhang zwischen lokaler, hoher mechanischer Belastung und vermehrter Kalzifizierung angenommen. Die Geschwindigkeit der Kalzifizierung und somit der Zeitraum bis zum Versagen resultiert dabei u.a. aus der Stoffwechsellätigkeit und der Aktivität des Immunsystems des Patienten [2, 77–79]. Eine Sonderform der biologischen Prothesen und eine vergleichsweise neue Behandlungsmethode ist die minimalinvasive Transkatheter-Aortenklappenimplantation (TAVI, s. Abb. 4.3) [80]. Dabei wird mittels eines Katheters ein Zugang über die Beinarterie (transfemorale) oder über die Herzspitze (transapikal) gelegt. Durch den Katheter wird ein komprimierter Nitinolstent mit Schweineperikardklappe (CoreValve, Fa. MEDTRONIC) oder Stahlstent mit Rinderperikardklappe (Edwards-Sapien, Fa. EDWARDS) in die bestehende Herzklappe



Abbildung 4.3: TAVI-Herzklappenprothese [81].

des Patienten eingebracht. Das Implantat ist dabei entweder selbstexpandierend oder wird mittels eines Ballonkatheters in der defekten, nativen Klappe aufgeweitet [75]. Diese wird dabei zerstört und zudem verringert sich größenbedingt der Öffnungsquerschnitt bezogen auf das native Gefäß. Angewendet wird diese Methode, wenn der Gesundheitszustand des Patienten so kritisch ist, dass er nicht an eine Herz-Lungen-Maschine angeschlossen werden kann. Deren Einsatz ist für die Implantation mechanischer und biologischer Prothese notwendig, um den Blutkreislauf Übergangsweise extern durch Pumpen aufrechtzuerhalten. Neben der durch die Bauart bedingten Verringerung des Öffnungsquerschnitts treten bei TAVI-Prothesen Komplikationen wie Herzrhythmusstörungen und ein erhöhtes Risiko für Schlaganfälle auf [75].

Mit den bestehenden mechanischen und biologischen Prothesen lassen sich defekte Klappen ersetzen und die Funktionstüchtigkeit des Herzens kann so für eine Dauer von mehreren Jahren wieder hergestellt werden. Die Einsatzdauer von biologischen Herzklappenprothesen beträgt in der Regel zwischen 5 und 15 Jahren, mechanische Prothesen funktionieren im Idealfall lebenslang [2, 79]. Die Entscheidung für eine mechanische oder biologische Herzklappenprothese ist dabei vom Alter und allgemeinen Gesundheitszustand des Patienten abhängig. Bei älteren Patienten werden überwiegend biologische Prothesen eingesetzt, bei jüngeren Patienten dagegen eher mechanische Prothesen.

Auf Tissue Engineering basierende Ansätze

Um die Einschränkungen kommerziell verfügbarer Prothesen zu reduzieren, wird in der aktuellen Forschung der Ansatz des Tissue Engineering für den Ersatz von Herzklappen erforscht. Ziel ist die Entwicklung eines Implantats, das keine Einnahme von blutgerinnungshemmenden Substanzen erfordert und bei voller Funktionsfähigkeit unbegrenzt lange im Körper verbleiben kann. Für den pädiatrischen Einsatz muss ein solches Implantat zudem die Fähigkeit zum Mitwachsen besitzen, also aus vitalem körpereigenem Gewebe bestehen [78]. Grundsätzlich soll dazu eine Gerüststruktur in Form einer Herzklappe *in vitro* oder *in vivo* mit patienteneigenen Zellen besiedelt werden. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt werden drei Konzepte zur Bereitstellung solcher Gerüste erforscht: Dezellularisiertes natives Herzklappengewebe, Abformung mittels eines Hydrogels oder faserbasierte Polymerstrukturen [72].

Ausgangsmaterial dezellularisierter Gerüste ist eine Spenderklappe von Mensch oder Tier. Diese wird durch biologische, physikalische und chemische Verfahren von Zellen befreit, so dass nur die strukturgebenden Bestandteile der extrazellulären Matrix zurückbleiben (z.B. Kollagen, Elastin). Anschließend wird das Gerüst mit einer Kombination aus Antibiotika behandelt, implantiert und im Körper von den Zellen des Patienten besiedelt [72, 82]. Nachteilig ist, dass wegen einer nicht ausreichenden Anzahl von humanen Spendern auf tierisches Gewebe zurückgegriffen werden muss, was problematisch sein kann. Gerade vor dem Hintergrund, dass die Entfernung aller fremden Zellen eine große Herausforderung darstellt und im Einzelfall nicht festgestellt werden kann, ob die Dezellularisierung vollständig war, muss stets mit Immunreaktionen des Patienten gerechnet werden. Zudem gibt es je nach Kulturkreis häufig ethische und religiöse Bedenken bei der Verwendung von tierischen Transplantaten. Ob die dezellularisierte Matrix intakt ist, hängt stark von den verwendeten Protokollen ab. Die Sterilisation einer solchen Matrix ist möglich, beeinflusst aber die mechanischen und biologischen Eigenschaften in nicht reproduzierbarer Art und Weise. Außerdem ist die Wirkung der verwendeten Antibiotika auf den Organismus des Empfängers noch nicht endgültig geklärt [72, 83].

Die Abformung von Herzklappengerüsten mittels Hydrogel basiert auf der Gewinnung von Fibrin aus patienteneigenem Blut. Dieses körpereigene Biopolymer wird in die Negativform einer Klappe gegossen und bildet bei Aktivierung ein faserförmiges Netzwerk aus [23]. Vorteil des Verfahrens ist, dass sich Fibrin aus Blut (z.B. aus der Nabelschnur) gewinnen lässt, so dass theoretisch auch schon Kinder durch den Einsatz einer entsprechenden Gerüststruktur behandelt werden können [84]. Weiterhin kommt es zu keiner Fremdkörperreaktion, da das Material vollständig autolog ist. Das Fibrinnetzwerk wird im nächsten Schritt mit Zellen (Myofibroblasten) vermischt und in eine Gussform gefüllt, in der das Gel auspolymerisiert. Anschließend erfolgt eine Auskleidung der blutseitigen, inneren Flächen durch Zugabe von Endothelzellen in einem Bioreaktor. Die beiden Zelltypen werden dazu im Rahmen einer vorgelagerten Biopsie aus patienteneigenem Gewebe gewonnen, isoliert und in der Petrischale vermehrt. Durch eine im Vorfeld erfolgte Vermessung des Herzens mittels Echokardiographie kann die Gussform individuell für den Patienten dimensioniert werden. Das beschriebene Verfahren eignet sich, um ein physiologisches Substrat auf Basis von körpereigenem Material zu erzeugen, die Bereitstellung mechanischer Stabilität und eine korrekte Formgebung durch das Gerüst ist aufgrund seines gelartigen Charakters jedoch nicht gewährleistet. Das Konzept wird deshalb weiterentwickelt, indem zur Erhöhung der

Stabilität eine elektrogesponnene Stützstruktur in die Fibrin-Gel-Matrix eingebracht wird. Die Technik wurde separat an den Komponenten Gefäßkanal und einzelnen Herzklappenflügeln erprobt, nicht jedoch in Kombination [21].

Faserbasierte Gerüststrukturen lassen sich entweder durch das direkte Elektrosponnen von Fasern auf einen Herzklappenförmigen Kollektor herstellen [50, 85–89] oder durch das Zusammenfügen von zuvor präparierten Komponenten [90, 91]. Das Fügen kann mittels Einnähen oder durch thermisches Fügen erfolgen. Als Werkstoff wurden u.a. BIOFELT-Vliessmatten erprobt, die im Vergleich zu nativen Klappen jedoch eine sehr hohe Dicke von 1 mm aufwiesen [92]. Beim Elektrosponnen existieren verschiedene Ansätze zur Fertigung herzkappenförmiger Gerüste, die sich hauptsächlich durch die Form und den Aufbau des Kollektors unterscheiden. Beim simpelsten Verfahren wird ein zylindrischer Kollektor mit drei flügel förmigen Mulden direkt besponnen [50, 85]. Daraus resultiert eine halbseitige Herzklappenform ohne einen durchgehenden Gefäßkanal. Eine Erweiterung des Verfahrens stellt die Verwendung eines zweiteiligen Kollektors dar, bei dem zusätzlich zur Klappenform eine röhrenförmige Komponente vorliegt. Dieser Teil des Kollektors wird nach dem Spinnen der Flügel aufgeschraubt und mit den bereits abgelegten Fasern erneut besponnen, so dass sich eine zusammenhängende Schicht ergibt [87]. Wichtiger Aspekt bei der Herstellung von Gerüststrukturen ist das verwendete Polymer bzw. dessen Benetzbarkeit und seine mechanischen Eigenschaften. Durch die Verwendung einer Polymermischung von PLA und Polyethylenglykol (PEG) kann die Hydrophilie von Herzklappengerüsten deutlich gesteigert werden. Die mechanischen Eigenschaften fallen dabei im Vergleich zu reinen PLA-PEG-Mischungen aufgrund eines zwischengeschalteten Vernetzungsschritts nicht hinter die von reinem PLA zurück [68].

4.2 Herstellung von Gerüststrukturen für das Tissue Engineering

Es existieren aktuell diverse Verfahren, um Gerüststrukturen für die Zucht von künstlichem Gewebe zu produzieren. Dabei leiten sich viele Ansätze aus bereits bestehenden Fertigungstechnologien ab, die im Kontext des Tissue Engineerings in Hinblick auf ihre Fertigungsgüte optimiert werden. Andere Strategien wurden speziell für die Gewebezucht entwickelt weshalb die erforderlichen Anlagen und Komponenten zur Herstellung der Gerüste nicht kommerziell erhältlich sind und in den einzelnen Forschungsgruppen selbst konstruiert werden. Beispiele für etablierte Techniken sind textile und laserbasierte Verfahren, die mit bereits existierendem industriellen Equipment zur Produktion von Gerüststrukturen genutzt werden können. Fragen hinsichtlich einer sterilen Fertigung oder Sterilisierbarkeit des Gerüsts stehen dabei meist nicht im Fokus. Gießverfahren sind schon seit langem bekannt, jedoch werden bei der Nutzung dieser Technik im biomedizinischen Bereich erhebliche Änderungen an Aufbau und Prozess nötig. Dies betrifft sowohl die Rahmenbedingungen in Bezug auf die verwendeten Materialien, die zu verarbeitende Menge, als auch hybride Varianten, bei denen z.B. lebende Zellen in einem Hydrogel vergossen werden. Das Elektrosponnen von Polymeren ist technisch gesehen ein textiles Verfahren, bietet aber aufgrund seines durch Elektrostatik getriebenen Charakters einen erweiterten Gestaltungsspielraum für die Mikrostruktur und Makrogeometrie von Gerüststrukturen. Streng genommen

handelt es sich beim Elektrosponnen um ein faserbasiertes Beschichtungsverfahren. Bestehende Anlagen zum Elektrosponnen sind kommerziell verfügbar und befinden sich aktuell auf dem Sprung vom Laborgebrauch zur industriellen Fertigung.

4.2.1 Gießverfahren

Das Gießen von Gerüststrukturen zählt technisch gesehen zu den Urformverfahren [93]. Im Zusammenhang mit der Methode des Tissue Engineering wird dazu ein meist polymerer Werkstoff in Lösung gebracht und in eine Form gegossen. Da für die Besiedelung und Infiltration mit Zellen das Vorliegen von Poren oder Kavitäten erforderlich ist, können der Lösung vorab Stoffe beigemischt werden, die in einem nachgelagerten Verfahrensschritt aus der gegossenen Struktur entfernt werden und einen Hohlraum hinterlassen. Ein bewährtes Verfahren ist dabei das 'salt particulate leaching': Hierbei wird ein Polymer in einem organischen Lösemittel gelöst und mit einem als Porogen fungierenden Salz versetzt [72]. Nach dem Gießen in die gewünschte Makrogeometrie verdampft das Lösemittel und die Feststoffe (Polymer, Salz) bleiben zurück. Nun wird das Salz mittels Wasser ausgewaschen und ein offen poröses Gerüst entsteht. So sind dreidimensionale Gebilde, aber auch flache Membranen herstellbar [94, 95]. Dabei kann die Porengröße sowie die Gesamtporosität des Gerüsts über die Partikelgröße des Porogens eingestellt werden. Die vollständige Entfernung des Lösemittels und des Porogens ist dabei eine Herausforderung, da der Kontakt dieser Stoffe mit biologischen Systemen zu Komplikationen führen kann.

Eine andere Methode zur Erzeugung von porösen gegossenen Strukturen ist die gerichtete Erstarrung von wässrigen Lösungen. Hierbei wird die Polymerlösung nach dem Guss in einer Form kontrolliert abgekühlt und gefroren. Die festen Bestandteile werden dabei von der Erstarrungsfront des Wassers verdrängt und agglomerieren gerichtet zwischen den dendritisch geformten Eiskristallen. Anschließend wird das Eis durch Gefriertrocknung entfernt (Sublimation) und eine poröse Struktur mit länglichen Hohlräumen bleibt zurück (s. Abb. 4.4). Eine Herausforderung des Verfahrens besteht in der Herstellung von gleichförmigen, definierten Poren [97]. Entsprechende Gerüste aus porcinem Kollagen sind kommerziell erhältlich (OPTIMAIX, MATRICEL GMBH) und für Forschungsapplikationen verwendbar. Die Stabilisierung des Kollagenschwammes erfolgt durch eine nachgelagerte Vernetzung der Polymerketten. Für die Verwendung im Rahmen klinischer Studien mit Menschen sind weiterführende Genehmigungen erforderlich [98].

Hydrogele

Ein Hydrogel ist ein dreidimensionales Netzwerk aus Polymerketten, das nicht wasserlöslich, aber hydrophil ist. Die Aufnahme von Wasser geht dabei mit einer ausgeprägten Volumenzunahme einher. Hydrogele werden im Bereich der Wundversorgung als Auflage oder Pflaster verwendet, da sie ein durchgehend feuchtes Milieu erzeugen und so die Heilung begünstigen [59, 99]. Auch im Bereich des Tissue Engineering werden Hydrogele aufgrund dieser Eigenschaft genutzt [94, 100]. Weiterhin bildet ihre nanofibröse Struktur die extrazelluläre Matrix in nativem Gewebe nach: so wird mechanische Integrität bei gleichzeitiger Möglichkeit zur Proliferation von Zellen innerhalb des Gels gewährleistet [100, 101]. Es konnte gezeigt werden, dass die Verteilung von Zellen in einer Fibrin-Gel-Matrix homogen und diese als physiologisches Substrat für die Zucht von

Herzklappengewebe geeignet ist. Fibrin kann dabei aus patienteneigenem Blut gewonnen werden und stellt so ein autologes Material dar. Die Degradation des Gels lässt sich über den Grad der Polymerisation einstellen [21]. Es werden zudem Ansätze zum Tissue Engineering von Knochen mit einer Kombination aus dem natürlichen, aus Braunalgen gewonnenen Polysaccharid Alginat und einem synthetischen Polymer (PURAMATRIX, Fa. 3D MATRIX MEDICAL TECHNOLOGIES) verfolgt [102]. Vollsynthetische Gerüste (z.B. ARTIGEL 2, Fa. CELLON) können reproduzierbar durch Selbstassemblierung erzeugt werden und haben den Vorteil, dass sie keine xenogenen Bestandteile enthalten [100, 103]. Durch die Zugabe von weiteren Stoffen lassen sich Hydrogele gezielt funktionalisieren und als Freisetzungssystem für Wirkstoffe [100] oder auch zum Beschichten von Oberflächen nutzen [104]. Mittels Spritzguss ist auch die Produktion dreidimensionaler Geometrien möglich. Ein Nachteil von Hydrogel ist seine geringe mechanische Stabilität [21].

4.2.2 Druckverfahren

Grundlage für Druckverfahren aus dem Bereich des 'rapid prototyping' ist ein digitales Modell (z.B. .stl, 'Surface Tessellation Language'), das die gewünschte Form der späteren Gerüststruktur beschreibt. Dieses Modell wird in Maschinenbefehle übersetzt, die einen Düsenkopf mittels Schrittmotoren präzise über eine Fläche bewegen (s. Abb. 4.5). Auf dieser Fläche wird ein zuvor in der Düse aufgeschmolzenes Polymer in Bahnen schichtweise extrudiert (Schmelzschichten, engl. 'fused deposition modeling'). Nach jeder Schicht wird der Abstand zwischen der Ablagefläche und der Düse um wenige Zehntelmillimeter vergrößert [95]. Die nächste Lage wird dann auf der nahezu erstarrten, voran gegangenen Schicht extrudiert, so dass das Werkstück nach und nach in die Höhe wächst. Die Auflösung der abbildbaren Strukturen ist dabei vom Innendurchmesser der Düse und dem vertikalen Verfahrensweg zwischen zwei Schichten abhängig. Mittels

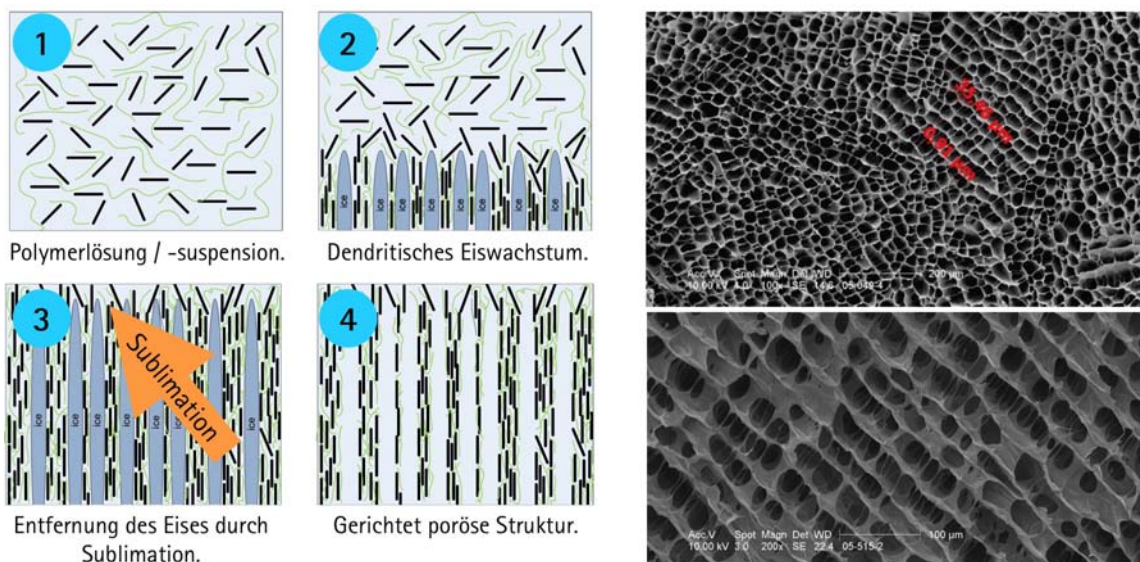


Abbildung 4.4: Gerichtetes Erstarren zur Herstellung von porösen Gerüststrukturen aus wasserlöslichen Biopolymeren. Durch das kontrollierte Einfrieren einer Polymerlösung und die anschließende Entfernung des Wassers durch Sublimation entstehen parallele, durchgängige Poren [96].

Schmelzsichten lässt sich eine große Bandbreite von Polymeren (PLA, PCL, etc.) zu dreidimensionalen Gerüststrukturen verarbeiten. Ein wichtiger Aspekt des 'rapid prototyping' ist die Möglichkeit zur wirtschaftlichen Produktion von sehr kleinen Losgrößen, bis hinunter in den Bereich der Einzelfertigung. Mithilfe dieses Verfahrens wurde bereits eine Methode zur individuellen Brust-Rekonstruktion mittels CAD-Modell erprobt. Dazu wird die Patientin zunächst per Laserscan vermessen und dann am Computer eine virtuelle Brust gestaltet. Anschließend lässt sich aus dem Modell die Größe und Form des künstlichen Brustkörpers ableiten, in maschinenlesbare Form umwandeln und aus einem Polymer fertigen [105].

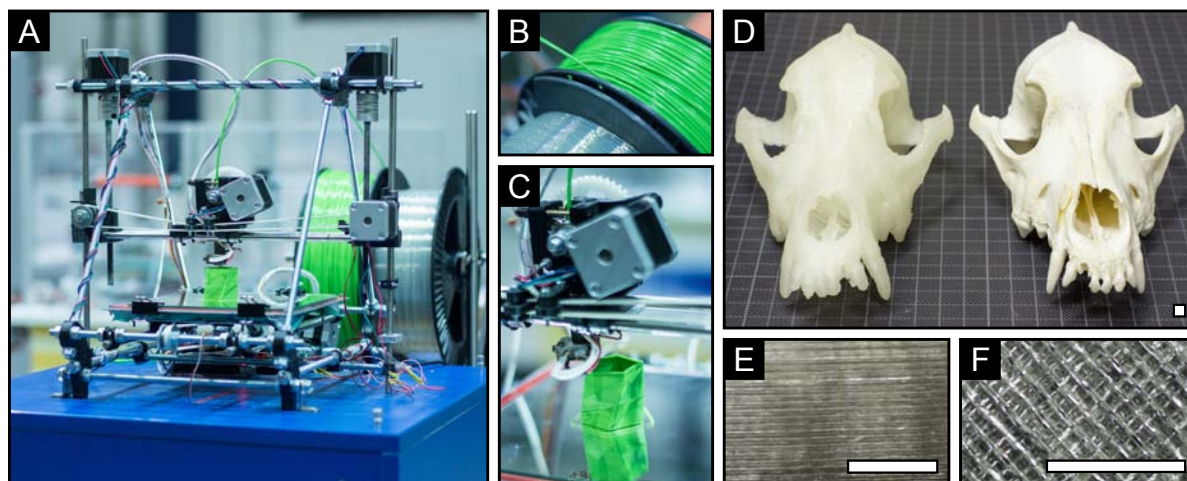


Abbildung 4.5: Aufbau für das 'rapid prototyping' mittels Schmelzsichten. Open-Source 3D-Drucker des Typs MENDEL am IMP (A). PLA-Filament in verschiedenen Farben (B) zur Extrusion am Druckkopf (C). Gedrucktes 3D-Modell (links) eines Hundeschädels (rechts) im Vergleich (D). Schichtaufbau von der Seite (E) und von oben (F). Maßstab entspricht 0,5 mm.

4.2.3 Laserbasierte Verfahren

Mittels laserbasierter Verfahren lassen sich sehr feine Strukturen herstellen, da die Auflösung maßgeblich von der Wellenlänge des Lichts abhängig ist. Es werden zum einen generative Verfahren genutzt, bei denen eine Struktur schichtweise von unten nach oben aufgebaut wird. Zum anderen wird aus einem bestehenden Volumen eines Ausgangsmaterials eine Struktur herausgearbeitet und anschließend das umliegende, nicht strukturierte Material entfernt.

Das selektive Lasersintern (SLS) stellt ein generatives Verfahren dar, bei dem mit einem Laserstrahl aus einem pulverförmigen Ausgangsmaterial schichtweise eine dreidimensionale Geometrie aufgebaut wird. Wie bei anderen Methoden des 'rapid prototyping' ist die Grundlage ein digitales 3D-Modell der späteren Gerüststruktur. Das pulverförmige Ausgangsmaterial liegt in einem Bett in ausreichender Menge vor und wird durch den Laser nach Vorgabe des 3D-Modells kontrolliert aufgeschmolzen [106, 107]. Der Aufbau erfolgt schichtweise, wobei sich nach jeder Schicht die Arbeitsfläche geringfügig absenkt, das Pulverbett regeneriert, die nächste Schicht

aufgeschmolzen wird und sich mit der darunter liegenden verbindet. Dadurch ist es möglich, komplexe, dreidimensionale Geometrien mit Hinterschneidungen in einem Arbeitsgang ohne Zuhilfenahme zusätzlicher Werkzeuge zu fertigen. Auf diese Weise wurden bereits Gerüste für das Tissue Engineering von Knochen mit der Möglichkeit zur definierten Einstellung der mechanischen Eigenschaften gefertigt [108]. Zudem kann auf einen Baukasten mit Grundgeometrien sowie definierter Porengröße und Strukturbreite zurückgegriffen werden [109]. Ein Vorteil des SLS gegenüber anderen thermischen Verfahren ist die Möglichkeit zur präzisen Verarbeitung von Polymeren mit sehr hohem Schmelzpunkt wie z.B. Polyamid.

Eine ähnliche Methode zum schichtweisen Aufbau einer dreidimensionalen Form ist die Laser-Stereolithographie. Hierbei wird ein flüssiger Kunststoff (z.B. Epoxidharz) selektiv schichtweise ausgehärtet. Der Kunststoff befindet sich in einem Bad, in dem sich eine Plattform höhenverstellbar positionieren lässt. Die Plattform wird zunächst in das Bad abgesenkt, so dass sie mit dem Kunststoff benetzt wird. Anschließend sorgt ein Wischmechanismus für eine gleichmäßige Verteilung, damit die Schichtdicke über die gesamte Fläche konstant ist. Das Harz wird nun punktförmig entsprechend einem digitalen Modell ausgehärtet. Nach Fertigstellung der Schicht wird die Plattform abgesenkt, mit Harz benetzt und die nächste Lage strukturiert. So lassen sich auch große Geometrien wie z.B. der menschliche Schädelknochen mit hoher Genauigkeit nachbilden [110].

Beim Verfahren der Zwei-Photonen-Polymerisation (2PP) wird aus einem bestehenden Volumenmaterial ein dreidimensionales Netzwerk herausgearbeitet. Als Material kann z.B. Gelatine oder organisch modifizierte Keramik (ORMOCER) verwendet werden, die zuvor in Form eines Blocks gegossen wird. Der Mischung wird vorab zudem ein Photoinitiator beigemischt (z.B. IRGACURE 2959), der bei Bestrahlung mit Licht eine lokale Vernetzungsreaktion hervorruft. Als Lichtquelle wird ein extrem kurzpulsiger Laser verwendet, der die Vernetzung aufgrund des Prinzips der Zwei-Photonen-Absorption selektiv in einem sehr kleinen Volumen hervorruft. Abschließend wird das nicht vernetzte Material mit einem geeigneten Lösemittel wie z.B. Wasser heraus gewaschen, so dass nur die polymerisierten Strukturen zurück bleiben. Dadurch werden Auflösungen von 100 nm und frei wählbare 3D-Geometrien mit Hinterschneidungen möglich. Durch Diffusion von nicht umgesetzten, freien Radikalen des Photoinitiators in umliegende Bereiche kann es zu unerwünschten Vernetzungen und daraus resultierenden Ungenauigkeiten kommen [111, 112].

Ein weiteres aufbauendes Verfahren ist der 'Laser Induced Forward Transfer' (LIFT), bei dem Zellen mittels eines Lasers geordnet, direkt aufeinander in Schichten abgelegt werden. Dazu werden zur Vorbereitung Zellen in Suspension auf einem mit Gold beschichteten Glasträger ausgestrichen ('donor slide'). Auf einem weiteren als Substrat fungierenden Träger wird eine Startschicht aus Hydrogel (z.B. Fibrin) aufgebracht ('collector slide'). Beide Träger werden dann in geringem Abstand zueinander (ca. 0,5 mm) positioniert, so dass sich die mit Zellen bestrichene Seite über dem Hydrogel befindet. Nun wird die Goldbeschichtung rückseitig mit Laserimpulsen bestrahlt, wodurch sich kleine Tropfen der Zellsuspension ablösen und in Richtung des Hydrogels befördert werden. Aufgrund der punktförmigen Bestrahlung des Lasers können kleine Bereiche von ca. 150 μm Tropfendurchmesser erzeugt werden. Die Abstände zwischen den Tropfen müssen dabei 400 - 800 μm betragen, damit sich diese nicht aufgrund ihrer Oberflächenspannung zu einem einzigen Tropfen vereinen. Nach dem Druck des ersten Zelltyps wird der 'donor slide' ausgetauscht und ein Träger mit einem anderen Zelltyp eingesetzt. Durch erneutes Abrastern mit dem Laser

werden nun die Zwischenräume des ersten Zelltyps mit Tropfen des zweiten Zelltyps aufgefüllt, so dass sich ein regelmäßiger Verbund ergibt. Ist die erste Schicht vollständig abgelegt, kann auf ihr unter Variation der 'donor slides' eine zweite Schicht beliebiger Zusammensetzung und Geometrie aufgebaut werden [113, 114].

4.2.4 Textile Verfahren

Textile Verfahren werden zur Herstellung von Gerüsten für das Tissue Engineering genutzt, da die erzeugbaren Strukturen große Ähnlichkeit zu nativem Gewebe aufweisen. Dieses ist überwiegend heterogen aus Kollagen-, Elastin- und Fibrinfasern zusammengesetzt, die einen Durchmesser von weniger als 500 nm haben. Das Verhältnis von Länge zu Durchmesser ist dabei größer als Hundert [62]. Textile Konstrukte haben eine große verfügbare Oberfläche in Relation zum Volumen. Dies ermöglicht eine durchdringende Modifikation des Konstrukts mittels Beschichtungsverfahren. Durch Tauchbeschichtung mit dem Seidenprotein Fibroin ist es z.B. möglich, die Benetzbarkeit und so die Zelladhäsion zu verbessern [32]. Des Weiteren ist eine Kombination mit anderen Produktionsverfahren wie dem Gießen von Hydrogelen möglich. So kann eine tubuläre, textile Gerüststruktur in Fibrinigel (BioStent) getaucht werden, wodurch sich die mechanischen und morphologischen Eigenschaften beider Materialien superpositionieren lassen [21].

Schmelz- und Nassspinnen

Beim Schmelzspinnen wird ein Polymer aufgeschmolzen und durch eine Düse gedrückt. Die extrudierte Faser wird durch einen Luftstrom abgekühlt und auf einer Spule aufgewickelt. Die Abkühlung und die Verstreckung haben dabei Einfluss auf die mechanischen Eigenschaften der Polymerfaser [115]. Eine Variante dieses Verfahrens ist das Schmelzelektrospinnen ('melt electrospinning') bei dem zusätzlich eine elektrische Spannung zwischen Düse und Aufnahme (Kollektor) angelegt wird. Dadurch wird die Polymerfaser im elektrischen Feld zusätzlich gedehnt [116].

Beim Nassspinnen wird eine Polymerlösung mittels einer Düse in ein Fällbad geleitet. Das Polymer fällt in Form von einzelnen Filamenten aus, die als Faserbündel aufgenommen werden und über Umlenkrollen durch ein Waschbad geführt werden. Anschließend erfolgt eine Trocknung des Fadens in einem Luftstrom. Das Verfahren eignet sich zur Verarbeitung von nicht-schmelzbaren oder temperaturempfindlichen Polymeren [117]. Das Elektrospinnen (s. Abschnitt 4.3) kann in Analogie zum Schmelzspinnen als die elektrostatisch getriebene Variante des Nassspinnens betrachtet werden. Im Allgemeinen werden sowohl Schmelz- als auch Nassspinnen zur industriellen Produktion von Fasern genutzt, die in geordneter Weise auf Spulen aufgewickelt werden. Die Herstellung von Flächengebilden wie porösen Matten oder dreidimensionalen Gerüsten wie sie im Kontext mit Tissue Engineering verwendet werden, ist mit diesen Verfahren auch wegen der aufwendigen Anlagentechnik weniger verbreitet. Es existieren aber bereits erste Konzepte, bei denen Fäden verwoben oder geflochten werden [116].

Weben, Flechten, Wirken, Stricken und Filzen

Beim Weben, Flechten, Stricken und Wirken werden mehrere Fäden in geordneter Weise zu einem Flächengebilde zusammengeführt. Beim Weben liegt zwischen den Fäden ein rechter Winkel vor, beim Flechten ist dies nicht der Fall. Beim Stricken und Wirken werden miteinander verbundene Maschen erzeugt. Kommerziell verfügbar sind u.a. gewobene ('woven') [118], geflochtene ('braided') [119] und gestrickte Matten ('knitted') [120], aus denen sich flache Gerüststrukturen für das Tissue Engineering herstellen lassen (s. Abb. 4.6). Des Weiteren können Herzklappengerüste aus einem Stück gestrickt werden [86, 121, 122]. Das Filzen von Flächengebilden erfolgt nicht durch

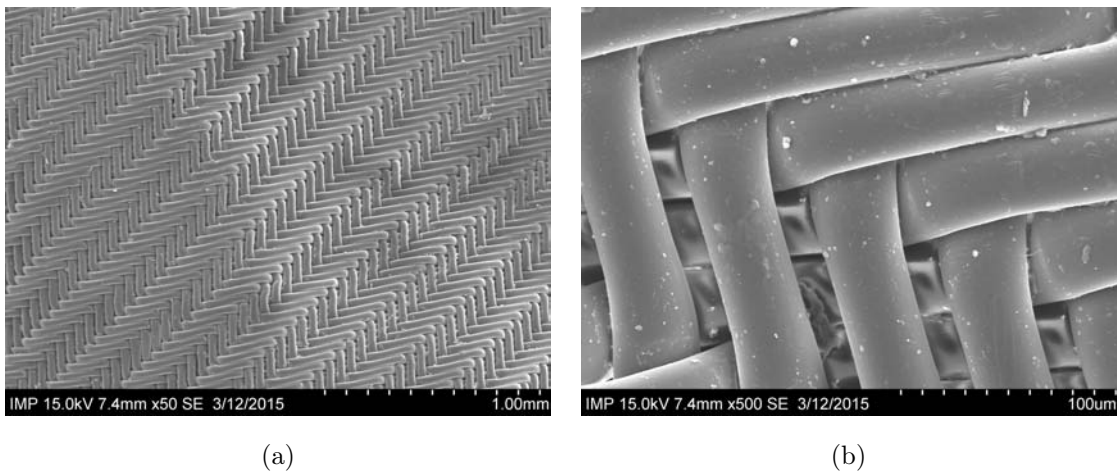


Abbildung 4.6: Geflochtenes textiles Flächengebilde zur Verwendung als Gefäßprothese. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme in 50-facher (a) und 500-facher Vergrößerung (b).

das geordnete Verweben eines Fadens, sondern durch die Komprimierung und Verfestigung eines Ausgangsmaterials durch eine Nadel oder hohen Druck ('needle punched non-woven'). Kommerziell erhältlich sind Matten des Typs BIOFELT (Fa. BIOMEDICAL STRUCTURES). Im Gegensatz zu klassischem Filz sind sie hoch porös und haben ein hohes Verhältnis von Oberfläche zu Volumen, so dass Zellen in den Poren dreidimensional wachsen können. Das Produkt kann bei Verletzungen oder nach Operationen zur Unterstützung der Regeneration verwendet werden. Bekannte Anwendungsgebiete sind sowohl die Zahnmedizin, die Urologie, die Orthopädie als auch kardiovaskuläre Indikationen [92]. Es kann z.B. eine Herzklappe auf Basis von in Form geschnittenen und miteinander verbundenen BIOFELT-Matten hergestellt werden [80, 92].

Ein bereits kommerziell erhältliches Produkt stellt das zur Verstärkung von gerissenem Muskel-Sehnen-Gewebe (z.B. Knöchel, Rotatorenmanschette) eingesetzte ARTELON (Fa. ARTELON) dar. Es ist in verschiedenen Formen (z.B. T-förmig, gewoben) und Faserstärken und auch als Schaum zum Auffüllen von Knochendefekten verfügbar. Dabei behält es über ca. vier Jahre 50% seiner Festigkeit und Elastizität. Das für ARTELON verwendete Polymer ist ein polycaprolactonbasierter Polyurethanharnstoff, der nur teilweise abgebaut und in das nachwachsende Gewebe integriert wird. Dies wird durch eine hohe Porosität des Implantats begünstigt [123].

4.3 Elektrospinnen

4.3.1 Grundlagen

Das Elektrospinnen (engl. 'electrospinning') von Polymeren ist ein Verfahren zur Herstellung von Nano- und Mikrofasern, das auf der elektrohydrodynamischen Wechselwirkung von Flüssigkeiten in einem elektrischen Feld basiert. Dazu wird eine Polymerlösung elektrostatisch aufgeladen und durch eine anliegende Potentialdifferenz in Richtung einer geerdeten oder gegensätzlich geladenen Aufnahmevorrichtung beschleunigt. Dadurch kommt es zur Ausbildung eines Faserstroms und zur gleichzeitigen Dehnung der Faser [124]. Der grundsätzliche Aufbau besteht aus einer Komponente zum Einbringen der Polymerlösung (Spinneret) in den Prozessraum, einer Hochspannungsquelle zur Erzeugung des elektrischen Feldes und einem Kollektor zur Aufnahme der Fasern (s. Abb. 4.7). Im Laborbetrieb haben sich Spritzen mit stumpfen Metallkanülen als Spinneret zum

Verfahren	Oberfläche pro Volumen	Struktur- breite in m	Werkstoffe	Geometrien	Skalier- barkeit
<i>Gießen</i>	gering bis hoch	10^{-8} - 10^{-3}	Polymere, Proteine, Zellen	2D, 3D	mittel bis hoch
<i>Drucken</i>	mittel	10^{-6} - 10^{-3}	Polymere, Proteine, Zellen	2D, 3D	mittel
<i>Laser</i>	mittel bis hoch	10^{-9} - 10^{-5}	Polymere, Proteine, Zellen	2D, 3D	mittel
<i>Schmelzspinnen</i>	mittel	10^{-5} - 10^{-4}	Polymere	1D, 2D	hoch
<i>Nassspinnen</i>	mittel	10^{-5} - 10^{-4}	Polymere	1D, 2D	hoch
<i>Weben, Flechten, Wirken</i>	mittel bis hoch	10^{-6} - 10^{-3}	Polymere	2D, 3D	mittel bis hoch
<i>Elektrospinnen</i>	hoch	10^{-8} - 10^{-5}	Polymere, Proteine, Zellen	1D, 2D, 3D	mittel bis hoch

Tabelle 4.1: Vergleich von Herstellungsverfahren für Gerüststrukturen für das Tissue Engineering. Angegeben sind das Verhältnis von Oberfläche zu Volumen, die Strukturbreite (z.B. Faserdurchmesser), die verarbeitbaren Werkstoffe, die herstellbaren Geometrien (1D: Garn/Filament; 2D: Matte; 3D: komplexe Form) und die Skalierbarkeit des Prozesses.

Eindüsen der Lösung bewährt. Zur Erzeugung des Feldes werden in der Regel Hochspannungsquellen positiver Polarität (10 - 40 kV) verwendet [125]. Als Kollektor können leitfähige Platten oder dreidimensionale Geometrien sowie rotierende Objekte genutzt werden [126]. Kollektoren werden aufgrund der notwendigen Leitfähigkeit meist aus Metall gefertigt, können aber auch aus Kunststoff mit einer leitfähigen Oberfläche bestehen. Beim Elektrospleinprozess wird die Wech-

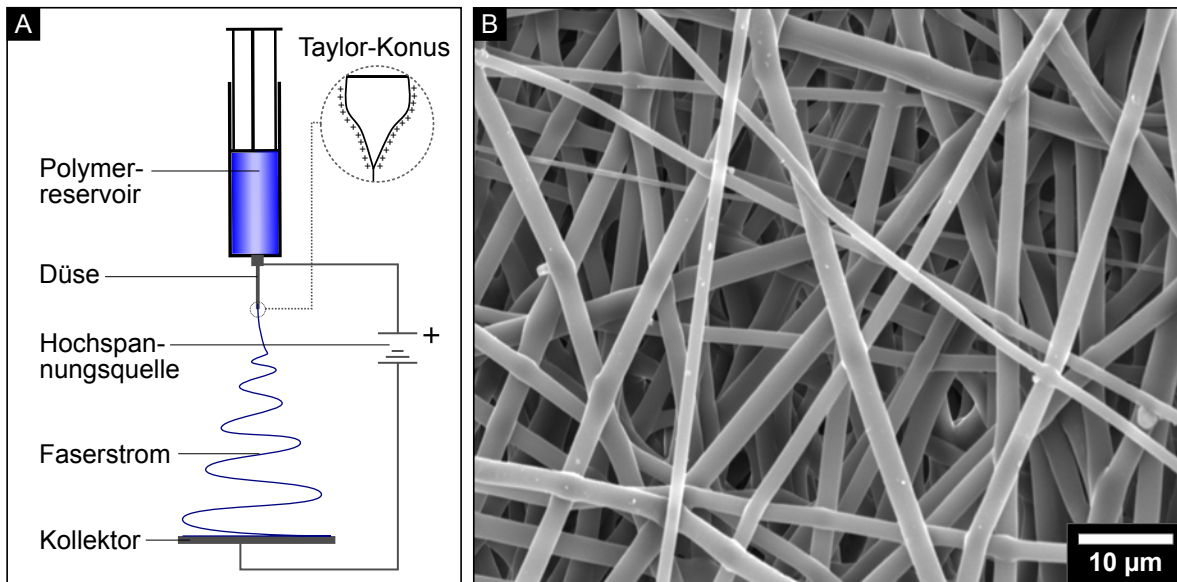


Abbildung 4.7: Grundlegender Versuchsaufbau für den Elektrospleinprozess (A). Die Polymerlösung wird durch die Düse in ein elektrisches Feld gebracht und als Faser auf dem Kollektor abgelegt (B).

selwirkung einer Polymerlösung im elektrischen Feld genutzt: dies umfasst sowohl die Ausbildung des Faserstroms als auch die Bewegung und Dehnung der Fasern im elektrischen Feld. Durch die Überlagerung beider Wirkmechanismen können die ausgewiesenen geringen Faserdurchmesser erreicht werden (s. Tab. 4.1). Zunächst erfolgt durch das Anlegen einer Hochspannung eine Separation von Ladungsträgern im am Spinneret befindlichen Polymerlösungstropfen. Die in Richtung Kollektor orientierten elektrostatischen Kräfte wirken dabei der Oberflächenspannung des Tropfens entgegen. Wird die elektrische Spannung nun über den Gleichgewichtszustand hinaus erhöht, übersteigt die elektrostatische Kraft die Oberflächenspannung und es tritt ein Polymerstrahl aus dem Tropfen aus. Erstmals wurde dieses Kräftegleichgewicht durch TAYLOR beschrieben [127]. Die Elektrostatik ist dabei die maßgeblich treibende Kraft, so dass das Verfahren unabhängig von der Schwerkraft in alle vertikalen und horizontalen Richtungen durchgeführt werden kann. Verspleinbar sind sowohl synthetische Polymere wie Polycaprolacton, Nylon, Nitrocellulose und Polyurethan [58, 128–130] als auch Biopolymere wie Kollagen, Elastin oder Fibrinogen [103, 131]. Voraussetzung dafür ist die Löslichkeit des Polymers in einem geeigneten Lösemittel, eine ausreichend hohe Kettenlänge sowie ein Mindestmaß an Leitfähigkeit [124]. Zudem ist die Verwendung von Mischungen aus mehreren Polymeren möglich, um die Eigenschaften der resultierenden Fasern gezielt anzupassen - z.B. zur Verbesserung des Benetzungsverhaltens und des Zellbewuchses [58, 132]. Ein großer Vorteil des Elektrospleinens gegenüber anderen polymertechnischen Verfahren ist, dass die Verflüssigung des Polymers durch ein Lösemittel erfolgt und es zu

keiner thermischen Beanspruchung wie z.B. beim Schmelzspinnen kommt. Dadurch werden die Molekülketten des Polymers weniger geschädigt und das Molekulargewicht bleibt nahezu erhalten. Besonders vor dem Hintergrund der Verwendung im medizinischen Bereich und den damit verbundenen Anforderungen an konstante Werkstoffgüte ist dies wichtig. So hängt die Degradationsdauer eines Implantats maßgeblich vom Molekulargewicht des Polymers ab. Außerdem wird durch den Verzicht auf hohe Temperaturen die Beimengung von thermisch sensiblen Additiven, wie biologischen Wachstumsfaktoren oder Pharmazeutika, möglich. So können u.a. antibakterielle Stoffe wie Hexadecyltrimethylammoniumbromid beigemischt werden [133]. Auch die Einbindung von Kohlenstoffnanoröhren ('carbon nanotubes') zur Verbesserung der mechanischen Eigenschaften kann durchgeführt werden [134, 135].

4.3.2 Historie

Die Ursprünge der Erforschung der elektrohydrodynamischen Wechselwirkung gehen bis ins 16. Jahrhundert zurück. Damals beobachtete der Hofphysiker der Königin von England, wie sich ein Wassertropfen in Anwesenheit eines elektrostatisch aufgeladenen Bernsteins verformt. Im 18. Jahrhundert beschrieb BOSE erstmals den Zusammenhang des Verhaltens von Aerosolen und Elektrostatik [136]. Die Grundlagen des Verfahrens zum Elektrosponnen von Polymeren wurde Anfang des 20. Jahrhunderts von COOLEY und MORTON patentiert [137]. Entscheidende Verbesserungen hinsichtlich der automatisierten Produktion von Fasern für textile Anwendungen erfolgten ab den 1920er Jahren durch FORMHALS [138]. In den 1940er Jahren verlor das Elektrosponnen jedoch an Bedeutung, da es nicht so produktiv war, wie die neu entwickelten nasschemischen Verfahren zur Herstellung von Nylon bzw. Perlon. Gegen Ende des zweiten Weltkrieges war die Entwicklung in den damaligen HUELS-Werken vollständig zum Erliegen gekommen und viele Forschungsergebnisse gingen in den Wirren der letzten Kriegstage verloren. Wiederkehrende Bedeutung erhielt das Elektrosponnverfahren anschließend im kalten Krieg auf Seiten der Sowjetunion. In der von PETRYANOV, ROZENBLYUM und FUKSA geführten Fabrik (heute: Fa. SEC AEROSOL, ROSATOM) wurden Atemschutzmasken mit elektrogewebenen Filtern hergestellt, die im Falle eines atomaren oder chemischen Angriffs vor dem Einatmen radioaktiver Partikel schützen sollten. Die damals produzierte Menge von 1,3 Mio. Masken stellte die bis dahin größte Menge elektrogewebenen Vlieses und den ersten Schritt zur Massenproduktion dar [126]. Da es sich um eine militärische Einrichtung handelte, sind bis heute nur wenige Unterlagen über die damalige Technik verfügbar [136]. In der westlichen Welt findet das Elektrosponnen seit den 1990er Jahren in Querschnittsbereichen wie der Biomedizintechnik und der Mikrotechnologie wachsende Beachtung. Bis heute ist das Interesse an dieser Technologie ungebrochen und die Zahl der Veröffentlichungen auf diesem Gebiet steigt exponentiell (s. Abb. 4.8).

4.3.3 Prozess

Der Elektrosponnprozess ist von einer Vielzahl an Parametern abhängig, die sich in ihrer Wirkung auch gegenseitig beeinflussen. Sie lassen sich dabei in die drei Kategorien Lösungs-, Prozess- und Umgebungsparameter einteilen (s. Tab. 4.2). Bezogen auf das System Elektrosponnen lassen sich

drei Zustandsgrößen identifizieren: die Viskosität der Polymerlösung, die elektrische Feldstärke und die Evaporationsrate des Lösemittels. Diese Zustandsgrößen sind von jeweils einer Gruppe von Parametern abhängig.

Die Spinnbarkeit eines Polymers hängt maßgeblich von der Temperatur, der Kettenlänge und der Konzentration der Lösung ab. Dabei müssen die Polymerketten eine gewisse Mindestlänge aufweisen und in ausreichender Konzentration vorhanden sein, damit es untereinander zu einer Verschlaufung und zur Ausbildung eines kontinuierlichen Faserstroms am Düsenaustritt kommt. Ist einer der Faktoren zu gering ausgeprägt, kommt es lediglich zur Ausbildung von tropfenförmigen Teilabschnitten von Fasern (engl. 'beads'). Ab einer spezifischen Mindestkonzentration werden kontinuierliche Fasern gesponnen, deren Durchmesser mit der verwendeten Konzentration steigt. Ist die Konzentration zu hoch, trocknet die Lösung bei Luftkontakt zu schnell aus und kann nicht versponnen werden bzw. der Spinnprozess ist instabil. Dies kann auch auftreten, wenn die Evaporationsrate, die aus dem Zusammenspiel von Dampfdruck des Lösemittels, Partialdruck und Luftfeuchtigkeit resultiert, zu hoch ist [2, 124]. In einigen Fällen bewirkt eine Absenkung der Oberflächenspannung die Formation von 'beads'. Ein HANSEN-Plot gibt auf theoretischer Basis Aufschluss über Löslichkeiten von Polymeren [8]. Der empirische Versuch ist aber aufgrund von variierenden Kettenlängen und Qualitäten der Rohstoffe unabdingbar.

Die Flussrate der Lösung aus der Düse hat großen Einfluss auf die Gestalt des Fasernetzwerks: Ist sie zu hoch gewählt, erreichen die Fasern den Kollektor in feuchtem Zustand und verkleben

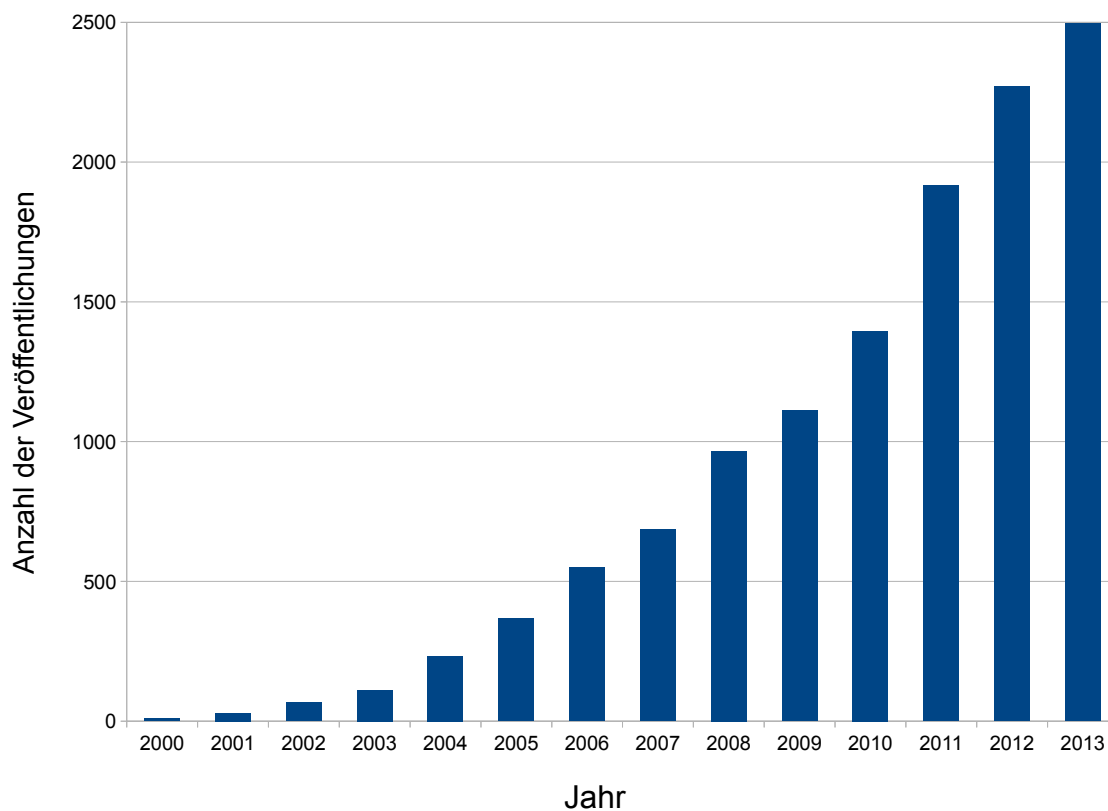


Abbildung 4.8: Anzahl der wissenschaftlichen Veröffentlichungen im Bereich Elektrosponnen in den Jahren 2000 bis 2013. Suchkriterium ist der Begriff 'electrospinning' [139].

Lösung	Prozess	Umgebung
Polymerkonzentration	Flussrate	Temperatur (Prozessraum)
Kettenlänge/Mol.gewicht	Elektrische Spannung	Relative Luftfeuchte
Temperatur (Lösung)	Abstand Düse-Kollektor	Partialdruck (Lösemittel)
<i>Viskosität</i>	<i>Elektrische Feldstärke</i>	<i>Evaporationsrate</i>
Oberflächenspannung	Durchmesser der Düse	
Elektrische Leitfähigkeit		

Tabelle 4.2: Zustandsgrößen und Einflussparameter beim Elektrosinnen von Polymeren. Es wird zwischen Parametern unterschieden, die sich aus der Polymerlösung oder dem Prozess ergeben. Zusätzlich werden Parameter der Umgebung bzw. in der Spinnkammer betrachtet. Kursive Einträge repräsentieren die drei systembedingten Zustandsgrößen, die direkt von den Parametern abhängig sind [2, 124].

mit den bereits abgelegten Fasern. Im Extremfall zerfließen sie dabei vollständig und bilden einen nahezu porenlosen Film auf dem Kollektor aus. Ist die Flussrate zu niedrig gewählt, kommt es zu einem Antrocknen der Lösung an der Düse und daraus resultierenden Instabilitäten beim Prozess [2]. Zudem besteht ein Zusammenhang zwischen Flussrate und Faserdurchmesser. Die maximal mögliche Flussrate ist dabei neben der Gewährleistung der Ablage intakter, trockener Fasern von der Form des TAYLOR-Konus abhängig. Dieser darf nicht aus der Düse wandern, aber auch nicht zu weit hinein verlagert sein. Der Zufluss aus dem Polymerreservoir sollte dabei im Gleichgewicht mit dem Abfluss durch die Faserbildung am Spinneret stehen (s. Kap. 4.3.4), so dass der TAYLOR-Konus in seiner Form stabil und symmetrisch bleibt. Der Abtransport von Fasern hängt dabei direkt mit der angelegten elektrischen Spannung, bzw. der anliegenden elektrischen Feldstärke zusammen. Die Feldstärke berechnet sich aus der elektrischen Spannung bezogen auf den Abstand zwischen Düse und Kollektor. Bei kleinen Abständen führen deshalb schon vergleichsweise niedrige elektrische Spannungen zur für die Ausbildung eines Faserstroms notwendigen hohen Feldstärke. Der Abstand zwischen Düse und Kollektor hat zudem direkten Einfluss auf die Flugstrecke und somit Trocknungsdauer der Fasern. Weiterhin vergrößert sich der besponnene Bereich mit Erhöhung des Abstands, da die Biege- und Kreiselinstabilitäten (engl. 'bending / whipping instability') bei höherer Entfernung zum Kollektor eine stärkere Wirkung entfalten können [2].

4.3.4 Anlagentechnologie und Varianten

Aktuell werden eine Vielzahl von verschiedenen Anlagen und Varianten zum Elektrosinnen von Polymeren erforscht. Ein Teil davon ist kommerziell erhältlich, andere Entwicklungen sind noch Teil der Forschung. Grundsätzlich setzt sich ein Elektrosinnenaufbau aus den Komponenten Spinneret, Polymerfördervorrichtung (z.B. Spritzenpumpe), einer oder mehreren Spannungsquellen und dem Kollektor zusammen. Ein abgeschlossener Prozessraum dient dazu, die Umgebungspa-

parameter zu kontrollieren (vgl. Tab. 4.2) und zu verhindern, dass für den Bediener gefährliche Stoffe wie Lösemitteldämpfe austreten.

Spinneret

Die Bezeichnung Spinneret ist der Tatsache geschuldet, dass sich neben der in der Regel verwendeten Düse, Konzepte zum düsenlosen Elektrospinnen etabliert haben. Hierbei wird die Polymerlösung nicht durch eine Düse in den Prozessraum gebracht, sondern direkt auf dem Spinneret ausgebracht und zu Fasern versponnen. Dazu werden u.a. metallische Walzen verwendet, die sich in einem nach oben geöffneten Reservoir befinden und durch ihre Drehbewegung stetig mit einem dünnen Lösungsfilm benetzt werden. Durch auf der Oberfläche der Walze befindliche spitze Erhebungen bilden sich mehrere TAYLOR-Konusse und Faserströme aus. Ein Strom reißt ab, sobald die Walze weiter rotiert ist und wird auf der anderen Seite durch einen neuen Faserstrom ersetzt. Der Prozess ist damit quasi-kontinuierlich, eine durchgehende Faser wie bei einer herkömmlichen Düse wird jedoch nicht gebildet. Statt einer rotierenden Walze kann auch eine dünne Scheibe oder eine Kugellkette verwendet werden [140]. Vorteil des düsenlosen Verfahrens ('needleless') ist, dass die Lösung an der Oberfläche stets erneuert wird. So wird es möglich, Lösungen zu verspinnen, deren Eigenschaften bei Verwendung einer Düse zu einem instabilen Prozess und dem Abriss des Faserstroms führen würden. Außerdem ist die Produktivität des Verfahrens viel höher als beim Spinnen aus einer oder mehreren Düsen [141]. Nachteilig ist die Tatsache, dass kontinuierlich, unabhängig von der Faserbildung, eine große Menge an Lösemittel verdampft und sich so die Polymerkonzentration im Reservoir verändert. Dies führt zu abweichenden Produkteigenschaften und Instabilitäten im Prozess. Eine Weiterentwicklung des Verfahrens stellt die Verwendung eines Drahts als Elektrode dar, der kontinuierlich von einem translatorisch angetriebenen Schlitten mit Polymerlösung benetzt wird. Das Polymerreservoir ist luftdicht abgeschlossen und durch eine Zuleitung mit dem Schlitten verbunden, so dass es im Laufe des Prozesses zu keiner Veränderung der Polymerkonzentration kommt. Der Schlitten benetzt den Draht bei jeder Fahrt mit einem dünnen Polymerfilm, der sofort versponnen wird. Dadurch sind auch Lösemittel verwendbar, die sehr schnell verdampfen (z.B. Chloroform). Zugleich reinigt der Schlitten den Draht durch seine Bewegung, so dass dauerhaft die gleichen Rahmenbedingungen zur Erzeugung des Faserstroms aufrecht erhalten werden [140, 142, 143].

In der Regel werden selbstgefertigte Düsen oder kommerziell erhältliche Einmalkanülen als Spinneret verwendet. Diese werden aufgrund ihres medizinischen Einsatzes in großer Stückzahl gefertigt und sind deshalb kostengünstig verfügbar. Außerdem entfällt bei Einmalartikeln der Reinigungsaufwand. Die unzureichende Lösemittel- und Temperaturbeständigkeit solcher Komponenten ist in Einzelfällen problematisch. Eine Sonderform des auf Düsen basierten Elektrospinnens stellt der Einsatz einer coaxialen Düse dar. Hierbei werden zwei Polymerlösungen unabhängig voneinander durch zwei konzentrisch zueinander positionierte Düsen geführt [54, 144]. Die Lösungen fließen erst kurz vor dem Verspinnen am Austrittsende der Düse ineinander, so dass auch sonst inkompatible Lösungen einen Faserstrom ausbilden. Die innere Polymerlösung bildet dabei den späteren Kern der Faser, die äußere Lösung die Hülle. Es lassen sich Hilfsstoffe wie Öl oder leicht lösliche Polymere als Kern verwenden, die in einem nachfolgenden Schritt entfernt werden, so dass eine Hohlfaser entsteht [144]. Auch die Beladung des Kerns mit Wirkstoffen und eine

Anpassung der Permeationseigenschaften der Hülle sind möglich [54]. Polymere, die aufgrund ihrer zu hohen oder zu niedrigen Leitfähigkeit oder Oberflächenspannung nicht spinnbar sind, können häufig in Kombination mit einem spinnbaren Polymer koaxial verarbeitet werden [2]. Die Prozessstabilität hängt von der Anordnung bzw. dem Überstand von innerer zu äußerer Düse ab [144]. Eine koaxiale Düse wird zwecks Wiederverwendbarkeit und Beständigkeit meist aus metallischen Werkstoffen gefertigt, ist aber in Teilen (z.B. Gehäuse) aus nicht-leitendem Material herstellbar [145]. Im Idealfall führt ein koaxialer Aufbau zur Vereinigung vorteilhafter Eigenschaften zweier Polymere, ohne dass deren nachteilige Wirkungen auftreten. Ein Beispiel sind Matten, die aus koaxial versponnenem Polyamid (PA; Kern, innen) und Polymethylmethacrylat (PMMA; Mantel, außen) bestehen. Solche Matten wurden von Wan et al. in Vollmaterial aus PMMA eingebettet und unter Druck verbunden. Anschließend wurden die mechanischen und optischen Eigenschaften des Verbunds untersucht. Dabei wurde ein Vergleich mit einem Laminat durchgeführt, das aus Schichten aus jeweils separaten PA- und PMMA-Matten bestand. Es zeigte sich, dass die koaxiale Variante eine höhere Zugfestigkeit und höhere optische Durchlässigkeit aufwies als das auf Einzelfasern basierende Produkt [146].

Lagerung und Förderung der Polymerlösung

Die Förderung der Polymerlösung erfolgt in der Regel durch Verdrängung aus einem Reservoir. Hierzu kann eine handelsübliche Spritzenpumpe aus dem klinischen Bereich eingesetzt werden, die in der Lage ist, sehr präzise kleinste Mengen zu fördern (0,0005 bis 1250 ml/h) [147]. Für den direkten Einsatz innerhalb der Spinnkammer sind die meist metallisch verkleideten Pumpen jedoch nicht geeignet und es müssen Schlauchleitungen verwendet werden, die Totvolumina hervorrufen. Als Reservoir werden Einmalspritzen mit einem Volumen zwischen 1 und 100 ml verwendet. Die Spritze wird in der Pumpe durch einen auf einem Spindeltrieb befindlichen Schlitten entleert und die Lösung direkt durch die Düse gefördert. Zur Überbrückung größerer Distanzen kann auch eine Schlauchleitung zum Transport der Lösung zwischen Spritze und Düse verwendet werden. Einwegspritzen bestehen aus Polypropylen, Polyethylen und synthetischem Kautschuk (Kolbenstopfen), so dass eine hohe Beständigkeit gegenüber vielen Lösemitteln gegeben ist [148]. Für aggressive Lösungsmittel oder Anwendungen, bei denen das Reservoir auf hohe Temperaturen erhitzt werden muss, eignen sich mehrfach verwendbare Spritzen aus Glas mit einer vollständig metallischen Kanüle. Neben der kolbengetriebenen Verdrängung kann auch mittels Schwerkraft gefördert werden, wobei die Flussrate dann vom hydrostatischen Druck der Flüssigkeitssäule der Polymerlösung abhängt und somit keine konstante Förderung gewährleistet ist. Eine andere Möglichkeit ist die Förderung per Druckluft. Hierzu wird in das Reservoir ein inertes Gas eingebracht, das die Polymerlösung verdrängt und so durch die Düse fördert [149]. Beim Elektrospinnen ohne Düse befindet sich die als Spinneret fungierende Walze halbseitig in einem Reservoir aus Polymerlösung. Die Lösung wird entweder zu Beginn aufgefüllt und dann über die Prozessdauer hin verbraucht oder es wird aktiv mit einer Pumpe über eine Schlauchleitung neue Lösung hinzugeführt. Wird als Spinneret ein Draht verwendet ist der Aufbau ähnlich, jedoch bewegt sich das Reservoir zyklisch und benetzt den Draht mit einer stets frischen Lage Polymerlösung [140, 141].

Kollektor

Der Kollektor ist die Fläche, auf der die elektrogewonnenen Fasern abgelegt werden. Er ist geerdet oder mit einer Spannungsquelle gegenteiliger Polarität zum Spinneret beaufschlagt, so dass ein vom Kollektor zum Spinneret verlaufendes, elektrisches Feld anliegt. Die einfachste Form ist der statische Flachkollektor (s. Abb. 4.9), bei dem zwischen Ablagefläche und Spinneret keine Relativbewegung auftritt. Die Fasern werden in diesem Fall ungerichtet abgelegt und haben keine Vorzugsrichtung. Um Fasern ausgerichtet abzulegen, eignet sich die Verwendung eines Trommelkollektors [145]. Hierbei werden die Fasern auf eine schnell rotierende Trommel oder ein anderes rotationssymmetrisches Objekt abgelegt und aufgewickelt. Um lange dünne Rohre ('tubes') herzustellen, eignet sich ein sogenannter Wellenkollektor (s. Abb. 4.9). Eine deutliche Ausrichtung wird ab einer Oberflächengeschwindigkeit des Kollektors von 10 m/s erreicht [16]. Statt eines flächigen Kollektors kann auch eine rotierende Scheibe genutzt werden, wobei auf deren scharfe Kante gesponnen wird, so dass ein kompaktes Faserbündel entsteht [150, 151]. Ein wichtiger

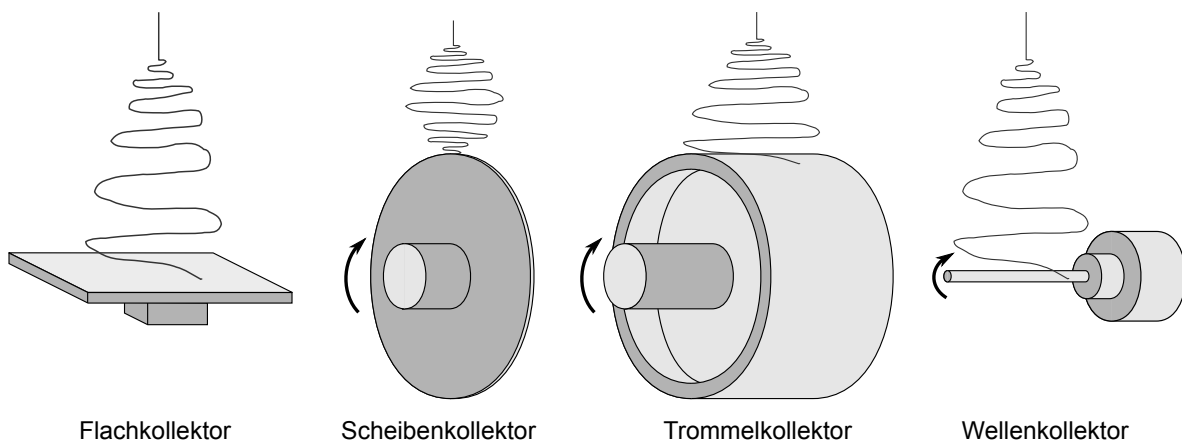


Abbildung 4.9: Kollektortypen beim Elektrosponnen. Flachkollektor für die statische Ablage (links), Scheibenkollektor zur Herstellung von Garn (Mitte links), Trommelkollektor für die Erzeugung von Matten mit Faserausrichtung (Mitte rechts) und Wellenkollektor zur Produktion langer dünner Rohre (rechts).

Aspekt - unabhängig von der Verwendung eines statischen oder rotierenden Kollektors - ist die Ablösbarkeit der Fasermatte. Dies kann z.B. bei der Verarbeitung von klebrigen Proteinen oder hydrophilen Polymeren problematisch sein. Um den Ablöseprozess zu vereinfachen, kann die abgelegte Matte mit Ethanol besprüht werden. Dabei ist zu beachten, dass keiner der versponnenen Stoffe in Ethanol löslich sein sollte, damit die Faserstruktur intakt bleibt.

Eine Sonderform der statischen Ablage stellt das 'gap spinning' dar. Hierbei wird auf zwei parallel zueinander positionierte Kollektoren gesponnen, die durch einen Luftspalt oder andere nichtleitende Werkstoffe voneinander getrennt sind. Der Faserstrom springt von einer Seite zur anderen und es bildet sich so eine nahezu parallele Faseranordnung aus. Eine Mischform stellt die Rotation einer in geordneten Abständen mit Glasplättchen bestückten metallischen Trommel dar, bei der sich die elektrostatische und kinematische Wirkung überlagern [16].

Prozessvarianten

Ein großer Vorteil des Elektrospinnens ist die Möglichkeit zur Implementierung neuer Prozessvarianten mit bestehendem Equipment. So ist es durch die Verwendung mehrerer parallel betriebener Düsen möglich, Verbundstrukturen aus unterschiedlichen Fasertypen herzustellen (engl. 'multi fiber')[60, 152]. Die Faserströme werden dazu nebeneinander auf den Kollektor gerichtet oder befinden sich auf entgegengesetzten Seiten des Kollektors, damit eine Abstoßung aufgrund gleichnamiger Ladungen verhindert wird. Ein Verbund aus verschiedenen Fasertypen kann genutzt werden, um Eigenschaften wie die Benetzbarkeit oder mechanische Stabilität unabhängig voneinander zu beeinflussen. Dabei addieren sich die Eigenschaften der einzelnen Fasertypen, so dass z.B. mechanisch schwache, aber stark hydrophile Fasern mit hydrophoben, aber stabilen Fasern gemischt werden können. Auch die Einbringung von nach dem Spinnvorgang herauslösbaren Fasern, sogenannten Opferfasern, ist möglich. Dadurch kann die Porosität für eine bessere Infiltrierbarkeit mit Zellen erhöht werden [61]. Wird in zeitlicher Abfolge aus verschiedenen Reservoiren getrennt nacheinander auf den Kollektor gesponnen, entsteht eine Schichtstruktur mit lagenweise wählbaren Eigenschaften ('multi layer') in Abhängigkeit von den verwendeten Polymerlösungen [71, 152, 153]. Die Variation der Eigenschaften ist auch in Bezug auf die Ausrichtung der Fasern möglich, indem ein rotierender Kollektor bei unterschiedlichen Drehzahlen schichtweise besponnen wird. Eine Herausforderung beim mehrlagigen Spinnen stellt die fehlende Anhaftung aufeinanderfolgender Schichten dar, so dass es zu einer Ablösung (Delamination) kommen kann.

Nachbehandlung

Um die Eigenschaften von Fasermatten über die Möglichkeiten des reinen Elektrospinnprozesses hinaus zu beeinflussen, existieren Verfahren, die physikalische und chemische Änderungen bewirken ('post processing'). So ist es möglich, die Hydrophilie von Fasern durch eine Behandlung mit Plasma zu steigern, um die Benetzbarkeit mit wässrigen Medien zu verbessern - z.B. für eine anschließende Besiedlung mit Zellen. Als Quelle für das Plasma können verschiedene Gase wie z.B. Ammonium, Sauerstoff oder Luft verwendet werden. Darüber hinaus können durch eine Plasmabehandlung gezielt funktionelle Gruppen (z.B. Carboxyl- oder Amingruppen) an die Oberfläche der Fasern gebunden werden, wodurch sich das Migrations- und Proliferationsverhalten von Zellen weiter verbessern lässt ohne die mechanischen Eigenschaften negativ zu beeinflussen [154]. Neben der Plasmabehandlung existieren nasschemische Verfahren, um z.B. Proteine kovalent an die Fasern zu binden. So können im Vergleich zum plasmabasierten Ansatz auch Fasern funktionalisiert werden, die tiefer im Gerüst liegen. Die Konzentration der Reagenzien und ihre Einwirkdauer müssen jedoch sehr genau eingestellt werden, da es sonst zu einer Beeinträchtigung der mechanischen Eigenschaften der Matten kommen kann.

Eine weitere Möglichkeit zur Veränderung der Benetzungseigenschaften sind mittels Laser strukturierte Oberflächentopografien. Dadurch kann auch die Besiedelbarkeit mit Zellen beeinflusst werden [155]. Neben der Modifikation der Faseroberfläche lassen sich elektrogesponnene Produkte mittels Laser auf mikroskopischer Ebene dreidimensional strukturieren. So können zur Verbesserung der Nährstoffversorgung und Besiedelbarkeit mit Zellen durchgehende Mikrokanäle

le durch Laserablation in elektrogesponnenen Matten eingebracht werden [156]. Abhängig vom verwendeten Laser und seiner Wirkungsweise kommt es dabei zu einer Veränderung der umliegenden Bereiche aufgrund thermischer Schädigung. So wurden mittels eines Femtosekunden-Lasers durch Ablation laterale Mikrokanäle von 100 μm Breite und Tiefe über eine Länge von 10 mm eingebracht, ohne dass eine deutliche Änderung der Morphologie angrenzender Fasern festgestellt werden konnte [157].

Produktgeometrien

Die einfachste Form elektrogesponnener Produkte stellt die Fasermatte dar. Sie kann mit statischen oder bewegten Kollektoren (vgl. 4.9) hergestellt werden. Die Ablage auf einem rotierenden Trommelkollektor führt in diesem Zusammenhang zu einer gleichmäßigeren Verteilung der Schichtdicke als auf einem statischen Kollektor. Aktuell existieren bereits Produkte, die auf dieser Geometrie basieren - so u.a. Filter zur Reinigung von Luft. Eine andere relativ einfach zu realisierende Geometrie ist die tubuläre Form. Hierbei wird ein Wellenkollektor verwendet und mit definierter Geschwindigkeit im Faserstrom rotiert [158]. Durch den Einsatz von Wellen mit unterschiedlichem Durchmesser kann eine hohe Bandbreite an rohrförmigen Gerüsten in der selben Anlage produziert werden. Eine weitere Form stellt elektrogesponnenes Garn dar. Hierbei wird ein scheibenförmiger rotierender Kollektor mit scharfer Kante verwendet, um ein dichtes Faserbündel mit hoher Ausrichtung zu erhalten [150, 151]. Die Länge eines solchen Garns ist jedoch durch den Umfang des Kollektors begrenzt. Ein Aufbau zur kontinuierlichen Herstellung von Garn sieht die Verwendung eines Wasserbads als Kollektor vor. Hier wird das Garn bzw. die Einzelfaser nach dem Spinnen auf die Wasseroberfläche durch einen Wirbel nach unten gezogen und über Umlenkrollen auf einer Spindel aufgewickelt [159].

Die Geometrie der menschlichen Herzklappe stellt eines der komplexesten mittels Elektrosponnen herstellbaren Gerüste dar. Weltweit existieren geschätzt maximal fünf aktive Forschungsgruppen, die sich auf diesem Gebiet betätigen. Ein einfach zu realisierender Ansatz wurde von Del Gaudio et al. vorgestellt: Hierbei wird lediglich der Abschnitt der Flügel der Klappe auf einen metallischen Kollektor gesponnen. Sinusbulben werden nicht abgeformt [85]. Eine solche Geometrie lässt sich leicht vom Kollektor lösen, kann jedoch nie die fluiddynamischen Eigenschaften der nativen Klappen erreichen. Außerdem kann es bei der Ablage zu ungleichmäßigen Wandstärken kommen, die das Öffnungsverhalten der Klappe negativ beeinflussen [87]. Eine Möglichkeit, auch die Geometrie der Sinusbulben abzubilden, wurde von Van Lieshout et al. vorgestellt. Der Kollektor ist dazu mehrteilig ausgeführt: Drei identische, separate, metallische Komponenten dienen der Abformung der einzelnen Segel und Bulben. Eine vierte, zylindrisch geformte Komponente stellt den Gefäßkanal dar und wird nach dem Bessinnen der Segel mit diesen durch erneutes Bessinnen unter Rotation verbunden [86]. Strömungstechnisch gesehen ist eine solche Gerüststruktur ein deutlicher Fortschritt. Eine große Herausforderung bei diesem Verfahren stellt der Zusammenbau der Komponenten zu einer Einheit dar. Dieser Aspekt ist besonders in Verbindung mit einer Rotation des Kollektors um die eigene Achse kritisch, da hier Fliehkräfte auftreten [160]. Diese können eine so hohe Belastung einbringen, dass der Kollektor auseinanderfällt. Eine weitere Schwierigkeit ergibt sich aus dem einzelnen Bessinnen der komplex geformten Segelkollektoren: durch die zwangsläufig unterschiedlichen Spinnvorgänge werden die drei Kollektoren nicht

identisch besponnen, was im späteren Verlauf zu einem ungleichmäßigen Öffnungsverhalten der Klappe führt. Hierbei sind schon Differenzen im Bereich von wenigen Dutzend Mikrometern ausschlaggebend. Auch die Vereinigung mit dem zylindrischen Kollektorabschnitt ist problematisch, da die Fasern der Segel schon lange getrocknet sind, wenn der Spinnvorgang für den Zylinder beginnt. So kommt es nur zu einer unzureichenden Anhaftung beider Schichten, was die Gefahr einer Delamination im späteren Betrieb birgt [122].

4.3.5 Mechanische Eigenschaften elektrogessponnener Strukturen

Aufgrund der Bandbreite an möglichen Variationen des Elektrospinnprozesses und damit verbundenen Auswirkungen auf die mechanischen Eigenschaften existiert diesbezüglich in der Literatur eine breite Datenbasis. So wurde von Wong und Tan et al. ein Einfluss des Faserdurchmessers auf die Reißfestigkeit nachgewiesen [161, 162]. Es zeigte sich auch, dass die Reißfestigkeit von der Geschwindigkeit des rotierenden Kollektors und der Kristallinität der Fasern abhängig ist. Die Kristallinität ist wiederum abhängig von der induzierten mechanischen Zugspannung bei der Ablage und damit von der Rotationsgeschwindigkeit [163, 164].

Auch die mechanischen Eigenschaften eines spezifischen Polymers, wie elektrogessponnenem PCL, waren bereits Gegenstand zahlreicher Untersuchungen [53, 165–172]. Die ermittelten mechanischen Kennwerte wie Reißfestigkeit, Elastizität, E-Modul, usw. unterscheiden sich dabei jedoch stark (s. Anhang, Abb. A.2). Dies hat u.a. seinen Ursprung in nicht einheitlichen Herstellungs- und Prüfbedingungen: Die Breite der untersuchten Proben liegt zwischen 3 und 10 mm, die freie Länge zwischen 10 und 40 mm und die Prüfgeschwindigkeit variiert von 1 bis 480 mm/min [50, 56, 164–168, 170–181]. Auch die Prozess-, Lösungs- und Umgebungsparameter bei der Produktion beeinflussen die Eigenschaften der Fasermatte deutlich, werden aber selten dokumentiert bzw. veröffentlicht. Bei der Prüfung im statischen oder dynamischen Versuch sind vor allem Umgebungsbedingungen wie die Temperatur und die relative Luftfeuchte, aber auch die Einspannung und Form der Probe von Bedeutung [53]. Die mechanische Prüfung von Kunststoffen unterschiedlichen Typs (Folie, Vlies, Vollmaterial) ist ausführlich in Normen abgefasst [51, 52, 182–184]. Es existieren jedoch keine Normen oder standardisierte Bedingungen zur Bestimmung der mechanischen Eigenschaften von elektrogessponnenen Produkten. Dies betrifft in erster Linie Bedingungen wie die Prüfgeschwindigkeit beim Zugversuch und die Geometrie der Proben. So arbeiten einige Gruppen mit streifenförmigen [56, 166, 168, 170–178] und andere mit knochenförmigen [50, 161, 164, 165, 167, 179–181] Proben. Die Knochenform ist für anisotrope Werkstoffe ungeeignet, da die Krafteinleitung an den Einspannungsstellen nicht gleichmäßig ist. Die Streifenform wiederum ist nicht geeignet für Proben mit isotropen Eigenschaften [51]. Entscheidend für die Auswahl der Prüfgeometrie ist somit die Kenntnis über die Faserausrichtung. Gleichzeitig gibt es in der überwiegenden Anzahl von Veröffentlichungen mit Fokus auf mechanische Eigenschaften und Elektrosponnen keine Angaben über den Grad der Ausrichtung der Fasern der untersuchten Proben. Es existieren Ansätze zur Erfassung der Faserausrichtung mittels bildgebender Verfahren, die vollständige Charakterisierung aller Proben ist jedoch aufwändig [185, 186]. Auch die Bestimmung der Schichtdicke und Einbeziehung der Porosität als Basis für weiterführende Berechnungen wie die Reißfestigkeit erfolgen nicht einheitlich [53]. Aus der Literatur lassen sich daher nur bedingt vergleichbare Kennwerte entnehmen.

4.3.6 Abgeleitete Aufgaben

Die Betrachtung des aktuellen Stands der Technik zeigt, dass es bereits eine Vielzahl von Materialien und Techniken gibt, um medizinischen Problemstellungen mit kardiovaskulärem Bezug zu begegnen. Die dafür nötigen Erkenntnisse wurden sukzessive durch Trial-and-Error-Strategien in den letzten 70 Jahren gewonnen. Die verwendeten Materialien und Herstellungstechniken entstammten dabei überwiegend Produktionsmethoden aus anderen Sektoren der Industrie. Mit textilen Verfahren können dabei Strukturen erzeugt werden, die sich durch Auswahl des polymeren Ausgangsmaterials und die Kombination von Prozessschritten an die biologischen Erfordernisse anpassen lassen. Weiterhin bietet das Elektrosponnen von Polymeren im Vergleich zu anderen Verfahren sowohl auf mikrostruktureller als auch auf makroskopischer Ebene eine Vielzahl von Möglichkeiten zur Beeinflussung von Merkmalen (z.B. Porosität, Poren-/Faserdurchmesser). Weiterhin kann die Produktion vom Labormaßstab bis zu großen Stückzahlen skaliert werden.

Die Stärke des Elektrosponn-Verfahrens liegt in der Kombinierbarkeit von Prozessvarianten und Komponenten, mit denen eine große Bandbreite an Implantateigenschaften erzeugt werden kann. Durch die Verwendung von resorbierbaren Polymeren ist es weiterhin möglich, Implantate mit aktiven Fähigkeiten zu entwickeln und dadurch Herausforderungen zu begegnen, die im dynamischen Umfeld des lebenden Organismus auftreten. So kann mit elektrogewebenen Fasermatten aus resorbierbarem PCL ein räumlich und zeitlich definierter Verfahrensablauf im menschlichen Körper hervorgerufen werden. Dadurch wird der Organismus aktiv in die Wiederherstellung von funktionellem Gewebe einbezogen. Das Fasergerüst gibt durch seine Makrogeometrie und Mikrostruktur bereits den gesamten Bauplan für das zu ersetzende Gewebe vor. Dabei wirkt das Gerüst als formgebende Komponente für einwandernde Zellen und bietet mechanische Stabilität. Zugleich unterstützt oder vermeidet das Implantat die Ansiedlung spezifischer Zelltypen. Dies kann über die Porengröße oder die Freisetzung von Wirkstoffen erreicht werden. Die Selektion kann durch Variation des Spinnprozesses weiterhin zeit- und ortsabhängig in das Implantat eingepreßt werden. Es soll nun anhand konkreter Produkte gezeigt werden, wie sich einfache flache Gerüststrukturen mit unterschiedlicher Mikrostruktur herstellen lassen und wie sich diese Möglichkeiten auf dreidimensionale Produkte wie Rohr übertragen lassen. Abschließend soll eine Gerüststruktur zur Nachahmung der komplexen Geometrie der menschlichen Herzklappe produziert werden und die dafür notwendigen Anlagenkomponenten und Herstellungsprozesse vorgestellt werden. Diese Beispiele werden zudem zeigen, wie anschließende Forschungsvorhaben ausgerichtet sein sollten, um das Elektrosponnen als Technologie für die serienmäßige Bereitstellung im Bereich Tissue Engineering zu etablieren. Im Bereich Elektrosponnen wurden bereits diverse Anlagenkomponenten und Prozessvarianten zur Herstellung von Gerüststrukturen entwickelt. Die Entwicklung erfolgte dabei in verschiedenen Forschungsgruppen und war häufig auf die Herstellung eines speziellen Produkts beschränkt. Es existiert zum aktuellen Zeitpunkt keine universell einsetzbare Anlage, und weiterhin gibt es keine allgemeinen Empfehlungen für das Design von Anlagenkomponenten. Im Rahmen dieser Arbeit soll daher eine Anlage aufgebaut werden, in der die bekannten Komponenten und Varianten integriert werden. Auf Basis dieser Erkenntnisse soll ermittelt werden, ob und wie sich eine spezifische Mikro- und Makrostruktur kombiniert in einem Produkt abbilden lassen. Das betrifft vor allem die Kontrolle von Durchmes-

ser und Ausrichtung der Fasern bei verschiedenen Kollektor- bzw. Produktgeometrien. Innovativ ist dabei die Integration von Automatisierungskonzepten in die Produktion. Aus den gesammelten Erkenntnissen werden dann Empfehlungen für das Design einzelner Komponenten abgeleitet. Dies betrifft u.a. die Werkstoffauswahl, die Bauform und die Elektronik.

Weiterhin zeigt der Stand der Technik, dass die Charakterisierung der mechanischen Eigenschaften von elektrogenesponnenen Produkten ein Thema von großer Relevanz ist. Trotz der hohen Anzahl an Publikationen in diesem Feld existieren wenig vergleichbare Werte für Eigenschaften wie die Reißfestigkeit und -dehnung resorbierbarer, elektrogenesponnener Polymere. Auch fehlt es an einer einheitlichen Prüfmethodik, da aktuelle Normen die Eigenheiten von elektrogenesponnenen Produkten nicht berücksichtigen. In dieser Arbeit sollen daher die Besonderheiten bei der Prüfung elektrogenesponnener Produkte evaluiert werden und eine einheitliche Prüfmethodik vorgestellt werden. Weiterhin sollen mit dieser Methodik die mechanischen Eigenschaften in Abhängigkeit von Parametern wie der Faserausrichtung bestimmt werden. So liegt für zukünftige Studien eine belast- und reproduzierbare Basis vor.

5 Herstellung von Gerüststrukturen

Im folgenden Kapitel werden die grundlegenden Komponenten des verwendeten Elektrospinnaufbaus vorgestellt. Der Fokus liegt dabei besonders auf Düse und Kollektor. Weiterhin wird die Ansteuerung dieser Komponenten vor dem Hintergrund der zahlreichen Variationen des Prozessablaufs erläutert. Die kommerzielle Verwertung von elektrogewebenen Gerüststrukturen erfordert einen reproduzierbaren Herstellungsprozess. Es ist daher sinnvoll, den Prozessablauf zu automatisieren und so durch manuelle Eingriffe hervorgerufene Variationen zu vermeiden. Es wird dargestellt, wie die in dieser Arbeit verwendete Anlage aufgebaut ist und wie die einzelnen Komponenten konstruktiv gestaltet sind. Die verwendete Komponenten sind dabei überwiegend Sonderanfertigungen bzw. Eigenkonstruktionen, die in mehreren Entwicklungszyklen in Hinblick auf die Erfordernisse beim Elektrospinnen optimiert wurden. Aus diesen Erfahrungen wird zunächst abgeleitet, welche grundsätzlichen Aspekte bei der Gestaltung der mechanischen und elektronischen Bauteile zu beachten sind. Bei der Beschreibung der einzelnen Komponenten wird in diesem Zusammenhang die Relevanz von konstruktiven Merkmalen für einen stabilen und sicheren Prozess hervorgehoben. Außerdem werden physikalische Effekte beschrieben, die im Rahmen der Versuche aufgetreten sind und direkten Einfluss auf Konstruktion und Prozess haben.

Weiterhin werden laserbasierte Fertigungsschritte zum Trennen, Fügen und Perforieren von elektrogewebenen Gerüststrukturen erprobt und bewertet. Langfristig soll eine Integration der Lasertechnologie in den Elektrospinprozess den Gestaltungsspielraum erhöhen, um komplexe Geometrien wie eine menschliche Herzklappe ohne manuelle Eingriffe zu fertigen. Abschließend wird ausgeführt, welche Komponenten und Abläufe sich automatisieren lassen und welcher Automatisierungsgrad nach aktuellem Stand erreichbar ist. Dazu wird die Integration aller Komponenten in ein Gesamtsystem dargestellt und die Ansteuerung über eine Benutzeroberfläche erläutert. Ziel ist es, ein Verständnis für eine vielseitig und auch für ungeübtes Bedienpersonal nutzbare Anlage, die reproduzierbar arbeitet, zu schaffen.

5.1 Gestaltung von Komponenten für Elektrospinnanlagen

5.1.1 Grundlegende Aspekte

Beim Elektrospinprozess stellen sich Herausforderungen physikalischer und chemischer Natur, die bei der Gestaltung der Anlagenkomponenten berücksichtigt werden müssen. Neben der durch den Prozess bedingten elektrischen Hochspannung bestehen durch die verwendeten Lösemittel

Risiken für Bedienpersonal und Anlagenkomponenten. Daraus lassen sich grundlegende Gestaltungsrichtlinien ableiten: Zum einen sollten generell alle im Prozessraum befindlichen Komponenten aus Werkstoffen gefertigt werden, die beständig gegen die verwendeten Lösemittel sind. Zum anderen muss ein elektrischer Kontakt von hochspannungsführenden Komponenten und der Steuerelektronik konstruktiv vermieden werden. Dies kann durch die Verwendung von elektrisch isolierenden Werkstoffen (z.B. Polypropylen (PP), Polyetheretherketon (PEEK)) erfolgen. Hierbei ist zu beachten, dass bei einigen im Volumen isolierenden Polymeren, wie z.B. Polyvinylchlorid (PVC), eine Leitung von Ladungsträgern durch an der Oberfläche befindliche Wassermoleküle aufgrund von Luftfeuchtigkeit möglich ist. Hochspannung kann so Strecken von über 30 cm überwinden und angrenzende Komponenten schädigen. Wird im Gegensatz dazu ein Werkstoff verwendet, der eine vollständige Isolation gewährleistet, kann es gerade bei niedrigen Luftfeuchtigkeiten zu einer starken Aufladung der Oberfläche kommen. Dadurch wird die Faserablage in diesem Bereich durch elektrostatische Abstoßung verringert und die Produktivität sinkt. Zudem besteht die Gefahr eines elektrischen Schlags auch nach Abschaltung der Hochspannungsquelle, da die elektrostatische Aufladung weiterbesteht. Die Verwendung von rein metallischen Werkstoffen ist auch nicht zielführend: Werden die Außenwände der Prozesskammer aus Metall gefertigt, wird ein Großteil der Fasern aufgrund der Attraktivität der leitfähigen Oberfläche nicht auf dem Kollektor abgelegt. Außerdem wird durch die Aufweitung der Feldlinien und daraus resultierende lokale Abschwächung des elektrischen Feldes die Spinnleistung herabgesetzt, so dass es im Extremfall nicht zur Ausbildung eines TAYLOR-Konus kommt. Kleine Elemente aus Metall (z.B. Schrauben) sind dagegen unproblematisch, da sie das elektrostatische Feld nur in geringem Maße beeinflussen. Die Aufweitung der Feldlinien und Abschwächung des Feldes ist auch bei der Gestaltung der Düse einzubeziehen. Es sind daher vor allem elektrostatische Betrachtungen, die für die Anordnung der Komponenten relevant sind. Weiterhin ist die Auswahl geeigneter Werkstoffe für die Produktivität und Reproduzierbarkeit einer Elektrospinnanlage essentiell und muss auf den Anwendungszweck abgestimmt werden.

Einen weiteren wichtigen Aspekt stellt die Geometrie der im Prozessraum befindlichen Anlagenkomponenten dar: Aufgrund des Spitzeneffekts ist das elektrische Feld an Ecken und Kanten viel stärker als im umliegenden Bereich, so dass die abgelegte Fasermenge hier lokal erhöht und dadurch auf das Produkt bezogen ungleichmäßig ist. Daher sollten bei der Konstruktion scharfe Übergänge und den Spitzeneffekt begünstigende Formen vermieden werden. Dies betrifft besonders die Düse und den Kollektor, da hier die zweckgemäße Wirkung des elektrischen Feldes ausschlaggebend für einen stabilen Prozess ist [87].

5.1.2 Pumpe

Die Förderung von Polymerlösung in die Düse erfolgt durch eine oder mehrere Spritzenpumpen. Dieses Förderprinzip lässt sich vielseitig in verschiedenen Prozessvarianten einsetzen und erlaubt einen konstanten, stabilen Spinnprozess. Da die kommerziell verfügbaren Spritzenpumpen in der Regel viele metallische Bauteile aufweisen, sind sie für den Einsatz beim Elektrospinnen nicht geeignet. Es wird daher eine nach den Eingangs beschriebenen Empfehlungen gestaltete und am Institut gefertigte Pumpe aus Kunststoff verwendet (s. Abb. 5.1(b)). Antriebselement ist ein Schrittmotor, der eine Spindel in Rotation versetzt. Auf der Spindel befindet sich ein Schlitten

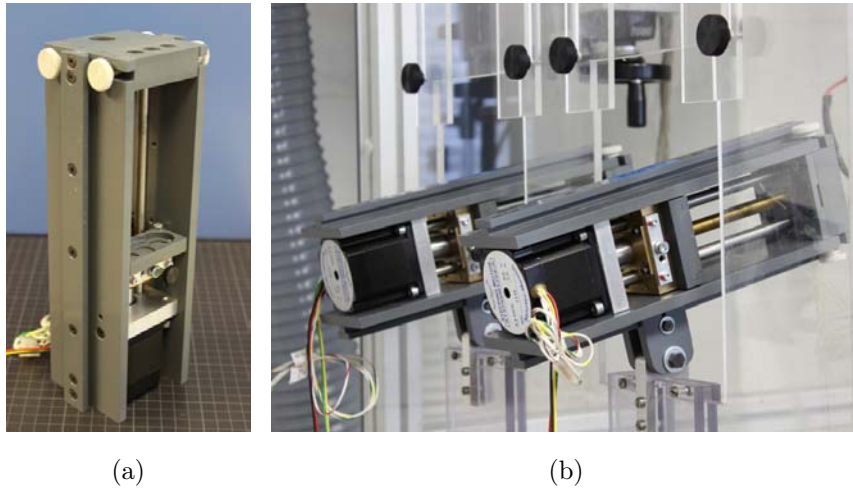


Abbildung 5.1: Mittels Schrittmotoren angetriebene Spritzenpumpen zur Förderung von Polymerlösung: Mit einer Pumpe (a) können je nach Größe zwei bis sechs Spritzen gleichzeitig geleert werden. Die Halterung ist modular und verstellbar, so dass mehrere Pumpen in verschiedenen Anlagen eingesetzt werden können (b).

mit Innengewinde, so dass die Rotation in einen translatorischen Vorschub des Schlittens umgewandelt wird. Der Eingriff des Schlittens lässt sich über einen Mechanismus von der Spindel entkoppeln, wodurch er frei verschiebbar ist und die Spritze eingesetzt werden kann. Über den durch die Spindel angetriebenen Schlitten wird der Kolben der Spritze bewegt und so Polymerlösung durch die Düse gefördert. Die Halterungseinsätze für die Spritzen sind modular ausgeführt und können für verschiedene Spritzendurchmesser verwendet werden. Zudem lassen sich mehrere Spritzen in einer Pumpe anordnen, so dass bei gleichem Vorschub mehrere Düsen gespeist werden und die versponnene Menge an Polymerlösung erhöht werden kann. Die spannungsführende Halterung der Spritze ist so weit wie möglich vom Motor und anderen elektronischen Komponenten positioniert, um Schäden durch Hochspannungsüberschläge zu vermeiden. Dadurch kann sowohl eine über eine Schlauchleitung angeschlossene örtlich entfernte Düse als auch eine direkt an der Pumpe angeschlossene Düse gespeist werden. Die Pumpen lassen sich über eine Halterung in der Wand der Prozesskammer befestigen. Sie sind über eine Klemmvorrichtung auf einer Schiene verschiebbar, so dass sich der Abstand zwischen Düse und Kollektor sowie die Führung der Schlauchleitungen optimal einstellen lassen. Auch der Anstellwinkel der Düsen ist variabel über ein Gelenk an der Klemmhalterung justierbar und die Düse damit für das direkte Verspinnen von Lösung ohne Schlauchleitungen auf einen seitlich positionierten Kollektor geeignet. Die Fahrstrecke des Schlittens wird über Start-Stopp-Schalter begrenzt, so dass das Anfahren einer Referenzposition und eine Kalibrierung des Systems hinsichtlich des geförderten Volumens möglich ist. Die Schrittmotoren werden zentral durch separate Treiberstufen und Mikrocontroller angesteuert, so dass mehrere Pumpen gleichzeitig geregelt und synchron betrieben werden können. Der synchrone, unabhängige Betrieb ist die Voraussetzung für diverse Prozessvarianten wie dem Elektrospinnen mehrerer Lagen oder Fasertypen.

5.1.3 Koaxiale Düse

Mit einer koaxialen Düse können mehrere Polymerlösungen gleichzeitig versponnen werden. Eine Lösung wird dabei über eine innere Düse geführt (Kern); die zweite Lösung wird durch eine größere, konzentrisch positionierte Öffnung geleitet, die um die innere Düse verläuft (Mantel) (s. Abb. 5.2). Dadurch lässt sich eine innen liegende Kernfaser mit einer Ummantelung aus einem anderem Polymer herstellen. Das koaxiale Elektrosponnen wird im Rahmen dieser Arbeit

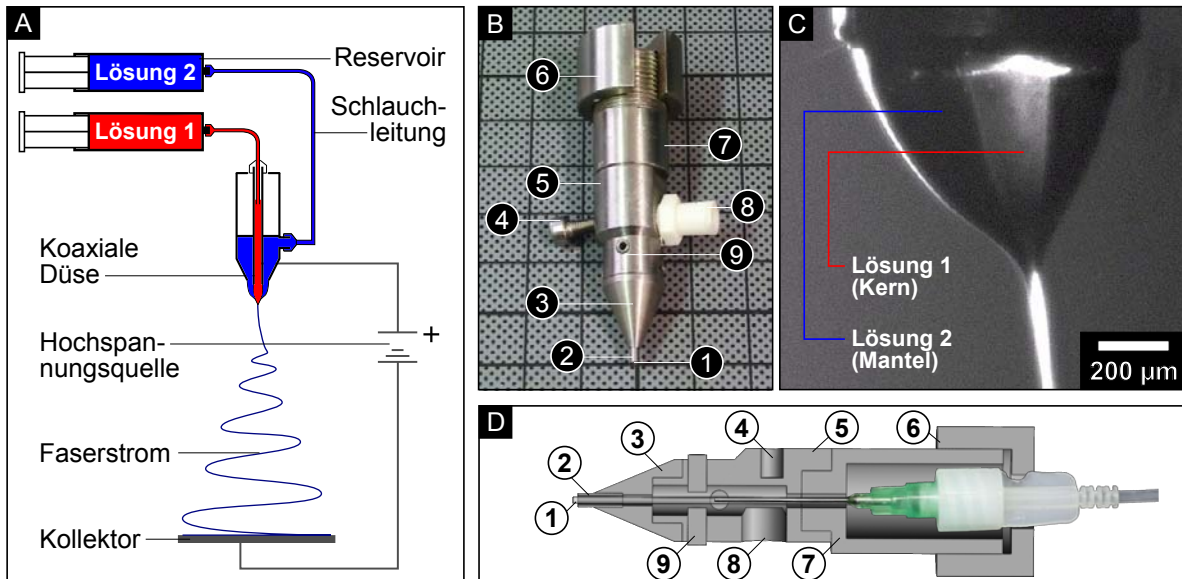


Abbildung 5.2: Koaxiales Elektrosponnen von Polymerlösungen. Schema der Anlage (A), koaxiale Düse (B, D) und TAYLOR-Konus (C). Es sind der segmentierte, modulare Aufbau der Düse sowie die Anschlüsse und die Verbindungskanäle dargestellt. ① Innere Kanüle, ② Äußere Kanüle, ③ Spitze, ④ Anschluss für Hochspannung, ⑤ Mittleres Segment, ⑥ Befestigung für Kanüle, ⑦ Oberes Segment, ⑧ Anschluss für Polymerlösung (Mantel), ⑨ Justierschrauben.

genutzt, um Fasern herzustellen, welche die Eigenschaften von zwei Polymeren in sich vereinen. Dabei besitzen die Fasern die Vorteile beider Polymere, ohne deren Nachteile aufzuweisen. Zur Demonstration wird als Kernlösung PCL verwendet, das den Fasern die nötige Reißfestigkeit verleiht. Ummantelt werden diese Fasern mit PEO, wodurch sie nach außen hydrophil sind. So produzierte Fasermatten sind gut mit Wasser oder Nährmedium benetzbar und gleichzeitig mechanisch belastbar. Dies ist z.B. bei der Handhabung im Rahmen von Zellkulturexperimenten oder applizierter Mechanotransduktion im Bioreaktor von Bedeutung. Werden Kern- und Mantellösung vertauscht, eignet sich die innenliegende hydrophile Phase zur Einbindung von Wirkstoffen: Mit der Zeit wird das PEO ausgewaschen und die eingebundenen Substanzen freigesetzt. Die Geschwindigkeit des Auswaschens kann dabei über die Kettenlänge des inneren Polymers beeinflusst werden: kurzkettige Formen wie PEG (2-20 kDa) werden dabei schnell ausgewaschen, höhermolekulares PEO (100-600 kDa) verbleibt länger. Ist der Auswaschvorgang abgeschlossen, bleibt eine Hohlfaser zurück. Die in dieser Arbeit entwickelte koaxiale Düse setzt

sich aus einer innenliegenden Einwegkanüle und einem darum befindlichen, mehrfach nutzbaren Edelstahlkorpus zusammen. Die Einwegkanüle kann nach Gebrauch entsorgt werden, wodurch ein Verstopfen durch vertrocknete Polymerlösung ausgeschlossen ist. Die weiteren Komponenten der coaxialen Düse werden nach Gebrauch demontiert und zur Reinigung in Lösemittel (z.B. Chloroform) gelegt. Um die Einwegkanüle zu Beginn des Prozesses mittig im äußeren Korpus zu positionieren, sind vier Madenschrauben im mittleren Segment eingelassen, mit denen sich diese verschieben lässt. Die konzentrische Positionierung ist ein entscheidender Faktor für die Stabilität des anschließenden Spinnprozesses. Weiterhin ist die Düse so gestaltet, dass das elektrische Feld an ihrer Spitze stark genug ist, um die Ausbildung eines TAYLOR-Konus zu gewährleisten und diesen stabil über eine längere Prozessdauer aufrecht zu erhalten. Dazu ist der Durchmesser des Korpus möglichst klein und die Menge des eingesetzten metallischen Materials gering zu halten. Um diesen Effekt zu maximieren, wurde im Vorfeld auch mit zum Teil aus Kunststoff gefertigten Düsen experimentiert. Diese ließen sich jedoch nicht gut reinigen und waren nicht beständig gegenüber den eingesetzten Lösemitteln. Außerdem wiesen die aus Kunststoff bestehenden Gewinde nach wiederholtem Gebrauch deutliche Verschleißspuren auf und daher nur bedingt wiederverwendbar. Die hier vorgestellte Variante aus Edelstahl lässt sich ohne Einschränkungen mehrfach einsetzen.

5.1.4 Kollektor und Faserablage

Der Kollektor ist ein zentraler Bestandteil des Elektrospinnvorgangs und dient der kontrollierten Ablage von Fasern. Im Rahmen der in dieser Arbeit durchgeführten Versuche wird sowohl die Größe als auch die Form des Kollektors variiert, um einen möglichen Einfluss auf die Faserablage und resultierende Fasereigenschaften zu evaluieren. So soll ermittelt werden, ob sich durch die Wahl des Kollektors die Makrogeometrie und Mikrostruktur von Gerüststrukturen unabhängig beeinflussen lassen. Hintergrund ist dabei, dass die Größe und Form des Kollektor das elektrische Feld und somit die auf den Faserstrom wirkende Kraft bestimmen. Dies hat direkte Wirkung auf den resultierenden Durchmesser sowie den Ablagebereich der Fasern. Davon hängen u.a. die abgelegte Fasermenge pro Zeit und Fläche bzw. die Schichtdicke ab. Weiterhin ist die Kenntnis über den Einfluss des Kollektors auf Faserdurchmesser und Ablagebereich wichtig für die Einschätzung der Vergleichbarkeit von Ergebnissen aus unterschiedlichen Versuchen (Parameterstudien), da diese mit verschiedenen Kollektoren durchgeführt werden (z.B. Vergleich von flachem und rotierendem Kollektor).

Für erste Untersuchungen des Faserdurchmessers und des Ablagebereichs werden Flachkollektoren aus Aluminium mit einer Fläche von 100 mm x 100 mm verwendet, auf denen die Fasern ungeordnet abgelegt werden. Um eine Ausrichtung der Fasern und so anisotrope mechanische Eigenschaften zu erreichen, werden schnell rotierende Kollektoren mit unterschiedlichen Durchmessern verwendet, auf denen die Fasern in Abhängigkeit von der Drehzahl parallel aufgewickelt werden (s. Abb. 5.3). Die Ausrichtung resultiert hierbei direkt aus der Rotation des Kollektors und der in den Faserstrom eingebrachten Zugkraft. Die Faser wird durch das Aufwickeln gerade gezogen und eine parallele Anordnung entsteht. Ein Nachteil von rotierenden Kollektoren ist, dass die Ausrichtung der Fasern nur in Umfangsrichtung erfolgt und dazu keine weitere relative Ausrichtung, wie z.B. ein relativer Versatz um 90° , möglich ist. Daher wird zusätzlich eine andere

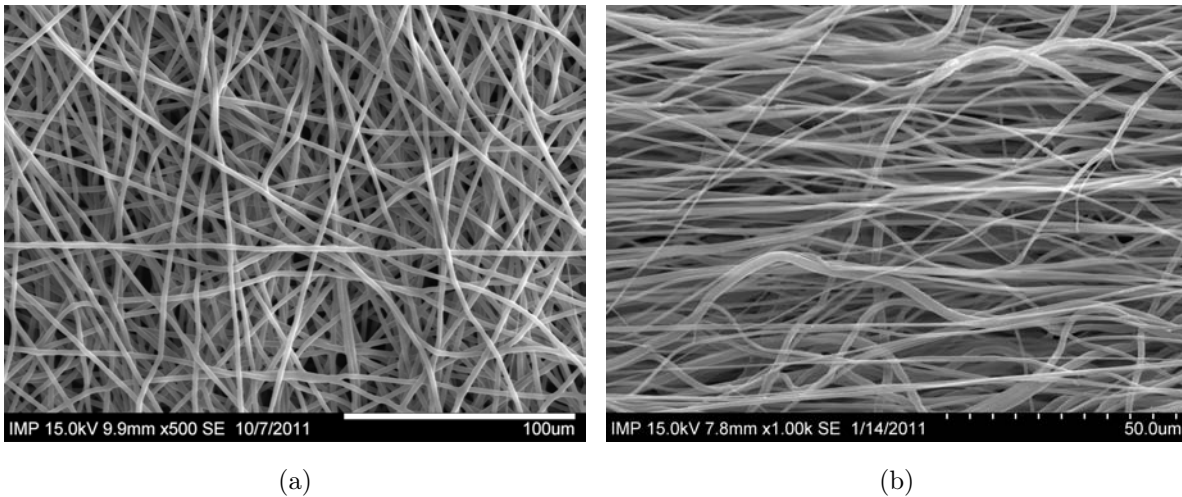


Abbildung 5.3: Ablage nicht ausgerichteter (a) und ausgerichteter (b) Fasern auf dem Trommelkollektor. Eine Ausrichtung wird ab einer Rotationsgeschwindigkeit des Kollektors von 8 m/s erreicht (b).

Möglichkeit untersucht, um Fasern ausgerichtet abzulegen: Das 'gap spinning', also das Elektrospinnen von Fasern über eine Lücke aus nicht leitendem Material (s. Abb. 5.4). Der Faserstrom

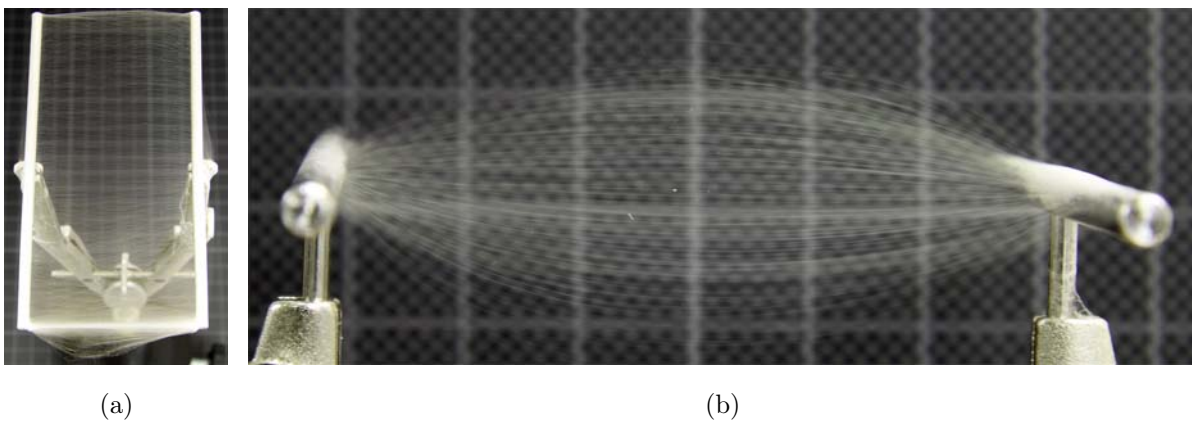


Abbildung 5.4: Faserablage beim 'gap spinning'. Von oben betrachtet wird die starke Abstoßung der Fasern aufgrund elektrostatischer Aufladung in Form von Lücken (a) und damit einer den Kollektor nicht vollständig bedeckenden Faserschicht deutlich. Seitlich betrachtet zeigt sich das Ausmaß der Abstoßung noch deutlicher (b).

springt hierbei von einem leitfähigen Schenkel des Kollektors auf den anderen und wählt dabei die kürzeste Flugbahn, so dass eine parallele Anordnung entsteht. Im Folgenden wird ein Aufbau vorgestellt, der sich dieses Prinzip zu Nutze macht, um mehrlagige Konstrukte mit relativer Faserausrichtung zu erzeugen. Im Vorfeld wird dazu mit einem vereinfachten Aufbau untersucht, über welche Distanz Fasern beim 'gap spinning' abgelegt werden können und welche Winkel zwischen den beiden leitfähigen Schenkeln dabei überspannen werden können. Es zeigt sich, dass Distanzen von über 20 cm und Winkel bis 120° erreicht werden (s. Anhang, Abb. A.1). Die größte Limitierung bei der statischen Form des 'gap spinnings' resultiert aus der Aufladung der bereits abgelegten Faserschicht durch die fortwährend abgelegten und gleichzeitig isolierend wirkenden

neu abgelegten Fasern. Dies führt zu einer Abschirmung des Kollektors bei gleichzeitig fehlender Möglichkeit zur Abführung von Ladungen. Dadurch werden ab einer gewissen Spinddauer bzw. Schichtdicke keine Fasern mehr abgelegt, und so können nur sehr dünne Matten erzeugt werden. Außerdem stoßen sich die zwischen den Kollektorschenkeln gesponnenen Fasern aufgrund ihrer gleichnamigen Ladung stark ab (s. Abb. 5.5).

Der Effekt des 'gap spinning' tritt auch in unerwünschter Weise auf, wenn leitfähige Komponenten

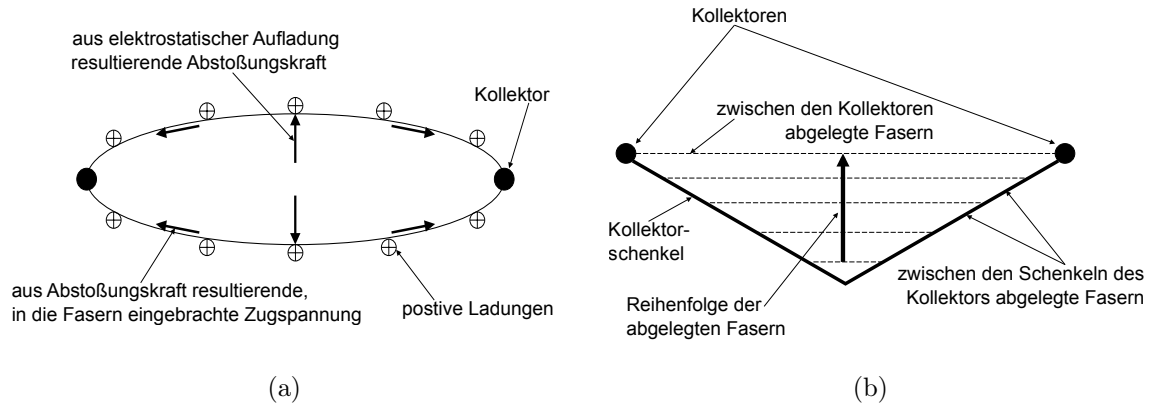


Abbildung 5.5: Physikalische Mechanismen und Aufladungseffekte bei der Faserablage mittels 'gap spinning' (Seitenansicht). Durch Aufladungseffekte kommt es zur Abstoßung von Ladungen mit resultierender Krafteinwirkung (a) und Beeinflussung der Ablagereihenfolge der Fasern (b).

ten der Anlagenperipherie eingesponnen werden. Dadurch wird weniger Polymer in das eigentliche Produkt umgesetzt und die Produktivität sinkt. Außerdem kommt es zu einer ungleichmäßigen Faserablage durch Aufladungseffekte an betroffenen Oberflächen, wodurch die Genauigkeit und Reproduzierbarkeit des Prozesses sinkt. Nicht als Kollektor vorgesehene Metallteile oder Motoren können zudem eine versetzte, asymmetrische Faserablage hervorrufen. Dies führt wiederum zu nicht reproduzierbaren Schichtdickeverteilungen. Es werden daher Verblendungen aus nichtleitfähigen Werkstoffen verwendet, die sich im Prozessverlauf aufladen, so dass die Ablage auf den Kollektor konzentriert wird.

Rotationskollektor

Ein Rotationskollektor nutzt die Differenz aus der Geschwindigkeit des Faserstroms und der Geschwindigkeit der Kollektoroberfläche, um eine Matte oder ein Rohr mit ausgerichteten Fasern zu erzeugen. Maßgeblich bei der Gestaltung des Kollektors ist das Produkt aus dem Umfang bzw. Radius r des rotierenden Kollektors und seiner Drehzahl n . Durch Multiplikation ergibt sich die Geschwindigkeit v_K an der Kollektoroberfläche gemäß Gl. 5.1. Der Kollektor ist in allen Fällen rotationssymmetrisch (Welle, Trommel) gestaltet und muss hinsichtlich der Rundheit enge Toleranzen erfüllen, damit auch bei hohen Drehzahlen ein ruhiger Lauf gewährleistet ist.

Es werden sowohl Kollektoren mit einem Durchmesser von 150 mm zur Herstellung langer Faser-matten ($L = 470$ mm; $B = 70$ mm) als auch Kollektoren mit Durchmessern im Bereich von 2 bis 8 mm zur Herstellung von Gefäßprothesen ($L = 50 - 200$ mm) konstruiert und erprobt (s. Abb. 5.6).

$$\text{Kollektorgeschwindigkeit} \quad v_K = 2\pi \cdot r \cdot n \quad (5.1)$$

v_K : Umfangsgeschwindigkeit des Kollektors in m/s; n : Drehzahl in 1/s; r : Radius des Kollektors in m

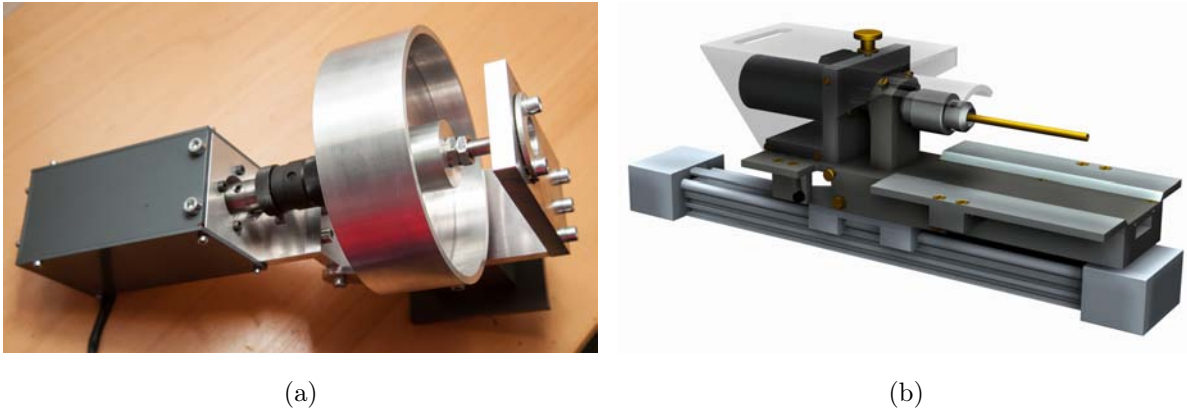


Abbildung 5.6: Verschiedene Ausführungen von Rotationskollektoren. Für Matten mit hoher Faserausrichtung und Dicke wird ein Trommelkollektor verwendet (a). Für Gefäßprothesen wird ein Wellenkollektor verwendet (b). Aufgrund des geringen Durchmessers der Wellen (2 - 8 mm) im Vergleich zur Trommel (150 mm) weisen die Motoren vollkommen verschiedene Leistungsbereiche auf: Beide Kollektortypen werden durch bürstenlose Gleichstrommotoren angetrieben, da sich diese auch bei hohen Drehzahlen präzise regeln lassen.

Dabei wird für große und kleine Kollektoren jeweils eine separate Rotationsvorrichtung gestaltet, da sich die Anforderungen an die Antriebsmotoren und Lagerung stark unterscheiden. In beiden Fällen werden bürstenlose Gleichstrommotoren verwendet, da sie sich präzise regeln lassen und eine geringere Geräusentwicklung haben als bürstenbehaftete Motoren. Die Regelung erfolgt durch proprietäre Treiberelektronik der Motorenhersteller, die Ansteuerung wird durch universell verwendbare Mikrocontroller realisiert. Kollektoren mit großem Durchmesser weisen eine höhere Masse auf als kleinere, so dass ein Motor mit hohem Drehmoment und einer mittleren Drehzahl (250 - 3000 U/min) als Antrieb verwendet wird. Kollektoren mit kleinem Durchmesser erfordern aufgrund des Zusammenhangs aus Gl. 5.1 eine sehr hohe Drehzahl (8000 - 50000 U/min), wegen ihrer geringen Masse aber nur ein kleines Drehmoment. Bei kleinen Kollektordurchmessern stellt sich zudem die Herausforderung, den Bauraum der Lagerung der Kollektorwelle in seiner Höhe zu minimieren. Dies ist notwendig, damit der ankommende Faserstrom auf dem Kollektor abgelegt wird und nicht auf höher liegenden Lagerkomponenten. Um die anziehende Wirkung der Erdung des Kollektors zu verstärken, befindet sich unterhalb der beweglichen Welle ein geerdetes Metallblech. Oberhalb des Blechs sind Blenden aus nicht-leitendem Werkstoff (PVC) angebracht, die lediglich einen Spalt für die Kollektorwelle frei lassen, um die Faserablage lokal zu maximieren. Die Erdung der Rotationskollektoren erfolgt über Schleifkontakte aus Gold und Federstahl, die auch bei hohen Drehzahlen eine kontinuierliche Ableitung der Ladungen gewährleisten.

Ein weiterer wichtiger Aspekt bei der Gestaltung ist die Berücksichtigung der Entnahme der besponnenen Kollektoren und die Ablösbarkeit der Gerüststruktur. Hierzu sollten möglichst wenig Handgriffe und ein geringer Kraftaufwand nötig sein. Gleichzeitig soll die Einspannung des Kollektors auch bei hohen Drehzahlen sicher sein. Bei den konstruierten Rotationsvorrichtungen wird dazu ein übliches Spannfutter verwendet, in dem der Kollektor befestigt wird. Diese Seite repräsentiert das Festlager, die losgelagerte Seite wird durch eine Welle-Kugellager-Anordnung umgesetzt. Bei Verwendung kurzer Wellen ist auch ohne ein Loslager ein ruhiger Lauf gewährleistet und die Welle kann schneller gewechselt werden.

Ein Vorteil des Spinnens auf einem rotationssymmetrischen Kollektor ist, dass von zwei Seiten unabhängig unterschiedliche Polymerlösungen darauf gesponnen werden können (s. Abb. 5.7). Es

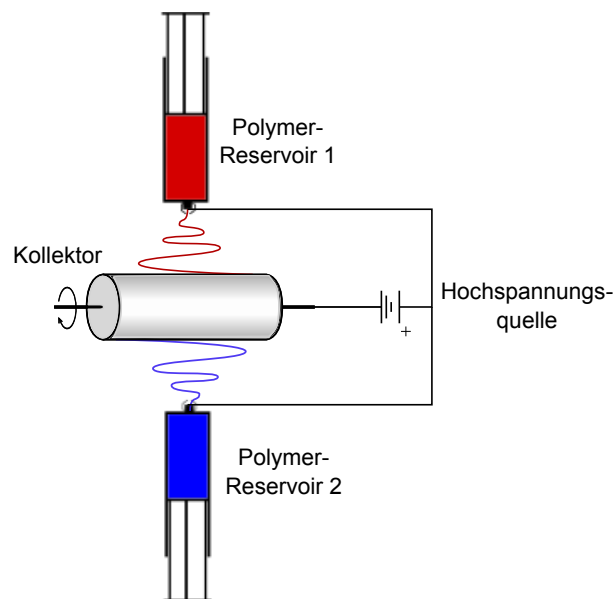


Abbildung 5.7: Aufbau zum Elektrospinnen mehrerer Fasertypen auf einem rotierenden Trommelkollektor. Die Düsen spinnen von unterschiedlichen Seiten auf den Kollektor, so dass sich die Faserströme nicht stören. Durch die Rotation vermischen sich die Fasern beider Düsen gleichmäßig.

kommt dabei nicht zu Abstoßungseffekten der Faserströme, da der Kollektor durch seine zentrale Lage die elektrischen Felder der zwei Düsen voneinander trennt. Außerdem vermischen sich die Fasern zwangsläufig zu einem Verbund, da jeder Abschnitt des Kollektors beide Düsen passiert. Herausforderungen bei einem solchen Aufbau bestehen beim Anschluss der Hochspannung an die Düsen, da die dafür nötigen Kabel länger sind als bei einem einseitigen Ansatz und so die Gefahr für Spannungsüberschläge und unerwünschte Beeinflussung des elektrischen Felds besteht.

Translationskollektor

Um die beim statischen 'gap spinning' auftretende Limitierung der möglichen Spinndauer und Dicke der Fasermatte zu überwinden, wird ein Kollektor konstruiert und erprobt, der dem Problem der Aufladung von Fasermatten durch einen dynamischen andauernden Ablagevorgang begegnet. Wie im Vorfeld dargestellt, kommt es beim Besspinnen zweier metallischer Schenkel zu

einer Aufladung und gegenseitiger Abstoßung bereits abgelegter Fasern. Um diese Ladung abzuführen und zugleich einen kontinuierlichen Prozess zu realisieren, werden die Schenkel translatorisch beweglich und in symmetrischer Anordnung zueinander positioniert. Die Schenkel - im folgenden als T-Kollektoren bezeichnet - sind dazu auf zwei umlaufenden Ketten montiert, die auf jeder Seite von einem Schrittmotor angetrieben werden (s. Abb. 5.8). Befinden sich die

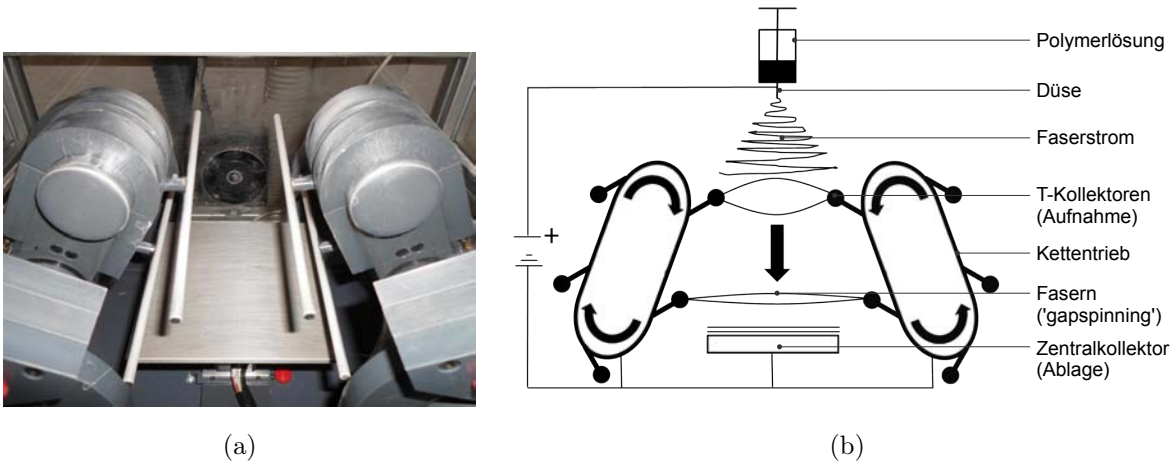


Abbildung 5.8: Translationskollektor zur Ablage ausgerichteter Fasern durch Elektrospinnen. Die Aufnahme der Fasern erfolgt auf den metallischen Schenkeln (T-Kollektoren), die sich translatorisch nach unten bewegen und die Fasern dort auf dem Zentralkollektor ablegen. Dieser kann rotiert werden, um eine relative Ausrichtung aufeinanderfolgender Schichten zu erzeugen (a). Schema des Aufbaus und des Ablageverfahrens (b).

T-Kollektoren an der höchsten Stelle des Kettenumlaufs, werden sie wie beim statischen 'gap spinning' mit ausgerichteten Fasern besponnen. Wenn die T-Kollektoren vollständig besponnen sind, fahren die T-Kollektoren nach unten und legen die Fasern auf einem zentralen geerdeten Kollektor ab. Währenddessen wird an oberer Position das nächste Paar T-Kollektoren besponnen, um danach seine Fasern auf dem Zentralkollektor abzulegen. Der Zentralkollektor ist auf einem weiteren Schrittmotor montiert und kann zwischen der Ablage zweier Schichten gedreht werden, so dass eine schichtweise, relative Faserausrichtung erzeugt werden kann. Um einen synchronen Lauf der Schenkel zu gewährleisten, befinden sich auf jeder Seite symmetrisch angebrachte Referenzschalter, die vor Beginn des Prozesses angefahren werden und die T-Kollektoren auf gleicher Höhe ausrichten. Neben der relativen Ausrichtung aufeinanderfolgender Schichten ist es mit dem Translationskollektor möglich, eine Vorspannung in die Fasern zu induzieren und so die mechanischen Eigenschaften gezielt zu beeinflussen. Dazu können die Kettentriebe zueinander geneigt werden, so dass der Abstand zwischen den T-Kollektoren oben in der Sammelposition kleiner ist als in der Ablageposition unten über dem Zentralkollektor. Da oben eine kürzere Luftstrecke überspannt wird, als unten vorliegt, werden die Fasern um die daraus resultierende Längendifferenz gedehnt (s. Gl. 5.2). Durch die Dehnung verringert sich auch der Faserdurchmesser, was in Kombination mit der relativen Ausrichtung eine ganzheitliche Beeinflussung der Mikrostruktur erlaubt.

$$\text{Vordehnung (Translationskollektor)} \quad \varepsilon = \frac{l_2 - l_1}{l_1} \quad (5.2)$$

l_1 : Abstand T-Kollektoren (oben) in cm; l_2 : Abstand T-Kollektoren (unten) in cm

5.2 Laserbasierte Bearbeitung von Fasermatten

Die Integration von Lasertechnologie in den Produktionsprozess erweitert die Möglichkeiten bei der Gestaltung von elektrogesponnenen Gerüststrukturen. So können z.B. dreidimensionale Gerüste für das Tissue Engineering von Herzklappen hergestellt werden. Für die Nachbildung komplexer Konstrukte wie einer Herzklappe ist es nötig die Einzelkomponenten der Gerüststruktur (Klappen, Sinus-Bulben, Gefäß) separat zu fertigen und anschließend zusammenzufügen. Mit dem Laser lassen sich Fasermatten zudem reproduzierbar schneiden.

Die einzelnen Schritte des Fertigungsprozesses werden entkoppelt, wodurch die ganze Bandbreite an Verfahrensvarianten beim Elektrosponnen genutzt werden kann. Dies erlaubt die Kontrolle der Mikrostruktur unabhängig von der Makrogeometrie. So kann eine Matte mit relativer Faserausrichtung auf dem Translationskollektor hergestellt, durch Laserschneiden in Form eines Herzklappensegels gebracht und auf einem Rotationskollektor in eine gefäßartige Geometrie gesponnen werden. Auch das Fügen von Fasermatten und eine mikrometeregenaue Perforation von Matten zum Zweck eines verbesserten Einwachsverhaltens für Zellen können mittels Laser umgesetzt werden.

Für die einzelnen Bearbeitungsschritte sind verschiedene Arten von Lasern nötig. Für das Schneiden und Fügen von Fasermatten wird ein CO₂-Laser verwendet, da dieser kostengünstig und im industriellen Umfeld etabliert ist. Die hohe Genauigkeit einer Perforation im Mikrometerbereich

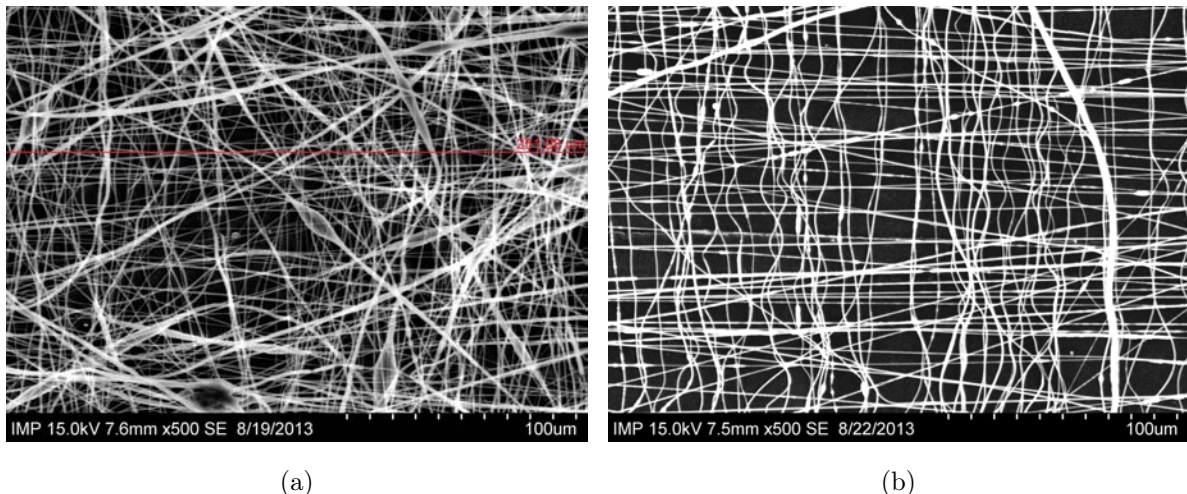


Abbildung 5.9: Ablage von ausgerichteten Fasern mit dem Translationskollektor bei unterschiedlichen Vordehnungen. Die Vordehnung wird durch Neigung der Kettentriebe des Translationskollektors eingestellt. Bei 0% Vordehnung (a) sind die Fasern nicht ausgerichtet, bei 240% Vordehnung (b) sind deutliche Vorzugsrichtungen (0°, 90°) zu erkennen.

lässt sich dagegen nur mit einem Ultrakurzpulslaser durchführen. Im Folgenden werden die einzelnen laserbasierten Produktionsmethoden näher erläutert.

5.2.1 Schneiden mittels Laser

Das Schneiden mittels Laser eignet sich für das reproduzierbare Ausschneiden komplexer Geometrien wie den Flügeln einer Herzklappe oder knochenförmigen Zugproben aus einer bestehenden Fasermatte. Dazu wird eine Matte aus PCL auf einer Trägerplatte fixiert und unterhalb des Lasers positioniert. Zum Einsatz kommt ein kontinuierlicher CO₂-Laser (firestar f201, SYNRAD, USA) mit einer maximalen Leistung von 15 W.

Das Schnittergebnis hängt von der Intensität des Laserstrahls, also der eingebrachten Leistung in die Fasermatte, ab. Die Leistung setzt sich wiederum aus der eingebrachten Energie pro Zeit zusammen. Es liegen mehrere Parameter vor, mit denen diese Beziehung beeinflusst werden kann: die Ausgangsleistung des Lasers, die Vorschubgeschwindigkeit, die Frequenz (im Falle von gepulstem Betrieb) und die Aufweitung des Laserstrahls. Die Aufweitung bzw. Defokussierung geht gleichzeitig mit einer Vergrößerung des gelaserten Bereichs einher. Der Energieeintrag ist somit nicht nur zeit-, sondern auch flächenabhängig. Für die folgenden Untersuchungen wird jeweils ein Parameter variiert und die anderen konstant gehalten: Vorschubgeschwindigkeit $v = 200$ mm/s, Pulsfrequenz $f = 10$ kHz und Laserleistung $P = 7,5$ W. Die zu schneidenden Matten haben eine Dicke von 200 μm .

Es zeigt sich, dass bei einer zu geringen Intensität kein durchgängiger Schnitt erzeugt wird und eine zu hohe Intensität zu einer thermisch induzierten Verformung der Schnittgeometrie führt (s. Abb. 5.10). Die notwendige Intensität ist dabei maßgeblich von der Dicke der Fasermatte abhängig. Ab 3 W Laserleistung wird bei 200 μm Dicke ein durchgängiger Schnitt erreicht und ab 12 W treten erste thermische Verformungen auf. Es zeigt sich außerdem, dass die Vorschubgeschwindigkeit mit der Frequenz abgestimmt werden muss, um eine durchgängige Schnittlinie zu erreichen. Bei einer Frequenz von 10 kHz und einer Vorschubgeschwindigkeit von 10000 mm/s ist die Schnittlinie nicht durchgängig, sondern besteht aus einer Aneinanderreihung von Löchern. Die Vorschubgeschwindigkeit beeinflusst direkt die eingebrachte Energiemenge pro Zeit, wodurch ein langsam ausgeführter Schnitt zu einer breiteren Schnittlinie führt, als ein schneller Schnitt. Bei einer Schnittgeschwindigkeit von 200 mm/s und einer Laserleistung von 9 W wird eine definierte Schnittkante ohne ausgeprägte thermische Verformungen erzeugt. Die Mikrostruktur der Fasermatte bleibt dabei offen porös, so dass sie sich für die Besiedelung mit Zellen eignet. Das Schneiden von runden Geometrien ist mit besagten Parametern auch möglich und führt zu reproduzierbaren Ergebnissen.

5.2.2 Fügen mittels Laser

Beim Fügen von elektrogewebenen Fasermatten werden beide Fügepartner partiell aufgeschmolzen und erstarren gemeinsam. Dies setzt voraus, dass der Energieeintrag in die obliegende Matte gerade so hoch ist, dass diese aufschmilzt, aber nicht vollständig verdampft bzw. zerstört wird (s. Abb. 5.11). Kritisch dabei ist, dass zudem eine ausreichende Energiemenge in die

untenliegende Matte eingebracht wird. Im Falle von elektrogenesponnenen Matten ist dies möglich, weil sie porös sind und nicht alle Energie sofort in den oberen Lagen absorbiert wird. Weiterhin setzt das Fügen mittels Laser eine genaue Positionierung und Fixierung beider Fügepartner in einer Halterung voraus. Die Vorrichtung muss eine über die volle Länge vorliegende Anpressung der zu fügenden Matten sicherstellen, so dass eine durchgehende Fügenaht erzeugt wird. Da es bei einer Mattendicke von 200 μm sehr schwierig ist, den Laserstrahl korrekt zu positionieren und eine gemeinsame Fügenaht herzustellen, werden zwei Konzepte erprobt: die T-Verbindung, bei der die Fügepartner rechtwinklig aufeinander stehen, und die L-Verbindung, bei der beide Fügeflächen parallel zueinander verlaufen (s. Abb. 5.12). Die L-Verbindung hat den Vorteil, dass sie toleranter gegenüber Abweichungen bei der Strahlführung ist. Die T-Verbindung ist hingegen mit weniger Arbeitsschritten verbunden, da es nicht nötig ist, die Matte an der Fügestelle umzuknicken. Bei der L-Verbindung ist eine durchgängige Aneinanderpressung der Fügepartner über die gesamte Fügelänge oder -fläche notwendig, was eine aufwändige Halterung voraussetzt. Des Weiteren muss ein Fügepartner eine angewinkelte, abgeknickte Kante aufweisen - bei kreisförmig verlaufenden Verbindungen (z.B. Zylinder) kann diese Knickung nicht gleichförmig angelegt werden und es müssen Teilabschnitte aus der Fügefläche entfernt werden. Besonders bei komplexen Geometrien kann eine L-Verbindung nicht ohne höheren Aufwand umgesetzt werden kann. Das Konzept der L-Verbindung wird daher in dieser Arbeit nicht weiter verfolgt. Die T-Verbindung führt zu einer Fügenaht, die maximal so breit ist wie die Mattendicke. Die

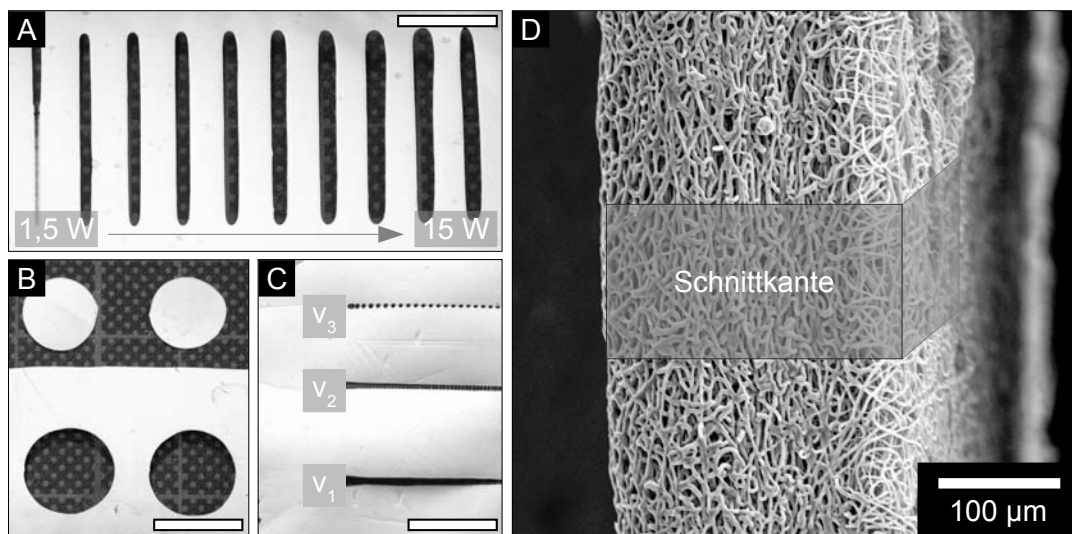


Abbildung 5.10: Laserschneiden von elektrogenesponnenen Fasermatten. Die Trennwirkung des Lasers nimmt mit steigender Intensität (1,5 - 15 W) zu und führt ab 10,5 W Leistung zu einer thermischen Verformung der Fasermatte (A). Das Ausschneiden runder oder komplexer Geometrien ist reproduzierbar möglich (B). Eine steigende Vorschubgeschwindigkeit ($v_1=1000$ mm/s; $v_2=5000$ mm/s; $v_3=10000$ mm/s) bei konstanter Laserfrequenz (10 kHz) bewirkt eine unvollständige Schnittlinie (C). Bei einem Vorschub von 200 mm/s und einer Leistung von 9 W ist die Schnittkante offen porös (D). Maßstab (A - C): 10 mm.

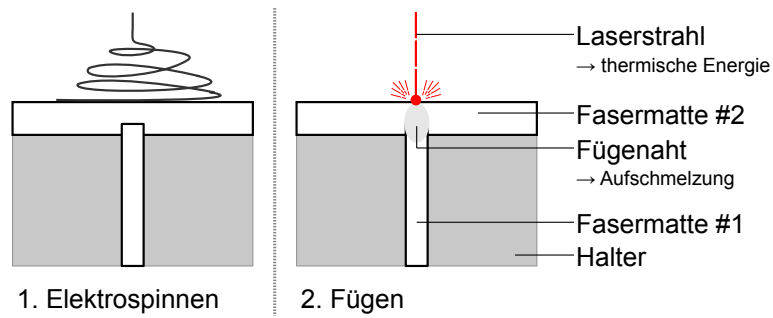


Abbildung 5.11: Verfahrensschema zum Laserfügen von Fasermatten. Fasermatte #1 wird unten im Probenhalter eingespannt und besponnen. Die daraus resultierende Fasermatte #2 wird entlang der gemeinsamen Naht mit dem Laser gefügt.

Methode ist gut geeignet, um komplex verlaufende Geometrien zu verbinden - z.B. um die Taschen einer Herzklappe im umgebenden Zylinder zu verschweißen. Die eingebrachte Laserleistung muss auf die Fügepartner abgestimmt werden, d.h. in Abhängigkeit vom verwendeten Polymer und der Dicke der Fasermatte gewählt werden. Eine zu hohe Leistung führt zu einer exzessiven Schrumpfung und im Extremfall zur Zerstörung der Fasermatten. Die Versuche zum Fügen werden mit einem stärkeren Laser (SCx20, ROFIN SINAR, Deutschland) als beim Schneiden mit einer maximalen Ausgangsleistung von 200 W durchgeführt. Dies ist nötig, da für das Fügen eine Defokussierung ('out of focus') des Strahls vorgenommen wird, so dass der Laserpunkt aufgeweitet ist und beide Fügepartner auch bei geringen Positionierungsabweichungen getroffen werden. Die Defokussierung geht jedoch mit einer Intensitätsabnahme einher, die durch die höhere La-

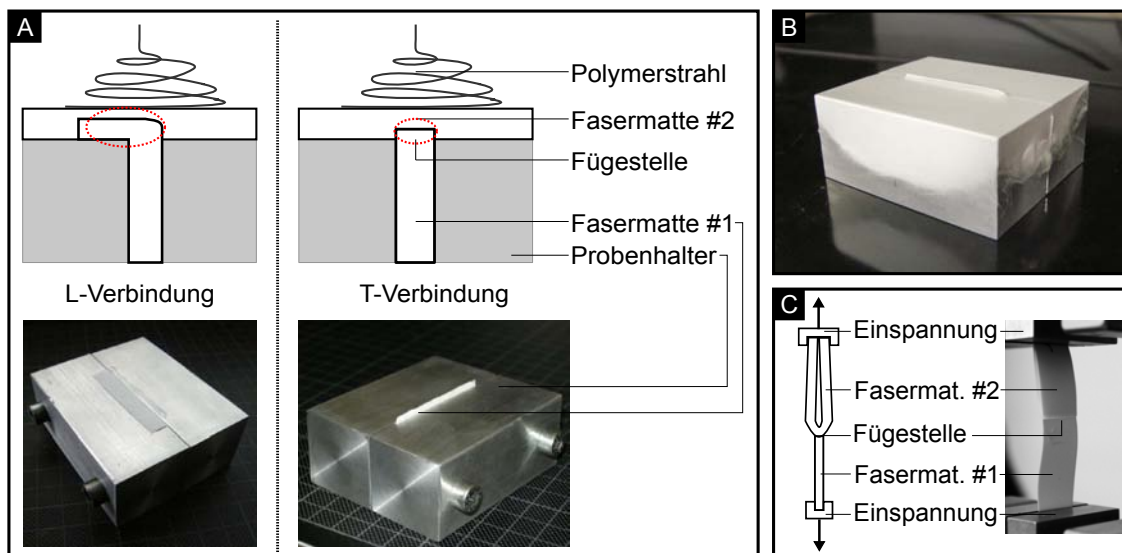


Abbildung 5.12: Verbindungskonzepte beim laserbasierten Fügen von elektrogesponnenen Fasermatten. L- und T-Verbindung: Fasermatte #1 wird im Halter platziert ggf. umgeknickt und mit Fasern besponnen (A). Probenhalter nach dem Spinnen von Fasermatte #2 (B). Einspannung der Probe beim Zugversuch zur Bestimmung der Ausreißkraft (C).

serleistung kompensiert wird. Die Fügeverbindungen werden bei einer Defokussierung von 20 mm, einem Vorschub von 3000 mm/s, einer Frequenz von 10 kHz und einer Leistung von 20 W hergestellt.

Es zeigt sich, dass die Fügenaht im Vergleich zu unbearbeiteten Abschnitten durch den Schmelzvorgang in ihrer Höhe verringert wird (s. Abb. 5.13). Die Verbindung von obenliegender und eingespannter Matte ist von oben und im Querschnitt betrachtet durchgängig. Die an der Oberfläche liegenden Fasern werden durch den Fügeprozess nur geringfügig aufgeschmolzen und das Gerüst bleibt offen porös. Das beim Spinnen der oberen Matte (#2) auftretende 'gap spinning' zwischen der hervorstehenden Kante der eingespannten Matte (#1) und dem Probenhalter kann durch das Absenken des Überstands der eingespannten Matte auf 0,5 mm minimiert werden.

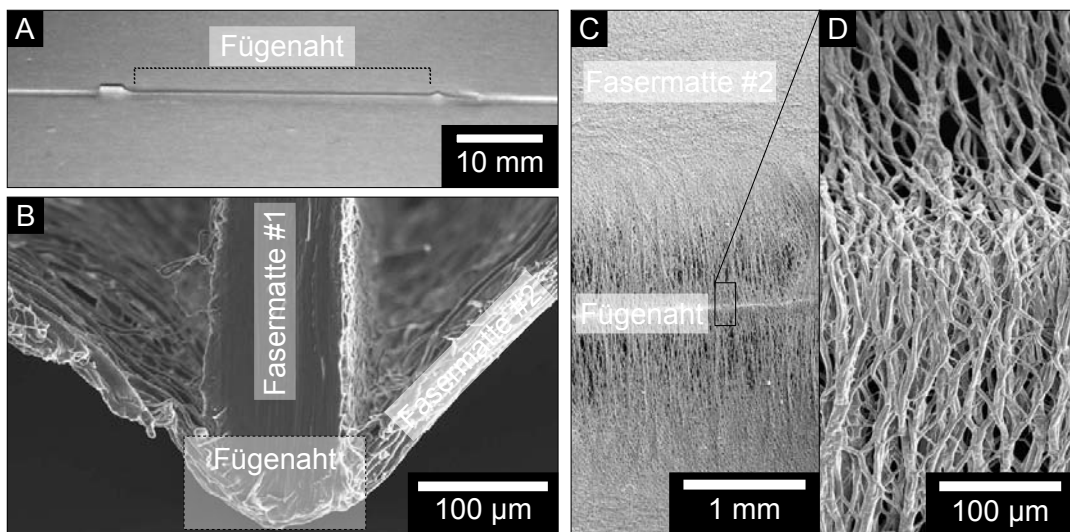


Abbildung 5.13: Mittels Laser gefügte Fasermatten (T-Stoß). Nahtlinie vor und nach dem Fügen (A) und Querschnitt durch die Fügenstelle (B). Die Zerstörung der Poren ist auf die Probenpräparation zurückzuführen. Draufsicht auf Fasermatte #2 mit Fügenaht (C). Die Vergrößerung zeigt, dass die Fügenstelle offen porös ist (D).

5.2.3 Perforieren mittels Laser

Das Perforieren mittels Laser erlaubt es, durch Ablation Kanäle oder Kavitäten mit beliebiger Anordnung in elektrogesponnene Gerüste einzubringen. Diese können genutzt werden, um durch Entfernung von Polymermaterial lokal die Porosität zu erhöhen und so die Nährstoffversorgung oder das Einwachsverhalten von Zellen zu optimieren. Zur Durchführung einer solchen Perforation eignen sich vor allem kurzpulsige Laser (z.B. Femtosekundenlaser), da diese ihre Energie sehr schnell und konzentriert in den Werkstoff einbringen. Das Polymer geht ohne ausgeprägte Aufschmelzungserscheinungen augenblicklich in den gasförmigen Zustand und wird durch einen zusätzlichen Luftstrom von der Bearbeitungsstelle entfernt. Die thermische Einflusszone ist dadurch sehr klein, bzw. die Porosität der Umgebung wird nicht durch exzessive Aufschmelzungen verringert. So ist es auch möglich, ein Raster aus kreisrunden Bohrungen in eine Fasermatte

einzubringen, ohne dass benachbarte Bohrungen in ihrer Form verändert werden (s. Abb. 5.14). Außerdem bleibt die Schnittkante der Bohrung offen porös, so dass der lokale Transport bzw. die Migration von Zellen durch die Mikroporen der Gerüststruktur möglich sind. Die Gestaltung des Rasters bzw. die Abstände und Durchmesser der Bohrungen können über die Steuerung des Lasers frei gewählt werden. Für die in dieser Arbeit untersuchten Laser-Parameter liegen keine Limitationen hinsichtlich eines maximalen Durchmessers oder minimalen Abstands vor. In allen untersuchten Kombinationen können saubere Bohrungen in die Fasermatte eingebracht

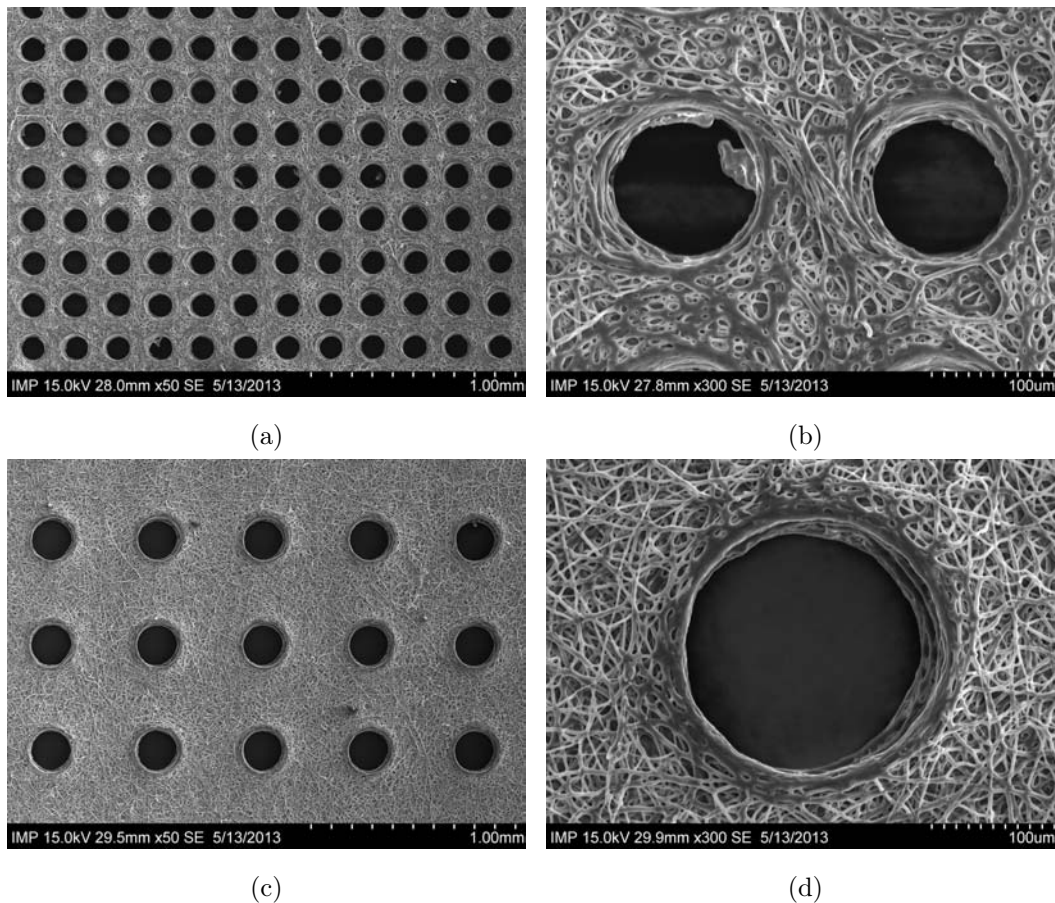


Abbildung 5.14: Mittels Ultrakurzpuls-Laser perforierte Fasermatten. Es können beliebige Abstände und Bohrungsdurchmesser realisiert werden: Für kleinere Zellen ist ein Raster mit Durchmessern von $100\ \mu\text{m}$ und einem Abstand von $200\ \mu\text{m}$ geeignet (a,b). Für größere Zellen kann der Abstand auf $500\ \mu\text{m}$ und der Durchmesser auf $200\ \mu\text{m}$ erhöht werden (c,d).

werden, ohne dass es zu einer thermischen Schädigung der benachbarten Bohrungen kommt. Als Grundlage für die Auswahl der erprobten Werte dient die Annahme, dass der minimale Bohrungsdurchmesser abhängig vom Zelltyp ist und im Zusammenhang mit Tissue Engineering im Bereich von $100 - 300\ \mu\text{m}$ liegen sollte [187]. Die in dieser Arbeit erprobten Durchmesser sind besonders auf Endothelzellen ($10 - 20\ \mu\text{m}$) und Muskelzellen ($20 - 100\ \mu\text{m}$) abgestimmt. Auch größere Zelltypen wie Osteoblasten (Knochenzellen) können mit $200 - 300\ \mu\text{m}$ großen Bohrungen berücksichtigt werden. Mittels Laser perforierte Matten mit einem Bohrungsdurchmesser von $100\ \mu\text{m}$ und einem Abstand der Bohrungen von $200\ \mu\text{m}$ weisen im Vergleich zu einer unbearbeiteten Matte eine Verringerung des Gesamtvolumens von ca. 50-60% auf. So vergrößert sich ihre

Gesamtporosität auf ca. 90%. Weiterhin sind mittels Laser perforierte Fasermatten mechanisch stabil, so dass sie wie unbearbeitete Matten gehandhabt werden können.

5.3 Automatisierungsumgebung

Die Automatisierung von Fertigungsanlagen wird im Allgemeinen genutzt, um die Be- und Verarbeitung von Werkstücken sowie den Transport und die Lagerung von Gegenständen maschinell auszuführen. Weiterhin erfolgen heute auch die Entwicklung, Produktionsplanung und Steuerung zu großen Teilen automatisiert [188]. In der Vergangenheit wurde eine starre, möglichst vollständige Erledigung von gleichbleibenden Tätigkeiten durch Maschinen angestrebt. Heute liegt der Fokus auf der Bereitstellung von flexibel einzusetzenden Automatisierungslösungen für unterschiedliche Aufgaben [189]. Der Grad der Automatisierung wird von 1 bis 5 eingestuft. Die erste Stufe bezeichnet maschinell unterstützte Tätigkeiten von Menschen. Bei Stufe 2 bis 4 wird von einer Teilautomatisierung gesprochen. Bei Stufe 5 führt die Maschine ihre Aufgabe autonom aus, nimmt selbstständig Korrekturen vor und es ist kein Eingriff durch den Menschen vorgesehen. [188, 190]. Ein wichtiger Aspekt bei der Automatisierung ist der Einsatz von Robotern. Diese sind geeignet, häufige, sich wiederholende Bewegungsabläufe mit hoher Präzision auszuführen. Je nach Einsatzgebiet müssen sie vor Umgebungseinflüssen wie z.B. Staub oder Lösemittel geschützt werden. In Kombination mit Werkzeugwechselsystemen basierend auf Greifern und Werkzeugaufnahmen kann mittels Robotik ein hoher Automatisierungsgrad umgesetzt und eine Steigerung der Effizienz bei erhöhter Reproduzierbarkeit erreicht werden.

Der grundsätzliche Aufbau einer Anlage für das Elektrosplennen von Polymerlösungen zur Produktion von Gerüststrukturen besteht in der Regel aus wenigen Komponenten und ist geeignet, um einfache flache Geometrien herzustellen. So fokussiert sich die überwiegende Anzahl der in der Literatur vorgestellten Versuchsanlagen nur auf einzelne Geometrien oder Prozessvarianten [60, 151]. Sollen komplexere Produkte mit hierarchischer Mikrostruktur und komplexer Makrogeometrie erzeugt werden, müssen verschiedene Technologien kombiniert werden. Dazu müssen mehrere Anlagenkomponenten gleichzeitig verwendet und ihr Betrieb genau aufeinander abgestimmt werden. Hierzu zählen z.B. rotierende Kollektoren sowie mehrere parallel betriebene Pumpen und Düsen (s. Abb. 5.15). Ein konkretes Beispiel hierfür ist die Produktion von mehrlagigen Gerüsten zum Ersatz von Blutgefäßen (s. Abb. 5.16). Der gesamte Ablageprozess dauert bei einem Kollektor von 4 mm Durchmesser und 100 mm Länge ca. 10 - 15 Minuten und führt zu einer Schichtdicke von 200 - 300 μm . Soll nun ein dreilagiges Gerüst realisiert werden, muss der Fluss aus verschiedenen Polymerlösungsreservoirs ca. alle 5 Minuten umgeschaltet werden. Hinzu kommt ein Zeitraum von etwa 30 - 60 Sekunden, in dem parallel aus dem aktuellen und nachfolgenden Reservoir gefördert wird, damit ein fließender Übergang zwischen den Schichten entsteht und keine Delamination auftritt. Eine solche Abfolge ist manuell nicht mehr exakt zu steuern. Damit die Komponenten der in dieser Arbeit aufgebauten Anlage als eine integrierte Produktionsumgebung wirken können, müssen sie zentral elektronisch angesteuert werden. Wichtig ist dabei, dass das System und seine Bestandteile nahezu echtzeitfähig agieren, also die Eingaben des Nutzers und die Vorgaben der zentralen Steuerung sofort umsetzen. Die Komplexität eines solchen Systems steigt mit zunehmender Anzahl an Komponenten überproportional an. Daher

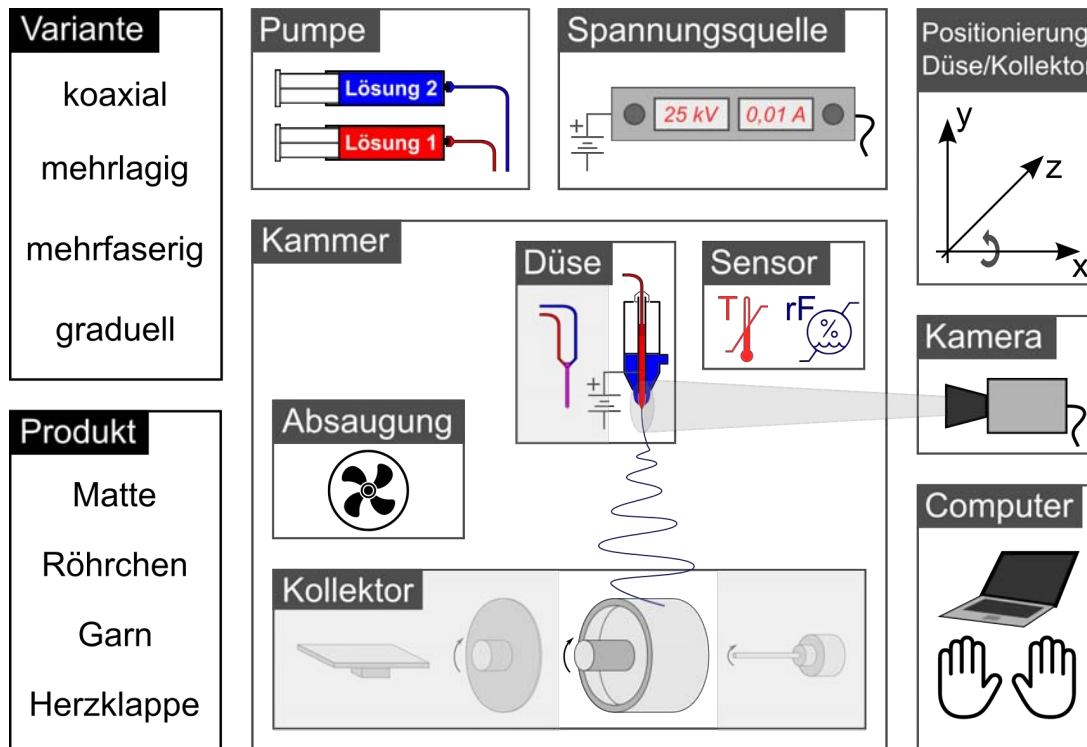


Abbildung 5.15: Anlagenkonzept für das Elektrospinnen von polymeren Gerüststrukturen. Dargestellt sind die zentralen und peripheren Komponenten, die mittels Steuer- und Messelektronik zu einer zentral bedienbaren Anlage integriert werden.

wird ein modulares und auf Betrachtungsebene der einzelnen Komponenten homogenes Konzept verwendet. Die Pumpen werden mit der gleichen Elektronik angesteuert wie die Kollektoren, andere Aktoren und Sensoren. Alle Komponenten sind somit austauschbar und skalierbar.

Als Steuereinheit für die Komponenten werden Mikrocontroller (Arduino Uno) verwendet, die über serielle Schnittstellen mit einem Computer verbunden sind. Die Programmierung der Mikrocontroller erfolgt in C. Die einprogrammierten Befehle werden im Mikrocontroller in einer sich wiederholenden Schleife ausgeführt und gewährleisten so einen stabilen Betrieb der Komponenten. Die Einstellung von Flussrate oder Rotationsgeschwindigkeit erfolgt durch Nachrichtepakete, die im Zuge eines Schleifendurchlaufs verarbeitet werden. Die Kommunikation und Steuerung der Komponenten bzw. der Versand und Empfang der Nachrichtepakete erfolgt dabei über die Zwischenschichtanwendung Robot Operating System (ROS). Genauer betrachtet stellt das ROS eine Virtualisierung der Anlage dar. In dieser Schicht laufen alle Steuerbefehle und die Rückmeldung der Ist-Werte zusammen (s. Abb. 5.17), wobei es im Gegensatz zu der auf den Mikrocontrollern befindlichen Software keine Warteschleifen o.Ä. gibt. Vielmehr handelt es sich um eine 'cloud', in der alle Befehle nebeneinander vorliegen und nur von den betroffenen Komponenten abgerufen werden. Die einzelnen Komponenten sind dazu analog zum Aufbau der Hardware auch auf Software-Ebene modular strukturiert: Der Programmcode für Spritzenpumpen, Kollektoren und Motorachsen ist gleich aufgebaut und lässt sich aus einer übergeordneten Generik in Varianten ableiten. Die Funktionalität des Gesamtsystems und seine dynamischen Abläufe ergeben sich aus der Kommunikation der Komponenten untereinander (s. Abb. 5.17). Die

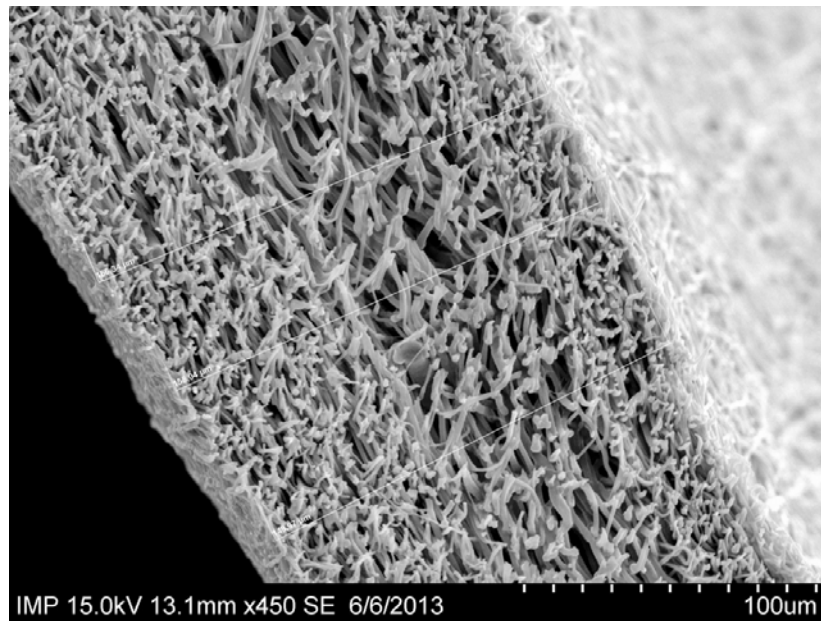


Abbildung 5.16: Es wurden mehrere Lagen mit unterschiedlichen Faserdurchmessern gesponnen, um eine Gerüststruktur für das Tissue Engineering von Blutgefäßen zu erzeugen. Innen befinden sich dünne Fasern mit einem Durchmesser von $1,5 \mu\text{m}$, die das Wachstum von Endothelzellen begünstigen. Die mittlere Lage weist Faserdurchmesser von $4 \mu\text{m}$ auf und repräsentiert die Muskelzellschicht. In der äußeren Lage beträgt der Faserdurchmesser im Mittel $2 \mu\text{m}$ was die Proliferation von Bindegewebszellen fördert. Die Dicke der inneren Schicht beträgt $30 \mu\text{m}$, die der mittleren und äußeren Schicht jeweils $65 \mu\text{m}$.

übergreifende Koordination aller Komponenten des Systems wird durch den ROS-Kern auf einem PC realisiert. Der Betrieb einer Komponente wie z.B. Motortreiber oder Sensor, wird von jeweils einem einzelnen Mikrocontrollern ausgeführt. Jede Komponente stellt dabei einen separaten Knoten dar, der mit dem ROS-Kern kommuniziert. Dadurch ist das System sehr robust gegenüber dem Ausfall einzelner Bestandteile und sehr unkompliziert zu erweitern. Die Bedienung wird über eine grafische Benutzeroberfläche (GUI) realisiert, die alle Prozessschritte visualisiert. So können auch Personen, die nicht mit der Technik der Anlage vertraut sind, nach einer kurzen Einweisung alle Möglichkeiten bei der Gestaltung von elektrogewebenen Gerüsten nutzen. Dabei leitet die Software die nötigen Prozessschritte aus allgemeinen, übergreifenden Gestaltungswünschen des Nutzers ab und setzt sie maschinell um (s. Abb. 5.18). Die Software übersetzt dabei die Vorgaben für Schichtdicke und Ausrichtung in Flussrate, Spinddauer und Rotationsgeschwindigkeit des Kollektors. Diese Vorgaben werden als Maschinenbefehle, also Anzahl der Schritte, Drehzahl, etc. an die Komponenten weitergegeben. Dazu muss zu Beginn eine Datenbasis mit empirisch ermittelten Faktoren und Werten für alle Prozessvarianten und Produktgeometrien eingerichtet werden. Das beinhaltet u.a. Faserdurchmesser, -ausrichtung und Schichtdicken in Abhängigkeit von Prozess- und Lösungsparametern. Auch die Einbeziehung von Umgebungsparametern wie der Luftfeuchte und Temperatur sind relevant. So werden definierte Produktionsabläufe mit reproduzierbaren Ergebnissen möglich, da die direkten physikalischen Aktionen stets in gleicher

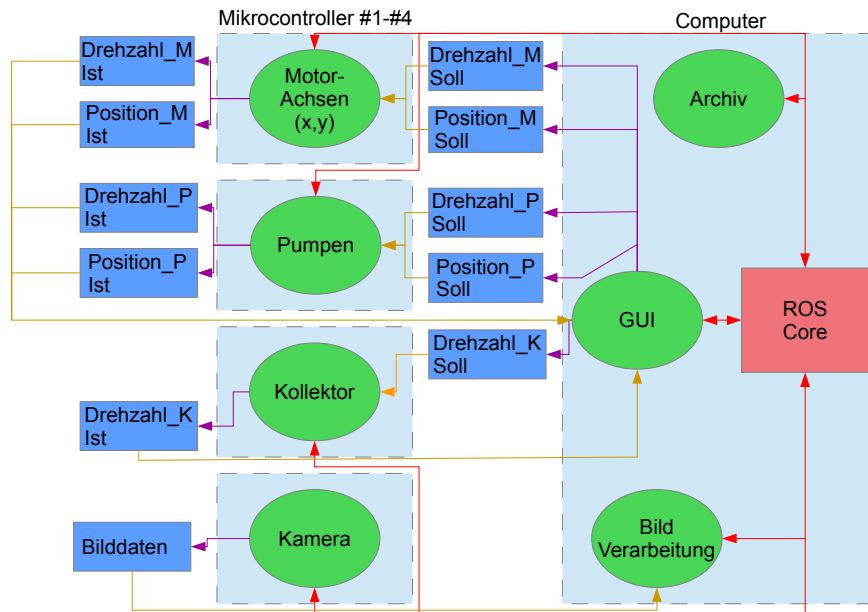


Abbildung 5.17: Schema der Automatisierungsumgebung auf Basis von ROS. Die einzelnen Module bzw. 'nodes' (grün) kommunizieren über Nachrichten (blau) miteinander. Die Koordination erfolgt über den Kern (rot). Die Module sind dabei einzelnen Komponenten zugeordnet und erhalten Steuerbefehle über Soll-Nachrichten. Gleichzeitig versenden die Module Ist-Nachrichten über ihren tatsächlichen, aktuellen Zustand. Durch den Abgleich von Soll und Ist kann der Kern (ROS Core) die Funktionsfähigkeit des Gesamtsystems sicherstellen.

Art und Weise ausgeführt werden. Dabei ist es wichtig, die Bedienbarkeit der Anlage für eine breite Anwendergruppe zu gewährleisten. Dies beginnt bei einer intuitiv gestalteten, leicht verständlichen Bedienoberfläche und endet bei haptischen Kriterien wie dem nötigen Kraftaufwand zum Verstellen von Schaltern, Mechaniken etc. Auch die Körpergröße des Bedienpersonals wird in die Planung mit einbezogen, damit alle Komponenten mit den Händen erreicht und positioniert werden können.

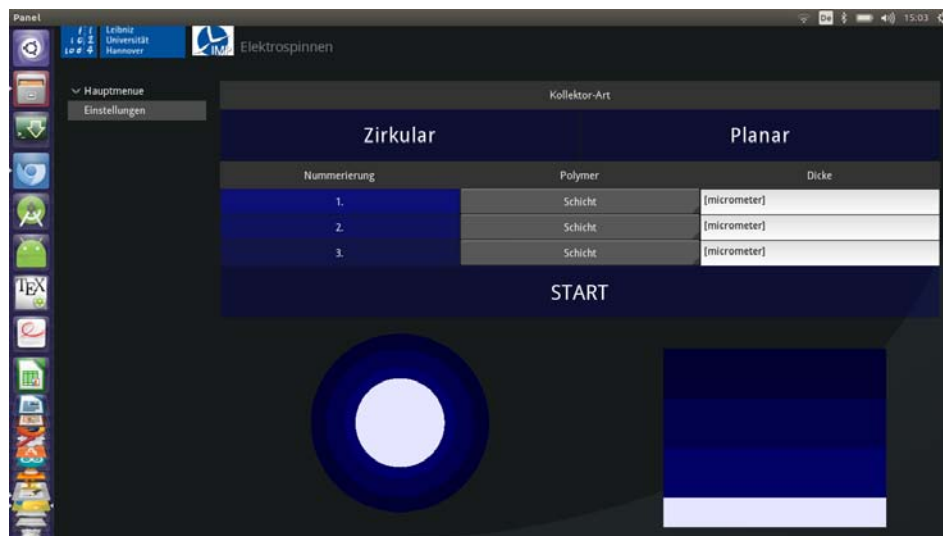


Abbildung 5.18: Screenshot des kivy-Programms Tube Designer zur Herstellung mehrlagiger Gefäße unter Angabe der gewünschten Schichtdicke. Dargestellt ist eine Konfiguration für dreilagige, tubuläre Strukturen. Das GUI agiert dabei als Modul bzw. 'node' im Robot Operating System und versendet entsprechend dem Nutzerwunsch die korrekten Steuernachrichten über den ROS Core an die Module ('nodes') von Pumpen und Kollektor.

6 Strukturelle Eigenschaften von elektrogesponnenen Produkten

Der Elektrospleinprozess ist von einer Vielzahl von Parametern (Lösung, Prozess, Umgebung) abhängig, die Einfluss auf die Mikro- und Makrostruktur sowie die mechanischen Eigenschaften des Endprodukts haben. Wichtige mikrostrukturelle Eigenschaften sind dabei Faserdurchmesser und -ausrichtung. Ein makroskopisches Kriterium ist die Form bzw. Geometrie von Fasermatten oder dreidimensionalen Gerüsten. Die mikrostrukturellen Eigenschaften sind neben dem mechanischen Verhalten direkt verknüpft mit dem Erfolg der Zellbesiedlung im Rahmen des Tissue Engineering.

Vor Parameterstudien mit mechanischem oder biologischem Hintergrund müssen deshalb zunächst geeignete Protokolle, Methoden zur Probenpräparation und Werkzeuge zur Charakterisierung entwickelt werden. Von aktuellen Normen definierte Abläufe zur Materialprüfung (vgl. Kap. 3.5) lassen sich nur in abgewandelter Form auf elektrogesponnene Strukturen übertragen. Daher werden im Folgenden optische Verfahren und mechanische Prüfmethode vorgestellt, die im Rahmen dieser Arbeit speziell für die hergestellten Gerüste entwickelt wurden. Dies betrifft in erster Linie die Präparation von Proben zur Analyse der Mikrostruktur unter dem Rasterelektronenmikroskop und die anschließende Charakterisierung der Strukturmerkmale Faser- und Porendurchmesser sowie Faserausrichtung. Des Weiteren wird der Einfluss der Einspannung elektrogesponnener Proben beim Zugversuch untersucht. Dabei steht die Vermeidung unsachgemäßer Handhabung mit einhergehender Schädigung der Probe im Fokus. In diesem Zusammenhang wird eine spezielle Einspannvorrichtung vorgestellt und der Einfluss von Eingießmethoden der Probe auf die Versuchsergebnisse gezeigt. Außerdem wird die Vergleichbarkeit der Messwerte von Proben aus unterschiedlichen Polymeren und Geometrien diskutiert. Dies ist nötig, da es beim Elektrospleinprozess meist nicht möglich ist, einen Parameter zu variieren, ohne dabei andere Prozessgrößen zu beeinflussen. Die sich daraus ergebende Beschaffenheit der Probe bedingt wiederum, welche Prüfmethode eingesetzt werden muss. Langfristig sollen die entwickelten Protokolle auch als Werkzeug zur Qualitätskontrolle genutzt werden. So ist es unter bestimmten Annahmen möglich, über die mechanischen Eigenschaften auf die Mikrostruktur (z.B. Faserausrichtung) eines Produkts zu schließen, ohne dass eine aufwendige optische Beurteilung mit dem Rasterelektronenmikroskop notwendig wird.

6.1 Beschreibung der Mikrostruktur

Die Charakterisierung der Mikrostruktur von elektrogesponnenen Produkten ist essentiell, da sie großen Einfluss auf die Besiedelbarkeit des Gerüsts mit Zellen (Migration, Nährstoffversor-

gung) und die mechanischen Eigenschaften hat [54]. Die Mikrostruktur wird dabei durch den Faserdurchmesser, die Größe der durch die Fasern aufgespannten Leerräume (Poren), die Faserausrichtung und die Gesamtporosität vollständig beschrieben [8]. Die Gestalt und Verteilung der Leerräume entspricht dabei keiner klassischen Definition von Poren, die in sich abgeschlossen sind, sondern stellt vielmehr einen miteinander verbundenen Raum zwischen den Fasern dar. Durch die Schichtung der Fasern ergibt sich eine gitterartige Struktur, wobei deren Maschenweite der klassischen Begrifflichkeit der Porengröße entspricht (vgl. Kap 3.6).

Da die zu bestimmenden Größen im Bereich von einigen hundert Nanometern bis in den Bereich mehrerer Mikrometer liegen, wird ein Rasterelektronenmikroskop (S-3400N, HITACHI) zur Bildgebung verwendet. Die Proben müssen zuvor besputtert (SC7620, QUORUM TECHNOLOGIES) werden, damit eine ausreichend hohe Leitfähigkeit vorliegt, so dass auch feine Strukturen abgebildet werden können. Dabei werden einerseits Übersichtsaufnahmen bei geringer Vergrößerung (500x) als auch Detailaufnahmen (2000x - 4000x) zur genauen Charakterisierung des jeweiligen Merkmals angefertigt. Die Bilddateien werden anschließend mit einem Rasterfeld versehen, mittels einer Software (AxioVision, ZEISS) manuell ausgewertet und die Messwerte statistisch aufbereitet (s. Abb. 6.1). Dabei werden Fasern in der Regel mehrmals in verschiedenen Ra-

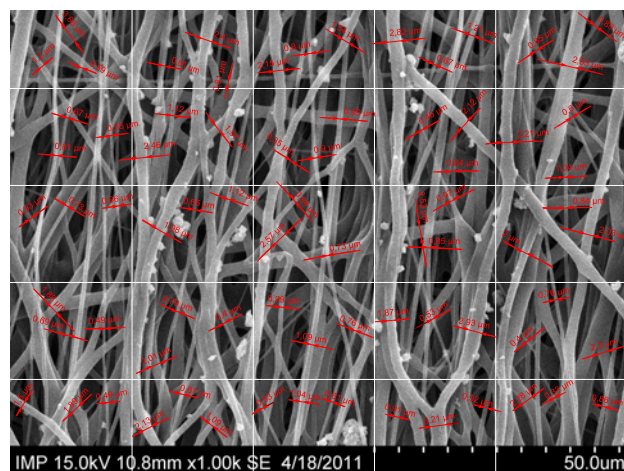


Abbildung 6.1: Bestimmung des mittleren Faserdurchmessers auf rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen. Mithilfe des Gitters wird das Bild in definierte Bereiche aufgeteilt, in denen eine bestimmte Anzahl von Werten bestimmt wird. Dies verringert den subjektiven Einfluss des Menschen bei der Auswahl zu messender Fasern.

sterfeldern gemessen, was durch eine abschließende Mittelwertbildung ausgeglichen wird. Eine einheitliche Bestimmung der Leerräume zwischen den Fasern - die im Folgenden als Poren bezeichnet werden - erfordert eine Definition, wie diese zu beschreiben sind. Problematisch ist dabei, dass es sich bei elektrogesponnenen Strukturen nicht um klassische Poren handelt und diese zudem keine einheitliche Geometrie aufwiesen: einige werden durch drei übereinander liegende, sich kreuzende Fasern aufgespannt, andere durch vier oder mehr Fasern (s. Abb. 6.3). Eine Möglichkeit stellt die computergestützte Bestimmung der durch die Fasern aufgespannten Fläche dar. Bei sehr dünnen Faserbetten sind diese Zwischenräume schwarz, weil die Oberfläche des Probenträgers durchscheint. Bei dickeren Betten sind die Flächen dagegen nicht über

den Farbton zu erfassen, da tieferliegende Fasern die schwarzen Bereiche kreuzen und sich nicht eindeutig einer Ebene zuordnen lassen. Automatische Algorithmen können die Porengrenze daher nicht korrekt erfassen und es werden zu große oder zu kleine Flächen bestimmt. Außerdem zeigt sich bei *in vitro* Versuchen häufig, dass die absolute Fläche einer Pore für die Abstimmung der Mikrostruktur mit dem avisierten Zelltyp kein geeignetes Kriterium ist: Eine längliche, aber schmale Pore hat zwar eine große Fläche, die mit der Fläche einer Zelle korrespondiert, stellt für diese aber trotzdem eine gitterförmige Barriere dar, durch die sie sich nicht hindurch migrieren kann. Es ist in diesem Zusammenhang aber anzumerken, dass Zellen in einem gewissen Rahmen durchaus die Fähigkeit besitzen, sich durch Öffnungen zu zwängen und diese kurzzeitig aufzuweiten, jedoch ist dies wiederum von der Nachgiebigkeit der Fasern abhängig [8, 54]. Um

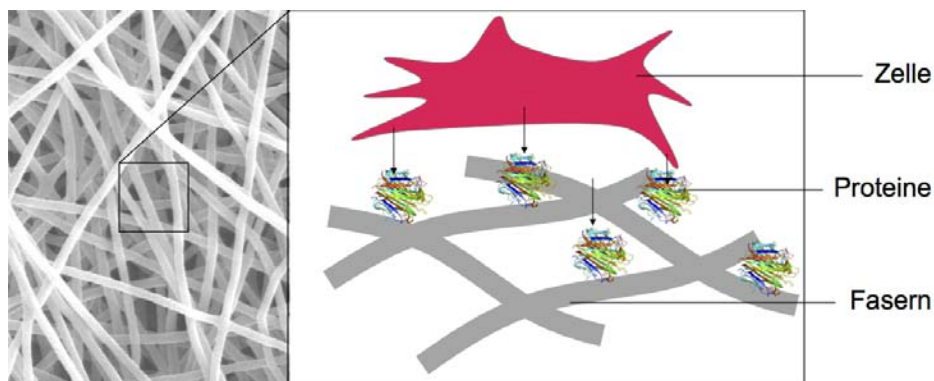


Abbildung 6.2: Die Interaktion von Zelle und Gerüststruktur wird von an der Faseroberfläche adsorbierten Proteinen beeinflusst [8].

diese Eigenschaft zu berücksichtigen, werden die Poren durch ihre Seitenhalbierenden und deren Mittelwert beschrieben. Die Bestimmung erfolgt manuell mit der gleichen Software wie die der Faserdurchmesser. Die so gewonnenen Daten erlauben Aussagen zur maximalen Ausdehnung in

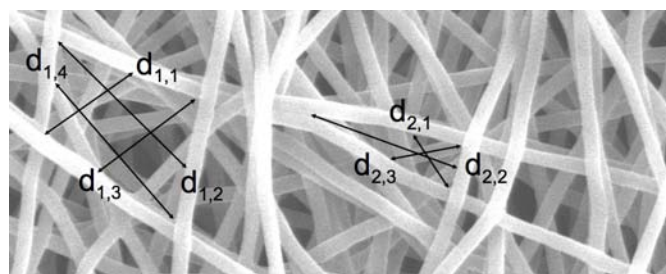


Abbildung 6.3: Die Größe einer Pore wird über den arithmetischen Mittelwert ihrer Seitenhalbierenden erfasst. Die Größe einer dreieckige Pore wird demnach über drei Seitenhalbierende gemittelt (s. rechts). Eine viereckige Pore folglich über vier Seitenhalbierende (s. links). Die Seitenhalbierende verläuft dabei stets vom Mittelpunkt einer Seite zum gegenüberliegenden Eckpunkt.

einer Pore, die von einer Zelle genutzt werden kann. Über den statistischen Mittelwert und die Standardabweichung wird zudem die Gestalt der Probe charakterisiert: eine hohe Abweichung deutete auf große Unterschiede bei den Längen in einer Pore und deshalb auf eine längliche Geometrie hin; eine geringe Abweichung liegt dagegen bei eher runden Poren vor. Die Porosität wird

in diesem Zusammenhang gravimetrisch bestimmt, also über das Gewicht, die Dichte und die Dimensionen einer Probe.

6.2 Bestimmung der mechanischen Eigenschaften

Um die mechanische Belastbarkeit der elektrogenesponnenen Produkte festzustellen, werden statische und dynamische Prüfverfahren angewendet. Statische Verfahren werden dabei genutzt, um die maximale Reißfestigkeit, E-Modul und Reißdehnung festzustellen. Dies ist besonders im Zusammenhang mit dem Ersatz von lasttragenden Körperteilen wie Sehnen und Haut von Interesse. Die dynamische mechanische Analyse wird dagegen genutzt, um zyklische Zugbelastungen an kardiovaskulären Komponenten wie Blutgefäßen oder Herzklappen nachzubilden. Dazu erfolgt zunächst die Bestimmung der Probenabmaße und der Porosität. Auf dieser Basis können dann die gemessene Zugkraft und Auslenkung in Spannung und Dehnung umgerechnet werden.

6.2.1 Bestimmung der Wandstärke und Porosität von Fasermatten

Zur Berechnung der Reißfestigkeit wird die während der mechanischen Prüfung gemessene, maximale Kraft auf den Ausgangsquerschnitt der Probe bezogen. Dieser setzt sich für eine rechteckige Geometrie aus dem Produkt von Breite und Dicke zusammen (vgl. Kap. 3.5, s. Gl. 3.2). Für röhrenförmige (tubuläre) Geometrien berechnet sich die Querschnittsfläche aus dem mittleren Radius und der Wandstärke. Auch bei der Berechnung der Porosität wird eine solche Normierung vorgenommen, wobei die Masse des Produkts auf das Volumen bezogen wird (s. Gl. 3.9). Die Bestimmung der Wandstärke erfolgt zunächst mit einer Mikrometerschraube. Es zeigt sich jedoch, dass die poröse Fasermatte dem Ratschenmechanismus zur Drehmomentbegrenzung keinen ausreichenden Widerstand entgegensetzt und dadurch bei der Messung komprimiert wird (s. Abb. 6.4). Dadurch wird ein kleinerer Wert als tatsächlich vorliegt gemessen. Zudem ist die Messung von der aufgewendeten Kraft des Bedieners abhängig und somit nicht vergleichbar. Es wird daher eine optische Erfassung der Dicke durch Betrachtung des Querschnitts angestrebt, was eine saubere und definierte Schnittkante voraussetzt. Werden die Proben bei Raumtemperatur geschnitten, kommt es zu einer Quetschung der Schnittkante, deren Ausprägung von der Schärfe des Skalpells abhängig ist. Wird ein beheiztes Skalpell verwendet, um einen durchgehenden, lückenlosen Schnitt zu vollziehen, wird diese Quetschung zudem von einer thermischen Verformung überlagert. Gute Ergebnisse können erzielt werden, indem die Probe vor dem Schneiden in destilliertem Wasser eingefroren oder in flüssigem Stickstoff abgekühlt wird. Zum Schneiden von eingefrorenen Proben wird ein Kryotom verwendet, wobei die umgebende Eisphase die Fasermatte stabilisiert und so einen durchgehenden Schnitt ermöglicht. Die Präparation der Querschnitte verschiedener Geometrien wie Matte oder Rohr ist mit dieser Methode einheitlich möglich. Die Vorbereitung der Proben für die Kryoschnitte ist jedoch aufwendig und erfordert eine lange Wartezeit, bis die Proben vollständig durchgefroren sind. Vorteil bei dieser Art der Präparation ist, dass mehrere Proben in einem gemeinsamen Arbeitsschritt geschnitten werden können. Für eine geringere Probenanzahl eignet sich das Abkühlen und Schneiden in flüssigem Stickstoff. Diese

Variante ist zudem geeignet, um Matten aus wasserlöslichen Polymeren zu präparieren. Mit dem Einfrierverfahren in Wasser ist dies nicht möglich, da es zu einer Auflösung besagter Bestandteile durch die schmelzende Eisphase oder kondensierte Luftfeuchtigkeit kommt. Weiterhin kann es zu einer Längenänderung durch die Anlagerung von Luftfeuchtigkeit kommen.

6.2.2 Statische Prüfung

Die statische einachsige mechanische Prüfung erfolgt in einer Zugprüfmaschine (Modell 5565A, Fa. INSTRON). Der Probenkörper wird eingespannt (s. Abb. 6.5) und der Abstand zwischen den Einspannungspunkten (Klemmbacken) mit konstanter Geschwindigkeit bis zum Riss vergrößert. Da keine Normen zur Prüfung elektrogewebener Gerüste existieren, wird in ersten Versuchen evaluiert, welche Probengeometrie und welche Prüfparameter für reproduzierbare Versuchsdurchführungen geeignet sind. Es wird festgestellt, dass die Probengeometrie starken Einfluss auf die Risscharakteristik hat und dabei eigentlich stärker wiegende Merkmale wie die Probendicke im Einfluss überlagert. Die in vielen Normen festgelegte Knochenform für faserbasiertes Material ist nur bedingt geeignet, da es teilweise zu einem Einreißen an der Einspannung der Proben kommt (s. Abb. 6.5(E,F)). Dies ist auf die unterschiedlichen Ausrichtungen der Fasern zurückzuführen. Zudem ist es aufwendig, Proben aus elektrogewebenen Fasermatten einheitlich zu präparieren, da die Knochenform Außen- und Innenradien beinhaltet, die nicht durchgängig mit einem Skalpell geschnitten werden können. Auch die sonst in der Textiltechnik übliche Verwendung eines Stanzeisens zur Erzeugung von Probenkörpern ist nicht möglich, da durch den Stanzvorgang keine vollständige Trennung der Probe von der umgebenden Fasermatte erfolgt: einzelne Fasern bleiben intakt und bewirken beim Herauslösen eine Beschädigung der Probe. Dies ist u. a. auf die

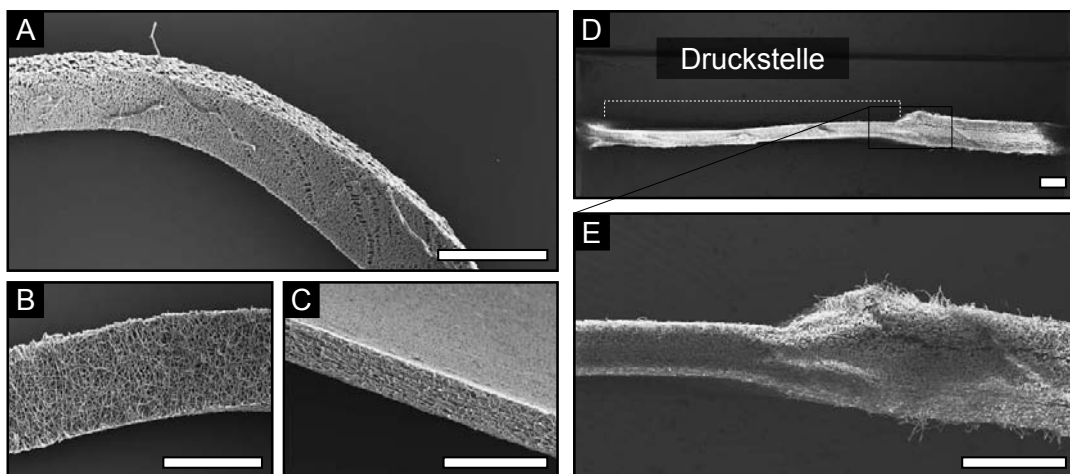


Abbildung 6.4: Schnittkanten zur Messung der Wandstärke von elektrogewebenen Gerüststrukturen. Zur Bestimmung der Reißfestigkeit eignet sich die Betrachtung des Querschnitts (A,B). Soll die Gleichmäßigkeit der Wandstärke evaluiert werden, wird ein Längsschnitt (C) durchgeführt. Eine Mikrometerschraube komprimiert die Fasermatte bei der Messung und eine Druckstelle bleibt zurück (D,E). Maßstab (A - C): 0,5 mm.

unterschiedliche Elastizität von Textilien und elektrogesponnenen Fasermatten zurückzuführen: Während Textilien (z.B. aus Baumwolle) auf Faserebene eher spröde sind, sind elektrogesponnene Fasern aus PCL viskoelastisch. Sie verformen sich unter Belastung dauerhaft (plastisch) und können somit nicht sauber durch ein Stanzeisen aus der umliegenden Matte abgeschert werden. Die Proben werden deshalb mit Hilfe eines Rollmessers (DAHLE, Lingen) in Form von Streifen geschnitten. Die Streifengeometrie bedingt jedoch nach Norm, dass die Proben einen in Zugrichtung ausgerichteten Faserverlauf aufweisen, also anisotrop sind [52]. Als Vergleich können in diesem Zusammenhang anisotrope Werkstoffe wie z.B. Kohlefaser verstärkte Kunststoffe genannt werden. Die Matten werden zur Einstellung einer anisotropen Faserausrichtung auf einem schnell rotierenden Kollektor mit einer Geschwindigkeit von 8 m/s an der Oberfläche gesponnen, so dass sie nahezu parallel zueinander und in Umfangsrichtung abgelegt werden.

Sehr dünne Fasermatten können beim direkten Einspannen in die Klemmbacken beschädigt werden, was zu einem frühzeitigen Versagen der Probe führt. Es wird daher eine Halterung konstruiert, in der die Probe durch Eingießen in Silikon fixiert werden kann (s. Abb. 6.6). Diese Halterung wird unter Verwendung von klauenförmigen Adaptern in den Klemmbacken der Prüfmaschine befestigt und erlaubte die standardisierte Durchführung von Zugversuchen. Die Halterung ist so dimensioniert, dass Matten mit Breiten von 1 mm bis 15 mm und auch Gerüste mit dreidimensionaler Geometrie (z.B. Rohre) eingegossen werden können. Über eine beim Gießvorgang an der Halterung befestigten Schiene wird der Abstand zwischen den Einspannpunkten (freie Länge) exakt eingestellt werden. Die Probe wird dabei im unbelasteten und vollständig ausgerolltem Zustand positioniert. So können Fehler, die bei einer manuellen Einspannung und Bestimmung dieser Länge durch unterschiedliches Bedienpersonal auftreten würden, minimiert werden. Dadurch werden im weiteren Verlauf resultierende Abweichungen bei der zu berechnen-

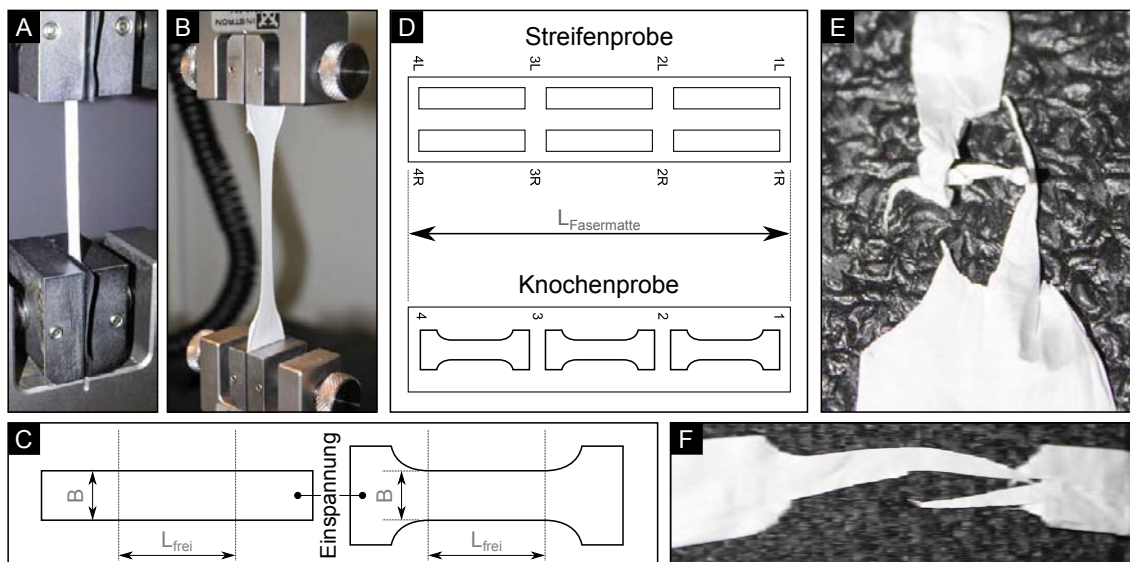


Abbildung 6.5: Einspannung und Probengeometrie für den statischen Zugversuch. Streifenproben (A) werden bei anisotropen und knochenförmige Proben (B) bei isotropen Materialien verwendet. Probengeometrie (C) und Messpunkte für die Bestimmung der Wandstärke (D). Einreißen von Matten an der Einspannung (E,F).

den Dehnung vermieden. Das Aufspannen und Eingießen ist auch für Versuche mit sehr dünnen Matten (ca. 10 μm) geeignet, die ohne die Halterung nicht zu handhaben sind. Vor allem werden Beschädigungen der Matte während des Präparationsprozesses vermieden. Als Material für die Eingießung wird Zwei-Komponenten-Silikon (Elastosil M4601, WACKER) verwendet, da es keine Lösemittel enthält, welche die Probe beschädigen könnten. Ein im Rahmen einer vorangehenden mechanischen Prüfung durchgeführter Vergleich mit anderen Eingießmethoden (Wachs, pneumatische Klemmen) zeigt, dass die Methode großen Einfluss auf die Messergebnisse (Reißfestigkeit, Reißdehnung) hat (s. Abb. 6.7). Dabei ist die gemessene Reißfestigkeit bei den pneumatischen Klemmen am höchsten. Die größte gemessene Dehnung wird bei in Wachs eingegossenen Proben erreicht. Es wird vermutet, dass es, obwohl äußerlich nicht erkennbar, zu einem Schlupf der Probe an der Einspannung kommt. Dadurch werden die Proben abhängig von der Eingießung nicht gleichförmig gedehnt. Bei der Berechnung der Reißdehnung wird so der Längenteil durch den Schlupf der Probe mit einbezogen. Optisch ist dieser Schlupf nicht sichtbar, so dass davon ausgegangen wird, dass er auf mikroskopischer Ebene zwischen einzelnen Fasern und umgebender Matrix auftritt. Auch eine Verringerung des Probenquerschnitts im Verlauf des Zugversuchs mit einhergehender Lösung an der Einspannung ist denkbar. Dies könnte die hohen Reißfestigkeiten bzw. niedrigen Reißdehnungen bei der pneumatischen Klemmung erklären, da hier durch den wirkenden Luftdruck die Einspannung kontinuierlich nachgespannt wird und so verhindert, dass eine Probe durchrutscht, wenn sich ihre Dicke verringert. Wird die gemessene Reißdehnung als Indikator für einen Schlupf der Probe herangezogen, haben in Wachs eingegossene Proben die geringste Haftung an der Einspannung. Gleichzeitig ist die Reißfestigkeit hier auch am geringsten, da es zu einer Schädigung bei Durchrutschen kommen kann. Die gemessenen mechanischen Eigenschaften ergeben sich somit aus dem Zusammenwirken von fixierender Wirkung und mikroskopischer Schädigung der Fasern an der Einspannung.

Aufgrund der Erkenntnisse über den Einfluss der Einspannung auf die mechanischen Kennwerte muss im weiteren Verlauf stets die selbe Methode verwendet werden, um vergleichbare Ergebnisse

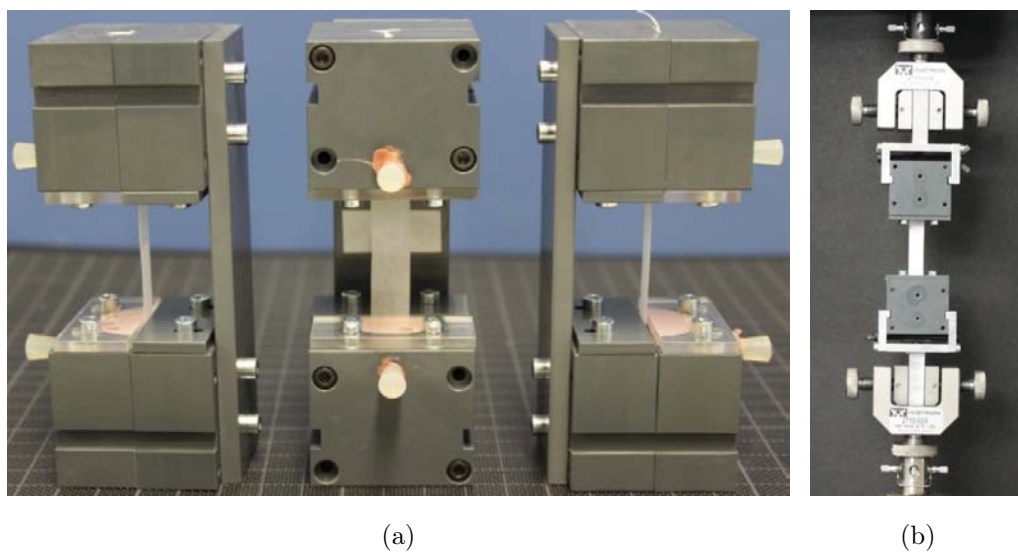


Abbildung 6.6: Eingießvorrichtung mit rückseitig montierter Schiene zur Einstellung der freien Länge (a) für die Einspannung von Proben bei der mechanischen Prüfung (b).

zu erhalten. Wegen seiner guten Handhabung und des chemisch inerten Charakters wird Silikon als Eingießmaterial verwendet. Außerdem lassen sich hiermit auch sehr dünne Matten und tubuläre Formen einspannen, ohne dass es zu einer Vorschädigung kommt. Die statische mechanische Prüfung erfolgt weiterhin nach einheitlichen Prüfparametern, die sich an den Normen für die mechanische Charakterisierung ähnlicher Materialien wie Vliesstoffen orientieren (s. Tab. 6.1).

6.2.3 Dynamische Prüfung

Zur dynamischen Prüfung der in dieser Arbeit produzierten elektrogenesponnenen Gerüste wird ein BOSE-ElectroForce-System verwendet (s. Abb. 6.8). Das BOSE-Electroforce-System belastet die Proben in einem Verfahrensbereich von bis zu 12 mm zyklisch auf Zug und gibt so Aufschluss über die mechanischen Eigenschaften bei dynamischer Beanspruchung.

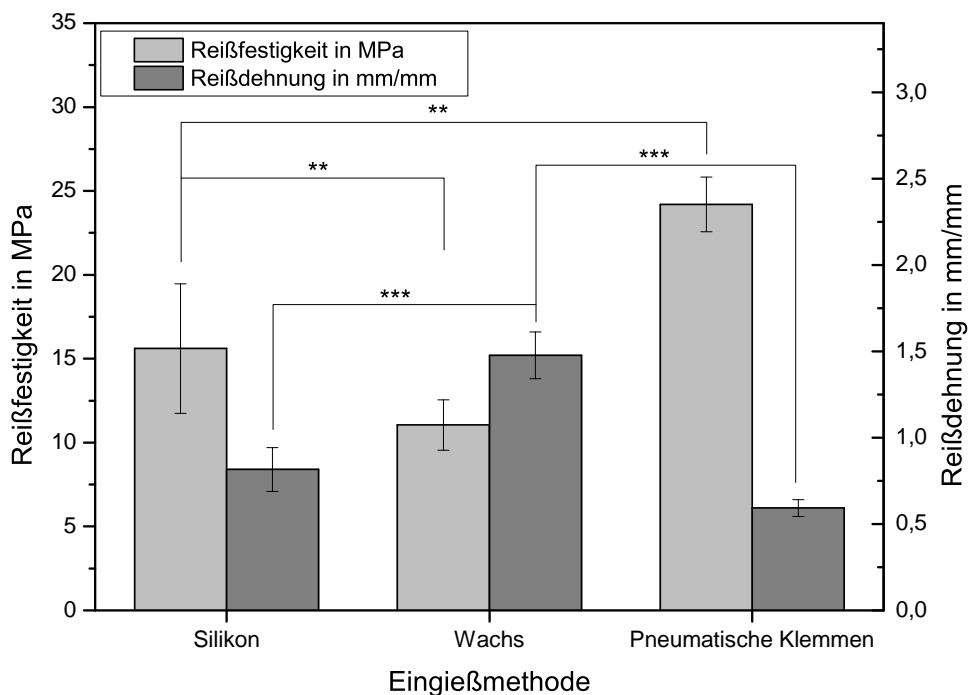


Abbildung 6.7: Ermittelte mechanische Eigenschaften abhängig von der Eingießmethode. Die gemessenen Reißfestigkeiten und korrespondierenden Dehnungen zeigen, dass die Eingießmethode maßgeblichen Einfluss auf die Ergebnisse der mechanischen Prüfung hat. Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardabweichung für in Silikon und Wachs eingegossene sowie pneumatisch geklemmte Proben ($n = 8$, normalverteilt nach SHAPIRO-WILK-Test bei $p=0,05$; Überprüfung der Signifikanz mittels ungepaartem, zweiseitigem Student-t-test).

Außerdem lässt sich so der Lebenszyklus eines Implantats beschleunigt abbilden und die einhergehende Ermüdung eines Werkstoffs in kurzer Zeit ermitteln. Das System misst analog zu einer statischen Zugprüfmaschine die Auslenkung der Klemmbanken und setzt sie mit der aktuell anliegenden Kraft an der Messdose in Beziehung. Aus den Abmaßen der Probe lassen sich so die globale Dehnung und Spannung berechnen. Weiterhin kann über die optische Erfassung eines Punktmusters mit einer Kamera die lokale Dehnung bestimmt werden. Diese Funktion ist besonders für die Charakterisierung von biologischem Gewebe interessant, da dessen mechanische Eigenschaften über die Fläche häufig nicht homogen sind und der Abstand der Klemmbanken somit keine hinreichende Aussagekraft hat. Die dynamische Prüfung erfolgt bei konstanten Prüfparametern (s. Tab. 6.1). Aufgrund der Tatsache, dass eine dynamische Prüfung nicht bis zum Riss der Probe vollzogen wird und die auftretenden Kräfte somit geringer sind, kann der Aufwand bei Probenpräparation und Einspannung im Vergleich zur statischen Prüfung minimiert werden. Dazu werden zunächst doppelseitige Klebebandstreifen in definiertem Abstand auf ein Blatt kariertes oder andersartig markiertes Papier geklebt. Die zu untersuchende Fasermatte wird nun in korrekter Ausrichtung auf die Oberseite der Klebebandstreifen abgelegt. Diese dienen später zugleich als Einspannungspunkte. Durch den zuvor festgelegten Abstand ist so die exakte freie Länge der Probe vorgegeben. Mittels eines Rollmessers wird die Matte dann in Streifenproben mit definierter Breite geschnitten. Dabei ist darauf zu achten, dass der Schnitt parallel und durchgängig ist, um eine Verfälschung der Versuchsergebnisse durch abweichende Querschnitte oder Vorschädigungen zu vermeiden. Es ist auch möglich, röhrenförmige Gerüste mit dem BOSE-ElectroForce-System einer dynamischen Prüfung zu unterziehen. So können z.B. Ermüdungsversuche von für den Ersatz von Blutgefäßen konzipierte Gerüste durchgeführt werden. Außerdem kann während der Besiedlung eines Gerüsts mit Zellen die Veränderung der mechanischen Eigenschaften beobachtet werden. Aufgrund ihrer Form und dem Bestreben die Kreisgeometrie nicht zu komprimieren werden die Proben jedoch wie bei der statischen Prüfung in einer selbst entwickelten Halterung eingespannt. Diese liegt weiterhin in modifizierter Form vor, so dass das Gerüst während Zellversuchen mit Nährlösung durchströmt werden kann.

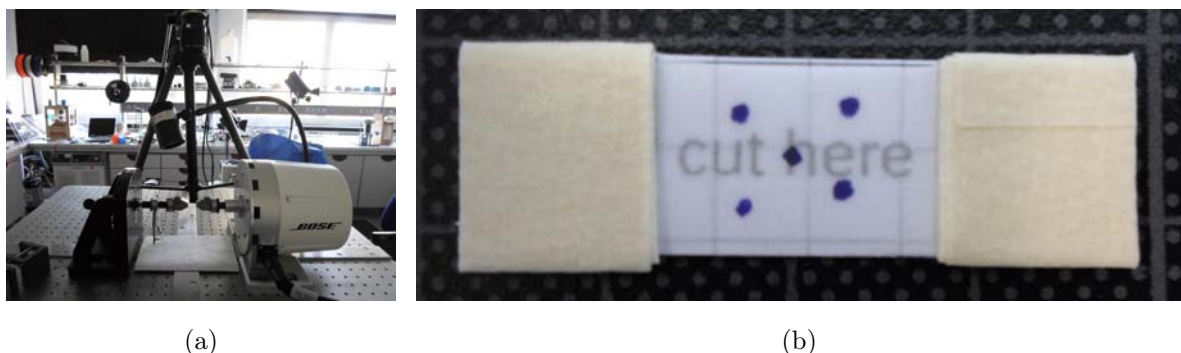


Abbildung 6.8: Dynamische Prüfung mit dem BOSE-ElectroForce-System (a). Über das Punktmuster auf der Probe (b) wird die lokale Dehnung bestimmt. Die Markierung darf dabei keine mechanische oder chemische Vorschädigung der Probe hervorrufen (z.B. durch lokale Auflösung des Polymers oder Druckbeanspruchung).

6.2.4 Computergestützte Auswertungsverfahren

Die bei der dynamischen Prüfung anfallenden Messdaten werden aufgrund der großen Datenmenge computergestützt ausgewertet. Bei Standard-Prüfparametern fallen mit jeder Probe 50000 Werte pro Messgröße (Kraft, Weg, Zeit) an. Dazu wird ein eigens entwickeltes Skript für die Software SCILAB verwendet, das die vom BOSE-System abgelegten Rohdaten einliest, aufbereitet und die für das Prüfzenario relevanten mechanischen Kennwerte wie E-Modul und Hysterese bestimmt. Dadurch ist eine vollständige und reproduzierbare Analyse möglich. Im Folgenden sollen hier die zugrunde liegenden mathematischen Verfahren anhand real gemessener Daten erläutert werden. Untersuchter Probenkörper ist eine aus gerichteten Fasern bestehende Streifenprobe aus PCL.

Je nach Höhe der anliegenden Kraft und verwendeter Kraftmessdose sind die Messwerte mit einem Rauschen unterschiedlicher Intensität behaftet (s. schwarze Kurve, Abb. 6.9), so dass vor der weiteren Auswertung eine Glättung der Kurve erfolgen muss. Ziel ist es, einen stetigen und eindeutig definierten Verlauf zu erhalten, so dass eine lokal an einem Punkt bestimmte Steigung auch den Gesamtverlauf der Kurve bzw. des lokalen Kurvenabschnitts wiedergibt. Zur Glättung wird der zentrierte, einfache, gleitende Mittelwert 5. Ordnung bestimmt (s. Abb. 6.9). Der zentrierte Mittelwert wird dabei aus dem Messwert und den zwei vorhergehenden sowie zwei nachfolgenden Messwerten bestimmt (s. Gl. 6.1).

$$\text{Gleitender Mittelwert: } M_{MA}^{(n)}(t-1) = \frac{1}{n} \sum_{i=0}^{n-1} x(t-i) \quad (6.1)$$

Am Rande eines Intervalls ist dieser Mittelwert deshalb nicht definiert: Am Anfang des Intervalls (links) existieren keine vorhergehenden Messwerte und am Ende des Intervalls (rechts)

Probenherstellung	Statische Prüfung	Dynamische Prüfung
<i>Polymerlösung</i> PCL in TFE Konzentration: 170 mg/ml Volumen: 8 ml	<i>Probengeometrie</i> Freie Länge: 40 mm Breite: 10 mm Dicke: 150 - 300 µm	<i>Probengeometrie</i> Freie Länge: 15 mm Breite: 10 mm Dicke: 10 - 300 µm
<i>Prozess</i> Spannung: 25 kV Abstand Düse-Kollektor: 25 cm Flussrate: 3 ml/h	<i>Versuch</i> Geschwindigkeit: 40 mm/min	<i>Versuch</i> Geschwindigkeit: 1 mm/s Verfahrweg: 5 mm Vorauslenkung: 1,5 mm
<i>Kollektor</i> Breite: 5 cm Durchmesser: 15 cm Drehzahl: 1000 U/min Kollektorgeschwindigkeit: 8 m/s	<i>Prüfsystem</i> Instron 5565A Messzelle: 500 N	<i>Prüfsystem</i> BOSE-Electroforce Messzelle: 20/200 N Zyklen: 50 Messwerte pro Zyklus: 1000 Frequenz: 1 Hz

Tabelle 6.1: Parameter für die statische und dynamische Prüfung elektrogesponnener Proben.

liegen die zwei nachfolgenden Messwerte nicht vor. Dadurch kommt es beim Mittelwert 5. Ordnung zum Verlust von insgesamt vier Messpunkten, bei höheren Ordnungen entsprechend mehr. Die Auswertung der Daten zeigt, dass der Verlust von Datenpunkten sich nicht negativ auf die Aussagekraft der Ergebnisse auswirkt. Um die Stetigkeit der Kurve bei Bedarf weiter zu erhöhen, - z.B. bei Verwendung einer Kraftmessdose mit geringerer Auflösung - kann daher auch ein zentrierter Mittelwert 25. Grades appliziert werden. Dies resultiert in einer weithin glatten Kurve, die den ursprünglichen Verlauf der Messwerte gut abbildet. Generell repräsentiert der obere Teil der Hysteresekurve die Spannung während der Belastungsphase der Probe und der untere Teil die Entspannungsphase. Der durch die Kurve eingeschlossene Flächeninhalt nimmt dabei mit steigender Zyklenzahl ab, was auf die Ermüdung des Materials zurückzuführen ist (s. Abb. 6.10). Um diese Abnahme quantitativ zu beschreiben, wird der jeweilige Wert des Flächeninhalts über die Zyklen betrachtet. Der Wert des Flächeninhalts je Zyklus wird dabei auf den Flächeninhalt des ersten Zyklus bezogen und dadurch normiert. Damit ist auch der Vergleich von Proben mit unterschiedlichem Hystereseverhalten möglich. Die Untersuchung mehrerer Fasermatten zeigt, dass der Flächeninhalt relativ hohe Schwankungen aufweist, aber ab einer bestimmten Zyklenzahl (hier: 25) um einem konstanten Wert verläuft (s. Abb. 6.11). Um das Hystereseverhalten in Abhängigkeit eines Herstellungsparameters wie der durch den Translationskollektor eingebrachten Vordehnung zu untersuchen, müssen die Daten zunächst strukturiert und einheitlich auf dem Computer abgelegt werden. Dies dient der Etablierung eines standardisierten Ablaufs für die Auswertung großer Datenmengen mit dem Ziel übergreifender Vergleichbarkeit. Dazu werden

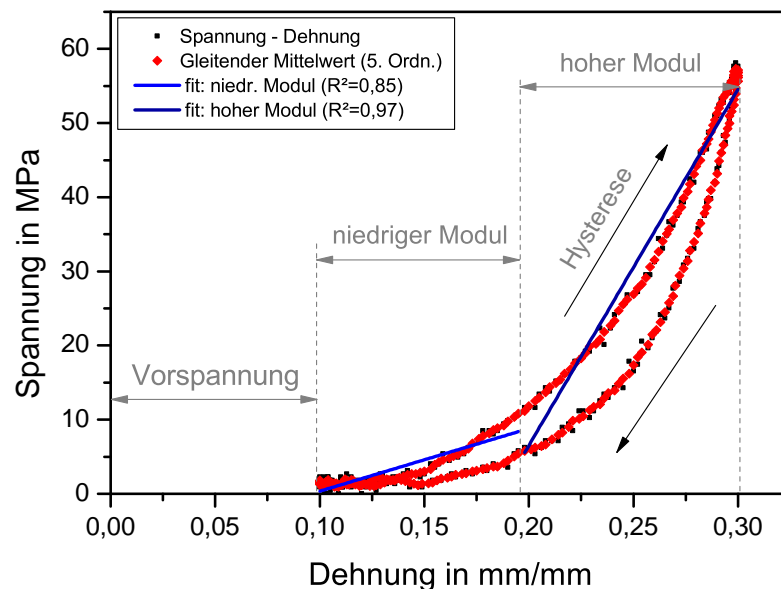


Abbildung 6.9: Spannungs-Dehnungs-Diagramm einer mit dem Translationskollektor hergestellten Probe. Abgebildet sind die Rohdaten und Mittelwerte aus der dynamischen Prüfung. Die Mittelung der Kurve durch Anwendung des gleitenden Mittelwertes entfernt das bei der Messwertaufnahme vorliegende Rauschen und erlaubt die weitere Analyse der Kurve mit statistischen Methoden. Weiterhin sind die Vorspannung sowie der niedrige und hohe Modul als Maß für die Elastizität der Probe abgebildet.

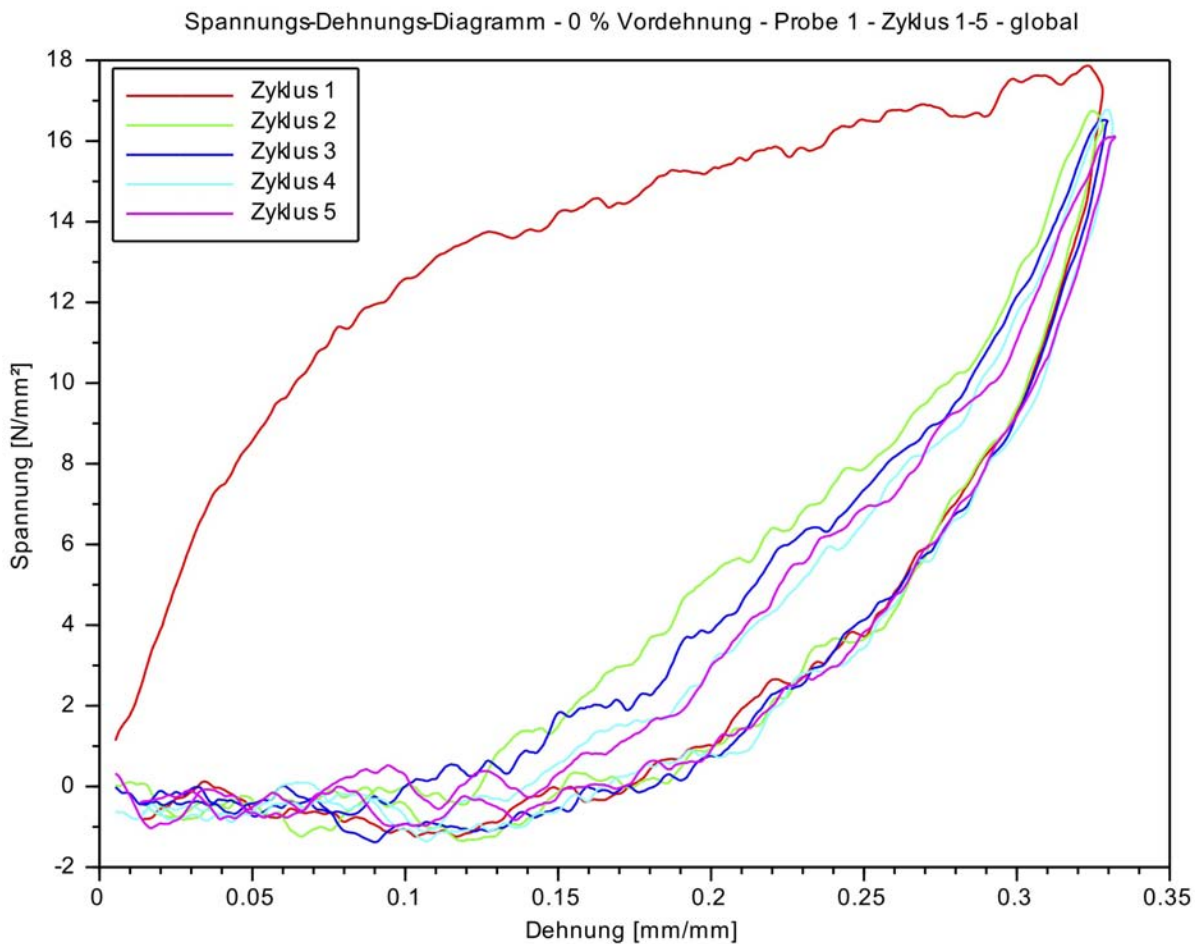


Abbildung 6.10: Spannungs-Dehnungs-Diagramm einer mit dem Translationskollektor bei 0% Vordehnung hergestellten Probe mit gemittelten Werten aus dem dynamischen Zugversuch (BOSE-ElectroForce-System). Abgebildet sind die Zyklen 1 bis 5. Die Hysteresekurve verläuft im Bereich niedriger Dehnungswerte plateauförmig und wird von Zyklus zu Zyklus weiter zusammengestaucht. Dies ist auf die Ermüdung der Fasermatte durch plastische Verformung zurückzuführen.

auf dem Computer Dateiordner des jeweiligen Parameterwertes mit Unterordnern für jede einzelne Probe angelegt. In jedem Probenordner befindet sich neben den Rohdaten der Messung eine weitere Datei, die die Probengeometrie (Länge, Breite, Dicke) definiert. Dabei kann die Probengeometrie in unterschiedlicher Weise vorgegeben werden: entweder über die Wandstärke einer Matte oder eines Rohres sowie über das Produkt aus Anzahl der Fasern pro Querschnitt und durchschnittlichem Faserdurchmesser. Die Bestimmung der Wandstärke erfolgt dazu nach dem in Kapitel 6.2.1 beschriebenen Verfahren. Die Bestimmung von Faseranzahl und Durchmesser verläuft gemäß des in Kapitel 6.1 vorgestellten Ablaufs. Das Auswertungsprogramm setzt all diese Daten zusammen und gibt die Zwischenergebnisse sowie eine Zusammenfassung der endgültigen Werte als pdf- und xls-Dokument für die weitere Verwendung aus. Neben der Auswertung der dynamischen Versuche wird das beschriebene Programm auch zur Verarbeitung der Daten aus den statischen Zugversuchen verwendet. Dadurch können die gleichen Berechnungsverfah-

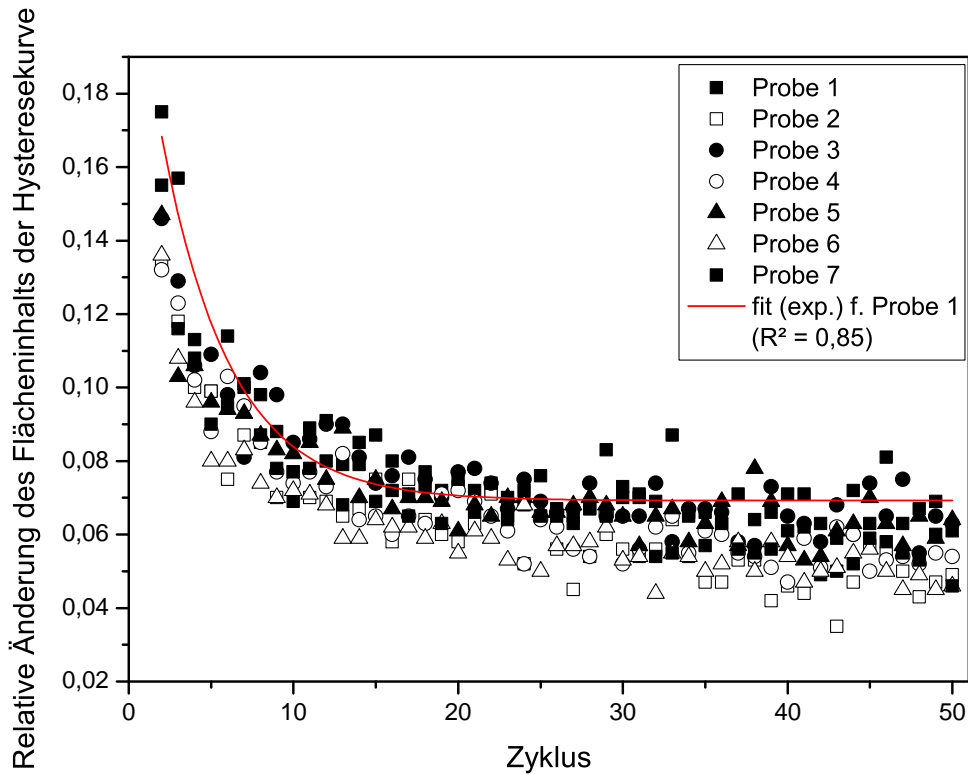


Abbildung 6.11: Gemittelte und normierte Flächeninhalte der Hysteresekurven (Zyklen 1 bis 50) aus den Spannungs-Dehnungs-Diagrammen eines Probeloses (Probe 1 bis 7) bei der dynamischen Prüfung. Alle Proben des Loses wurden unter gleichen Bedingungen mit dem Translationskollektor hergestellt (0% Vordehnung). Es wird deutlich, dass die normierten Flächeninhalte gegen einen gemeinsamen Grenzwert verlaufen. Dies bedeutet, dass die Dehnung bzw. Ermüdung aller Proben ähnlich ausgeprägt ist. Dargestellt ist außerdem der Graph einer Ausgleichsrechnung für Probe 1 auf Basis einer einfachen Exponentialfunktion ($a \cdot e^{-bx} + c$). Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind die Ausgleichsgraphen der anderen Proben nicht eingezeichnet. Das Bestimmtheitsmaß aller Proben beträgt dabei im Mittel $R^2=0,87$.

ren genutzt und so die Daten beider Methoden einander direkt gegenüber gestellt werden. Die Bestimmung der Reißfestigkeit erfolgt über die Feststellung des Maximalwertes der Spannung während der Messung. Dazu korrespondierend wird die Dehnung festgestellt. Der E-Modul wird beim statischen Versuch im Bereich von 0 % bis 5 % Dehnung durch die Steigung der Kurve bestimmt, da diese hier einen nahezu linearen Verlauf aufweist. Bei der dynamischen Prüfung werden ein niedriger und ein hoher Modul bestimmt. Das korrespondierende Intervall ergibt sich aus der halben, im Versuch festgestellten maximalen Dehnung (vgl. Abb. 6.9).

7 Komplexe Gerüststrukturen

Nach der Herstellung und Charakterisierung von elektrogesponnenen Gerüststrukturen für das Tissue Engineering folgt im Rahmen dieses Kapitels die Anwendung der vorgestellten Methoden. Dazu werden zunächst ein- und mehrlagige Matten in Hinblick auf ihre Mikrostruktur und ihre mechanischen Eigenschaften untersucht. Im weiteren Verlauf werden komplexe, dreidimensionale Geometrien wie Gefäßprothese und Herzklappe vorgestellt. Dann wird gezeigt, wie sich die zuvor auf Matten angewendeten Prozessvarianten auf diese komplexeren Geometrien übertragen lassen. Die Nachbildung der menschlichen Herzklappe durch eine Gerüststruktur soll im Zuge dieser Arbeit die Vielseitigkeit des Elektrosponnprozesses demonstrieren. Geometrie und Mikrostruktur stellen besondere Herausforderungen an die Prozessgestaltung und sind daher gut geeignet, um die Möglichkeiten des Verfahrens darzustellen. Die technische Herausforderung besteht darin, die Grundlagen für eine universelle und skalierbare Produktionskette zu entwickeln.

7.1 Konzeptionierung von Zielstrukturen

Am Anfang der Konzeptionierung steht die Feststellung der Zielgrößen. Dies umfasst die Abmaße sowie die Geometrie, die Zusammensetzung auf mikroskopischer Ebene - also Schichtabfolge und Ausrichtung des Gewebes - und die mechanischen Eigenschaften. Diese Daten wurden vielfach für natives Gewebe bestimmt und lassen sich aus der Literatur ableiten. Die so definierten Kennwerte dienen als Referenz bei der mechanischen Prüfung der gesponnenen Fasermatten. Außerdem wird ermittelt, wie sich Makrogeometrie und Mikrostruktur nachbilden lassen. Die besondere Herausforderung besteht dabei in der Kombinierbarkeit von Verfahrensschritten bzw. der Gestaltung einer automatisierbaren Prozessabfolge.

Die mechanischen Eigenschaften verschiedener Gewebearten sind vielfach in der Literatur dokumentiert. Für Haut wird eine Zugfestigkeit von 23 MPa und ein E-Modul von 84 MPa bei Zugbeanspruchung parallel zu den Muskelfasern angegeben. Die Reißdehnung beträgt 163% [191, 192]. Die mechanischen Eigenschaften von Blutgefäßen sind mit einer axialen Zugfestigkeit von 1 MPa bis 2 MPa, einem E-Modul von 1 MPa bis 3 MPa und einer Reißdehnung von 151% bis 165% vergleichsweise niedrig [193]. Für Herzgewebe wird eine Zugfestigkeit von 2,5 MPa, ein E-Modul von 20 MPa und eine Reißdehnung von 35% angegeben [194]. Aufgrund der hohen Bandbreite unterschiedlicher Werte können diese nur als ungefähre Referenz dienen. Hinzu kommt, dass die mechanischen Eigenschaften der Gerüststruktur im Idealfall nur für einen begrenzten Zeitraum ausschlaggebend sind. Im Laufe der Zeit soll sich schließlich natürliches Gewebe bilden und das Gerüst so entlasten. Davon ausgehend wird für die Gerüststruktur zur Nachbildung von Herzklappen eine Zugfestigkeit von 20 MPa, ein E-Modul von ebenfalls 20 MPa und eine Reißdehnung von 35% bis 150% angestrebt.

Die Geometrie menschlicher Herzklappen ist im Allgemeinen bekannt, es existieren jedoch wenige Veröffentlichungen, in denen die konkreten Abmaße vollständig angegeben werden. Häufig stehen einzelne Größen, wie der Innendurchmesser im Fokus des Interesses [195]. Für die Gestaltung eines Kollektors sind jedoch zusätzlich Durchmesser, Länge und Krümmungswinkel der Bulben von Bedeutung. Diese sind wiederum abhängig vom Innendurchmesser der Klappe, so dass dieser für die herzustellende Gerüststruktur auf 24 mm festgelegt wird. Daraus lassen sich für die Bulben ein Durchmesser von 35 mm, eine Länge von 21 mm und eine Nahtlänge der Segel zueinander von 4 mm berechnen. Alle weiteren Merkmale ergeben sich aus diesen Werten [12]. Die Mikrostruktur der menschlichen Herzklappe umfasst die Anordnung und Dicke der einzelnen Gewebelagen sowie die Ausrichtung der Fasern in einer Lage. Der zylindrische Abschnitt der Klappe gleicht einem Blutgefäß und ist dreilagig, die Segel sind dagegen fünflagig. Die dünnste Lage hat dabei 20 μm , die dickste 300 μm (s. Tab. 3.1) [11]. Diese minimale und maximale Schichtdicke muss demnach mittels Elektrosponnen herstellbar sein. Hinzukommt, dass die Möglichkeit zur schichtweisen Ausrichtung von Fasern gegeben sein muss. Aufgrund der zahlreichen Anforderungen wird angestrebt, die einzelnen Prozessschritte zur Erzeugung eines bestimmten Merkmals voneinander zu entkoppeln. Die übergreifende Steuerung der Herstellung wird dadurch zwar aufwendiger, insgesamt aber vielseitiger. Zudem sind einfache, klar definierte Prozessschritte leichter zu automatisieren.

7.2 Ebene Gerüststrukturen

7.2.1 Auswahl und Spinnbarkeit der Polymerlösung

Zu Beginn der Entwicklung einer Gerüststruktur steht die Frage, aus welchem Material diese hergestellt werden soll. Dafür sind vor allem die erforderlichen mechanischen Eigenschaften und die gewünschte Resorptionsgeschwindigkeit festzulegen, damit das Implantat über einen ausreichend langen Zeitraum bei voller Belastbarkeit im Körper vorliegt. Für die Akzeptanz durch das umliegende Gewebe und das Einwachsen von Zellen sind vor allem die Eigenschaften an der Oberfläche der Einzelfaser sowie die Porenstruktur relevant. Die Benetzbarkeit des Gerüsts ist direkt damit verknüpft, wodurch auch die Besiedlung mit Zellen und deren Versorgung mit Nährstoffen beeinflusst werden. Dabei konkurrieren einige Eigenschaften untereinander und es entstehen Zielkonflikte. So erweisen sich Gerüste aus vernetztem PEO als sehr hydrophil, haben aber eine geringe mechanische Belastbarkeit. Aus PCL bestehende Faserkonstrukte sind dagegen stark hydrophob, weisen aber eine hohe Reißfestigkeit und -dehnung auf. PLA zeigt gute mechanische Eigenschaften bei gleichzeitiger Benetzbarkeit, lässt sich aber nur unter großem Aufwand in einem stabilen Prozess zu Fasern verspinnen.

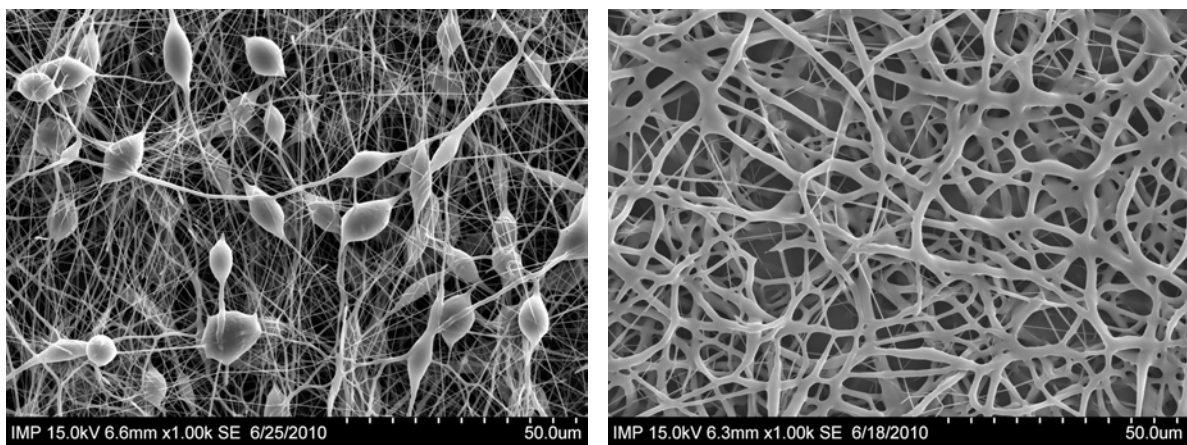
Es wird deshalb erprobt, inwieweit Mischungen aus PEO, PCL und PLA zur Kombination besagter Eigenschaften führen, um dem jeweiligen Anwendungsfall gerecht zu werden. Große Herausforderung ist dabei die Sicherstellung der Löslichkeit der einzelnen Polymere in einem gemeinsamen Lösemittel. So ist PEO in Wasser löslich, PCL und PLA dagegen nicht (s. Tab. 7.1). TFE dagegen eignet sich zur Lösung aller drei Komponenten und erlaubt auch bei verschiedenen Polymerkonzentrationen die Ausbildung von Fasern. Nachteilig ist der hohe Preis dieses

Lösemittels und die unter Vorbehalt stehende Biokompatibilität. Es wird zunächst ein einfaches

Lösemittel	Aceton	Ameisensäure	Chloroform	Essigsäure	Ethylacetat	TFE	Wasser
Polymer							
Celluloseacetat	+	+	+	+	+	+	+
Chitosan	-	+	o	o	-	-	-
Gelatine	-	+	o	+	-	+	+
PCL	-	+	+	+	-	+	-
PESU	-	-	-	-	-	-	-
PHB	-	-	-	-	-	-	-
PLA	o	-	+	-	-	+	-
PS	o	-	+	-	-	-	-

Tabelle 7.1: Löslichkeit von Polymeren in verschiedenen Lösemitteln. Löslich (+), teilweise löslich (o), nicht löslich (-).

Polymer-Lösemittel-System aus PCL und TFE untersucht, wobei die Konzentration, die elektrische Spannung bzw. Feldstärke und die Flussrate hinsichtlich der Spinnbarkeit variiert werden. Für die Ausbildung von Fasern ist mit dem verwendeten PCL ($M_n = 70000$, SIGMA ALDRICH) eine minimale Konzentration von 100 mg/ml nötig. Unterhalb dieser Grenze kommt es dagegen lediglich zur Ausbildung von kugelförmigen Partikeln - sogenannten 'beads' (s. Abb. 7.1(a)). Eine Konzentration von 200 mg/ml wird als maximale Konzentration identifiziert, die sich noch



(a)

(b)

Abbildung 7.1: Limitierende Faktoren bei der Spinnbarkeit von Polymerlösungen. Ist die Polymerkonzentration in der Lösung zu niedrig, kommt es zur Ausbildung von Perlen, sogenannten 'beads' (a). Ist die Flussrate zu hoch, werden die Fasern nicht trocken abgelegt und zerlaufen (b).

verspinnen lässt. Hierbei ist die limitierende Wirkung zum einen auf die Viskosität, die die Fließfähigkeit durch die Kanüle bestimmt, und zum anderen auf das Verhältnis von Polymer zu Lösemittel zurückzuführen, d.h. der damit verbundenen Neigung zum Austrocknen des TAYLOR-Konus (vgl. Abb. 5.2 (C)). Direkt damit im Zusammenhang steht die Temperatur der Lösung, der Atmosphäre im Prozessraum und die vorherrschende Luftfeuchtigkeit. Der Faserdurchmesser und die Poren werden mit steigender Konzentration größer (s. Abschnitt 7.2.3). Eine zu niedrige

Flussrate führt zum Eintrocknen der Lösung an der Düse. Eine hohe Flussrate bewirkt dagegen, dass die im Flug befindlichen Fasern sich mit bereits abgelegten Fasern verbinden, da das Lösemittel bei Ankunft auf dem Kollektor noch nicht vollständig verdampft ist. Die feuchten Fasern verformen sich auch noch nach der Ablage, so dass sich die Struktur dichter gepackt darstellt (s. Abb. 7.1(b)). Dadurch ändert sich die Mikrostruktur deutlich und auch Einflüsse auf die mechanischen Eigenschaften sind feststellbar. Ein Einfluss auf die Porosität ist nicht zu verzeichnen.

7.2.2 Größe und Position des besponnenen Bereichs

Eine wichtiges Merkmal beim Elektrosponnenprozess ist die Größe des Bereichs, auf dem Fasern abgelegt werden. Diese Ablagefläche kann je nach eingestellten Prozessparametern größer oder kleiner als der Kollektor sein. Wird ein über die eigentliche Größe des Kollektors hinausgehender Bereich besponnen, gehen die zuviel abgelegten Fasern nicht in die Produktion der Gerüststruktur ein, wodurch die Produktivität sinkt und kostenintensive Polymerlösung ungenutzt verloren geht. Außerdem verringert sich die Reproduzierbarkeit in Hinblick auf die Gleichmäßigkeit der Schichtdicke. Ist der Ablagebereich zu klein, wird der Kollektor ungleichmäßig besponnen und es entsteht kein vollständiges Gerüst. Im folgenden wird daher der Einfluss von elektrischer Spannung, Flussrate und Abstand zwischen Düse und Kollektor systematisch dargestellt. Zunächst wird dazu ein Aufbau mit Düse und Plattenkollektor untersucht (s. Abb. 7.2). Hier wird das elektrische Feld nicht durch zusätzlichen Komponenten verändert. Anschließend werden Versuche mit einer Rotationsvorrichtung für Wellenkollektoren zur Herstellung von Gefäßprothesen durchgeführt. Es kann gezeigt werden, dass der Abstand zwischen Düse und Kollektor die deutlichste

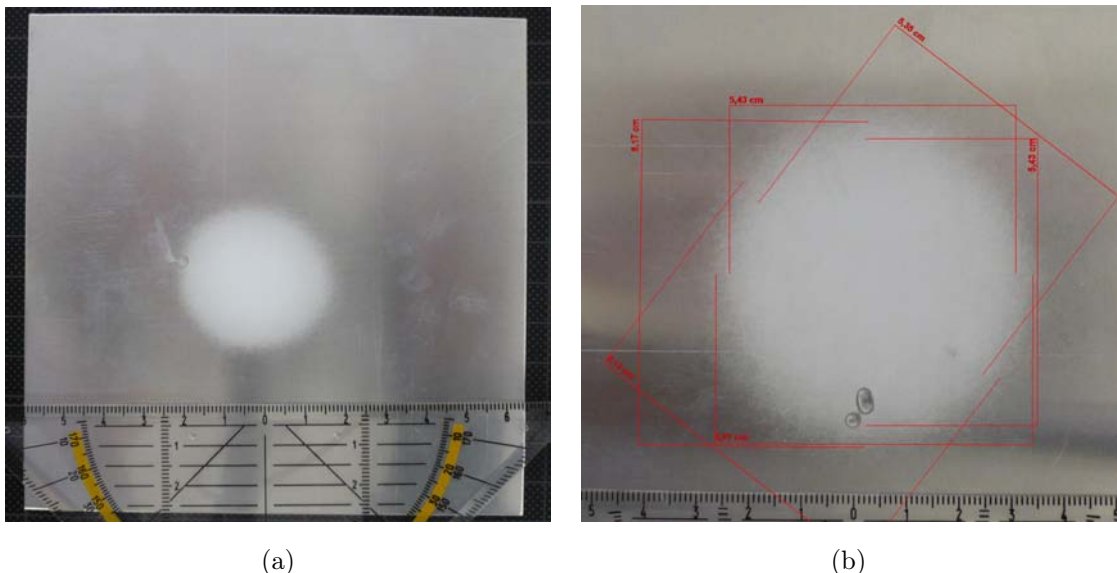


Abbildung 7.2: Besponnener Bereich auf dem Flachkollektor

Wirkung auf die Ablage hat. Eine Erhöhung des Abstands geht dabei mit einer Vergrößerung des besponnenen Bereichs einher (s. Abb. 7.3). Eine Variation der Spannung führt hingegen zu keiner ausgeprägten Änderung (kein signifikanter Unterschied nach Student-t-Test; $p > 0,05$). Ein klarer Einfluss der Flussrate kann ebenfalls nicht beobachtet werden. Die Analyse der Schichtdicke der abgelegten Fasern über die Länge und Breite des Kollektors zeigt, dass die Ablage nicht homogen

ist. Im Zentrum der Ablage ist die Schichtdicke am größten und verringert sich zum Rand hin. Dieses Phänomen ist bei tubulären Gerüststrukturen besonders deutlich zu beobachten und wird

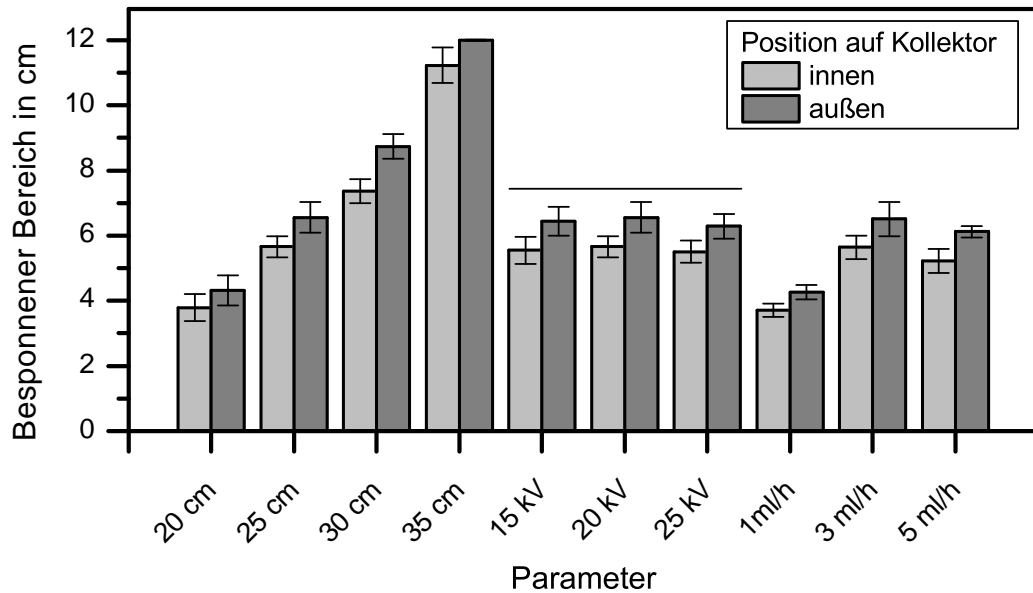


Abbildung 7.3: Mit PCL-Fasern besponnener Bereich auf Flachkollektor. Dargestellt sind die Mittelwerte sowie Minimum/Maximum für den inneren und äußeren Ablagebereich in Abhängigkeit von den Parametern Abstand Düse-Kollektor, elektrische Spannung und Flussrate. Bei der Variation eines Parameters werden die anderen konstant gehalten auf $A = 25$ cm, $U = 25$ kV und $Q = 3$ ml/h ($n = 9$).

im weiteren Verlauf näher betrachtet. Zudem wird festgestellt, dass ein primärer, innerer und sekundärer, äußerer Ablagebereich vorliegt. Im primären Bereich werden kontinuierlich Fasern abgelegt und es bildet sich eine dichte Schicht aus. Die Ablage im sekundären Bereich erfolgt dagegen erst, nachdem im primären Bereich schon eine ausreichende Menge an Fasern abgelegt wurde. Diese Abfolge wird auf Aufladungseffekte durch die Isolationswirkung der bereits abgelegten Fasern und daraus resultierende, elektrostatische Abstoßung des Faserstroms zurückgeführt. Mit Hilfe der in diesen Versuchen gewonnenen Erkenntnisse kann für folgende Versuche der optimale Abstand von Düse und Kollektor in Abhängigkeit der anderen Prozessparameter und der Kollektorgeometrie abgeschätzt werden. Dabei ist anzumerken, dass der Zusammenhang zwischen besponnener Fläche und besagten Parametern von der Bauweise und -form der Elektrospinanlage sowie dem versponnenen Polymer abhängig ist. Es lässt sich daher lediglich ein Trend ableiten. Für exakte Voraussagen muss jede Anlage gesondert untersucht und parametrisiert werden.

7.2.3 Faserdurchmesser

Es werden Messdaten betrachtet, die den Einfluss von Lösungs- und Prozessparametern bei einem Versuchsaufbau bestehend aus einer Düse und einem rotierenden Kollektor beschreiben. Motivation ist die Klärung der Abhängigkeiten einzelner Parameter untereinander. Zunächst wird

dazu der Einfluss von der Polymerkonzentration und der Flussrate auf den Faserdurchmesser betrachtet. Anschließend wird der Einfluss der Konzentration und der Kollektorgeschwindigkeit auf den Durchmesser und die Faserausrichtung evaluiert.

Der Durchmesser von elektrogewebenen Fasern kann über die Variation verschiedener Parameter beeinflusst werden: Eine Erhöhung der Polymerkonzentration geht mit einer Vergrößerung des Durchmessers einher. Eine Erhöhung der Flussrate führt auch zur Ablage von Fasern mit größerem Durchmesser, jedoch steigt mit der Flussrate auch die Schwankungsbreite der auftretenden Werte bzw. die Standardabweichung (s. Abb. 7.4). Das Fasergelege ist deshalb bei

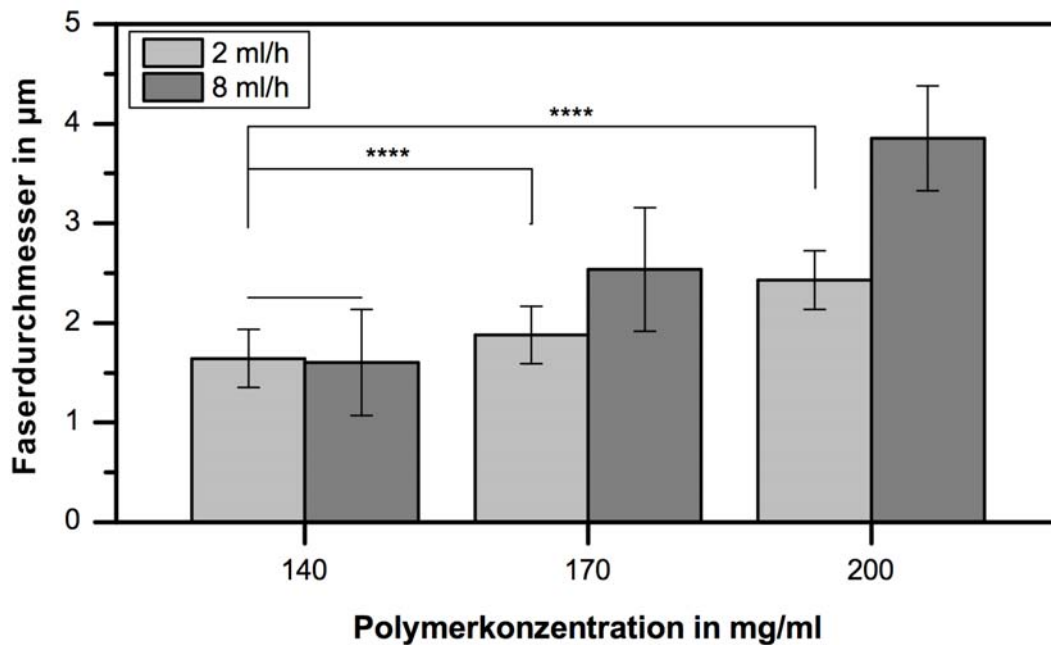


Abbildung 7.4: Mittlerer Durchmesser und Standardabweichung elektrogewebener Fasern aus PCL in Abhängigkeit von Polymerkonzentration und Flussrate. Mit steigender Konzentration vergrößert sich der Faserdurchmesser. Auch eine Erhöhung der Flussrate führt zu höheren Durchmessern, jedoch ist auch die Standardabweichung höher. Prozessparameter: $A = 25 \text{ cm}$, $U = 25 \text{ kV}$ ($n = 100$).

niedrigeren Flussraten homogener. Bei höherer Flussrate ist zudem der Anstieg des Faserdurchmessers mit der Konzentration stärker ausgeprägt als bei einer niedrigen Flussrate: für 140 mg/ml liegt der Durchmesser bei beiden Flussraten nahezu auf dem gleichen Niveau von ca. 1,7 µm; bei 170 mg/ml kann im Vergleich dazu eine Steigerung des Durchmessers von 1,9 µm (2 ml/h) auf 2,4 µm (8 ml/h) verzeichnet werden. Dieser Trend verstärkt sich bei einer Konzentration von 200 mg/ml weiter, so dass bei einer Flussrate von 2 ml/h Fasern mit 2,5 µm Durchmesser vorliegen und bei 8 ml/h Fasern mit 3,8 µm Durchmesser.

Nun soll der Zusammenhang zwischen Polymerkonzentration und Kollektorgeschwindigkeit sowie Faserdurchmesser und Ausrichtung untersucht werden. Bei einer Konzentration von 100 mg/ml werden Fasern abgelegt, die teilweise nicht vollständig ausgebildet sind, d.h. Abschnitte in Form von langgezogenen 'beads' aufweisen (vgl. Abb. 7.1(a)). Bei einer Konzentration von 125 mg/ml sind nahezu alle Fasern vollständig ausgebildet. Der Durchmesser der Fasern steigt wie erwar-

tet mit der verwendeten Polymerkonzentration (s. Abb. 7.5). Wird zusätzlich der Einfluss der

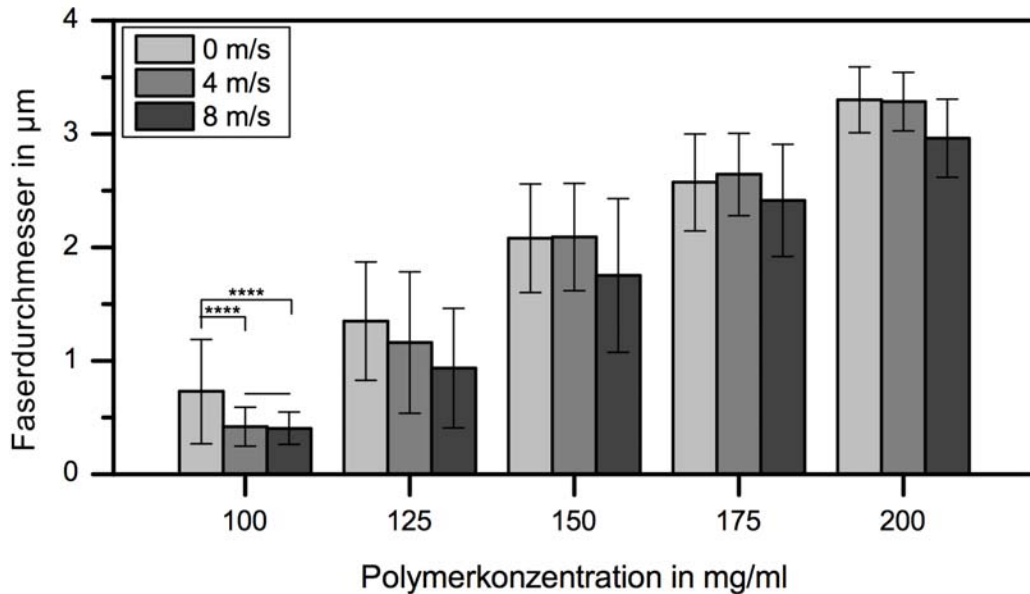


Abbildung 7.5: Mittlerer Durchmesser und Standardabweichung elektrogespinnener PCL-Fasern in Abhängigkeit von der Polymerkonzentration und der Kollektorgeschwindigkeit. Mit steigender Konzentration steigt der Faserdurchmesser. Zugleich sinkt der Durchmesser mit steigender Kollektorgeschwindigkeit. Prozessparameter: $A = 25$ cm, $U = 25$ kV ($n = 100$).

Kollektorgeschwindigkeit auf den Faserdurchmesser betrachtet, zeigt sich, dass bei allen betrachteten Konzentrationen ein Abfall des Durchmessers mit steigender Geschwindigkeit auftritt. Bei 100 mg/ml und 0 m/s liegt ein Durchmesser von $0,7 \mu\text{m}$ vor, der sich bei 4 m/s und bei 8 m/s auf $0,4 \mu\text{m}$ verringert. Bei 125 mg/ml kann dieser Trend mit einem Abfall von $1,3 \mu\text{m}$ bei 0 m/s auf $1 \mu\text{m}$ (4 m/s) und $0,9 \mu\text{m}$ (8 m/s) bestätigt werden. Für Konzentrationen von 150, 175 und 200 mg/ml tritt dagegen keine deutliche Verringerung des Faserdurchmessers bei Vergleich der Kollektorgeschwindigkeiten 0 m/s und 4 m/s auf. Bei 8 m/s gesponnene Fasern sind dagegen im Vergleich zu bei 0 m/s gesponnenen Fasern stets dünner. Die Durchmesserverringerng aufgrund der Kollektorgeschwindigkeit ist dabei auf die Dehnung der Faser bei Ablage durch die induzierte Relativbewegung von Faser und Kollektoroberfläche zurückzuführen.

7.2.4 Porosität und Porengröße

Um die Infiltrierbarkeit für die Zellbesiedlung zu verbessern, werden mehrere Ansätze untersucht, um sowohl die Gesamtporosität der Gerüststruktur als auch die Größe der einzelnen Poren zu erhöhen. Dazu werden zunächst Prozess- und Lösungsparameter verändert und der Effekt auf die Porosität gemessen. Eine Variation dieser Parameter lässt sich mit geringem Aufwand in die Produktion bzw. in einen Standard-Elektrospinnenaufbau integrieren. Nachgelagerte Prozess- und Bearbeitungsschritte zur Erhöhung der Porosität - z.B. ein Laser zur Perforation der Faser-matten - erfordern zusätzliche technische Komponenten und eine komplexere Abstimmung des Produktionsprozesses.

Zunächst wird untersucht, ob die Gesamtporosität durch das eingesetzte Lösemittel beeinflusst werden kann. Die Überlegung ist dabei, dass durch den Einsatz von Lösemitteln mit unterschiedlichen Dampfdrücken der Ablageprozess auf dem Kollektor beeinflusst wird: je niedriger der Dampfdruck bzw. je langsamer das Lösemittel verdampft, desto feuchter und elastischer sind die Fasern bei der Ablage auf dem Kollektor. Dadurch sinken sie ineinander und die Hohlräume sind kleiner als bei einem schneller verdampfenden Lösemittel. Als Probenkörper dienen im folgenden flache elektrogewebene Matten, die durch gravimetrische Bestimmung der Porosität charakterisiert werden (vgl. Kap. 3.6).

Die Versuchsergebnisse zeigen, dass für unterschiedliche Lösemittel tatsächlich verschiedene Porositäten vorliegen (s. Tab. 7.2 und Abb. A.6, Anhang). Dabei ist die Porosität bei Essigsäure mit

DCM/DMF (1:1)	Methanol/ Chloroform (1:1)	Chloroform	Essigsäure	TFE
130 mg/ml	85 mg/ml	296 mg/ml	190 mg/ml	150 mg/ml
0,81	0,87	0,90	0,79	0,82
<i>0,0638</i>	<i>0,0206</i>	<i>0,0122</i>	<i>0,0174</i>	<i>0,0156</i>

Tabelle 7.2: Mittelwerte und Standardabweichung (kursiv) der Porosität von elektrogewebenen PCL-Fasermatten in Abhängigkeit vom Lösemittel ($n = 9$).
Prozessparameter: $U = 25$ kV ; $A = 25$ cm.

79% am niedrigsten. Die höchste Porosität tritt bei Chloroform mit 90% auf. Diese Verteilung spricht für einen Einfluss des Dampfdrucks, der bei Essigsäure niedriger ist als bei Chloroform - Chloroform verdampft also viel schneller als Essigsäure. Aufgrund unterschiedlicher nötiger Polymerkonzentrationen zur Erreichung einer spinnbaren Lösung ist die Vergleichbarkeit der Ergebnisse jedoch eingeschränkt. Die auf Essigsäure basierende Polymerlösung weist eine Konzentration von 190 mg/ml auf, die auf Chloroform basierende Lösung 296 mg/ml. Auch die Prozessparameter Flussrate und Spannung sowie der Abstand zwischen Düse und Kollektor sind für jedes Lösemittel individuell zu wählen. Daher sind die gesponnenen Polymermengen pro Zeit und resultierende Faserdurchmesser nicht gleich und ein sekundärer Einfluss auf die Porosität ist nicht auszuschließen. Außerdem zeigen die Versuche zur Spinnbarkeit von Polymeren, dass für die in dieser Arbeit relevanten Polymere nur eine beschränkte Auswahl an Lösemitteln verfügbar ist (s. Kap. 7.2.1). Dies betrifft vor allem die gewünschte Beeinflussung des Faserdurchmessers durch die Polymerkonzentration. So ist z.B. Essigsäure nur in einem Bereich von 190 bis 220 mg/ml zur Erzeugung von intakten Fasern aus PCL einsetzbar. Mit TFE können dagegen über einen weiten Bereich unterschiedlicher Polymerkonzentrationen intakte Fasern erzeugt werden. Parameterstudien zeigen hierbei jedoch keinen eindeutigen Zusammenhang zwischen Porosität und Konzentration (s. Tab. 7.3 und Abb. A.7, Anhang). Auch die Flussrate (s. Tab. 7.3) und die elektrische Spannung haben keinen eindeutigen Einfluss auf die Porosität (s. Tab. 7.4 und Abb. A.8, Anhang). Die Beeinflussung der Porosität durch Variation der Prozessparameter ist somit nur undefiniert in einem begrenzten Rahmen möglich und daher keine zufriedenstellende Option zur Erreichung einer möglichst großen Bandbreite an einstellbaren Porositäten. Vielmehr liegt die

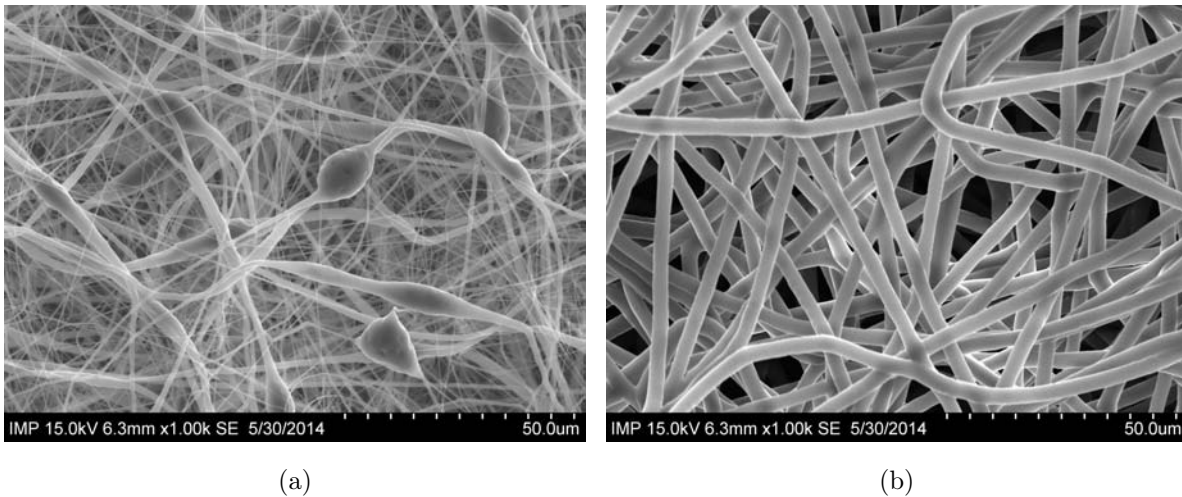
	130 mg/ml	150 mg/ml	170 mg/ml	190 mg/ml	210 mg/ml
2 ml/h	0,93	0,85	0,88	0,85	0,88
<i>Std.abw.</i>	<i>0,0024</i>	<i>0,0050</i>	<i>0,0050</i>	<i>0,0025</i>	<i>0,0047</i>
4 ml/h	0,79	0,81	0,81	0,84	0,82
<i>Std.abw.</i>	<i>0,0019</i>	<i>0,0338</i>	<i>0,0171</i>	<i>0,0084</i>	<i>0,0042</i>
8 ml/h	0,82	0,88	0,86	0,85	0,84
<i>Std.abw.</i>	<i>0,0088</i>	<i>0,0080</i>	<i>0,0031</i>	<i>0,0110</i>	<i>0,0039</i>

Tabelle 7.3: Mittelwerte und Standardabweichung (kursiv) der Porosität von elektrogeponnenen PCL-Fasermatten in Abhängigkeit von der Polymerkonzentration und der Flussrate ($n = 9$). Prozessparameter: $U = 25$ kV ; $A = 25$ cm.

15 kV	20 kV	25 kV
0,83	0,82	0,78
<i>0,0166</i>	<i>0,0208</i>	<i>0,0252</i>

Tabelle 7.4: Mittelwerte und Standardabweichung (kursiv) der Porosität von elektrogeponnenen PCL-Fasermatten in Abhängigkeit von der elektrischen Spannung ($n = 9$). Prozessparameter: $c_{PCL} = 170$ mg/ml ; $A = 25$ cm.

Porosität für alle Lösemittel in einem Bereich von 72% bis 87%, für alle untersuchten Konzentrationen und Flussraten zwischen 79% und 93% sowie für die untersuchten Spannungen zwischen 79% und 83%. Im übergreifenden Mittel liegt die Porosität damit zwischen 82% und 86%. Es wird weiterhin angenommen, dass diese Variationsbreite der Gesamtporosität keinen sichtbaren Einfluss auf die Zellbesiedlung hat. Im folgenden soll nun die für die Zellen direkt 'sichtbare' Größe der Einzelporen betrachtet werden. Dazu wird die Abhängigkeit der Porengröße von der Polymerkonzentration in einem PCL-TFE-System mittels Quecksilberporosimetrie untersucht. Für die Größe der Einzelporen kann ein direkter Zusammenhang zum Faserdurchmesser festgestellt werden: mit steigendem Faserdurchmesser bzw. Steigerung der Polymerkonzentration vergrößern sich die Abstände zwischen den Fasern und somit die Porengröße (s. Abb. 7.6).



(a)

(b)

Abbildung 7.6: Porendurchmesser in Abhängigkeit von der Polymerkonzentration. Die Poren bzw. Leerräume zwischen den Fasern sind bei einer Konzentration von 100 mg/ml kleiner (a) als bei einer Konzentration von 200 mg/ml (b). Dies ist auf den geringeren mittleren Faserdurchmesser von $0,7 \mu\text{m}$ bei 100 mg/ml (a) im Gegensatz zu $3,3 \mu\text{m}$ bei 200 mg/ml (b) zurückzuführen.

Die Ergebnisse der Porosimetrie korrespondieren in diesem Aspekt jedoch nicht mit den rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen. Die optische Beurteilung der bei höherer Konzentration klar zu erkennenden größeren Poren wird durch die Werte der bei der Quecksilberintrusion gemessenen Porenverteilung nicht bestätigt (s. Abb. 7.7). Vielmehr zeigt der Vergleich der Porengrößen von aus 100 mg/ml und 200 mg/ml Konzentration gesponnenen Fasermatten, dass bei niedrigeren Konzentrationen mehr Poren größer $10 \mu\text{m}$ vorliegen als bei der höheren Konzentration. Die aus 200 mg/ml gesponnene Matte weist eine dominante Häufung von Poren im Bereich von $5 \mu\text{m}$ bis $10 \mu\text{m}$ auf, die aus 100 mg/ml gesponnene Matte hat dagegen eine über alle Porengrößen homogen verteilte Häufung, die meist höher ist als für 200 mg/ml. Diese widersprüchlichen Er-

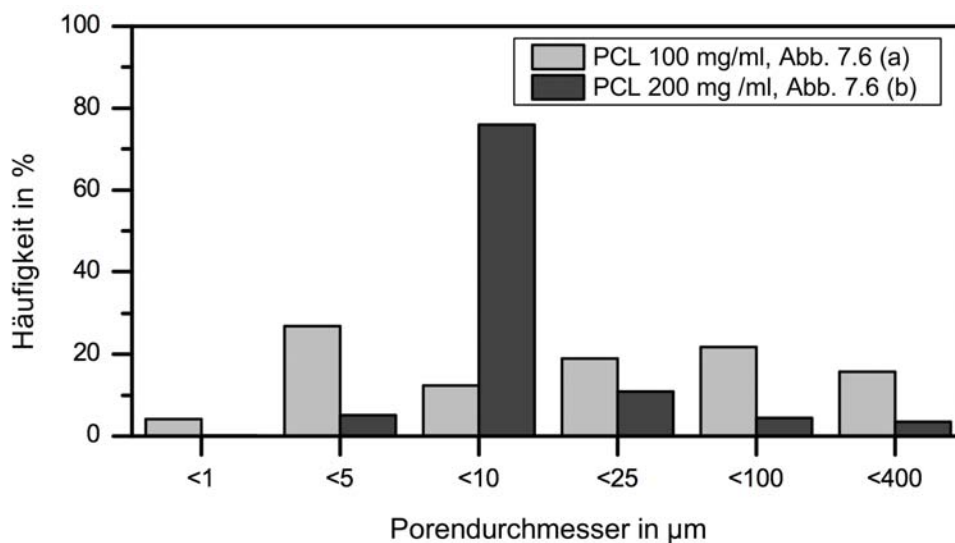


Abbildung 7.7: Porendurchmesser in Abhängigkeit von der Polymerkonzentration.

gebnisse können auf einer Beschädigung der Porenstruktur durch die Intrusion des Quecksilbers zurückzuführen sein. Die aus 100 mg/ml gesponnenen feinen Fasern zwischen den dicken 'bead'-behafteten Fasern werden bei der Messung zerstört und dadurch nicht erfasst. Die aus 200 mg/ml konzentrierter Polymerlösung gesponnenen Fasern sind aufgrund ihres größeren Durchmessers möglicherweise weniger anfällig gegenüber dieser Schädigung, so dass eine vollständige Messung mit einer ausgeprägten Häufung zustande kommt. Eine andere Erklärung ist, dass sich die der Porosimetrie zugrunde gelegten Annahme von Poren mit definierter, begrenzter Geometrie (z.B. sphärische Hohlräume) nicht auf den interstitiellen Porenraum bei elektrogewonnenen Fasern übertragen lässt (vgl. Kap. 3.6). Das Verfahren der Quecksilberintrusion wäre nach aktuellem Stand demnach ungeeignet für die Charakterisierung. Unabhängig von der Deutung der Messergebnisse steht fest, dass sich durch die Variation von Prozess- oder Lösungsparametern, auch wegen der maximal spinnbaren Polymerkonzentration von ca. 200 mg/ml, nicht die gewünschte Bandbreite an für das Tissue Engineering erforderlichen Porendurchmessern von bis zu 300 μm einstellen lässt. Vorzuziehen ist eine Methode, die entweder durch Eingriff in den laufenden Prozess oder durch einen dem Spinnvorgang nachgelagerten Bearbeitungsschritt die gewünschte Einflussnahme auf die Poren ermöglicht. Eine Möglichkeit, um die Gestalt der Poren während des Prozesses zu steuern, ist die Zugabe von Porogenen wie z.B. Eiskristallen. Dazu wird im Rahmen dieser Arbeit ein Flachkollektor soweit abgekühlt, dass die Luftfeuchtigkeit kondensiert und sich auf der Gerüststruktur in Form von Eiskristallen ablegt. Dieses Eis soll in einem anschließenden Sublimationsvorgang entfernt werden und eine Kavität hinterlassen. Der Abkühlvorgang und die Ausbildung der Kristalle stellen sich jedoch als nicht reproduzierbar dar und destabilisieren den Spinnprozess, so dass diese Möglichkeit verworfen wird. Optimale Ergebnisse ergeben sich bei der Verwendung eines Lasers zur Perforation von gesponnenen Matten (s. Kapitel 5.2.3): Mit einem kurzpulsigen Laser lassen sich kreisrunde, durchgängige Poren mit vorab definiertem Abstand und Durchmesser reproduzierbar in die Gerüststruktur einbringen. Diese Bearbeitungsstrategie erlaubt die Anpassung der Porengröße an den gewünschten Zelltyp und kann zudem für unterschiedlich geformte Gerüststrukturen genutzt sowie in den Prozess integriert werden. Gleichzeitig steigt die Gesamtporosität durch das Einbringen der Bohrungen deutlich: Eine Bohrung stellt einen Bereich von 100% Porosität dar, da sie ausschließlich aus Luft besteht. Wird nun eine Matte auf 50% ihrer Fläche mit Bohrungen versehen, kann durch Mittelung der Porositätswerte von unbearbeitetem und gebohrtem Bereich die Gesamtporosität bestimmt werden. Bei einer initialen Porosität der Matte von 85% ergeben sich so 92,5% $((85\%+100\%)/2)$. Die Perforation mittels Laser erlaubt demnach eine gezielte Beeinflussung der Gesamtporosität und die Einbringung definierter Poren, unabhängig von Lösemittel, Polymerkonzentration und anderen Parametern.

7.2.5 Ausrichtung von Fasern

Für die Ausrichtung von elektrogewonnenen Fasern wird die Ablage auf Rotations- und Translationskollektor verglichen. Betrachtet wird dabei die relative Ausrichtung der Fasern zum Vektor der Rotationsgeschwindigkeit des Kollektors (in Umfangsrichtung). Es zeigt sich, dass der Grad der Ausrichtung auf dem Kollektor mit dessen Rotationsgeschwindigkeit steigt. Ab 4 m/s ist der Einfluss der Rotation deutlich zu beobachten, wobei die Ausrichtung bis zu einer Geschwindigkeit von 12 m/s ansteigt und darüber hinaus keine weitere Erhöhung zu verzeichnen ist (s. Abb. 7.8).

Es wird angenommen, dass die durch die Rotation induzierte Zugwirkung ab dieser Schwelle

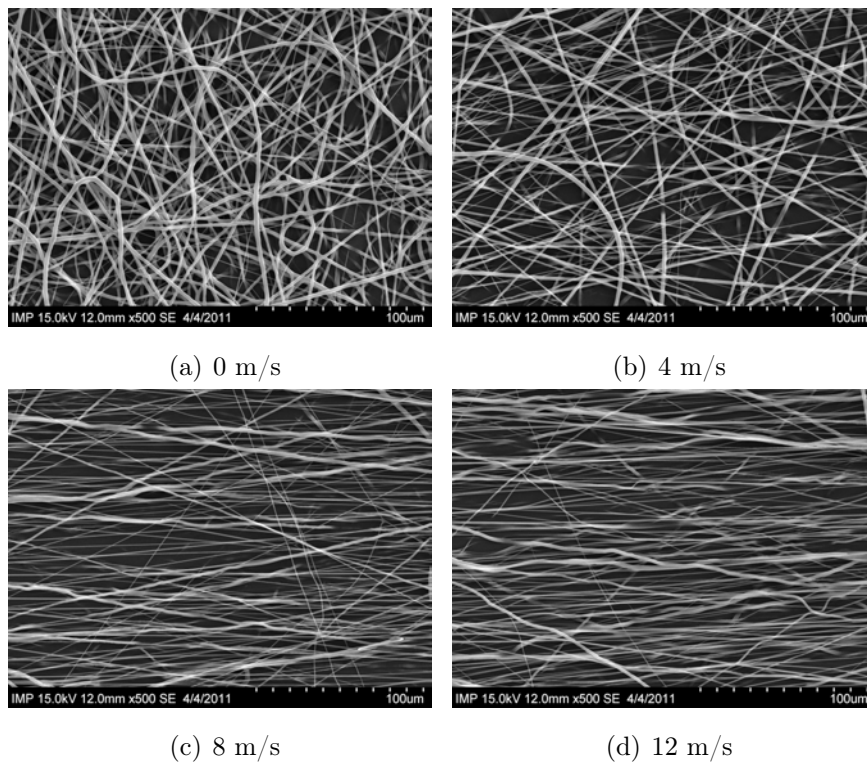


Abbildung 7.8: Faserausrichtung in Abhängigkeit von der Geschwindigkeit des Rotationskollektors. Die Ausrichtung steigt mit der Geschwindigkeit an und nimmt ab 8 m/s nicht mehr deutlich zu.

eine Überdehnung mit assoziierter Schädigung der Fasern hervorruft [196]. Ein ähnlicher Schädigungsmechanismus tritt auch beim 'gap spinning' auf, wenn die Vordehnung der Fasern auf dem Translationskollektor zu exzessiv ist (vg. Tab. 7.5). Um eine solche Schädigung durch Überdehnung zu vermeiden, wird bei folgenden Versuchen zur Erzeugung von Matten mit ausgerichteten Fasern nur eine maximale Kollektorgeschwindigkeit von 8 m/s verwendet.

Außerdem zeigt die Analyse der Faserausrichtung, dass diese neben der Kollektorgeschwindigkeit auch abhängig von der Polymerkonzentration ist: So ist bei einer Konzentration von 100 mg/ml deutlich erkennbar, dass die Faserausrichtung mit steigender Geschwindigkeit stark zunimmt; d.h. dass die Mehrheit der Fasern in Umfangsrichtung ausgerichtet ist und die Bandbreite gemessener Winkel schmaler wird (s. Abb. 7.9). Bei einer Konzentration von 150 mg/ml ist dieser Trend schon schwächer ausgeprägt: die Bandbreite für 0 m/s stellt sich ähnlich dar wie bei einer Konzentration von 100 mg/ml, für 4 m/s und 8 m/s ist die Bandbreite auftretender Ausrichtung jedoch schon höher. Bei 200 mg/ml setzt sich dies fort, wobei die Verteilungen der Ausrichtungen von 0 m/s und 4 m/s schon nahezu gleich sind. Eine höhere Polymerkonzentration führt demnach dazu, dass die Kollektorgeschwindigkeit in geringerem Maße zu einer Ausrichtung der Fasern führt. Eine Ursache könnte das größere Trägheitsmoment und die höhere Festigkeit von Fasern mit höherem Durchmesser sein. Zum einen lassen sich die Fasern aufgrund ihrer höheren Trägheit nicht so stark in Umfangsrichtung des Kollektors beschleunigen und ausrichten. Zum anderen ist eine höhere Zugkraft zur Ausrichtung nötig, um die dickeren Fasern teilweise zu dehnen und gerade zu ziehen. Die Annahme einer geringen Dehnung resultiert aus der Erkenntnis,

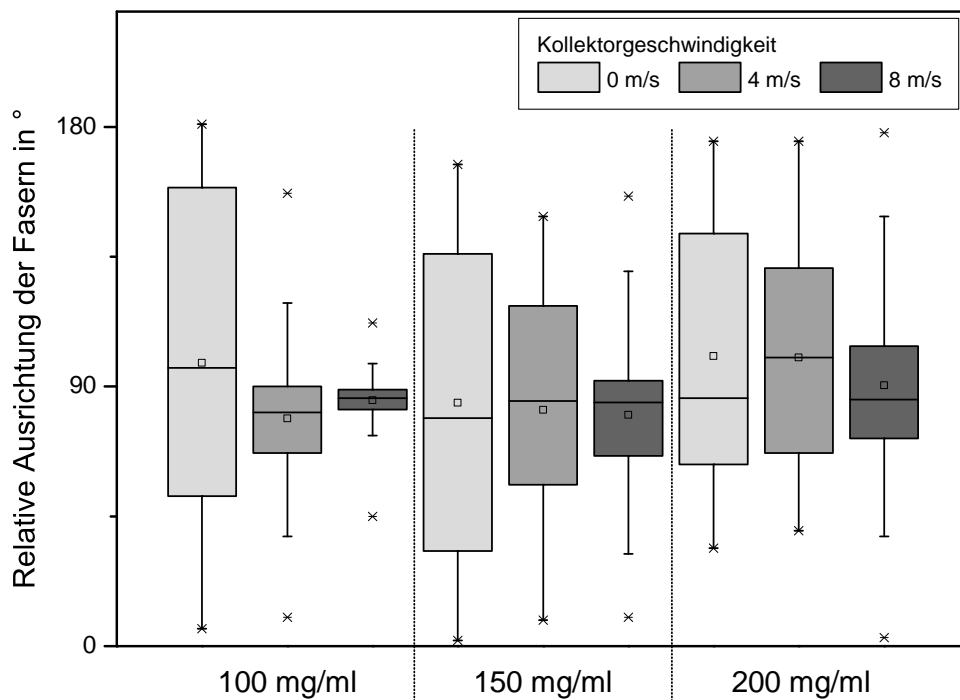


Abbildung 7.9: Faserausrichtung in Abhängigkeit von der Geschwindigkeit des Rotationskollektors und der Polymerkonzentration. Dargestellt ist die Ausrichtung der Fasern über die Kollektorgeschwindigkeit für drei Polymerkonzentrationen. Der Boxplot stellt das obere und untere Quartil sowie Median und Mittelwert dar. Die Antennen zeigen die minimal und maximal erfassten Werte an.

dass der Durchmesser ausgerichteter Fasern bei gleicher Polymerkonzentration geringer ist als der unausgerichteter Fasern.

Weitere Untersuchungen zeigen, dass die Kollektorgeschwindigkeit starken Einfluss auf die mechanischen Eigenschaften von Fasermatten hat: Mit steigender Kollektorgeschwindigkeit nimmt die Reißfestigkeit zu (s. Abb. 7.10). Dabei steigt die Festigkeit von ca. 4,9 MPa bei 0 und 4 m/s auf 15 MPa bei 8 m/s. Die Reißdehnung nimmt im Gegenzug in gleichem Maße ab: von ca. 500% bei 0 und 4 m/s auf 85% bei 8 m/s. Grund für die Zunahme der Reißfestigkeit ist die bei einer höheren Kollektorgeschwindigkeit auftretende höhere Faserausrichtung. Dies führt dazu, dass eine höhere Anzahl von Fasern die durch die Prüfmaschine eingebrachte Last in Zugrichtung aufnehmen können. Dadurch erhöht sich der lasttragende Querschnitt und damit die maximale Festigkeit. Auf die Dehnbarkeit der Matten wirkt der Effekt der Ausrichtung gegensätzlich: bereits ausgerichtete Fasern können unter Last ihre Position im Netzwerk nicht mehr verändern und werden in die Länge gezogen. Bei Fasermatten ohne Faserausrichtung werden die Fasern unter der Einwirkung der Zugbeanspruchung zunächst gerade gezogen und erst dann gedehnt. Der Trend der Messwerte der mechanischen Eigenschaften (Abb. 7.10) korrespondiert hierbei zu der optischen Beurteilung (Abb. 7.8) und der Messung der Faserausrichtung bei verschiedenen Kollektorgeschwindigkeiten (Abb. 7.9). Des Weiteren zeigt die Betrachtung der Flächeninhalte der Hysteresekurve bei der dynamischen mechanischen Prüfung, dass bei 0 m/s und 4 m/s nur eine schmale Bandbreite von Werten für die relative Änderung des Flächeninhalts vorliegt (s.

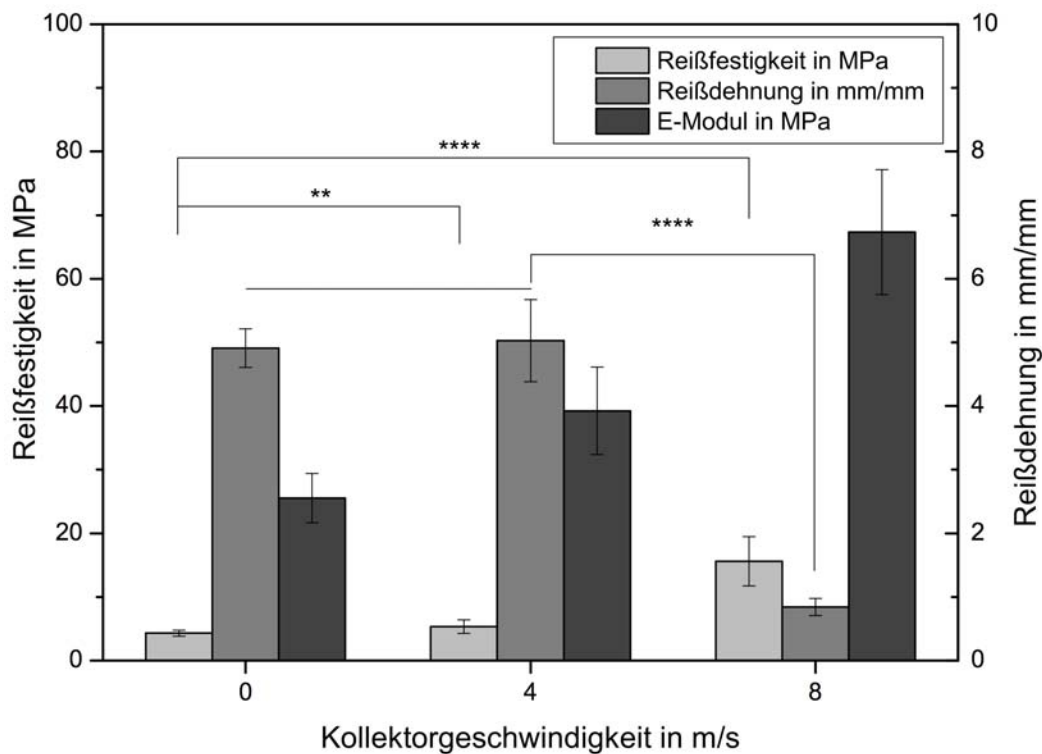


Abbildung 7.10: Mechanische Eigenschaften abhängig von der Kollektorgeschwindigkeit. Reißfestigkeit, Dehnung und E-Modul der Fasermatten (PCL in TFE, 170 mg/ml) werden durch eine statische Prüfung bestimmt. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung ($n = 16$).

Anhang, Abb. A.9). Die Flächeninhalte der Hysteresekurven der einzelnen Proben sind demnach im gesamten Probenlos sehr ähnlich, was zeigt, dass die Proben sich gleich verhalten. Bei einer Rotationsgeschwindigkeit von 8 m/s ist die Bandbreite dagegen sehr groß, was bedeutet, dass die einzelnen Proben dieser Versuchsreihe stark voneinander abweichende Belastungsverläufe aufweisen. Eine Erklärung dafür ist, dass die Proben zusätzlich zur schlichten Ausrichtung der Fasern eine Vordehnung erfahren haben. Diese Vordehnung ist bei einzelnen Proben stärker ausgeprägt, was bei der dynamischen mechanischen Prüfung zu einer vorzeitigen Ermüdung und unterschiedlichen relativen Änderungen des Flächeninhalts führt. Dem Fasernetzwerk wurde quasi durch die Rotation des Kollektors eine Vorschädigung eingepreßt. Neben den vielfältigen nichtlinearen Abhängigkeiten der Parameter lassen sich mit dem Rotationskollektor nur Matten mit in einer Richtung ausgerichteten Fasern herstellen. Die Nachbildung von nativem Gewebe erfordert jedoch ein mehrlagiges Gerüst, mit zueinander relativ ausgerichteten Fasern. Daher wird der auf 'gap spinning' basierende Translationskollektor erprobt (s. Kapitel 5.1.4). Mit diesem Aufbau ist es möglich, beliebige Winkel zwischen aufeinanderfolgenden Schichten einzustellen (s. Abb. 7.11). Die Verkippung der Schenkel des Translationskollektors und die so induzierte Vordehnung der Fasern hat dabei Einfluss auf die mechanischen und mikrostrukturellen Eigenschaften der abgelegten Matte. Die Ergebnisse aus der dynamischen Prüfung zeigen einen Anstieg der maximal gemessenen Spannung Zugfestigkeit mit Erhöhung der Vordehnung bis 180%. Bei 240% Vordehnung werden dagegen niedrigere Werte erreicht. Diese Beobachtungen treffen sowohl auf den ersten als auch die folgenden Auslenkungszyklen zu (s. Tab. 7.5). Weiterhin verringert

sich der normierte Flächeninhalt mit steigender Vordehnung, was auf eine Ermüdung der Faser-
matte hindeutet. Der Bereich der ermittelten E-Module ist für alle Vordehnungen sehr groß, ein
mit der Vordehnung ansteigender Trend ist aber deutlich erkennbar. Die Bestimmung der Faser-
durchmesser zeigt, dass diese mit der Vordehnung kleiner werden. Dabei ist die Verringerung
bis 120% Vordehnung sehr ausgeprägt und nimmt dann ab. Gleiches ist bei der Faseranzahl pro
Kollektorlänge zu beobachten: Bis 120% kommt es zu einer Abnahme, die sich erst bei 240%
weiter fortsetzt. Es wird angenommen, dass die auch schon aus den mechanischen Kennwerten
ersichtliche Schädigung der Fasern auch die Zählung der Fasern beeinflusst. Es ist möglich, dass
ein Teil der Fasern durch die Vordehnung überbeansprucht wird und reißt, so dass sie nicht
mehr in die Zählung mit einbezogen werden. Andererseits würde sich dadurch auch der bezogene
Querschnitt verringern und demnach die maximale Spannung erhöhen.

7.2.6 Mehrlagige Faserkonstrukte

Zur Nachbildung des hierarchischen Aufbaus von nativem Gewebe werden mehrlagige Faser-
maten gesponnen, bei denen die Polymerart und -konzentration schichtweise variiert wird. Durch die
Verwendung von unterschiedlichen Polymerkonzentrationen (PCL in TFE, 130 und 170 mg/ml)
kann eine Matte erzeugt werden, die schichtweise unterschiedliche Faserdurchmesser und Poren-
größen aufweist, wie in Abb. 7.12 zu erkennen ist. Das Verspinnen der Lösung erfolgt durch zwei
separate, hintereinander positionierte Düsen auf einen rotierenden Kollektor, um eine symmetri-
sche Verteilung der Faserablage zu erreichen. Im nächsten Schritt wird untersucht, in wie weit
sich die relative Ausrichtung einzelner Lagen auf die Beschaffenheit der resultierenden Faser-
matte auswirkt. Dazu wird eine dreilagige Matte produziert, bei der die beiden äußeren Schichten aus
orientierten Fasern bestehen und die innere Schicht keine Ausrichtung aufweist. Die unterschied-
lichen Ausrichtungen werden über die Variation der Geschwindigkeit des Kollektors erreicht: Die

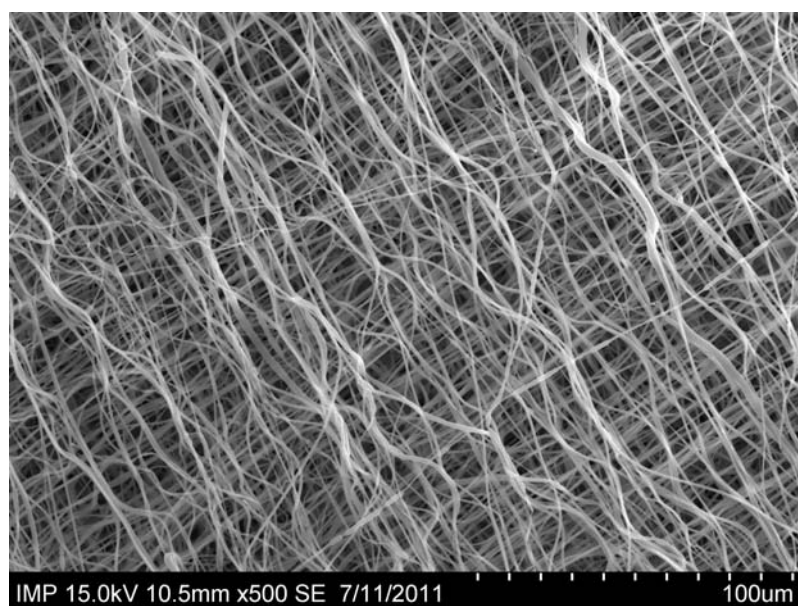


Abbildung 7.11: Mit dem Translationskollektor hergestellte, mehrlagige Matte mit einer
schichtweise, relativen Faserausrichtung von 90° .

äußeren Lagen werden bei 8 m/s gesponnen, die innere Lage bei 0,5 m/s (quasi statisch). Ein gar nicht rotierender Kollektor (0 m/s) ist in diesem Zusammenhang nicht zielführend, da sich die Fasern auf ihm nicht gleichmäßig verteilen und keine durchgängige Matte entsteht.

Bei der Betrachtung des Mattenquerschnitts (s. Abb. 7.13(a)) zeigt sich, dass sich die Ergebnisse zur Ausrichtung von Fasern in einlagigen auf mehrlagige Matten übertragen lassen: in den äußeren Lagen sind deutlich mehr Fasern zu sehen, die bei der Probenpräparation quer durchtrennt wurden, also in Umfangsrichtung ausgerichtet sind. Bei der inneren Lage sind dagegen viel weniger querschnittene Fasern zu erkennen, da keine Ausrichtung senkrecht zur Schnittrichtung vorliegt. Es zeigt sich jedoch auch, dass die einzelnen Schichten nicht aneinander haften und es zu einer Delamination kommt. Dies ist auf die unterschiedliche Topographie der ausgerichteten und nicht-ausgerichteten Lagen zurückzuführen. Es kommt zu keiner ausreichenden Verschlaufung der Fasern im Übergangsbereich, vielmehr stellen die ausgerichteten Fasern eine homogene, quasi glatte Fläche dar, auf der keine Anknüpfungspunkte für die folgende Ablage nicht-orientierter Fasern existieren. Dieses Problem kann durch eine graduelle Anpassung der Kol-

Vordehnung	0%	60%	120%	180%	240%
Max. Spannung [MPa] (Zykl. 1)	25	150	180	220	150
Max. Spannung [MPa] (Zykl. 2-50)	23	130	160	200	120
Norm. Flächeninhalt (Zykl. 2 ; Zykl. 50)	0,16 ; 0,06	0,11 ; 0,05	0,10 ; 0,04	0,10 ; 0,04	0,09 ; 0,04
Niedr. E-Modul [MPa] (Anzahl der Ausreißer)	45 - 105 (18)	150 - 430 (9)	200 - 590 (12)	220 - 650 (7)	200 - 630 (2)
Hoher E-Modul [MPa] (Anzahl der Ausreißer)	95 - 205 (4)	900 - 1420 (8)	1100 - 1920 (9)	1350 - 1930 (6)	1000 - 1780 (2)
Faserdurchmesser [nm] <i>SD [nm]</i>	1235 <i>649</i>	985 <i>501</i>	753 <i>390</i>	737 <i>176</i>	723 <i>176</i>
Faseranzahl [1/cm] <i>SD [1/cm]</i>	4350 <i>563</i>	3264 <i>415</i>	3080 <i>558</i>	3006 <i>315</i>	2614 <i>578</i>

Tabelle 7.5: Mechanische Kennwerte und Faserdurchmesser in Abhängigkeit von der Vordehnung. Die Ergebnisse aus dem dynamischen Zugversuch von Matten mit ausgerichteten Fasern zeigen, dass die maximale Spannung mit der Vordehnung zunimmt, bei 180% am größten ist und danach bei 240% abfällt. Der normierte Flächeninhalt ist bei 0% maximal und sinkt mit der Vordehnung. Die Werte für niedrigen und hohen E-Modul sind bei 180% am größten wobei der Wertebereich bei allen Vordehnungen sehr groß ist ($n = 9$). Die Faserdurchmesser sinken mit steigender Vordehnung ($n = 80$).

lektorgeschwindigkeit im Übergangsbereich gelöst werden. Der Übergangszeitraum sollte je nach Größe der besponnenen Fläche etwa eine bis fünf Minuten dauern. In einem weiteren Versuch wird die Polymerart schichtweise variiert, um spezifische Eigenschaften wie das Benetzungsverhalten und die mechanische Festigkeit unabhängig voneinander einstellen zu können. Dazu wird in den beiden äußeren Schichten PCL verwendet und in der inneren Schicht PEO. Um einen gleichmäßigen Übergang der Schichten zu erhalten, wird die Flussrate der ersten Lösung beim

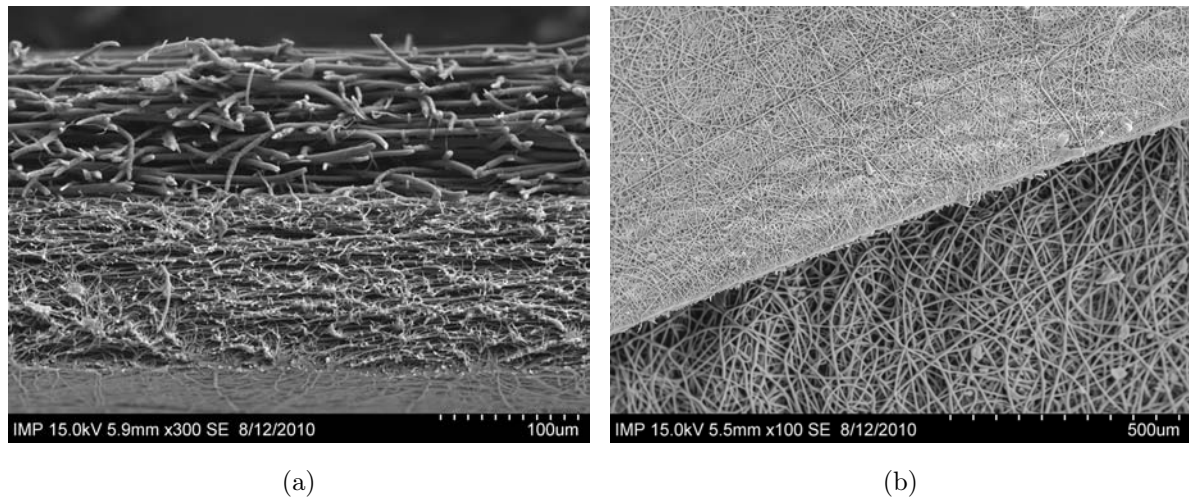


Abbildung 7.12: Mehrlagige Fasermatte aus zwei separat versponnenen PCL-Lösungen mit unterschiedlichen Polymerkonzentrationen. Die Düsen sind hintereinander über einem rotierenden Kollektor positioniert, um eine symmetrische Verteilung der Faserablage zu erzielen. Die untere Lage (130 mg/ml) besteht aus feinen Fasern im Bereich von 1 - 2 μm und die obere Lage (170 mg/ml) aus dickeren Fasern mit einem Durchmesser von 2,5 - 4 μm . Die Schnittansicht (a) und Draufsicht (b) zeigt dies deutlich.

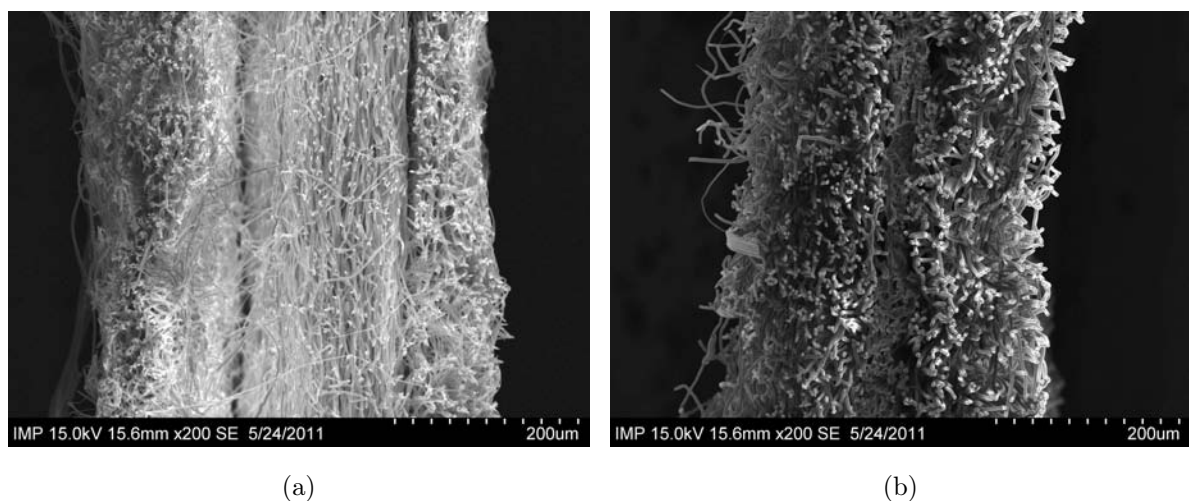


Abbildung 7.13: Delamination (a) und Schrumpfung (b) zwischen orientierten und nicht-orientierten Schichten bzw. unterschiedlichen Polymeren mehrlagiger Fasermatten.

Schichtübergang graduell reduziert während die Flussrate der zweiten Lösung erhöht wird. In diesem Zeitraum sind somit beide Düsen aktiv. Es existieren zeitgleich zwei Faserströme. In diesem Zusammenhang wird festgestellt, dass das verwendete Lösemittel Einfluss auf den Prozess bzw. die Ausbildung der Faserströme hat. Wird die innere Schicht mit in Wasser gelöstem PEO gesponnen und die äußeren Schichten mit PCL in TFE, kommt es zu einer Abstoßung der Faserströme. Dies tritt auch auf, wenn aus beiden Düsen auf Wasser basierende PEO-Lösungen versponnen werden. Wird für beide Polymere TFE als Lösemittel verwendet, kommt es zu keiner ausgeprägten Abstoßung. Neben der Inkompatibilität der Faserströme wird festgestellt, dass die unterschiedlichen mechanischen Eigenschaften der Polymere PCL und PEO zu einer ungleichmäßigen Relaxation der Matte nach der Ablösung vom Kollektor führen: Die Fasern stehen während des Aufwickelns auf dem Kollektor unter Zugspannung und werden dadurch gedehnt. Nach dem Ablösen der Fasermatte vom Kollektor geht die Dehnung in der PEO-Lage und den PCL-Lagen in unterschiedlichem Maße zurück (s. Abb. 7.13(b)). Dies führt zu einer relativen Schrumpfung der PEO- gegenüber der PCL-Lage und kann eine Delamination hervorrufen.

7.2.7 Einlagige Konstrukte aus mehreren Fasertypen

Um den Verbund von Fasern im natürlichen Gewebe zu nachzubilden, werden zwei Polymerlösungen gleichzeitig versponnen, so dass sich die Fasern auf dem Kollektor vermischen. Dabei können durch die Verwendung unterschiedlicher Konzentrationen Mikro- und Nanofasern miteinander vermischt werden. Die Kombination verschiedener Polymere erweitert die Bandbreite nochmals. Ziel ist eine einlagige Matte, deren Eigenschaften sich aus der Superposition der Eigenschaften der beiden einzelnen Polymere ergeben. Wie auch bei den mehrlagigen Matten, bei denen zeitweise zwei Polymerströme aktiv sind, führt auch hier die Inkompatibilität verschiedener Lösemittel (Wasser, TFE) zu einem instabilen Prozess und unzureichender Produktivität, bzw. zu einer geringen Menge abgelegter Fasern auf dem Kollektor.

Werden die Fasern aus den Polymeren PEO und PCL zu einem Verbund versponnen, liegen Nanofasern aus PEO in Kombination mit Mikrofasern aus PCL vor (s. Abb. 7.14(a)). Der Verbund weist die gewünschte Überlagerung der Eigenschaften auf: Aufgrund der PCL-Fasern ist er mechanisch stabil, während die PEO-Fasern eine bessere Benetzbarkeit mit Wasser bewirken. Wird eine geringere PEO-Konzentration verwendet, kommt es zur Ausbildung von einzelnen Sphären bzw. 'beads' (s. Abb. 7.14(b)). Diese sind gleichmäßig im PCL-Fasernetzwerk verteilt und können als Vehikel für die Wirkstofffreisetzung in Betracht gezogen werden. Auch hier kommt es zu einer Abstoßung der Polymerlösungsströme, jedoch ist diese weniger stark ausgeprägt als bei kontinuierlichen Fasern.

7.2.8 Fasern mit Kern und Mantel durch koaxiales Elektrosponnen

Mit dem koaxialen Elektrosponnen lassen sich Fasern mit einem Kern und einem Mantel aus unterschiedlichen Polymerlösungen herstellen. Kern und Mantel können unterschiedliche physikalische Eigenschaften aufweisen oder eine räumliche Trennung des Kerns von der Umgebung bewirken. So können Wirkstoffe im Kern der Faser eingelagert werden und aufgrund von Diffusion

durch den Mantel freigesetzt werden. Durch koaxiales Spinnen können auch Hohlfasern erzeugt werden, wobei als Kernlösung ein wasserlösliches und als Mantel ein in Wasser nicht-lösliches Polymer verwendet werden. Durch eine dem Prozess nachgelagerte Immersion der Fasermatte im Wasserbad wird der Kern herausgelöst und hohle Fasern bleiben zurück (s. Abb. 7.15). Versuche mit PEG bzw. PEO mit unterschiedlichen Molekulargewichten zeigen, dass sich niedrige Molekulargewichte besser aus dem Kern herauslösen lassen. Dies kann auf die kürzeren Moleküle und die daraus resultierende geringere Verschlaufung der Moleküle untereinander zurückgeführt werden.

Die Wirkstofffreisetzung wird mit einem System aus PCL als Kern- und PLA als Mantelfaser er-

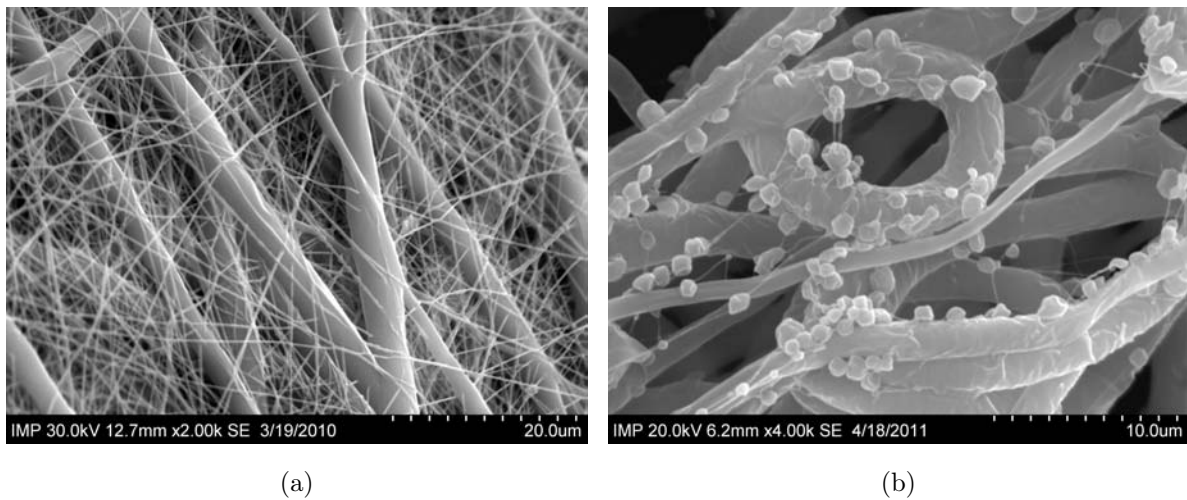


Abbildung 7.14: Durch das gleichzeitige Verspinnen zweier Polymerlösungen erzeugter Faserverbund aus PCL- und PEO-Fasern (a) sowie PCL-Fasern und PEG-Sphären (b).

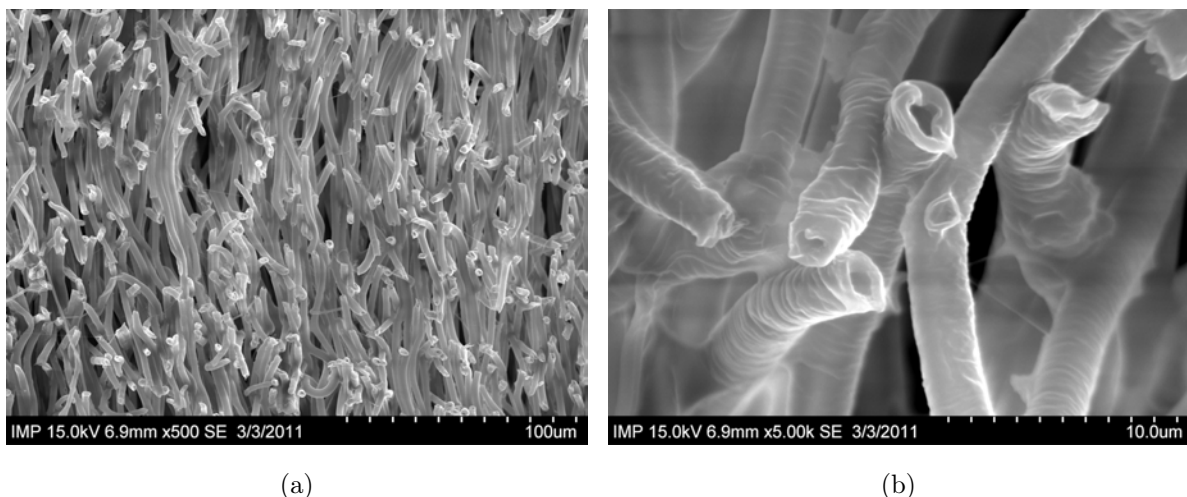


Abbildung 7.15: Koaxial gespinnene Hohlfasern aus zwei Polymerlösungen. Die innenliegende Kernfaser besteht aus PEO, der äußere Mantel aus PCL. Beide Polymere lösen sich in TFE, wodurch ihre Lösungen kompatibel sind. Nach dem Spinnprozess wird das PEO durch Immersion im Wasserbad herausgelöst, wodurch eine Hohlfaser zurückbleibt (a,b).

probt. Als Modellwirkstoff wird die entzündungshemmende Substanz Benzoin verwendet. Dieses hat eine gelbliche Farbe, die sich nach Freisetzung in das umgebende Medium durch chromatografische Messverfahren präzise nachweisen lässt. Die Wirkstofffreisetzung wird mit aus PCL bestehenden Einzelfasern verglichen. Im Vergleich zu mit Benzoin beladenen Einzelfasern kann festgestellt werden, dass die Freisetzung bei koaxial gesponnenen Fasern langsamer und gleichmäßiger verläuft. Bei Einzelfasern kommt es zu einem anfänglichen 'burst release', durch den ein Großteil der Wirkstoffmenge bereits zu Beginn austritt. Bei den koaxialen Fasern erfolgt die Freisetzung viel langsamer: während bei der Einzelfaser nach 12 Stunden bereits 60% der Wirkstoffmenge kumuliert freigesetzt werden, beläuft sich dieser Wert bei koaxialen Fasern nach dem gleichen Zeitraum auf lediglich 10% (s. Abb. 7.16). Die Wirkung ist somit über einen längeren

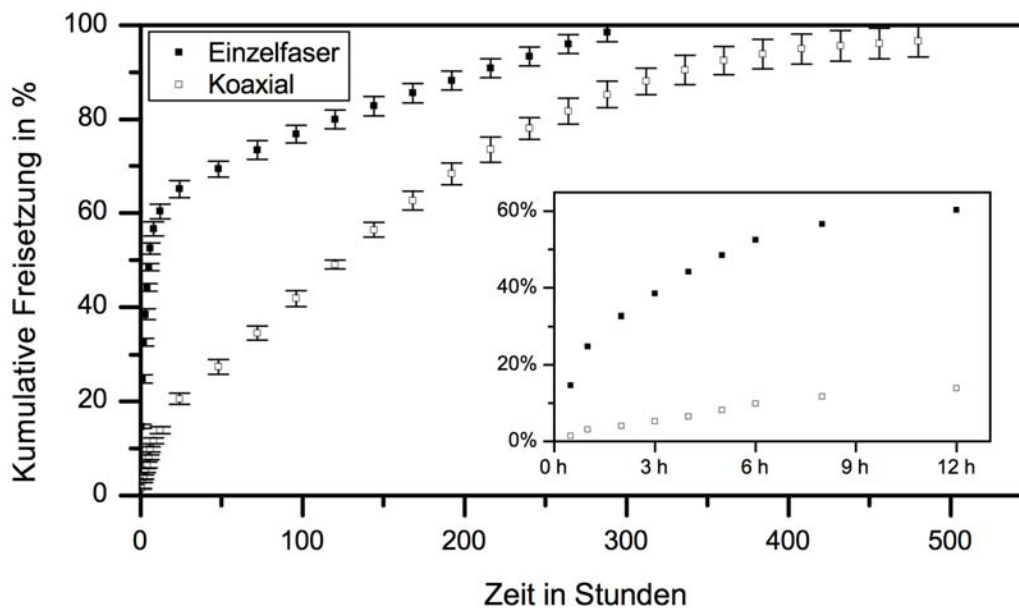


Abbildung 7.16: Kumulative Freisetzung aus koaxialen Fasern. Vergleich der kumulativen Freisetzung des Modellwirkstoffs Benzoin aus Einzelfasern und koaxial versponnenen Fasern (Kern: PCL; Mantel: PLA): Die Freisetzung aus der Einzelfaser erfolgt viel schneller als aus dem Kern der koaxialen Faser. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichung der gemessenen Wirkstoffmenge zu einem bestimmten Zeitpunkt.

Zeitraum gesichert und zudem in der ersten Phase nicht so intensiv, weil nicht schlagartig eine große Menge freigesetzt wird. Die produzierten koaxialen Fasern können in Form einer Matte als Wundauflage mit entzündungshemmender Wirkung verwendet werden. Unter Variation des Wirkstoffs ist auch eine Beschichtung von kardiovaskulären Implantaten denkbar, um anfängliche Immunreaktionen des Körpers zu unterdrücken oder Infektionen zu vermeiden. Eine koaxiale Düse kann zudem genutzt werden, um zwei gleichartige Lösungen mit unterschiedlichen Konzentrationen zu mischen und daraus eine Faser aus demselben Polymer mit variablem Durchmesser oder einer über den Spinnprozess variierten Wirkstoffkonzentration zu spinnen. Entscheidend sind dabei das Verhältnis der Flussraten und die Eingangskonzentrationen der Lösungen. Von diesen beiden Parametern ist abhängig, welche Ausgangskonzentration sich an der Spitze der

Düse durch Mischen der Lösungen einstellt. Aufgrund der kurzen Mischstrecke können Mischvorgänge bei großen Konzentrationsdifferenzen nur partiell erfolgen. Daraus resultieren bimodale Verteilungen der Faserdurchmesser, d.h. es werden zwei Typen von Fasern aus der gleichen Düse gesponnen. Um diesem Umstand zu begegnen, wird im folgenden Unterkapitel 7.2.9 ein Verfahren vorgestellt, das die Erzeugung gleichförmiger Fasern ermöglicht.

7.2.9 Graduelles Mischen beim Elektrosponnen

Da die Strecke beim koaxialen Elektrosponnen nicht ausreichend lang für einen vollständigen Mischvorgang ist, wird im Folgenden ein modifizierter Aufbau verwendet, der eine längere Mischstrecke aufweist. Hauptkomponenten sind zwei Pumpen, die über Schlauchleitungen Polymerlösungen fördern, die an einer Y-Gabelung zusammengeführt werden. Die Mischung der Komponenten erfolgt auf dem zur Düse führenden Abschnitt mit einer Länge von ca. 3 cm.

Anwendung für diesen Aufbau ist die graduelle Mischung von Polymerlösungen von Konzentrationen im Bereich zwischen 100 mg/ml und 200 mg/ml, um den Faserdurchmesser während des Spinnvorgangs dynamisch anzupassen. Die Berechnung der Flussraten für eine bestimmte Zielkonzentration wird mit Gl. 7.3 und Gl. 7.4 durchgeführt: Unter Annahme eines konstanten eingehenden und ausgehenden Stoffstroms (Kontinuitätsgleichung) ergibt sich 7.1. Der Stoffstrom wird dabei über das Produkt aus Volumenstrom und Polymerkonzentration ausgedrückt. Auf der rechten Seite stehen die Volumenströme und Konzentrationen der beiden Polymerlösungen. Auf der linken Seite steht der durch das Mischen resultierende Gesamtvolumenstrom und die resultierende Gesamtkonzentration. Die Forderung nach einem konstanten Volumenstrom wird durch Gl. 7.2 formuliert. Dies ist besonders in Hinblick auf die Vergleichbarkeit des Spinnvorgangs und die eingesetzten Flussraten bei anderen Prozessvarianten notwendig. Die Auflösung des Gleichungssystems ergibt unter Vorgabe der zu erreichenden Gesamtkonzentration und -flussrate für den einzustellenden Volumenstrom an Gl. 7.3 und Gl. 7.4. Ausgangswerte für die Lösung des Gleichungssystems sind die Polymerkonzentration in beiden Reservoiren (hier: 100 mg/ml und 200 mg/ml).

$$\dot{V}_{ges} \cdot c_{ges} = \dot{V}_1 \cdot c_1 + \dot{V}_2 \cdot c_2 \quad (7.1)$$

$$\dot{V}_{ges} = \dot{V}_1 + \dot{V}_2 \quad (7.2)$$

$$\dot{V}_1 = \frac{c_{ges} - c_1}{c_2 - c_1} \cdot \dot{V}_{ges} \quad (7.3)$$

$$\dot{V}_2 = \frac{c_{ges} - c_2}{c_1 - c_2} \cdot \dot{V}_{ges} \quad (7.4)$$

Gleichungssystem zur Berechnung des Mischungsverhältnisses von Polymerlösungen beim graduellen Elektrosponnen. \dot{V}_{ges} : Gesamtvolumenstrom (Flussrate) an der Düse in ml/min; c_{ges} : Resultierende Konzentration an der Düse in mg/ml; \dot{V}_1 : Volumenstrom Reservoir 1 in ml/min; \dot{V}_2 : Volumenstrom Reservoir 2 in ml/min; c_1 : Polymerkonzentration 1 in mg/ml; c_2 : Polymerkonzentration 2 in mg/ml

Es zeigt sich, dass die auf Basis der Gleichungen 7.3 und 7.4 gesponnenen Fasern einen steigenden Durchmesser mit Verlagerung des Mischungsverhältnisses zu hohen Konzentrationen aufweisen

(s. Abb. 7.17). Der Durchmesser korrespondiert dabei überwiegend mit dem von normal aus einer

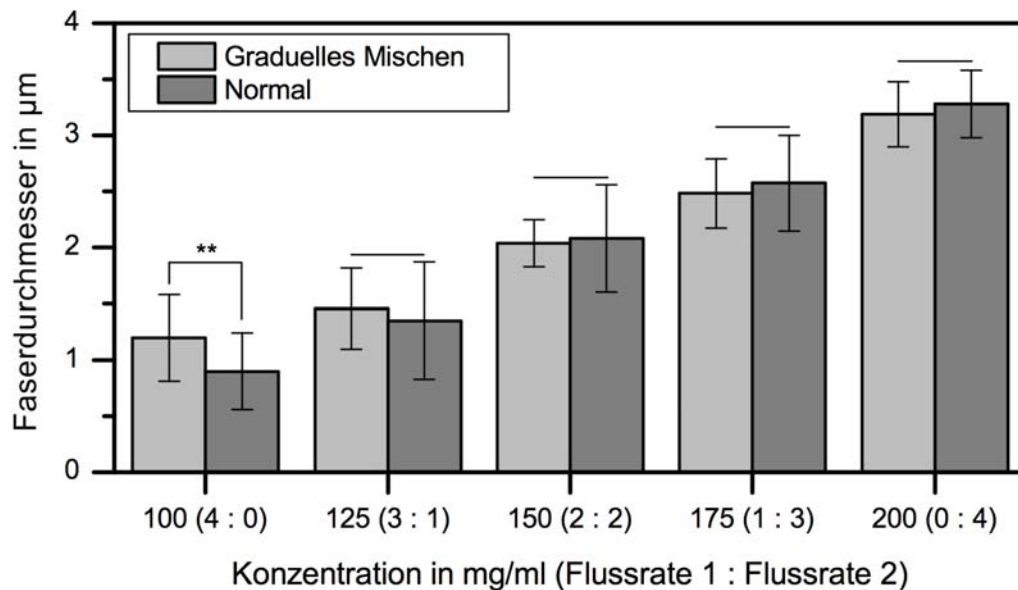


Abbildung 7.17: Faserdurchmesser und Standardabweichung beim graduellen Mischen von Polymerlösungen. Dargestellt ist der resultierende Faserdurchmesser bei verschiedenen Verhältnissen der Flussraten aus den beiden Reservoiren (Res. 1: 100 mg/ml; Res. 2: 200 mg/ml). Zum Vergleich ist der Faserdurchmesser beim normalen Spinnen einer Faser aufgetragen. Es wird deutlich, dass sich mit dem graduellen Mischen definierte Konzentrationen präzise erzeugen lassen und die Abweichung sehr gering ist ($n = 80$).

Lösung mit definierter Konzentration gesponnenen Fasern (nicht signifikant unterschiedlich nach Student-t-Test; $p > 0,05$). Lediglich bei einem Verhältnis der Flussraten von 4:0 und einer Konzentration von 100 mg/ml ist ein signifikanter Unterschied zu verzeichnen ($p < 0,01$). Technisch gesehen ist das graduelle Mischen von Vorteil, weil nur noch zwei Polymerlösungen nötig sind, um einen großen Bereich an Konzentrationen abzudecken. Zudem kann der Faserdurchmesser direkt über die Flussrate und somit über die Steuerungselektronik eingestellt werden, was den Gestaltungsspielraum besonders bei mehrschichtigen Konstrukten maximiert. Die Umschaltzeit zwischen zwei Konzentrationen beträgt ca. drei Minuten und eignet sich daher auch für kurze Spinnvorgänge wie sie z.B. bei Gefäßprothesen auftreten.

7.3 Tubuläre Gerüststrukturen

Die tubuläre Geometrie von elektrogewebenen Produkten wird durch die Ablage von Fasern auf einem rotierenden Wellenkollektor erzeugt. Die Welle ist dabei ein Rundstab aus Edelstahl. Auf Wellen unterschiedlicher Dicke werden im Rahmen dieser Arbeit so Rohre von 2 mm bis 6 mm Durchmesser mit einer Länge von bis zu 30 cm produziert. Auch die Erzeugung größerer oder kleinerer Durchmesser ist möglich. Fokussierter Einsatzzweck ist das Tissue Engineering

von Blutgefäßen, insbesondere die Bereitstellung von funktionsfähigen Prothesen unter 3 mm Durchmesser.

Es wird zu Beginn untersucht, ob sich das Spinnverhalten bei Flach- und Wellenkollektor unterscheidet. Dies betrifft insbesondere die besponnene Fläche und abgelegte Fasermenge. Die herzustellenden Konstrukte sollen eine möglichst hohe Gleichmäßigkeit der Wandstärken aufweisen. Außerdem soll der Verschnitt bei der nachträglichen Entfernung der Randbereiche minimal sein. Bei der Untersuchung des besponnenen Bereichs von Flachkollektoren (s. Kap. 7.2.2) ist deutlich geworden, dass der Abstand zwischen Düse und Kollektor den größten Einfluss auf den besponnenen Bereich hat. Eine Erhöhung des Abstands führt dabei zu einer Vergrößerung des Bereichs. Auf Basis dieser Erkenntnis wird untersucht, wie ausgeprägt der Ablagebereich bei Wellenkollektoren unterschiedlichen Durchmessers ist. Gemessen wird der kumulierte primäre und sekundäre Ablagebereich. Alle anderen Parameter werden dabei konstant gehalten. Der Trend einer vergrößerten besponnenen Fläche bei Erhöhung des Abstands zwischen Düse und Kollektor kann auch für die Ablage auf dem rotierenden Wellenkollektor bestätigt werden. Die absolute Breite des Bereichs unterscheidet sich dabei jedoch bei sonst gleichen Abständen geringfügig: so ist bei einem Abstand von 30 cm der mit Fasern bedeckte Bereich beim Flachkollektor 9 cm und beim Wellenkollektor nur 6 cm breit. Es wird angenommen, dass dies auf Unterschiede im Verlauf des

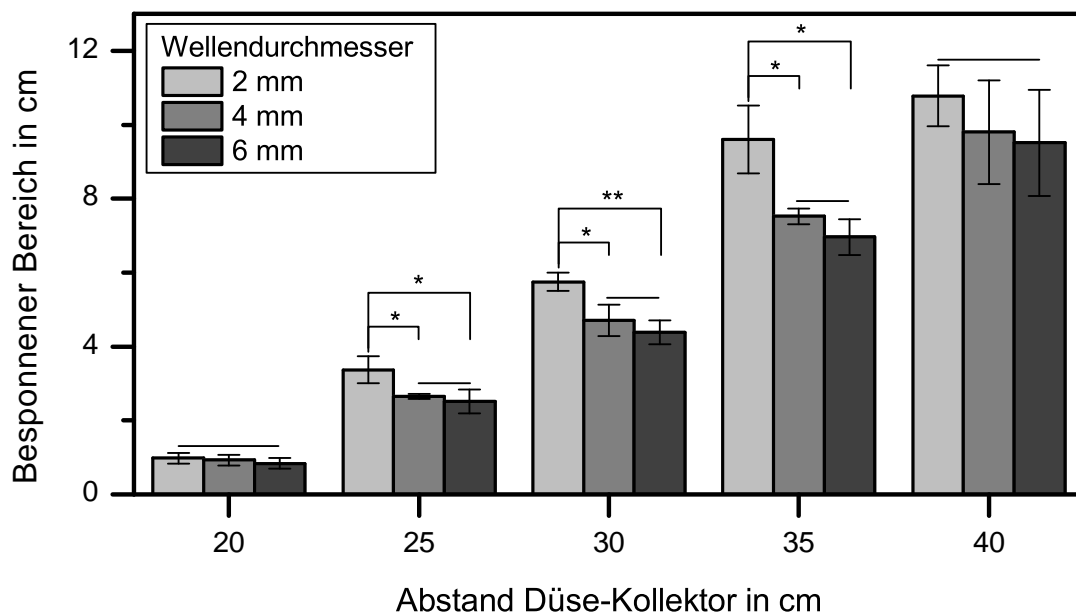


Abbildung 7.18: Mit Fasern besponnener Bereich auf Wellenkollektor. Dargestellt sind die Mittelwerte sowie die Standardabweichung für den Ablagebereich auf verschiedenen Wellendurchmessern in Abhängigkeit vom Abstand Düse-Kollektor. Feldstärke (1 kV/cm) und Flussrate (3 ml/h) werden konstant gehalten ($n = 6$).

elektrischen Feldes zurückzuführen ist: die Geometrie des Wellenkollektors führt im Vergleich zum ebenen Flachkollektor zu einer Konzentration des elektrischen Feldes und einer lokal erhöhten Feldstärke (Spitzeneffekt) und damit auch zu einer Veränderung der Ablagewahrscheinlichkeit. Deutlich wird dieser Einfluss auf den besponnenen Bereich auch bei der Betrachtung unterschiedlicher Wellendurchmesser: Bei einer dünneren Welle wird das Feld stärker konzentriert als

bei einer dickeren Welle und dadurch die Beschleunigung des Polymerstrahls lokal erhöht, was in ausgeprägteren Schleuderbewegungen des Polymerstrahls und einem verbreiterten Ablagebereich resultiert (s. Abb. 7.18). Als weitere Erklärung wird die Tatsache identifiziert, dass eine dünnere Welle weniger Oberfläche besitzt und somit schneller mit Fasern bedeckt wird. Einhergehend mit der daraus resultierenden Isolation und Aufladung wird der Strahl dann eher in die äußeren Bereiche abgelenkt. Des Weiteren unterscheidet sich der Anlagenaufbau bei Flach- und Wellenkollektor: so könnte die einseitige Lage des Antriebsmotors der Welle den Strahl ablenken und dadurch die Faserablage auf Seite des Motors konzentrieren. Elektrisch leitfähige Komponenten der Rotationsvorrichtung führen zusätzlich zu einer Verzerrung des Feldes und bewirken eine Verschiebung des Ablagezentrums. Dies wird auch bei Betrachtung der abgelegten Fasermenge in Abhängigkeit von der Position auf der Welle deutlich (s. Abb. 7.19): Die größte Menge wird im Zentrum des Kollektors abgelegt. Zu den Enden hin nimmt die Ablagemenge einer GAUSS-Verteilung folgend ab. Dabei ist die abgelegte Menge auf Seiten des Wellenmotors etwas größer, was auf die anziehende Wirkung der hier in höherem Maße vorliegenden metallischen Komponenten zurückzuführen ist. Bei der statischen Positionierung einer Welle unter der Düse kann durch

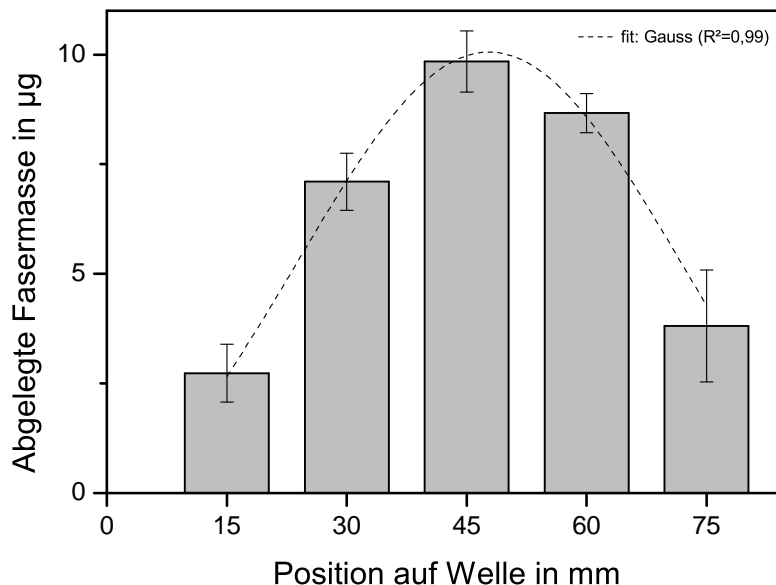


Abbildung 7.19: Abgelegte Fasermenge auf dem Wellenkollektor. Dargestellt sind die Mittelwerte sowie die Standardabweichung für die auf einer Position der Welle abgelegten Fasermenge. Die Verteilung folgt einer GAUSS-Verteilung. Feldstärke (1 kV/cm) und Flussrate (3 ml/h) werden konstant gehalten ($n = 6$).

die Wahl eines relativ hohen Abstands von 40 cm zwischen Düse und Kollektor im zentralen Abschnitt auf der Welle ein weitestgehend gleichmäßiger Schichtdickenverlauf (Wandstärke) erreicht werden. Die Länge der so produzierten Röhrcchen beträgt ca. 4 cm bis 6 cm, wie in Abb. 7.20 zu erkennen ist.

Der Vergleich von nacheinander gesponnenen Röhrcchen ist jedoch trotzdem schwierig, da der Prozess über die Zeit schwankenden Umgebungsbedingungen unterworfen ist (z.B. Änderung der Luftfeuchtigkeit oder elektrostatische Aufladung der Oberflächen innerhalb der Kammer). Da-

durch ändern sich ggf. auch der Faserdurchmesser, der Ablagebereich bzw. die Wandstärke und somit u.a. die mechanischen Eigenschaften. Um diesem Umstand zu begegnen, werden für die mechanische Charakterisierung mehrere Proben aus dem selben Röhrchen zugeschnitten. Für die Erzeugung einer großen Anzahl vergleichbarer Proben ist demzufolge ein möglichst langes Röhrchen mit gleichmäßiger Wandstärke nötig. Für die Herstellung eines langen Röhrchens muss der Aufbau modifiziert werden, so dass die Ablage über einen größeren Bereich gleichmäßig verläuft. Dazu wird der Kollektor mittels einer motorisierten Schiene translativ unter der Düse in Wellenrichtung hin und her bewegt (s. Abb. 7.21). So können erfolgreich Röhrchen mit einer gleichmäßigen Wandstärke über eine Länge von 200 mm erzeugt werden (s. Abb. 7.21 und 7.22). Der Kollektor wird dabei sehr schnell rotiert, so dass es zu einer Ausrichtung der Fasern in Umfangsrichtung kommt. Etwa 50000 Umdrehungen pro Minute bei einem Wellendurchmesser von 3 mm führen nach Gleichung 5.1) zu einer Geschwindigkeit von ca. 8 m/s an der Kollektoroberfläche und demnach zu einer Ausrichtung der Fasern gemäß den Erkenntnissen aus Kapitel 7.2.5. Für die Verwendung als Halbzeug zur Erzeugung von Stents werden die porösen Röhr-

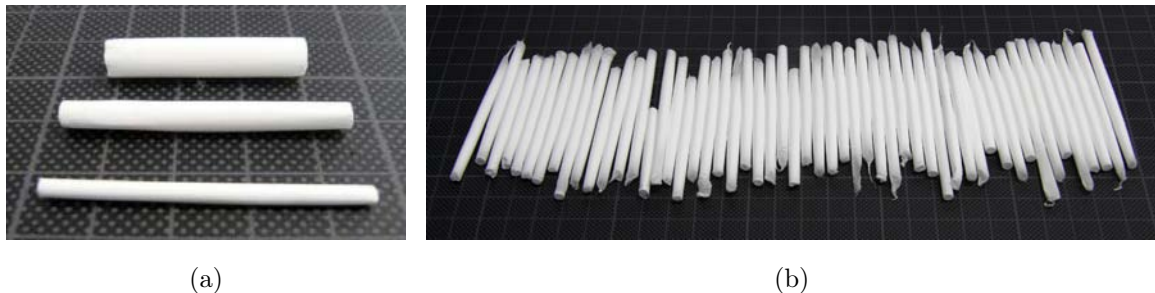


Abbildung 7.20: Elektrogewebene Röhrchen ('tubes') für den Einsatz als Gefäßprothese. Durch die Verwendung verschiedener Wellenkollektoren können Gerüste unterschiedlicher Durchmesser produziert werden (a). Auch die Fertigung einer hohen Stückzahl ist so im Laborbetrieb möglich (b).



Abbildung 7.21: Kollektor zur Produktion von bis zu 40 cm langen elektrogewebenen Röhrchen. Der Kollektor ist auf einer Schiene montiert und kann über einen Motor translativ verschoben werden, so dass die Gleichmäßigkeit der Faserablage maximiert wird.

chen anschließend mit einer Walzenpresse gleichmäßig über die gesamte Länge und den Umfang unter Wärmeeinwirkung komprimiert. Dadurch verringert sich die Wandstärke von 1,0 mm auf 0,4 mm (s. Abb. 7.22). Weiterhin verliert das Röhrchen seine Porenstruktur und steht so als

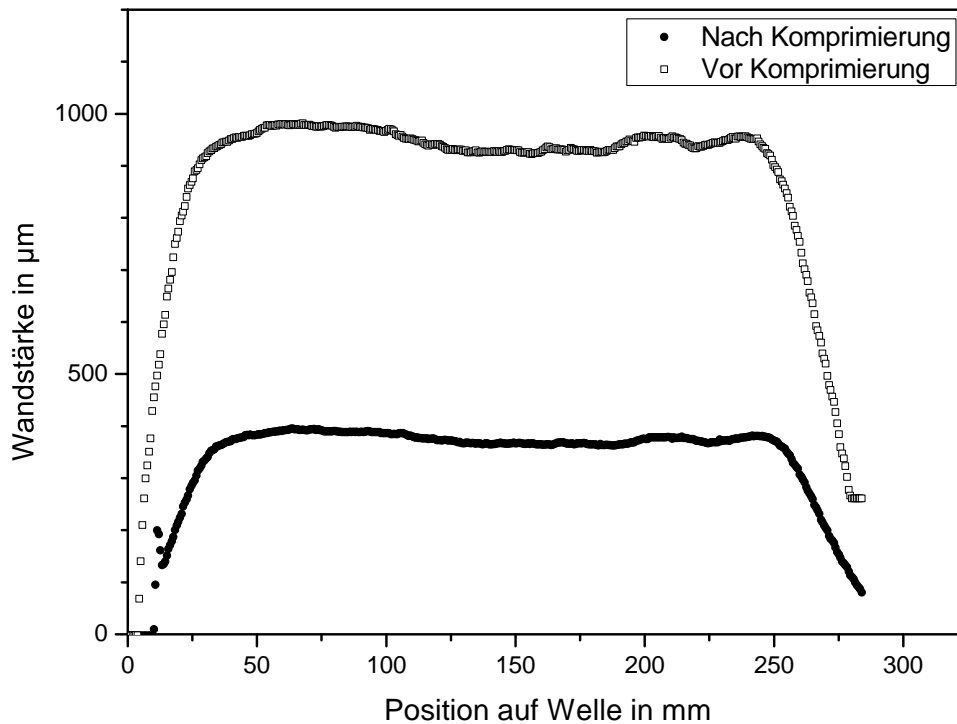


Abbildung 7.22: Verlauf der Wandstärke eines elektrogesponnenen und danach gepressten Röhrchens über die Kollektorlänge. Durch die translative Verschiebung des Kollektors während des Spinnprozesses wird eine gleichmäßige Faserablage bzw. Wandstärke erzielt. In Anschluss an das Elektrospinnen wird das Röhrchen gepresst, was zu einer Verdichtung des Gerüsts und einer Verringerung der Wandstärke führt.

glattes Halbzeug für die Weiterverarbeitung bereit. Zunächst werden Zugproben aus dem Röhrchen geschnitten und die richtungsabhängigen mechanischen Eigenschaften bestimmt. Es zeigt sich, dass die Zugfestigkeit in axialer Richtung ca. 25 MPa beträgt und damit niedriger als in radialer Richtung ist, wo ca. 75 MPa erreicht werden. Dafür ist die axiale Dehnung mit im Mittel 900% höher als die radiale Dehnung von ca. 100% (s. Abb. 7.23). Dies ist auf die zuvor beim Spinnen eingeprägte Faserausrichtung zurückzuführen, die eine Ausrichtung der Polymermoleküle in radiale Richtung bewirkt. Obwohl der faserartige Charakter des Röhrchens durch das Pressen verschwindet, bleibt die Ausrichtung der Polymermoleküle erhalten. Die so produzierten Röhrchen eignen sich als Halbzeug für die Herstellung von resorbierbaren Stents, da in diesem Zusammenhang eine hohe radiale Festigkeit verlangt wird. Diese ist notwendig, damit der Stent nach dem Expandieren im Gefäß nicht kollabiert und es offen hält. Die Bearbeitung des Röhrchens erfolgt nach etablierten Verfahrensschritten für Stents. Zum Einsatz kommt ein Ultrakurzpuls laser, mit dem ein für Stents typisches Muster in das Röhrchen geschnitten wird. Die Schnittkanten verlaufen exakt und der resultierende Käfig ist expandierbar (s. Abb. 7.24).

Das Elektrospinnverfahren kann auch zur Beschichtung von Implantaten genutzt werden. Das Implantat wird dabei in eine Aufnahmevorrichtung gespannt und direkt als Kollektor verwendet.

So kann eine mechanisch stabile Faserschicht auf die Oberfläche von z.B. metallischen Stents abgelegt werden (s. Abb. 7.25). Um die Anhaftung der Schicht zu erhöhen, kann die Oberfläche zuvor durch Anwendung chemischer oder mechanischer Verfahren vorbereitet werden. Die mit Fasern beschichtete Oberfläche dient dann als resorbierbares Wirkstoffdepot, das bestehende Medizinprodukte hinsichtlich ihrer Biokompatibilität (Endothelialisierung, Inflammatorik etc.) optimiert. Weiterhin kann über eine zur Umfangsrichtung senkrechte Ausrichtung der Fasern mittels 'gap spinning' eine schichtweise, anisotrope Morphologie erreicht werden. Durch parallel zum Blutfluss ausgerichtete Fasern soll in diesem Zusammenhang eine verbesserte Anhaftung von Endothelzellen an der Innenseite des Stents erreicht werden [197].

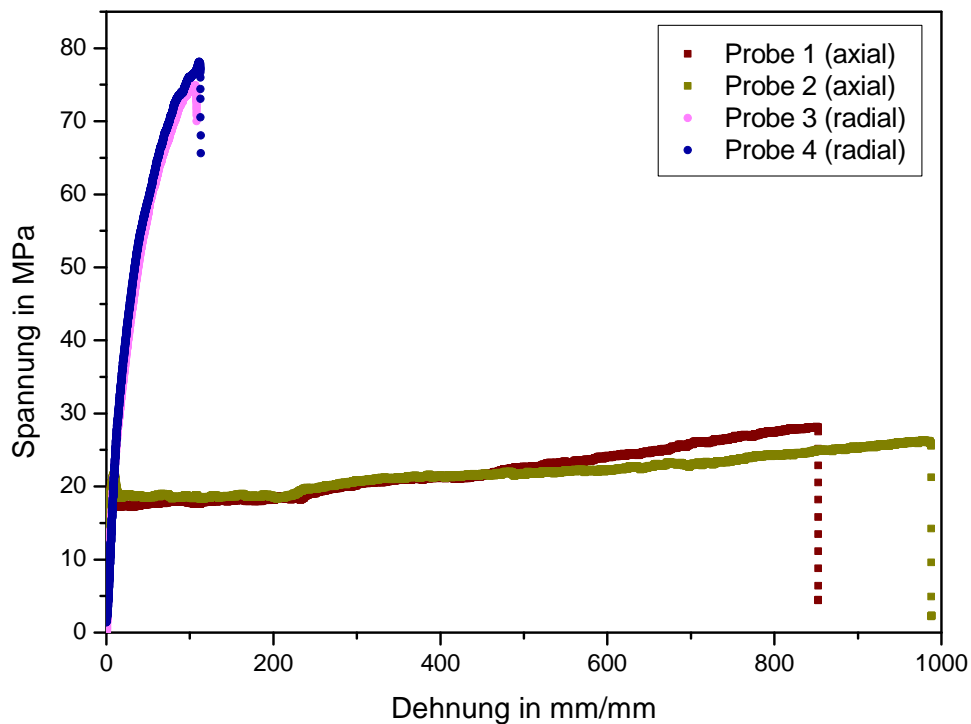


Abbildung 7.23: Zugfestigkeit von elektrogewebenen und gepressten Röhrcchen mit zirkumferentieller Faserausrichtung.

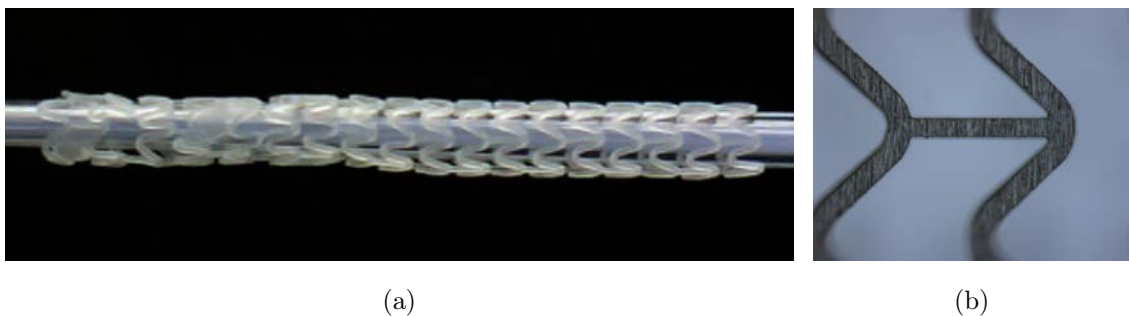


Abbildung 7.24: Mittels Laser aus einem elektrogewebenen und danach gepressten Röhrcchen geschnittener Stent (a). Die Vergrößerung (b) zeigt, die sauber heraus getrennte Kontur der Stege. Außerdem ist die zirkumferentielle Ausrichtung der Fasern erkennbar.

7.4 Herzklappenförmige Gerüststrukturen

Zielgewebe ist die aus drei Taschen und Sinusbulben bestehende Aortenklappe. Die Herstellung der herzkklappenförmigen Gerüststruktur wird mit den gleichen Methoden durchgeführt, die bei der Erzeugung flacher und tubulärer Konstrukte zum Einsatz kommen. Die Herausforderung liegt in der erfolgreichen Kombination der Prozessschritte bei dieser komplexen Geometrie. Als Polymer wird zu Beginn PEO verwendet, das mit einem Fotovernetzer in eine wasserunlösliche Form überführt wird. Intention für diese Wahl ist das wasserbasierte Polymersystem und die Möglichkeit der Beladung mit Wirkstoffen, die in organischen Lösemitteln wie TFE denaturieren würden. Es zeigt sich jedoch, dass ein PEO-basiertes Gerüst mechanisch nicht ausreichend stabil ist. Zudem kommt es an den drei Segeln zu Schrumpfungen, so dass kein suffizientes Schließverhalten erreicht werden kann (s. Abb. 7.27(a)). Es wird daher auf das bereits bewährte PCL zurückgegriffen. Dabei zeigt sich, dass das resultierende Fasergelege die Form des Kollektors besser abbildet als bei Verwendung von PEO. Dies ist vor allem darauf zurückzuführen, dass elektrostatische Phänomene wie der Spitzeneffekt oder 'gap spinning' bei PEO verstärkt auftreten (s. Abb. 7.26(D)). Ein Zusammenhang zu der bereits beobachteten starken Abstoßung zweier PEO-Faserströme ist sehr wahrscheinlich.

Aufgrund der Komplexität der Geometrie wird der Kollektor zunächst in zwei Komponenten aufgeteilt, die nacheinander besponnen werden. Der Kollektor zur Abformung der drei Taschen der Aortenklappe wird zunächst unter der Düse rotiert und besponnen. Der Kollektor hat durch seine Form unterschiedliche Entfernungen zur Düse, was zu einer ungleichmäßigen Ablage auf die Innenflächen der Taschen und deren Rändern führt. Dieser Effekt kann durch die Einstellung eines relativen Winkels von 30° – 45° zwischen der Rotationsachse des Kollektors und der Austrittsrichtung des Polymerstrahls aus der Düse bei einer Rotationsgeschwindigkeit von maximal 100 U/min minimiert werden. Außerdem ist die Verwendung von Druckluft zielführend, um die Fasern auch in Hinterschneidungen oder abgeschirmte Bereiche des Kollektors zu transportieren (s. Abb. 7.26 (E)). Ergebnis ist ein aus PCL bestehendes Gerüst mit tubulärem Abschnitt ('conduit') und drei abschließenden Taschen (s. Abb. 7.27(b)).

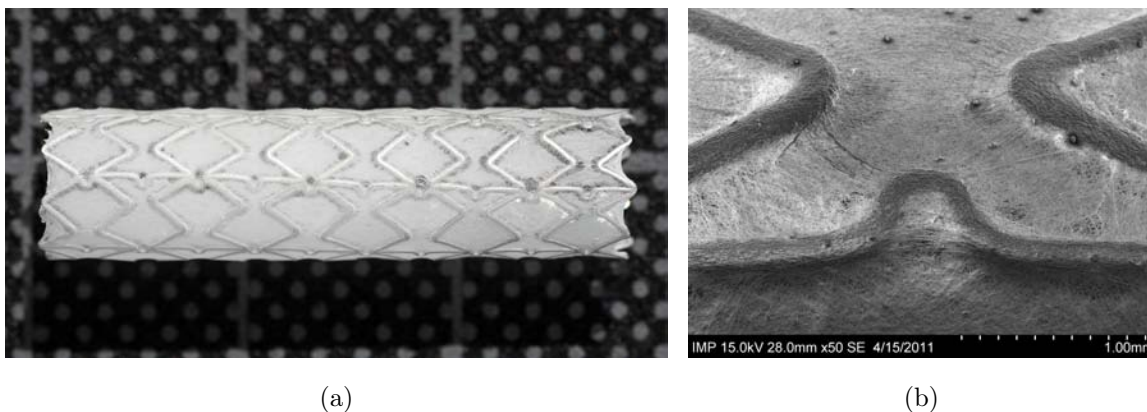


Abbildung 7.25: Mit Polymerfasern besponnener Stent (a). In der Vergrößerung (b) ist erkennbar, dass die Fasern aus PLA zwischen den Streben des Stent-Käfigs verlaufen und ihn insgesamt gleichmäßig beschichten.

Bei der Untersuchung des Öffnungsverhaltens in einem Herzklappentester zeigt sich jedoch, dass die Taschen der Klappe zu steif sind und sich deshalb nicht vollständig öffnen. Daher wird die Menge abgelegter Fasern und somit die Wandstärke reduziert, wodurch sich die Biegsamkeit erhöht. Da die Taschen in den Randbereichen des Kollektors aufgrund des Spitzeneffekts jedoch dicker gesponnen werden als im Zentrum der Klappenfläche, ist eine unabhängige Variation der Schichtdicke dieser beiden Bereiche nicht möglich. Um diese Abhängigkeit zu entkoppeln, wird ein neues Konzept entwickelt, bei dem die Taschen in einem vorgelagerten Prozessschritt separat gefertigt und anschließend mit dem umgebenden tubulären Gerüst kombiniert werden (s. Abb. 7.26 (F-H)). Dazu werden zunächst die Taschen aus einer flachen Faserplatte mit einem heißen Skalpell oder per Laser in gewünschter Form ausgeschnitten. Dann werden drei Taschen im Winkel von je 120° auf einem Kollektor mit Halterungen positioniert. Analog zum ursprünglichen Konzept wird nun ein Kollektorteil zur Abformung des tubulären Gefäßes über die Taschen geschoben, so dass nur noch deren äußerer Rand aus dem Kollektor hervorsteht. Dieser Rand wird später mit Hilfe eines Fügeverfahrens in der Gefäßwand verankert. Dann werden die drei sinusförmigen Bulben auf der zylindrischen Grundform des Kollektors befestigt, um ein anatomisch korrekt geformtes Gerüst zu erhalten. Anschließend wird der gesamte Kollektor rotiert und besponnen, wobei der Winkel zwischen austretendem Polymerstrahl und Rotationsachse des Kollektors 60° – 90° beträgt. Die Abformung der Geometrie und die anschließende Entformung vom dreidimensionalen Kollektor ist ohne Beschädigungen möglich und der Herstellungsprozess reproduzierbar. Die Verbindung der Taschen mit dem umgebenden Tubus ist mechanisch jedoch nicht stabil.

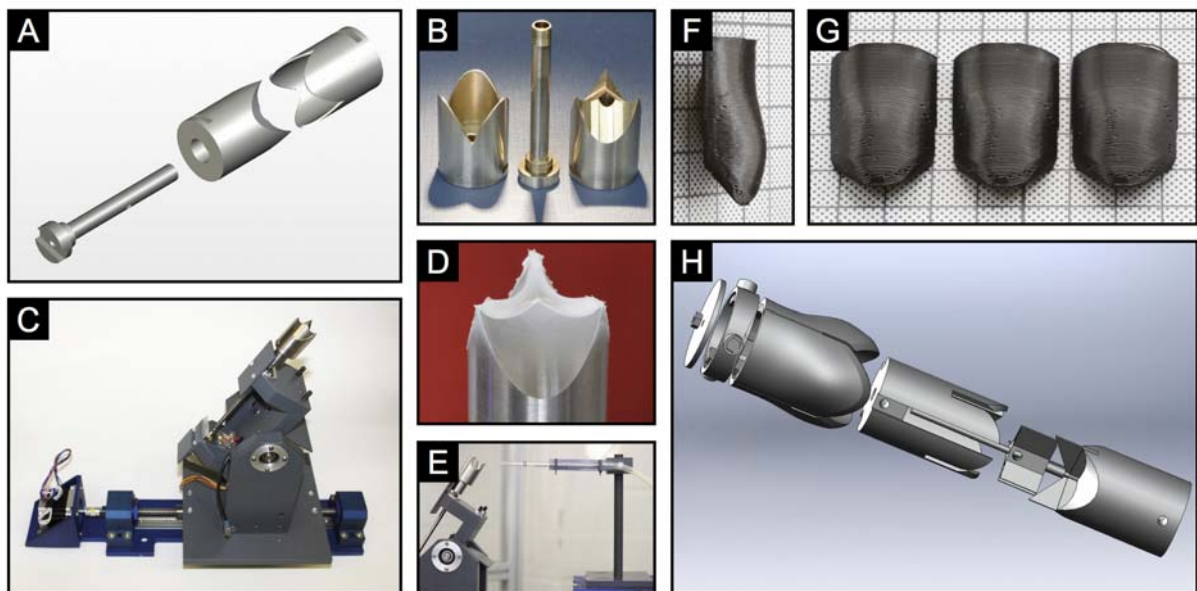


Abbildung 7.26: Kollektoren für die Herstellung von elektrogewebenen Herzklappen. Zweiteiliger, metallischer Kollektor mit Verbindungswelle (A,B) für die Einspannung in einer Rotationsvorrichtung (C). Eine ungleichmäßige Ablage aufgrund elektrostatischer Effekte wie 'gap spinning' (D) kann durch die Anwendung von Druckluft (E) verbessert werden. Mittels Schmelzsichten hergestellte Bulben (F,G) für mehrteiligen Herzklappenkollektor (H).

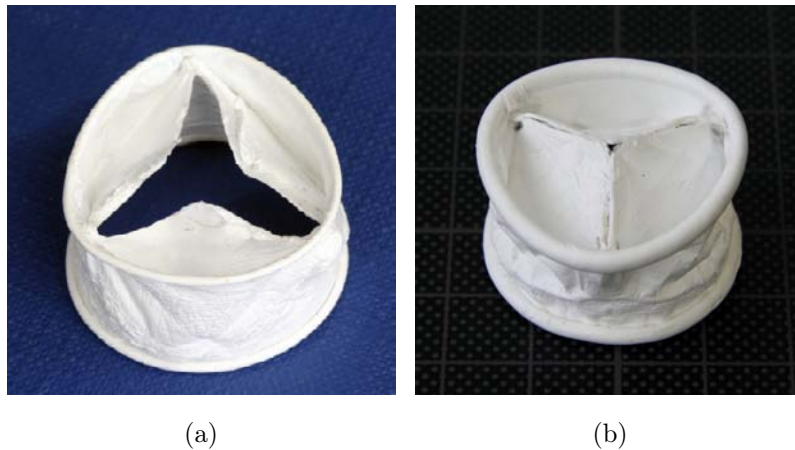


Abbildung 7.27: Entwicklungsstufen von elektrogewebenen Gerüststrukturen für den Ersatz menschlicher Herzklappen. PEO-basiertes Gerüst mit deutlicher Schrumpfung nach Ablösung vom Kollektor (a). Ungleichmäßige Faserablage beim Spinnen von PCL auf einen einteiligen Kollektor (b).

Dies wird darauf zurückgeführt, dass Taschen und Tubus zeitlich versetzt zueinander gesponnen wurden und es aufgrund der fehlenden Anwesenheit von Lösemittel zu keiner Verbindung von frisch gesponnenen mit bereits abgelegten Faser kommt. Daher wird untersucht, wie in einem auf den zweistufigen Spinnvorgang folgenden Prozessschritt eine stabile Verbindung zwischen Taschen und Tubus erzeugt werden kann. Dazu werden Konzepte zum Kleben mittels Cyanacrylat (Sekundenkleber) oder Polymerlösung sowie Fügen mittels Laser erprobt. Die Verwendung von Polymerlösung führt zu einer nicht durchgängigen Fügenaht, da der Lösungsvorgang nicht gleichmäßig abläuft und somit zu Unregelmäßigkeiten führt. Zudem zerstört das Lösemittel die bereits gesponnenen und als Klappen verwendeten Matten. Der Einsatz von Cyanacrylat ist erfolgreich, wobei dessen Viskosität den Vorgang des Auftragens maßgeblich beeinflusst: Cyanacrylat mit zu niedriger Viskosität wird sehr schnell von den Poren der Gerüststruktur aufgenommen, so dass es nicht mehr für die Verbindung mit den neu gesponnenen Fasern zur Verfügung steht. Bei Verwendung von Cyanacrylat mit höherer Viskosität tritt dieses Problem nicht auf. Es kommt zu einer dauerhaften Verbindung zwischen Klappen und umliegender tubulärer Gerüststruktur. So kann eine Gerüststruktur mit mechanisch stabil verankerten Taschen erzeugt werden (s. Abb 7.28). Zu ersetzen ist hierbei jedoch zukünftig die manuelle Fertigung und die damit einhergehenden Unregelmäßigkeiten bei der Ablage von Fasern. Im nächsten Schritt wird daher ein laserbasiertes Verfahren entwickelt, bei dem die Fügepartner durch Einbringung thermischer Energie verbunden werden. Es wird der selbe mehrteilige Kollektor verwendet wie beim Klebeverfahren. Der Rand der Taschenklappen muss für das Fügen mittels Laser ca. 0,5 mm bis 1 mm aus dem Kollektor ragen. Beim Besspinnen der tubulären Struktur wird Druckluft appliziert, damit eine dicke Schicht Fasern an der Stelle abgelegt wird, an der die Klappen aus dem Kollektor hervorstehen. Ohne Druckluft kommt es zu lokalem 'gap spinning' zwischen dem tubulären Abschnitt und den Bulben. Dadurch liegen der Rand der Klappe und die Deckschicht aus Fasern nicht beieinander und können nicht gefügt werden. Als Parameter für den Laserprozess werden die bereits für den T-Stoß erprobten Werte unter leichten Modifikationen verwendet (s. Kap. 5.2): Bei einer Leistung von 7,8 W wird mit 50 mm/s und einer Defokussierung von 10 mm geschweißt. Die Nahtbreite

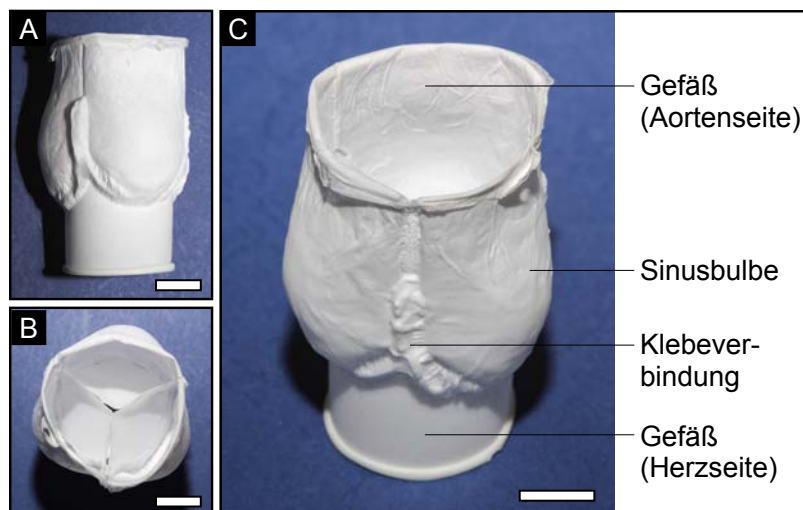


Abbildung 7.28: Elektrogewebene Gerüststruktur aus PCL für den Ersatz menschlicher Herzklappen. Die Klappen sind mittels Cyanoacrylat in die umgebenden Sinusbulben gefügt. Maßstab: 10 mm.

bzw. der erhitzte Bereich beträgt dann ca. 1,6 mm und führt zu einer stabilen Verbindung von Klappe und Zylinder. Eine Herausforderung ist dabei die exakte Positionierung des Laserstrahls, die durch weitere Automatisierung verbessert werden kann.

8 Diskussion

Das Elektrosponnen von Polymeren stellt ein vielseitig nutzbares Verfahren zur Erzeugung von Gerüststrukturen für das Tissue Engineering dar. Durch die Vielzahl von möglichen Modifikationen am Anlagenlayout und der Prozessführung lässt sich eine hohe Bandbreite von mikrostrukturellen, geometrischen und mechanischen Eigenschaften einstellen.

Verglichen mit anderen Herstellungsverfahren weist das Elektrosponnen viele Vorteile auf: Laserbasierte Techniken (z.B. 2PP, LIFT) haben eine vergleichsweise geringe Produktivität; Hydrogelbasierte Gerüste weisen eine geringe mechanischen Stabilität und Belastbarkeit auf. Auf mikroskopischer Ebene betrachtet ähneln elektrosponnene Fasern eher dem nativen Aufbau im Gewebe als mittels 'fused deposition modelling' hergestellte Strukturen. Die hohe Produktivität und Reproduzierbarkeit textiler Produktionsmethoden können hingegen als Maßstab dienen, jedoch lassen sich mit diesen keine ausreichend dünnen Fasern erzeugen, um die Strukturen der EZM abzubilden.

Beim im Fokus dieser Arbeit stehenden Polymer PCL kann eine Abhängigkeit des Faserdurchmessers von der Polymerkonzentration entsprechend den Ergebnissen von Szentivanyi für das Polymer PEO bestätigt werden [8]. Weiterhin kann gezeigt werden, dass ein Zusammenhang zwischen Durchmesser und Flussrate besteht. Dass die Ergebnisse teilweise im Kontrast zu den von Szentivanyi ermittelten Abhängigkeiten stehen, ist auf die Verwendung unterschiedlicher Polymere und Lösemittel zurückzuführen. Wie weitere Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, beeinflusst das Lösemittel u.a. die Faserablage und in geringem Maße auch die Porosität. Ursache dafür ist auch die unterschiedliche Interaktion von Faserströmen aus unterschiedlichen Lösemitteln. Dies betrifft sowohl die Interaktion eines Faserstroms mit den Komponenten in der Prozesskammer als auch mit weiteren Faserströmen (z.B. beim Spinnen aus zwei Düsen). Es wird vermutet, dass die elektrische Leitfähigkeit der Polymerlösung und die elektrostatische Aufladung der Fasern hier eine übergeordnete Rolle einnehmen [164, 198].

Szentivanyi hat im Rahmen seiner Untersuchungen beobachtet, dass die Anlagegeometrie sowie die Beschaffenheit der einzelnen Anlagenkomponenten eine Beeinflussung des elektrostatischen Feldes hervorrufen [8]. Schlussfolgerungen bezüglich des Faserdurchmessers und verknüpfter Eigenschaften standen daher unter Vorbehalt. Eine Vergleichbarkeit der Eingangsparameter sowie resultierender Ausgangseigenschaften für verschiedene Kollektorgeometrien und Anlagen war nicht gegeben. Die Ergebnisse der in dieser Arbeit durchgeführten Studien bestätigen diese Einschätzung: bei sonst gleichen Prozess- und Lösungsparametern werden auf einem flachen, statischen Kollektor dickere Fasern abgelegt als auf einem rotierenden Kollektor. Dies hängt maßgeblich von der Fläche, aber auch der Rotationsgeschwindigkeit des Kollektors ab. Die Fläche beeinflusst dabei das elektrostatische Feld und die resultierende Kraft bei der Dehnung der Fasern im Instabilitätsbereich. Die Rotationsgeschwindigkeit bewirkt eine direkte Dehnung der Fasern bei der Ablage, wodurch der Faserdurchmesser mit steigender Drehzahl des Kollektors

abnimmt.

Die durchgeführten Studien zum Ablageort von Fasern auf dem Kollektor zeigen außerdem, dass in der bestehenden Anlage am IMP kein ideal homogener Feldverlauf vorliegt. Messungen der pro Abschnitt abgelegten Fasermenge zeigen, dass der Feldverlauf in der bestehenden Anlage asymmetrisch ist und die Ablage durch die vorhandenen Einbauten (z.B. Motor) in teils nicht reproduzierbarer Art beeinflusst werden. Konkret zeigt sich dies in unterschiedlichen Ablagemengen links- und rechtsseitig der Düse. Zusätzlich werden die Ablagebereiche von Fasern durch Aufladungseffekte in nicht vorhersehbarer Weise verschoben. Mögliche Einflussgrößen sind dabei die Luftfeuchtigkeit und die Spinddauer. Die absolute Vergleichbarkeit der Ergebnisse mit anderen Anlagen ähnlicher Bauart ist aufgrund dieser vielfältigen Störgrößen nicht gegeben. Die von anderen Gruppen festgestellten Abhängigkeiten wie z.B. der Zusammenhang zwischen Polymerkonzentration, Flussrate und Faserdurchmesser werden durch die gesammelten Ergebnisse aber in ihrem generellen Trend bestätigt. Eine absolute Zuordnung von Parameterkombinationen und daraus resultierenden Werten für die strukturellen Merkmale von elektrogewebenen Fasermatten sind allerdings nicht möglich.

Neben der Betrachtung des direkten Wirkzusammenhangs eines Parameters auf ein Strukturmerkmal wurden zur Klärung der Eingangshypothesen vielfältige Variationen von Parametern bei gleichzeitiger Betrachtung bestimmter Merkmale vorgenommen. Dabei konnte das von Szentivany entwickelte Modell nur eingeschränkt bestätigt werden, da es von linearen Zusammenhängen ausgeht. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen jedoch, dass sich die einzelnen Prozessparameter häufig gegenseitig beeinflussen und die Zusammenhänge daher meist nicht-linear sind. So steigt im Allgemeinen der Grad der Ausrichtung von Fasern auf einem rotierenden Kollektor mit seiner Geschwindigkeit. Die konkrete Ausprägung dieses Anstiegs ist aber wiederum abhängig von der versponnenen Polymerkonzentration: Fasern mit größerem Durchmesser bzw. aus einer höheren Polymerkonzentration gesponnene Fasern weisen bei gleicher Kollektorgeschwindigkeit eine geringere Ausrichtung auf als dünnere Fasern. In diesem Kontext sind Eigenschaften wie das höhere Flächenträgheitsmoment und die längere Trocknungsdauer dickerer Fasern eine mögliche Erklärung.

Um die Zusammenhänge der einzelnen Parameter und mikrostrukturellen geometrischen und mechanischen Merkmale von Fasergerüsten zu evaluieren, wird der Korrelationskoeffizienten nach PEARSON bestimmt. Dabei werden die Grenzen für eine signifikante positive Korrelation mit 0,95 und für eine negative Korrelation mit -0,95 gesetzt. Im Bereich dazwischen liegt keine klare Korrelation vor und es können nur Tendenzen beschrieben werden. Demnach liegt eine positive Korrelation der Faserausrichtung und der Kollektorgeschwindigkeit vor. Die Ausrichtung korreliert für hohe Kollektorgeschwindigkeiten außerdem negativ mit der Polymerkonzentration (s. Tab. A.10). Weiterhin korreliert der Faserdurchmesser signifikant positiv mit der Polymerkonzentration und signifikant negativ mit der Kollektorgeschwindigkeit. Die Korrelation des Durchmessers mit der Flussrate ist auch positiv und steigt mit der Polymerkonzentrationen an - d.h., dass der Effekt der Flussrate bei hohen Konzentrationen stärker realisiert wird als bei niedrigen (s. Tab. A.11). Dieser Zusammenhang ist somit nicht-linear. Für die Porosität und Konzentration sowie Flussrate sind keine Korrelationen zu verzeichnen. In geringem Maße korreliert die Porosität negativ mit der elektrischen Spannung (s. Tab. A.12). Der besponnene Bereich auf dem Kollektor korreliert positiv mit dem Abstand zwischen Düse und Kollektor. Für die elektrische Spannung

und die Flussrate kann dagegen keine signifikante Korrelation festgestellt werden. Die Reißfestigkeit korreliert signifikant positiv mit der Kollektorgeschwindigkeit (s. Tab. A.14). Für die Reißdehnung ist keine eindeutige Korrelation feststellbar (s. Tab. A.15). Der E-Modul korreliert wiederum positiv mit der Kollektorgeschwindigkeit (s. Tab. A.16). Die gegenseitigen Abhängigkeiten werden im nächsten Kapitel in einer Korrelationsmatrix zusammengefasst (s. Abb. 8.1). Die in der Vergangenheit am Institut durchgeführten Zellversuche sind auch von der Nicht-Linearität der Einflussparameter betroffen, da die Mikrostruktur der verwendeten Matten nach heutigen Erkenntnissen nicht hinreichend genau erfasst wurde, um einen korrekten Zusammenhang zwischen Ursache und Wirkung herzustellen. Das könnte die widersprüchlichen Ergebnisse bei der Besiedlung von PEO-Matten durch Szentivanyi erklären [8]. Die beschriebene, erfolgreiche Infiltration der Gerüststrukturen konnte mit in dieser Arbeit verwendeten PCL-Gerüsten auch unter Zugabe anderer Polymere (PEO, Gelatine, PLA, PLLA) nicht reproduziert werden. Lediglich durch Beschichtung der Gerüste mit Fibronectin kann eine Verbesserung der Besiedlung erreicht werden, die jedoch unabhängig von der Mikrostruktur des Gerüsts ist.

Die Bestimmung und Vergleichbarkeit der mechanischen Eigenschaften von elektrogenesponnenen Fasermatten ist aufgrund der nachgewiesenen nicht-linearen Zusammenhänge der Einflussparameter wie Faserdurchmesser und -ausrichtung als problematisch einzustufen. Es hat sich gezeigt, dass die nach bestehenden Normen geltenden Probengeometrien für statische Zugversuche abhängig von der Faserausrichtungen unterschiedlich gewählt werden müssen: Für Matten mit ausgerichteten Fasern ist eine streifenförmige Probe nötig. Bei unausgerichteten Fasern wird dagegen nach Norm eine Knochenform vorgeschrieben. Da die Ausrichtung u.a. mit der Kollektorgeschwindigkeit variiert, können Parameterstudien nicht mit einer durchgängigen Methodik durchgeführt werden. Weiterhin beeinflusst auch die Polymerkonzentration die Ausrichtung der Fasern - d.h., dass eine Studie der mechanischen Eigenschaften in Abhängigkeit von der Polymerkonzentration nicht mit der selben Probengeometrie durchgeführt werden kann. Im Vorfeld der mechanischen Prüfung muss daher die Ausrichtung bestimmt werden und davon ausgehend die korrekte Probengeometrie gewählt werden. Dies erschwert die Vergleichbarkeit der Ergebnisse stark und ist eine Erklärung für die große Bandbreite von in der Literatur dokumentierten Kennwerten für die mechanischen Eigenschaften elektrogenesponnener Fasermatten (s. Abb. A.2). Eine Validierung dieser Annahme ist aufgrund der sich deutlich voneinander unterscheidenden Versuchsbedingungen und unvollständigen Angaben bezüglich der Versuchsparameter in der Literatur nicht möglich. Dies betrifft die Präparation der Proben, die Einspannung in der Prüfvorrichtung, die Umgebungsbedingungen während des Versuchs sowie weitere verwendeten Prüfparameter.

Die hergestellten Matten erreichten je nach eingestellter Faserausrichtung Reißfestigkeiten von 5 MPa bis 15 MPa und Dehngrenzen von 100% bis 500%. Damit erreichen sie nahezu alle vorab evaluierten Zielgrößen biologischen Gewebes und eignen sich für den Einsatz im Bereich des Tissue Engineering. Es kann zudem davon ausgegangen werden, dass die angestrebte maximale nötige Reißfestigkeit von 20 MPa im Zuge der Besiedlung mit Zellen und der damit einhergehenden Bildung von stabilisierenden nativen Matrixproteinen erreicht wird.

Unabhängig von den beschriebenen Herausforderungen aufgrund von nicht-linearen Abhängigkeiten lassen sich die mechanischen und morphologischen Eigenschaften von elektrogenesponnenen Fasermatten definiert über Lösungs- und Prozessparameter beeinflussen. Über die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten empirischen Studien können aus einer Matrix mit den Parametern

Kollektorgeschwindigkeit und Polymerkonzentration die beiden wichtigsten Strukturmerkmale Faserausrichtung und -durchmesser eingestellt werden (s. Abb. 8.1). Daraus resultierend lassen

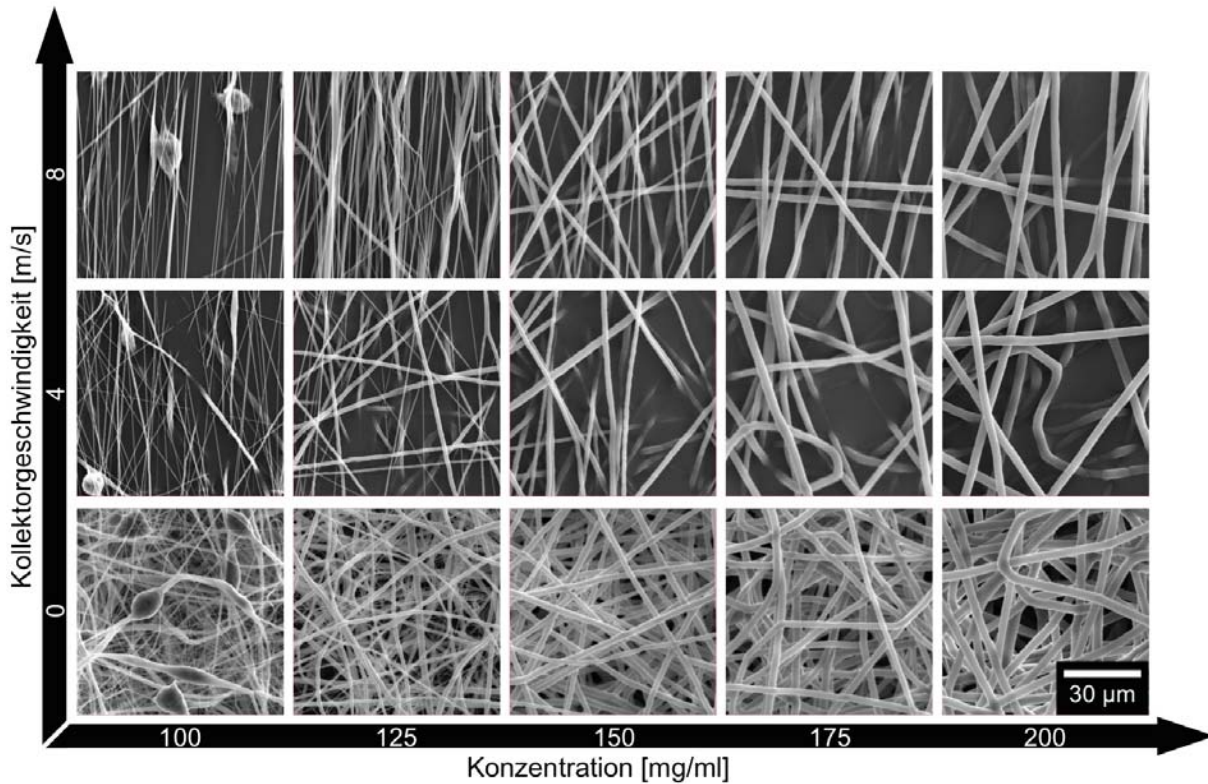


Abbildung 8.1: Matrix der Fasermorphologie abhängig von Kollektorgeschwindigkeit und Polymerkonzentration.

sich auch die mechanischen Eigenschaften einstellen, wobei eine höhere Ausrichtung eine höhere Reißfestigkeit bei verringerter Dehnung bewirkt. Die Eingangshypothese, dass sich die mechanischen und morphologischen Eigenschaften von Fasermatten definiert einstellen lassen, kann somit bestätigt werden.

Auch die Produktion mehrlagiger Gerüste ist mit den entwickelten Anlagenkomponenten möglich. Die Mehrlagigkeit wird beim Rotationskollektor über die Variation der Rotationsgeschwindigkeit und das Verspinnen unterschiedlicher Polymerkonzentrationen realisiert. Dabei ist es wichtig, dass der Übergang der Schichten durch gleichmäßige Anpassung der Prozessparameter kontinuierlich und nicht sprunghaft erfolgt, d.h. dass die Geschwindigkeit nicht abrupt von 8 m/s auf 0 m/s verringert werden sollte. Stattdessen muss sie über einen Zeitraum von wenigen Minuten kontinuierlich abgesenkt bzw. erhöht werden. Die tatsächliche Dauer des Übergangs hängt von der zu spinnenden Geometrie und der pro Fläche und Zeit abgelegten Fasermenge ab. Die minimale und maximale Dicke für die Schichten einer Herzklappe sind mit 10 μm bis über 300 μm erreicht worden. Der Rotationskollektor erzielt dabei höhere Wandstärken als der Translationskollektor. Dafür hat der Translationskollektor einen höheren Gestaltungsspielraum bei der schichtweisen Faserausrichtung.

Die Einstellung der mechanischen Eigenschaften durch die Faserausrichtung auf einem rotierenden Kollektor wurde bereits von anderen Arbeitsgruppen beschrieben [95]. In dieser Arbeit wurde diese Gestaltungsmöglichkeit weiterentwickelt, so dass die Ausrichtung auch graduell während

des Prozesses verändert werden kann. Die dafür entwickelte Steuerungselektronik und Software ist modular für verschiedene Prozessvarianten einsetzbar. Um die Limitationen eines rotierenden Kollektors zu überwinden und die Ausrichtung auch schichtweise mit 90° Versatz variieren zu können, wurde mit dem Translationskollektor ein neues Ablageverfahren entwickelt, das bisher in der Literatur nicht beschrieben ist. Neben der schichtweisen Ausrichtung sind durch die Vordehnung von Fasern auch die mechanischen Eigenschaften einstellbar. Das dabei genutzte Prinzip der Verstreckung von Fasern gleicht dem beim Rotationskollektor auftretenden, jedoch unterscheiden sich die maximal möglichen Zugfestigkeiten. Eine zu hohe Vordehnung durch den Translationskollektor wirkt sich sogar negativ auf die Zugfestigkeit aus.

In Bezug auf die Beeinflussung der Porengröße und die Art der Poren steht eine endgültige Klärung aus. Es hat sich gezeigt, dass die Porosität über alle Parametervariationen hinweg im Mittel konstant bei $80\% \pm 9\%$ liegt. Eine direkte Abhängigkeit von Porosität und Prozess- oder Lösungsparametern konnte nicht gezeigt werden. Hingegen konnte gezeigt werden, dass die Porengröße mit Erhöhung des Faserdurchmessers ansteigt. Die Messung der Porengröße mittels Quecksilberporosimetrie hat sich dabei als wenig aussagekräftig erwiesen: Durch die Elastizität und die geringe Stabilität von einzelnen Fasern kommt es bei der Intrusion des Quecksilbers zur Zerstörung der Gerüststruktur, wodurch die festgestellten Porengrößen deutlich von den optisch festgestellten abweichen. Dies bestätigt auch die Einschätzung von Szentivanyi [8]. Die Perforation von elektrogewebenen Gerüststrukturen mittels Ultrakurzpuls-Laser erlaubt die Einbringung von Poren mit definierter Größe und Abstand. Diese Methode hat einen Gestaltungsspielraum von einigen $10 \mu\text{m}$ bis hin zu einigen $100 \mu\text{m}$ und ist unabhängig von anderen Prozessschritten einsetzbar. In Kombination mit den entwickelten Verfahren zur Erzeugung mehrlageriger und in der Mikrostruktur graduell veränderlicher Fasermatten sowie Laser-basierten Trenn- und Fügeverfahren zur Kombination unterschiedlicher Fasermatten kann daher auch die zweite Hypothese dieser Arbeit bestätigt werden: Es lassen sich mittels Elektrosponnen Gerüststrukturen für das Herzklappen Tissue Engineering erzeugen, deren makroskopische Geometrie unabhängig von der Mikrostruktur einstellbar ist, um den Aufbau natürlichen Gewebes nachzubilden.

9 Zusammenfassung und Ausblick

Der demografische Wandel und die steigende Lebenserwartung der Menschen erfordern neuartige Lösungsansätze, um die steigende Anzahl an Patienten medizinisch zu versorgen. Eine Möglichkeit ist das Tissue Engineering von menschlichem Gewebe wie Blutgefäßen oder Herzklappen, das einen Teilbereich der regenerativen Medizin darstellt. Durch den Einsatz von polymeren, faserförmigen Gerüststrukturen wird der Organismus zur Bildung von nativem Gewebe angeregt. Das Gerüst gibt dabei die Form vor und dient in der Anfangsphase der Gewebeneubildung als mechanisch stabilisierende Struktur, die sich mit der Zeit abbaut. Ein Verfahren zur Herstellung solcher Gerüste stellt das Elektrosponnen von Polymerlösungen dar.

Um elektrogewebene Gerüststrukturen kommerziell verfügbar zu machen, ist es notwendig, ihren Herstellungsprozess reproduzierbar und effizient zu gestalten. Voraussetzung dafür ist eine vollständige oder teilweise Automatisierung des Prozesses bzw. der Herstellungsanlage. Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine solche Teilautomatisierung vorgenommen und die Grundlage für eine vollständige Automatisierung gelegt. Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass sich in einer automatisierten Umgebung auch komplexe Formen mit definierten Eigenschaften mittels Elektrosponnen herstellen lassen. Dies ist besonders in Bezug auf die Biomedizintechnik von hoher Wichtigkeit, da natürliches Gewebe oder Organe meist dreidimensionale Geometrien mit hierarchischen Strukturen aufweisen. Ein weiteres Kriterium für medizinische Produkte ist die Reproduzierbarkeit bei der Herstellung: Ziel ist es, durch Wahl der Prozessparameter Gerüste mit definierten mikrostrukturellen, geometrischen und mechanischen Eigenschaften zu erzeugen. Vorangegangene Studien haben gezeigt, dass sich die Prozessparameter dabei möglicherweise gegenseitig beeinflussen. Daher wurde im Rahmen dieser Arbeit zunächst untersucht, ob solche nicht-linearen Abhängigkeiten existieren und wie diese die Vorhersagbarkeit der Auswirkung von Parametervariationen beeinflussen. Die dieser Arbeit zu Grunde liegenden Hypothesen sollten folglich klären, ob sich die mikrostrukturellen Eigenschaften von elektrogewebenen Strukturen definiert einstellen lassen und ob sich Mikrostruktur und Makrogeometrie unabhängig voneinander einstellen lassen. Um die Ausgangsbedingungen für die notwendigen Parameterstudien zu schaffen, wurden zunächst verschiedene resorbierbare Polymere hinsichtlich ihrer Spinnbarkeit untersucht. Es zeigte sich, dass ein System aus Polycaprolacton als Polymer und Trifluoroethanol als Lösemittel unabhängig von der wechselnden Konfiguration des Aufbaus stets zu einem stabilen Spinnprozess führt. Zudem ließ sich die Polymerlösung über einen breiten Wertebereich der Prozess- und Lösungsparameter zu Fasern verarbeiten, was die folgenden, komparativen Studien ermöglichte. Es galt zunächst zu klären, ob sich die mechanischen und morphologischen Eigenschaften von elektrogewebenen Fasermatten definiert durch Lösungs- und Prozessparameter beeinflussen lassen. Zur Validierung dieser Hypothese wurden zunächst Methoden zur morphologischen und mechanischen Charakterisierung von Fasermatten entwickelt. Als Hauptmerkmale zur Beschreibung der Morphologie wurden der Durchmesser und die Ausrichtung der

Fasern herangezogen, da diese beiden Kriterien maßgeblichen Einfluss auf das Verhalten von Zellen und somit die biologische Verträglichkeit der Gerüststruktur haben.

Im Rahmen von Parameterstudien konnte ermittelt werden, dass eine Erhöhung der Polymerkonzentration zu einer Vergrößerung des Faserdurchmessers führt. Es konnte jedoch auch Wechselwirkungen zwischen dem Einfluss der Konzentration und der Flussrate auf den Durchmesser beobachtet werden. Daher kann keine lineare Abhängigkeit angenommen werden. Ein Einfluss der elektrischen Spannung oder des Abstands zwischen Düse und Kollektor auf den Faserdurchmesser konnte nicht beobachtet werden. Es wurde jedoch ein deutlicher Zusammenhang zwischen dem Abstand und dem mit Fasern besponnenen Bereich auf dem Kollektor nachgewiesen. Diese Erkenntnis wurde als Basis für das gleichmäßige Bessinnen von sehr breiten, für die Massenproduktion geeigneten Kollektoren genutzt. Um die Gleichmäßigkeit weiter zu erhöhen, wurde eine Vorrichtung zur translativen Verschiebung des Kollektors sowie eine im Prozessraum frei positionierbare Düse entwickelt und erfolgreich eingesetzt. Besonders die kontinuierliche, translative Verschiebung des Kollektors unter der Düse hat sich für die Herstellung eines elektrogessponnenen Rohrs mit konstanter Wandstärke bewährt. Bei Versuchen mit rotierenden Kollektoren konnte gezeigt werden, dass die Ausrichtung abgelegter Fasern mit steigender Kollektordrehzahl zunimmt. Weiterhin bewirkte eine Erhöhung der Kollektorgeschwindigkeit eine Verringerung des Faserdurchmessers, deren Ausprägung wiederum von der Polymerkonzentration abhängt. Die Verringerung des Durchmessers ist vor allem auf die Dehnung durch die Relativbewegung zwischen Faserstrom und rotierendem Kollektor zurückzuführen. Auch der Grad der Ausrichtung der Fasern ist abhängig von ihrem Durchmesser, was durch die höhere Trägheit dickerer Fasern und einen langsameren Trocknungsprozess dieser Fasern erklärt werden kann. Aufgrund der Tatsache, dass sich die Eigenschaften Faserausrichtung und -durchmesser nicht unabhängig von einem der Parameter Polymerkonzentration oder Kollektorgeschwindigkeit einstellen lassen, wurden umfangreiche empirische Studien durchgeführt, bei der jede Parameterkombination untersucht wurde. Ergebnis ist eine Parametermatrix mit der sich die gewünschten Fasereigenschaften einstellen lassen. Des Weiteren wurden die Korrelationen zwischen Variation von Parametern und Änderung von mikrostrukturellen, geometrischen sowie mechanischen Eigenschaften bestimmt (s. Abb. 9.1). Die erste Hypothese dieser Arbeit konnte daher bestätigt werden.

Nachdem gezeigt wurde, dass sich die Mikrostruktur von elektrogessponnenen Gerüsten gezielt beeinflussen lässt, wurde im Zuge der zweiten Hypothese evaluiert, wie sich Methoden und Abläufe zur Erzeugung verschiedener Makrogeometrien und Mikrostrukturen kombinieren lassen. Die Herausforderung bestand darin, die Ablage von Fasern mit definierter Mikrostruktur unabhängig von der Geometrie des Kollektors zu ermöglichen, so dass der hierarchische Aufbau von natürlichem Gewebe nachgebildet werden kann. Zu diesem Zweck wurden Rotationsvorrichtungen für Kollektoren unterschiedlicher Größe erprobt. Es zeigte sich zunächst, dass aus jeder Anwendung und der damit verbundenen Größe des Kollektors konstruktive Unterschiede bei der Auslegung der Lagerung und des elektrischen Antriebs resultieren. Dies beruht auf der Tatsache, dass der Motor eines Kollektors mit geringem Durchmesser (z.B. als Gerüst für ein dünnwandiges Blutgefäß) zur Ausrichtung von Fasern viel höhere Drehzahlen erreichen muss als der eines großen Trommelkollektors. Die Rotation eines Kollektors mit hohem Durchmesser erfordert dagegen ein höheres vom Motor bereitgestelltes Drehmoment und eine robustere Lagerung. Für jede Makrogeometrie ist somit ein spezieller Kollektor nötig. Um die komplexe Geometrie einer menschlichen

Herzklappe durch Elektrosponnen nachzubilden, wurde ein mehrteiliger Kollektor konstruiert, der in zwei Schritten besponnen wird. Es zeigte sich, dass die Schichtdicke auf komplex geformten Kollektoren nicht gleichmäßig ist und sich zudem die Mikrostruktur und Ausrichtung der Fasern nicht einstellen lässt. Zur Erweiterung des Gestaltungsspielraums wurde daher ein CO₂-Laser am Institut aufgebaut und für die Bearbeitung elektrogessponnener Gerüste konfiguriert. So konnten Fasermatten in beliebiger Geometrie zugeschnitten und miteinander verschweißt werden. Die Prozessschritte bei der Herstellung wurden dadurch entkoppelt, so dass Mikrostruktur und Makrogeometrie unabhängig voneinander gestaltet werden konnten.

Durch sequentielles Verspinnen unterschiedlicher Polymerlösungen und die Änderung der Kollektorgeschwindigkeit während des Herstellungsprozesses konnte die Mikrostruktur der Gerüststruktur schichtweise variiert werden. Des Weiteren wurde eine Prozessvariante entwickelt, mit der sich der Faserdurchmesser während des Spinnvorgangs einstellen lässt. Dazu wurden eine niedrig- und eine hochkonzentrierte Polymerlösung durch separate Pumpen gefördert und kurz vor der Düse zusammengeführt, so dass eine Mischung der Lösungen entstand. Die Polymerkonzentration ergab sich dabei aus dem Verhältnis der Volumenströme der beiden ursprünglichen Polymerlösungen und konnte mittels einer auf der Kontinuitätsgleichung basierenden Formel exakt eingestellt werden. Weiterhin wurde eine koaxiale Düse zur Inkorporation von Wirkstoffen im Inneren von Fasern entwickelt und erprobt. So konnte eine retardierte Freisetzung von Wirkstoffen realisiert und quantifiziert werden. Besonderer Vorteil war dabei, dass ein initialer 'burst release' vermieden wurde und die Freisetzung der Wirkstoffe gleichmäßig über einen langen Zeit-

	MIKROSTRUKTURELL				GEOMETRISCH			MECHANISCH		
	Faserausrichtung	Faserdurchmesser	Porendurchmesser	Porosität	Schichtdicke	Besponnener Bereich	Kollektorformtreue	Reißfestigkeit	Reißdehnung	E-Modul
Konzentration	⊖	⊕	⊕	⊖		⊖				
Lösemittel		?	?	?		?	?	?	?	?
Flussrate		⊕	?	⊖	⊕	?				
Elektrische Spannung		⊖		⊖		?	?			
Abstand (Düse-Kollektor)		⊖			⊖	⊕				
Kollektorgeschwindigkeit	⊕	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	?	⊕	⊖	⊕

Abbildung 9.1: Korrelationsmatrix von Prozessparametern und Eigenschaften elektrogessponnener Gerüststrukturen.

raum verlief. Zur Ablage von Fasern mit schichtweise, relativer Ausrichtung wurde ein neuartiger Kollektor entwickelt, der das Prinzip des 'gap spinning' durch translative, kontinuierliche Ablage nutzt. Dadurch wird erstmals die direkte Nachbildung der Faserstruktur und der mechanischen Eigenschaften von nativem menschlichem Gewebe möglich. Aufgrund dieser Erkenntnisse konnte auch die zweite Hypothese bestätigt werden.

Im Zuge der Arbeit zeigte sich, dass die Komplexität bei der Ansteuerung aller Anlagenkomponenten mit der Implementierung weiterer Varianten ansteigt. Zur zeitlich genau abgestimmten Ansteuerung der Pumpen und des Kollektors sowie zur Umsetzung sich häufig wiederholender, gleichartiger Abläufe wurde daher eine Software mit intuitiver Bedienoberfläche programmiert. Dadurch wurde das Fundament für die nächste Stufe zur Kontrolle des Elektrospinnprozesses gelegt. In Zukunft gilt es, die bestehende Anlage und ihre Komponenten weiterzuentwickeln. Ziel ist dabei eine weitere Erhöhung des Automatisierungsgrads. So ist es denkbar, alle manuellen Handgriffe wie die Montage des Kollektors oder die Ablösung von Fasermatten durch die Verwendung eines Roboterarms zu realisieren. Gleichzeitig würde ein solcher Arm die freie, reproduzierbare Positionierung des Kollektors in der Prozesskammer erlauben. Dadurch ließen sich auch komplexe Geometrien, wie die einer Herzklappe oder einer Bifurkationsprothese, optimal und gleichmäßig bespinnen. Außerdem wird so die Produktivität der Anlage erhöht und die Herstellung von Kleinserien elektrogewobener Produkte möglich. Die Entwicklung und Abstimmung des gesamten Produktionssystems sollte dabei unter der Prämisse der einfachen Bedienbarkeit und Modularität erfolgen, so dass auch fachfremdes Bedienpersonal mit dem System die Herstellung komplexer Gerüststrukturen realisieren kann. Ein weiterer wichtiger Aspekt für die wirtschaftliche Verwertbarkeit ist die Zulassung elektrogewobener Strukturen nach den Vorgaben des Medizinproduktegesetzes. Dazu muss die Anwendbarkeit von Sterilisationsverfahren weiter erforscht werden. Größte Herausforderung wird dabei der Erhalt der mechanischen und mikrostrukturellen Eigenschaften darstellen. Eine Alternative zur Sterilisation ist die vollständig aseptische Produktion im Reinraum. Dazu ist eine Überarbeitung des Anlagendesigns, der Komponenten und der Arbeitsabläufe notwendig. Um einen Kollektor in Form einer Herzklappe zu erhalten, muss das bisherige 'rapid prototyping' mittels Schmelzschichten von Kunststoff durch das Lasersintern von Metall ersetzt werden. Die Überarbeitung bietet auch die Möglichkeit, das Design und die Konstruktion von Bauteilen weiter zu vereinheitlichen. Dies betrifft u.a. die Materialauswahl, Verbindungskonzepte und elektrische Komponenten wie Motoren und Steuerkarten. Dadurch sinkt der Entwicklungsaufwand und die Skalierbarkeit des Prozesses wird erhöht.

Um die mechanischen Eigenschaften von elektrogewobenen Produkten gezielt einzustellen, sollte erforscht werden, wie diese in mehrschichtigen Konstrukten durch Faserdurchmesser und -ausrichtung beeinflusst werden können. Ziel ist dabei die Nachbildung der mechanischen Eigenschaften von nativem Gewebe. Dazu muss eine anwendungsspezifische Balance aus Stabilität und Elastizität gefunden werden. Es ist zu evaluieren, ob die mechanischen Eigenschaften dabei exakt denen des späteren, voll ausgebildeten Zielgewebes entsprechen sollten oder ob es sinnvoller ist, eine größere Elastizität einzustellen und so eine mechanische Stimulation mit einhergehender Gewebeneubildung zu bewirken. Auch sollte eine Erhöhung der Bioverträglichkeit durch die Einstellung der Degradationsrate und der Benetzbarkeit angestrebt werden. Es hat sich gezeigt, dass sich die mikrostrukturellen Eigenschaften von Gerüststrukturen durch die Perforation mit einem Laser über einen großen Bereich einstellen lassen. Mit entsprechend strukturierten Fasermatten

können Besiedlungsversuche zur Ermittlung des optimalen Porendurchmessers für bestimmte Zelltypen durchgeführt werden. Zudem bietet der Laser die Möglichkeit, komplexe Geometrien zu schneiden und zu fügen. Diese Ansätze sollten weiter verfolgt werden und in ein gemeinsames Produktionssystem mit der Elektrospinanlage integriert werden. Besonders wichtig ist hierbei die Entwicklung eines geeigneten Greif- und Transportsystems für den Kollektor. Das graduelle Elektrospinnen ist eine Möglichkeit, um die Delamination aufeinanderfolgender Schichten zu vermeiden und einen gleichmäßigen Übergang zwischen Faserschichten mit unterschiedlichen Eigenschaften zu erzeugen. In Zukunft können daher Produkte mit mehrlagigem Aufbau hinsichtlich ihrer Eigenschaften und Verwendungszwecke erforscht werden - z.B. als Barrierschicht für eine kontrollierte, retardierte Freisetzung von Wirkstoffen. Aufgrund der Komplexität des Systems mit seiner Vielzahl an Parametern, modularen Anlagenkomponenten und Prozessvarianten sollte ein Datenbanksystem aufgebaut werden, das die durchgeführten Versuche automatisch dokumentiert. Werden zusätzlich die Ergebnisse der mikrostrukturellen und mechanischen Charakterisierung in diese Datenbank eingepflegt, kann ein bestimmter Prozessablauf direkt den resultierenden Eigenschaften zugeordnet werden. So wird eine kontrollierte Produktion möglich, welche die Vielseitigkeit des Elektrospinnprozesses nutzbar macht und gleichzeitig die daraus resultierenden Herausforderungen bewältigt.

A Anhang

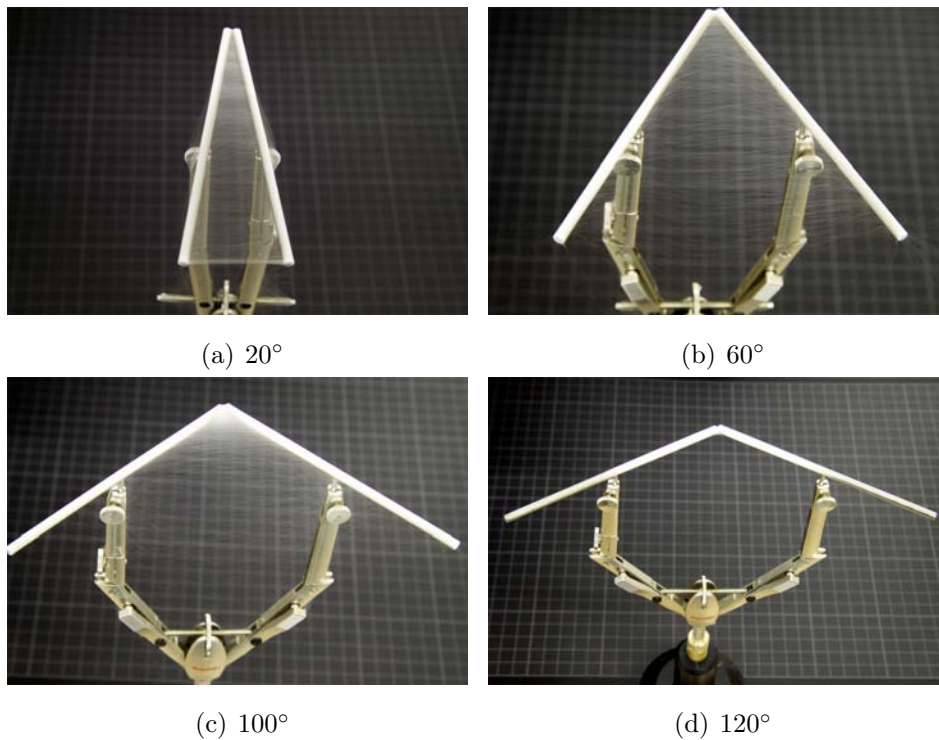


Abbildung A.1: Faserablage beim 'gap spinning' in Abhängigkeit vom Winkel der metallischen Kollektorschlenkel zueinander. Die Fasern werden zunächst dort gesponnen, wo der Abstand zwischen den Schenkeln am geringsten ist (a,b,c). Ab 120° (d) erfolgt kein 'gap spinning' mehr, sondern die Fasern werden ungerichtet direkt auf den Schenkeln abgelegt.

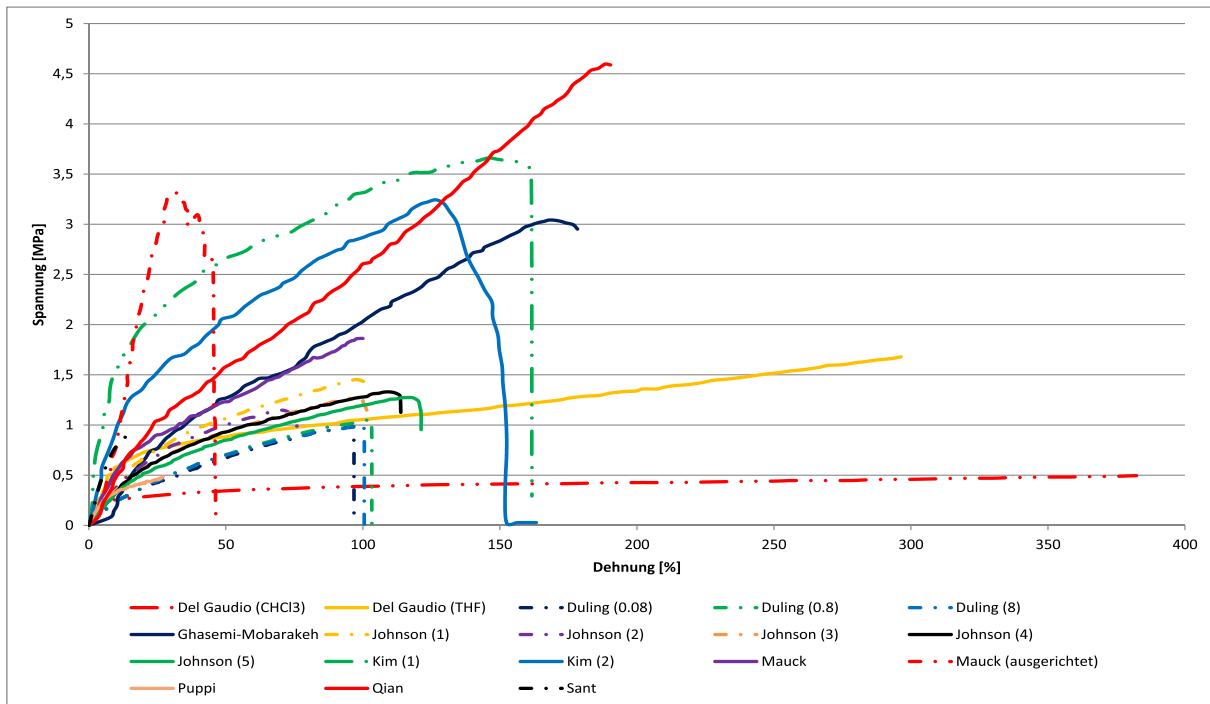


Abbildung A.2: Mechanische Eigenschaften des Polymers Polycaprolacton (Werte aus der Literatur). Dargestellt ist die Zugspannung über die Dehnung. Die verwendeten Lösemittel sind in der Legende ausgewiesen.

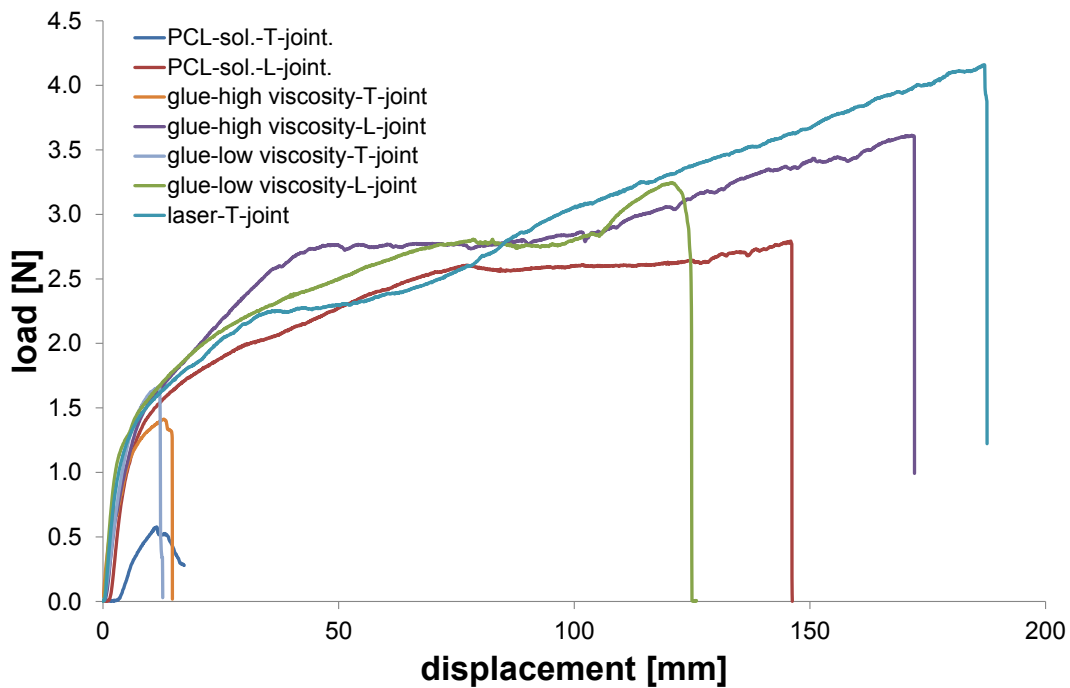


Abbildung A.3: Belastbarkeit von Fügeverbindungen. DEUTSCH

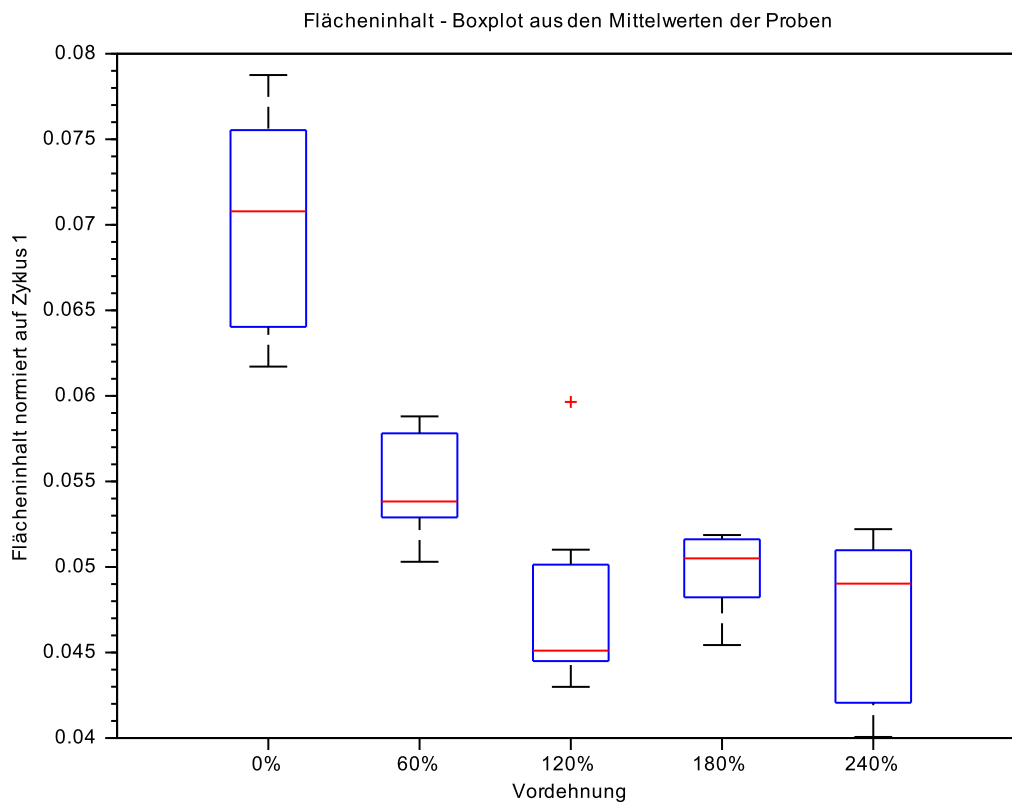
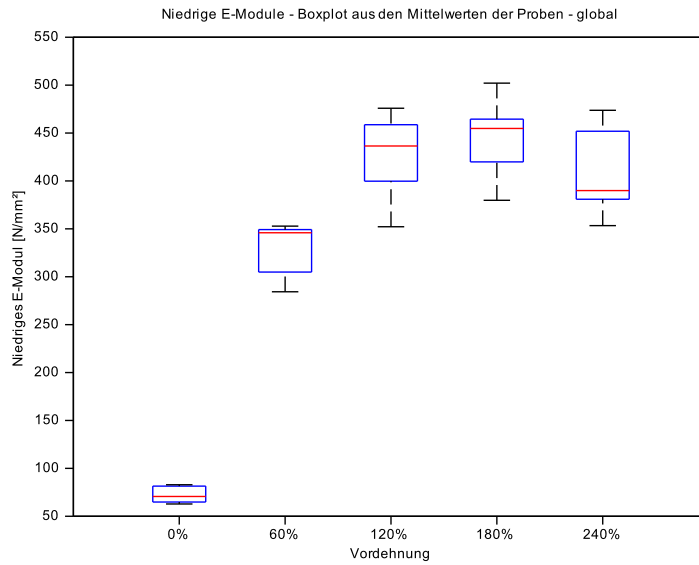
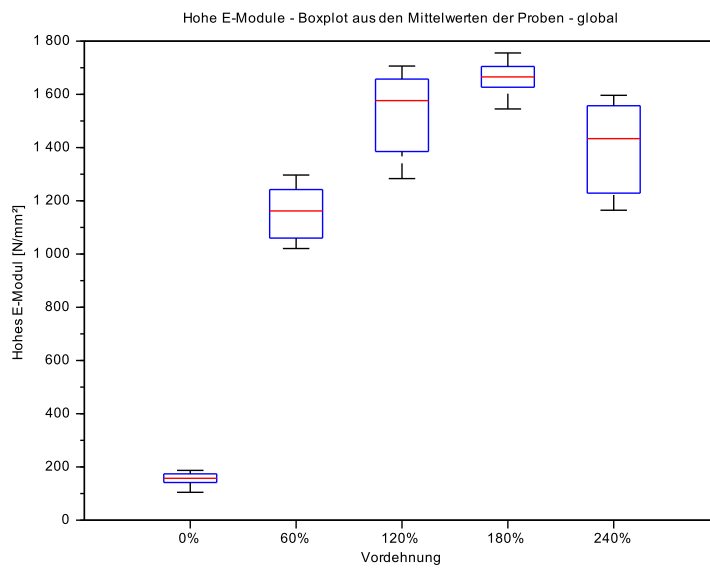


Abbildung A.4: Gemittelte Flächeninhalte der Hysteresekurven bei verschiedenen Vordehnungen durch den Translationskollektor. Grundlage der Berechnung sind die Mittelwerte von fünf Probelosen (0% bis 240% Vordehnung). Es wird deutlich, dass die normierten Werte mit steigender Vordehnung absinken, was auf eine Konditionierung des Materials durch den Vordehnvorgang bei Elektrospleinprozess mit dem Translationskollektor zurückzuführen ist.



(a) Niedrige E-Module



(b) Hohe E-Module

Abbildung A.5: Niedrige und hohe E-Module von Fasermatten mit Vordehnung durch den Translationskollektor.

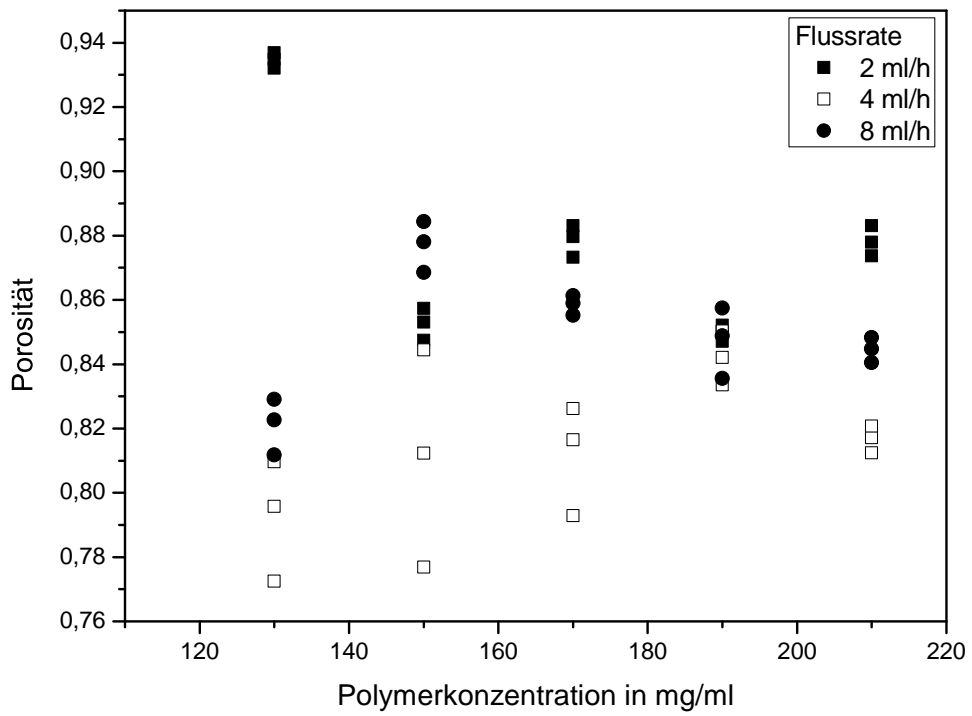


Abbildung A.6: Porosität in Abhängigkeit vom Lösemittel.

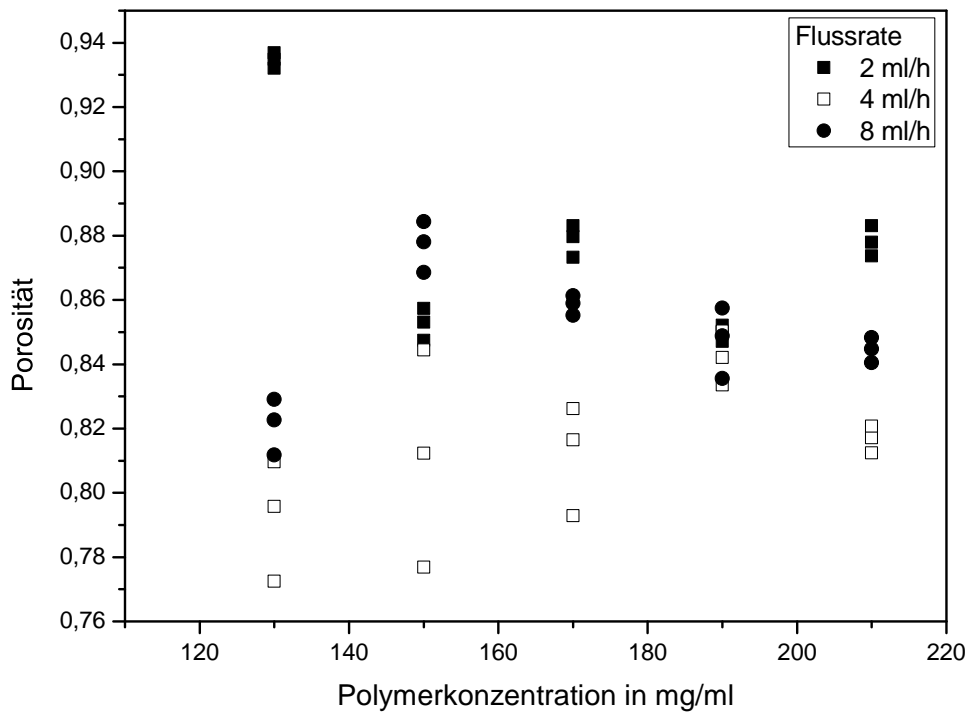


Abbildung A.7: Porosität in Abhängigkeit von der Polymerkonzentration.

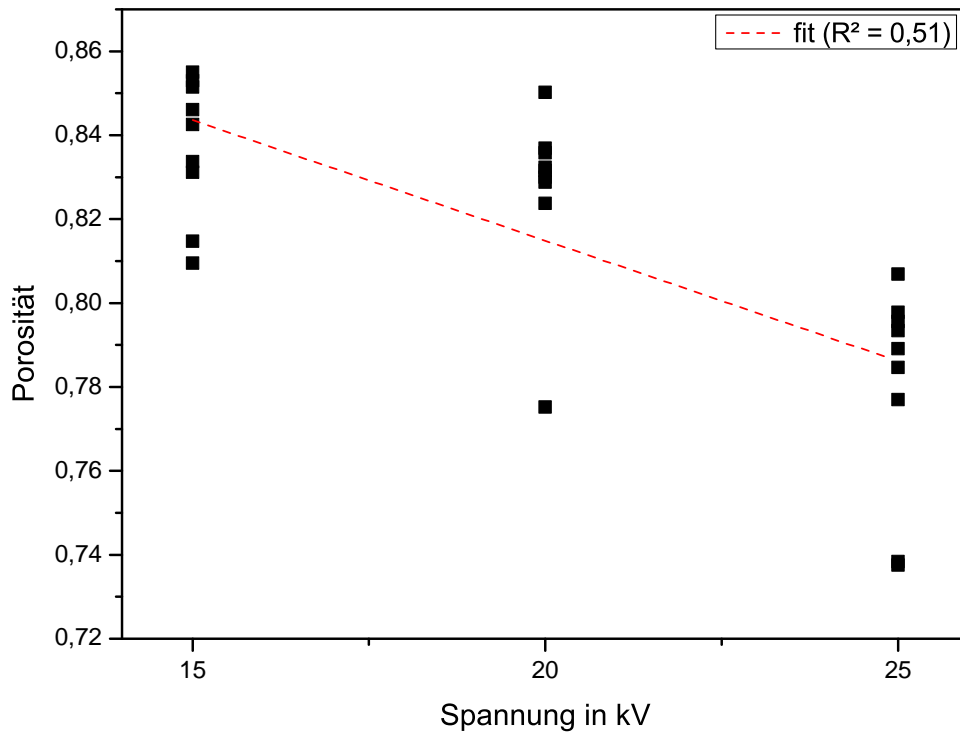


Abbildung A.8: Porosität in Abhängigkeit von der elektrischen Spannung.

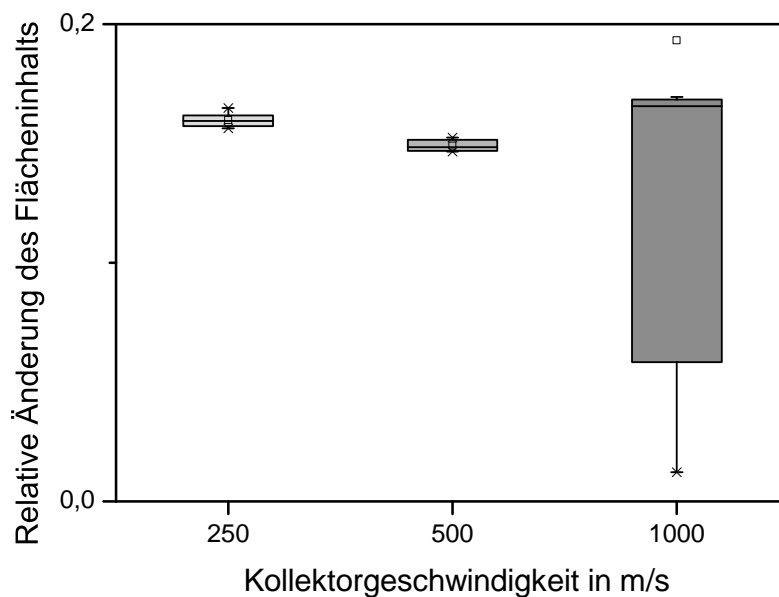


Abbildung A.9: Relative Abnahme des Flächeninhalts der Hysteresekurve in Abhängigkeit von der Kollektorgeschwindigkeit bzw. Faserausrichtung. Die relative Abnahme wird durch den Quotienten aus dem Flächeninhalt der Hysteresekurve bei Prüfzyklus 1 und dem Mittelwert der Zyklen 2 bis 50 berechnet. Der Boxplot stellt das obere und untere Quartil sowie Median und Mittelwert dar. Die Antennen zeigen die minimal und maximal erfassten Werte an.

<i>Faserausrichtung abhängig von Kollektorgeschwindigkeit (interquartil range = Y)</i>			
X	Y1	Y2	Y3
	Polymerkonzentration in mg/ml		
Kollektorgeschwindigkeit in m/s	100	150	200
0	107	103	80
4	23	62	64
8	7	26	32
Korrelationskoeffizient	-0,931	-0,999	-0,982

<i>Faserausrichtung abhängig von Polymerkonzentration (interquartil range = Y)</i>			
X	Y1	Y2	Y3
	Kollektorgeschwindigkeit in m/s		
Polymerkonzentration in mg/ml	0	4	8
100	107	23	7
150	103	62	26
200	80	64	32
Korrelationskoeffizient	-0,926	0,887	0,958

Abbildung A.10: Korrelationsmatrix Faserausrichtung.

<i>Faserdurchmesser abhängig von Polymerkonzentration</i>			
X	Y1	Y2	Y3
	Kollektorgeschwindigkeit in m/s		
Polymerkonzentration in mg/ml	0	4	8
100	0,72919	0,42073	0,40533
125	1,34925	1,16066	0,93492
150	2,07833	2,09117	1,75192
175	2,57283	2,64317	2,41475
200	3,30165	3,28467	2,96172
Korrelationskoeffizient	0,999	0,996	0,998

<i>Faserdurchmesser abhängig von Flussrate</i>			
X	Y1	Y2	Y3
	Polymerkonzentration in mg/ml		
Flussrate in ml/h	140	170	200
2	1,64255	1,87966	2,43186
4	1,34925	2,57283	3,30165
8	1,60549	2,5375	3,85383
Korrelationskoeffizient	0,074	0,726	0,950

<i>Faserdurchmesser abhängig von Kollektorgeschwindigkeit</i>					
X	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5
	Polymerkonzentration in mg/ml				
Kollektorgeschwindigkeit in m/s	100	125	150	175	200
0	0,72919	1,34925	2,07833	2,57283	3,30165
4	0,42073	1,16066	2,09117	2,64317	3,28467
8	0,40533	0,93492	1,75192	2,41475	2,96172
Korrelationskoeffizient	-0,886	-0,999	-0,849	-0,676	-0,887

Abbildung A.11: Korrelationsmatrix Faserdurchmesser.

<i>Porosität abhängig von Polymerkonzentration</i>			
X	Y1	Y2	Y3
Polymerkonzentration in mg/ml	Kollektorgeschwindigkeit in m/s		
	2	4	8
130	0,9346	0,7927	0,8212
150	0,8526	0,8112	0,8770
170	0,8787	0,8118	0,8585
190	0,8498	0,8420	0,8473
210	0,8783	0,8168	0,8445
Korrelationskoeffizient	-0,536	0,705	0,132

<i>Porosität abhängig von Flussrate</i>					
X	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5
Flussrate in ml/h	Polymerkonzentration in mg/ml				
	130	150	170	190	210
2	0,9346	0,8526	0,8787	0,8498	0,8783
4	0,7927	0,8112	0,8118	0,8420	0,8168
8	0,8212	0,8770	0,8585	0,8473	0,8445
Korrelationskoeffizient	-0,618	0,535	-0,108	-0,124	-0,380

<i>Porosität abhängig von elektrischer Spannung</i>	
X	Y
Elektrische Spannung in kV	Porosität
15	0,837447874
20	0,827159308
25	0,780038513
Korrelationskoeffizient	-0,938

Abbildung A.12: Korrelationsmatrix Porosität.

<i>Besponnener Bereich abhängig von elektrischer Spannung</i>	
X	Y
Elektrische Spannung in kV	Besponnener Bereich in cm (kummuliert)
15	6,44
20	6,56
25	6,29
Korrelationskoeffizient	-0,554

<i>Besponnener Bereich abhängig von Abstand Düse-Kollektor</i>	
X	Y
Abstand in cm	Besponnener Bereich in cm (kummuliert)
20	4,32
25	6,56
30	8,74
35	12
Korrelationskoeffizient	0,995

<i>Besponnener Bereich abhängig von Flussrate</i>	
X	Y
Flussrate in ml/h	Besponnener Bereich in cm (kummuliert)
1	4,26
3	6,51
5	6,12
Korrelationskoeffizient	0,773

Abbildung A.13: Korrelationsmatrix besponnener Bereich.

<i>Reißfestigkeit abhängig von Kollektorgeschwindigkeit</i>	
X	Y
Kollektorgeschwindigkeit in m/s	Reißfestigkeit in MPa
0	4,3
4	5,39
8	15,61
Korrelationskoeffizient	0,906

Abbildung A.14: Korrelationsmatrix Reißfestigkeit.

<i>Dehnung abhängig von Kollektorgeschwindigkeit</i>	
X	Y
Kollektorgeschwindigkeit in m/s	Dehnung in mm/mm
0	1,42
4	1,22
8	2,12
Korrelationskoeffizient	0,741

Abbildung A.15: Korrelationsmatrix Dehnung.

<i>E-Modul abhängig von Kollektorgeschwindigkeit</i>	
X	Y
Kollektorgeschwindigkeit in m/s	E-Modul in MPa
0	25,53
4	45,28
8	67,33
Korrelationskoeffizient	0,999

Abbildung A.16: Korrelationsmatrix E-Modul.

Literatur

- [1] T Schmitz-Rode, H Hämmerle, A Haverich, S Jockenhövel, C Schlötelburg und H Walles, „Bioimplantate - Biologische, biologisierte und biofunktionalisierte Implantate“, *Positionspapier acatech*, VDE e.V., DGBMT e.V. 2011.
- [2] E Wintermantel und SW Ha, *Medizintechnik - Life Science Engineering Interdisziplinarität, Biokompatibilität, Technologien, Implantate, Diagnostik, Werkstoffe, Business*, 5. Auflage. München: Springer, 2009.
- [3] J Park und RS Lakes, *Biomaterials - An Introduction*, 9. Aufl. New York: Springer, 2007.
- [4] JR Porter, TT Ruckh und KC Popat, „Bone tissue engineering: A review in bone biomimetics and drug delivery strategies“, *Biotechnology Progress*, Bd. 25, Nr. 6, S. 1539–1560, 2009.
- [5] A Mahapatro, A Kumar und RA Gross, „Mild, solvent-free hydroxy acid polycondensations catalyzed by *Candida antarctica* lipase B“, *Biomacromolecules*, Bd. 5, Nr. 1, S. 62–68, 2004.
- [6] A Khanna, YS Sudha, S Pillai und SS Rath, „Molecular modeling studies of poly lactic acid initiation mechanisms“, *Journal of Molecular Modeling*, Bd. 14, Nr. 5, S. 367–374, 2008.
- [7] WE Teo und S Ramakrishna, *Electrospun nanofibers as a platform for multifunctional, hierarchically organized nanocomposite*, 2009.
- [8] A Szentivanyi, „Struktureinfluss elektrogesponnener Feinstfasermatten auf die Gewebeneubildung“, Dissertation, Leibniz Universität Hannover, 2012.
- [9] T Chakradeo, „Sustained Delivery of Bioactive Molecules from Electrospun Fibres Functionalised Using Different Process Modifications“, PhD, Leibniz Universität Hannover, 2012.
- [10] Blausen-Gallery, „The Structure of an Artery Wall“, *Wikiversity Journal of Medicine*, 2014.
- [11] M Misfeld und HH Sievers, „Heart valve macro- and microstructure.“, *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, Bd. 362, Nr. 1484, S. 1421–1436, 2007.

- [12] WM SWANSON und RE CLARK, „Dimensions and Geometric Relationships of the Human Aortic Valve as a Function of Pressure“, *Circulation Research*, Bd. 35, Nr. 6, S. 871–882, 1974.
- [13] B Demirbag, PY Huri, GT Kose, A Buyuksungur und V Hasirci, „Advanced cell therapies with and without scaffolds.“, *Biotechnology journal*, Bd. 6, Nr. 12, S. 1437–53, 2011.
- [14] S Ramakrishna, *An introduction to electrospinning and nanofibers*, 2005.
- [15] Biomerix Corporation, *Product Broschure - Biomerix 3D Scaffold*, Fremont, 2011.
- [16] CR Wittmer, T Claudepierre, M Reber, P Wiedemann, JA Garlick, D Kaplan und C Egles, „Multifunctionalized Electrospun Silk Fibers Promote Axon Regeneration in the Central Nervous System“, *Advanced Functional Materials*, Bd. 21, Nr. 22, S. 4232–4242, 2011.
- [17] ZH Syedain und RT Tranquillo, „Controlled cyclic stretch bioreactor for tissue-engineered heart valves“, *Biomaterials*, Bd. 30, Nr. 25, S. 4078–4084, 2009.
- [18] TC Flanagan, C Cornelissen, S Koch, B Tschoeke, JS Sachweh, T Schmitz-Rode und S Jockenhoevel, „The in vitro development of autologous fibrin-based tissue-engineered heart valves through optimised dynamic conditioning“, *Biomaterials*, Bd. 28, Nr. 23, S. 3388–3397, 2007.
- [19] M Shin, H Yoshimoto und JP Vacanti, „In vivo bone tissue engineering using mesenchymal stem cells on a novel electrospun nanofibrous scaffold.“, *Tissue engineering*, Bd. 10, Nr. 1-2, S. 33–41, 2004.
- [20] TC Flanagan, JS Sachweh, J Frese, H Schnöring, N Gronloh, S Koch, RH Tolba, T Schmitz-Rode und S Jockenhoevel, „In vivo remodeling and structural characterization of fibrin-based tissue-engineered heart valves in the adult sheep model.“, *Tissue engineering. Part A*, Bd. 15, Nr. 10, S. 2965–2976, 2009.
- [21] S Jockenhövel, *Textil-bewehrte Bioimplantate für die Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie*, Aachen, 2013.
- [22] ME Hoque, WY San, F Wei, S Li, MH Huang, M Vert und DW Hutmacher, „Processing of polycaprolactone and polycaprolactone-based copolymers into 3D scaffolds, and their cellular responses.“, *Tissue engineering. Part A*, Bd. 15, Nr. 10, S. 3013–3024, 2009.
- [23] FM Shaikh, A Callanan, EG Kavanagh, PE Burke, PA Grace und TM McGloughlin, *Fibrin: A natural biodegradable scaffold in vascular tissue engineering*, 2008.
- [24] BS Jha, CE Ayres, JR Bowman, TA Telemeco, SA Sell, GL Bowlin und DG Simpson, „Electrospun Collagen: A Tissue Engineering Scaffold with Unique Functional Properties in a Wide Variety of Applications“, *Journal of Nanomaterials*, Bd. 2011, S. 1–15, 2011.

- [25] BD Gogas, V Farooq, Y Onuma und PW Serruys, „The ABSORB Bioresorbable Vascular Scaffold: An Evolution or Revolution in Interventional Cardiology“, *Hellenic Journal of Cardiology*, Bd. 53, Nr. 4, S. 301–309, 2012.
- [26] Ac Albertsson und IK Varma, „Aliphatic Polyesters : Synthesis , Properties and Applications“, *Polymer*, Bd. 157, Nr. 1, S. 1–40, 2002.
- [27] L Averous, *Handbook of Biopolymers and Biodegradable Plastics*, S Ebnesajjad, Hrsg. Elsevier, 2013, S. 171–188.
- [28] K Van De Velde und P Kiekens, *Biopolymers: Overview of several properties and consequences on their applications*, 2002.
- [29] RF Grossman und D Nwabunma, *Poly(Lactic Acid) - Synthesis, Structures, Properties, Processing, and Applications*, 1. Aufl., R Auras, LT Lim, SE Selke und H Tsuji, Hrsg. Hoboken: Wiley, 2010.
- [30] AP Gupta und V Kumar, *New emerging trends in synthetic biodegradable polymers - Polylactide: A critique*, 2007.
- [31] M Vert, SM Li, G Spenlehauer und P Guerin, „Bioresorbability and biocompatibility of aliphatic polyesters“, *Journal of Materials Science Materials in Medicine*, Bd. 3, Nr. 6, S. 432–446, 1992.
- [32] P Petrini, C Parolari und MC Tanzi, „Silk fibroin-polyurethane scaffolds for tissue engineering“, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, Bd. 12, Nr. 10–12, S. 849–853, 2001.
- [33] JMR P. Dubois O. Coulembier, *Handbook of Ring-Opening Polymerization*. Wiley-VCH Verlag, 2009, S. 53–68.
- [34] M Möller, R Kange und JL Hedrick, „Sn (OTf) 2 and Sc (OTf) 3 : Efficient and Versatile Catalysts for the Controlled Polymerization of Lactones“, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, Bd. 38, S. 2067–2074, 2000.
- [35] R Platel, L Hodgson und C Williams, *Biocompatible Initiators for Lactide Polymerization*, 2008.
- [36] KM Sawicka und P Gouma, *Electrospun composite nanofibers for functional applications*, 2006.
- [37] A Khanna, YS Sudha, S Pillai und SS Rath, „Molecular modeling studies of poly lactic acid initiation mechanisms.“, *Journal of molecular modeling*, Bd. 14, Nr. 5, S. 367–374, 2008.
- [38] M Lindblad, Y Liu, AC Albertsson, E Ranucci und S Karlsson, „Degradable Aliphatic Polyesters“, *Adv. Polym. Sci.*, Advances in Polymer Science, Bd. 157, S. 139–161, 2002.
- [39] W Cui, X Li, S Zhou und J Weng, *Degradation patterns and surface wettability of electrospun fibrous mats*, 2008.

- [40] C Braud, R Devarieux, A Atlan, C Ducos und M Vert, „Capillary zone electrophoresis in normal or reverse polarity separation modes for the analysis of hydroxy acid oligomers in neutral phosphate buffer.“, *Journal of chromatography. B, Biomedical sciences and applications*, Bd. 706, Nr. 1, S. 73–82, 1998.
- [41] H Dong, Hd Wang, Sg Cao und Jc Shen, „Lipase-catalyzed polymerization of lactones and linear hydroxyesters“, *Biotechnology Letters*, Bd. 20, Nr. 10, S. 905–908, 1998.
- [42] H Pasch und W Schrepp, *MALDI-TOF Mass Spectrometry of Synthetic Polymers*. Berlin/Heidelberg: Springer, 2003.
- [43] G Jander und H Spandau, *Kurzes Lehrbuch der Anorganischen Chemie - „Wasser-ähnliche“*, *anorganische Lösungsmittel*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 1943, S. 409–417.
- [44] F Faupel, U Bornscheuer, A Pühler u. a., *Römpf Lexikon Chemie*, online. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 2014.
- [45] RH Colby, M Rubinstein und JL Viovy, *Chain entanglement in polymer melts and solutions*, 1992.
- [46] M Rubinstein und S Panyukov, *Polymer Entanglements*, 2011.
- [47] Halocarbon, „MSDS Trifluoroethanol“, 2008.
- [48] „MSDS Hexafluoroisopropanol“, *Carl Roth GmbH*, 2012.
- [49] „MSDS Chloroform“, *Sigma Aldrich*, 2015.
- [50] C Del Gaudio, A Bianco, M Folin, S Baiguera und M Grigioni, „Structural characterization and cell response evaluation of electrospun PCL membranes: micrometric versus submicrometric fibers“, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, Bd. 89, Nr. 4, S. 1028–1039, 2009.
- [51] ISO, „Plastics - Determination of tensile properties - Part 1: General principles“, *ISO 527-1*, Bd. 3, 1996.
- [52] —, „Plastics - Determination of tensile properties - Part 3: Test conditions for films and sheets“, *ISO 527-3*, Bd. 1, 1993.
- [53] A Cipitria, A Skelton, TR Dargaville, PD Dalton und DW Hutmacher, „Design, fabrication and characterization of PCL electrospun scaffolds—a review“, *Journal of Materials Chemistry*, Bd. 21, Nr. 26, S. 9419, 2011.
- [54] A Szentivanyi, T Chakradeo, H Zernetsch und B Glasmacher, „Electrospun cellular microenvironments: Understanding controlled release and scaffold structure“, *Advanced Drug Delivery Reviews*, Bd. 63, Nr. 4-5, S. 209–220, 2011.

- [55] AL Szentivanyi, H Zernetsch, H Menzel und B Glasmacher, „A review of developments in electrospinning technology: New opportunities for the design of artificial tissue structures“, *The International journal of artificial organs*, Bd. 34, Nr. 10, S. 986–997, 2011.
- [56] F Croisier, AS Duwez, C Jérôme, AF Léonard, KO Van Der Werf, PJ Dijkstra und ML Bennink, „Mechanical testing of electrospun PCL fibers“, *Acta Biomaterialia*, Bd. 8, Nr. 1, S. 218–224, 2011.
- [57] EW Washburn, „Note on a Method of Determining the Distribution of Pore Sizes in a Porous Material“, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Bd. 7, Nr. 4, S. 115–116, 1921.
- [58] W Cui, X Zhu, Y Yang, X Li und Y Jin, „Evaluation of electrospun fibrous scaffolds of poly(dl-lactide) and poly(ethylene glycol) for skin tissue engineering“, *Materials Science and Engineering C*, Bd. 29, Nr. 6, S. 1869–1876, 2009.
- [59] JL Drury und DJ Mooney, *Hydrogels for tissue engineering: Scaffold design variables and applications*, 2003.
- [60] BM Baker, NL Nerurkar, JA Burdick, DM Elliott und RL Mauck, „Fabrication and modeling of dynamic multipolymer nanofibrous scaffolds.“, *Journal of biomechanical engineering*, Bd. 131, Nr. 10, S. 101 012, 2009.
- [61] BM Baker, RP Shah, AM Silverstein, JL Esterhai, JA Burdick und RL Mauck, *Sacrificial nanofibrous composites provide instruction without impediment and enable functional tissue formation*, 2012.
- [62] SD McCullen, S Ramaswamy, LI Clarke und RE Gorga, „Nanofibrous composites for tissue engineering applications.“, *Wiley interdisciplinary reviews. Nanomedicine and nanobiotechnology*, Bd. 1, Nr. 4, S. 369–90, 2009.
- [63] J Venugopal und S Ramakrishna, „Applications of polymer nanofibers in biomedicine and biotechnology.“, *Applied biochemistry and biotechnology*, Bd. 125, Nr. 3, S. 147–158, 2005.
- [64] MP Prabhakaran, J Venugopal, D Kai und S Ramakrishna, *Biomimetic material strategies for cardiac tissue engineering*, 2011.
- [65] MP Prabhakaran, JR Venugopal, TT Chyan, LB Hai, CK Chan, AY Lim und S Ramakrishna, „Electrospun biocomposite nanofibrous scaffolds for neural tissue engineering.“, *Tissue engineering. Part A*, Bd. 14, Nr. 11, S. 1787–1797, 2008.
- [66] MR Abidian, ED Daneshvar, BM Egeland, DR Kipke, PS Cederna und MG Urbanchek, „Hybrid Conducting Polymer-Hydrogel Conduits for Axonal Growth and Neural Tissue Engineering“, *Advanced Healthcare Materials*, Bd. 1, Nr. 6, S. 762–767, 2012.

- [67] K Mendelson und FJ Schoen, „Heart valve tissue engineering: concepts, approaches, progress, and challenges.“, *Annals of biomedical engineering*, Bd. 34, Nr. 12, S. 1799–1819, 2006.
- [68] S Hinderer, J Seifert, M Votteler, N Shen, J Rheinlaender, TE Schäffer und K Schenke-Layland, „Engineering of a bio-functionalized hybrid off-the-shelf heart valve“, *Biomaterials*, Bd. 35, Nr. 7, S. 2130–2139, 2014.
- [69] CS Cho, SJ Seo, IK Park, SH Kim, TH Kim, T Hoshiba, I Harada und T Akaike, *Galactose-carrying polymers as extracellular matrices for liver tissue engineering*, 2006.
- [70] H Ijima, H Mizumoto, K Nakazawa, T Kajiwara, T Matsushita und K Funatsu, „Hepatocyte growth factor and epidermal growth factor promote spheroid formation in polyurethane foam/hepatocyte culture and improve expression and maintenance of albumin production“, *Biochemical Engineering Journal*, Bd. 47, Nr. 1-3, S. 19–26, 2009.
- [71] CM Vaz, S van Tuijl, CVC Bouten und FPT Baaijens, „Design of scaffolds for blood vessel tissue engineering using a multi-layering electrospinning technique“, *Acta Biomaterialia*, Bd. 1, Nr. 5, S. 575–582, 2005.
- [72] D Schmidt, UA Stock und SP Hoerstrup, „Tissue engineering of heart valves using decellularized xenogeneic or polymeric starter matrices.“, *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, Bd. 362, Nr. 1484, S. 1505–1512, 2007.
- [73] T Krings, RL Piske und PL Lasjaunias, „Intracranial arterial aneurysm vasculopathies: Targeting the outer vessel wall“, *Neuroradiology*, Bd. 47, Nr. 12, S. 931–937, 2005.
- [74] VL Roger, AS Go, DM Lloyd-Jones u. a., „Heart disease and stroke statistics–2011 update: a report from the American Heart Association.“, *Circulation*, Bd. 123, Nr. 4, e18–e209, 2011.
- [75] V Zykla-Menhorn, „Aortenklappenstenose: Wie man Herzklappen per Gefäßkatheter ersetzt“, *The New England Journal of Medicine*, Bd. 363, Nr. 6, S. 211–213, 2011.
- [76] D Aicher und HJ Schäfers, „Aortic Valve Repair-Current Status, Indications, and Outcomes“, *Seminars in Thoracic and Cardiovascular Surgery*, Bd. 24, Nr. 3, S. 195–201, 2012.
- [77] ER Mohler, *Mechanisms of aortic valve calcification*, 2004.
- [78] FJ Schoen, „Evolving concepts of cardiac valve dynamics: the continuum of development, functional structure, pathobiology, and tissue engineering.“, *Circulation*, Bd. 118, Nr. 18, S. 1864–1880, 2008. arXiv: 56749158817.

- [79] G Hoffmann, G Lutter und J Cremer, „Durability of bioprosthetic cardiac valves.“, *Deutsches Arzteblatt international*, Bd. 105, Nr. 8, S. 143–148, 2008.
- [80] D Schmidt, PE Dijkman, A Driessen-Mol u. a., „Minimally-invasive implantation of living tissue engineered heart valves: a comprehensive approach from autologous vascular cells to stem cells.“, *Journal of the American College of Cardiology*, Bd. 56, Nr. 6, S. 510–520, 2010.
- [81] H Treede, „TAVI in Europe“, *AATS Annual Meeting*, 2013.
- [82] S Cebotari, A Lichtenberg, I Tudorache u. a., „Clinical application of tissue engineered human heart valves using autologous progenitor cells.“, Department of Thoracic und Cardiovascular Surgery, Hannover Medical School, Carl-Neuberg-Strasse 1, D-30625 Hannover, Germany. cebotari.serghei@mh-hannover.de, Techn. Ber. 1 Suppl, 2006, S. I132–I137.
- [83] J Zhou, O Fritze, M Schleicher, HP Wendel, K Schenke-Layland, C Harasztosi, S Hu und UA Stock, „Impact of heart valve decellularization on 3-D ultrastructure, immunogenicity and thrombogenicity“, *Biomaterials*, Bd. 31, Nr. 9, S. 2549–2554, 2010.
- [84] S Jockenhoevel, K Chalabi, JS Sachweh, HV Groesdonk, L Demircan, M Grossmann, G Zund und BJ Messmer, „Tissue engineering: Complete autologous valve conduit - A new moulding technique“, *Thoracic and Cardiovascular Surgeon*, Bd. 49, Nr. 5, S. 287–290, 2001.
- [85] C Del Gaudio, A Bianco und M Grigioni, „Electrospun bioresorbable trileaflet heart valve prosthesis for tissue engineering: in vitro functional assessment of a pulmonary cardiac valve design.“, *Annali dell’Istituto superiore di sanita*, Bd. 44, Nr. 2, S. 178–186, 2008.
- [86] MI Van Lieshout, CM Vaz, MCM Rutten, GWM Peters und FPT Baaijens, „Electrospinning versus knitting: two scaffolds for tissue engineering of the aortic valve“, *Journal of biomaterials science Polymer edition*, Bd. 17, Nr. 1-2, S. 77–89, 2006.
- [87] H Zernetsch, „Entwicklung eines Verfahrens zur Herstellung von Scaffoldstrukturen für das Herzklappen Tissue Engineering“, Diplomarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2009.
- [88] H Hong, N Dong, J Shi, S Chen, C Guo, P Hu und H Qi, „Fabrication of a novel hybrid scaffold for tissue engineered heart valve.“, *Journal of Huazhong University of Science and Technology. Medical sciences = Hua zhong ke ji da xue xue bao. Yi xue Ying De wen ban = Huazhong keji daxue xuebao. Yixue Yingdewen ban*, Bd. 29, Nr. 5, S. 599–603, 2009.
- [89] —, „Fabrication of a novel hybrid heart valve leaflet for tissue engineering: an in vitro study.“, *Artificial organs*, Bd. 33, Nr. 7, S. 554–558, 2009.

- [90] UA Stock, M Nagashima, PN Khalil u. a., „Tissue-engineered valved conduits in the pulmonary circulation.“, *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, Bd. 119, Nr. 4 Pt 1, S. 732–740, 2000.
- [91] D Schmidt und SP Hoerstrup, „Tissue engineered heart valves based on human cells.“, *Swiss medical weekly*, Bd. 136, Nr. 39-40, S. 618–23, 2006.
- [92] Biomedical Structures Inc, *Product Broschure - Biofelt*, Sunnyvale, 2013.
- [93] KH Grote und J Feldhusen, *Dubbel: Taschenbuch für den Maschinenbau*, 2012.
- [94] A Raic, L Rödling, H Kalbacher und C Lee-Thedieck, „Biomimetic macroporous PEG hydrogels as 3D scaffolds for the multiplication of human hematopoietic stem and progenitor cells“, *Biomaterials*, Bd. 35, Nr. 3, S. 929–940, 2014.
- [95] J Lee, MJ Cuddihy und NA Kotov, „Three-dimensional cell culture matrices: state of the art.“, *Tissue engineering. Part B, Reviews*, Bd. 14, Nr. 1, S. 61–86, 2008.
- [96] H Zernetsch, T Chakradeo, A Szentivanyi, B Glasmacher, H Menzel und P Behrens, „Traeger, Tracer und Depots“, *Kunststoffe in der Medizintechnik*, 2010.
- [97] S Wienecke, „Gerichtet erstarrte Schichtstrukturen mit hierarchischem Aufbau“, Dissertation, Leibniz Universität Hannover, 2014.
- [98] Matricel GmbH, *Product Broschure - OptiMaix - Collagen Scaffolds for Cell Culture and Tissue Engineering*, Herzogenrath, 2007.
- [99] P Müller, *Feucht heilt schneller als trocken - kleinere Verletzungen richtig behandeln*, mue14hz, 2014.
- [100] CELLON S.A., *ArtiGEL 2 synthetic matrix precursor for 3D cell culture*, 2014.
- [101] L Yla-Outinen, T Joki, M Varjola, H Skottman und S Narkilahti, „Three dimensional growth matrix for human embryonic stem cell derived neuronal cells“, *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 2012.
- [102] H Yamaoka, H Asato, T Ogasawara u. a., „Cartilage tissue engineering using human auricular chondrocytes embedded in different hydrogel materials“, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, Bd. 78, Nr. 1, S. 1–11, 2006.
- [103] T Rajangam und SSa An, „Fibrinogen and fibrin based micro and nano scaffolds incorporated with drugs, proteins, cells and genes for therapeutic biomedical applications.“, *International journal of nanomedicine*, Bd. 8, S. 3641–3662, 2013.
- [104] C Chang und L Zhang, *Cellulose-based hydrogels: Present status and application prospects*, 2011.
- [105] F Melchels, PS Wiggemhauser, D Warne, M Barry, FR Ong, WS Chong, DW Hutmacher und JT Schantz, „CAD/CAM-assisted breast reconstruction.“, *Biofabrication*, Bd. 3, Nr. 3, S. 034114, 2011.

- [106] L Bennefeld, „Laser als Werkzeug - Laser sorgt für Revolution in der Fertigung“, *VDI - Technik und Leben*, S. 1–2, März 2014.
- [107] D Duerand, R Eisert und T Kuhn, „Im Lasergewitter“, *WirtschaftsWoche Nr. 12*, S. 64–66, März 2014.
- [108] S Eosoly, G Ryder, T Tansey und L Looney, „Accuracy and Mechanical Properties of Open-Cell Microstructures Fabricated by Selective Laser Sintering“, *Technology*, S. 540–551, 2007.
- [109] CM Cheah, CK Chua, KF Leong und SW Chua, „Development of a Tissue Engineering Scaffold Structure Library for Rapid Prototyping. Part 2: Parametric Library and Assembly Program“, *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, Bd. 21, Nr. 4, S. 302–312, 2003.
- [110] VK Popov, AV Evseev, AL Ivanov, VV Roginski, AI Volozhin und SM Howdle, „Laser stereolithography and supercritical fluid processing for custom-designed implant fabrication“, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, Bd. 15, Nr. 2, S. 123–128, 2004.
- [111] BN Chichkov und A Ostendorf, „Two-Photon Polymerization: A New Approach to Micromachining“, *Photonics Spectra*, Bd. 40, Nr. October, S. 72–79, 2006.
- [112] A Ovsianikov, A Deiwick, S Van Vlierberghe, M Pflaum, M Wilhelmi, P Dubruel und B Chichkov, „Laser Fabrication of 3D Gelatin Scaffolds for the Generation of Bioartificial Tissues“, *Materials*, Bd. 4, Nr. 1, S. 288–299, 2011.
- [113] M Gruene, A Deiwick, L Koch, S Schlie, C Unger, N Hofmann, I Bernemann, B Glasmacher und B Chichkov, „Laser Printing of Stem Cells for Biofabrication of Scaffold-Free Autologous Grafts“, *Tissue engineering Part C Methods*, Bd. 17, Nr. 1, S. 1–36, 2010.
- [114] M Gruene, M Pflaum, C Hess u. a., *Laser Printing of Three-Dimensional Multicellular Arrays for Studies of Cell–Cell and Cell–Environment Interactions*, 2011.
- [115] I Hamana, „Der Verlauf der Fadenbildung beim Schmelzspinnen“, *Lenzinger Berichte*, Bd. 26, S. 118–132, 1968.
- [116] DW Hutmacher und PD Dalton, „Melt electrospinning.“, *Chemistry, an Asian journal*, Bd. 6, Nr. 1, S. 44–56, 2011.
- [117] S Sohn und SP Gido, „Wet-spinning of osmotically stressed silk fibroin.“, *Biomacromolecules*, Bd. 10, Nr. 8, S. 2086–2091, 2009.
- [118] Biomedical Structures Inc, *Product Broschure - Woven*, Sunnyvale, 2013.
- [119] —, *Product Broschure - Braided*, Sunnyvale, 2013.
- [120] —, *Product Broschure - Non-woven*, Sunnyvale, 2013.
- [121] MI van Lieshout, „Tissue engineered aortic valves based on a knitted scaffold“, Proefschrift, Technische Universiteit Eindhoven, Eindhoven, 2005, S. 41–43.

- [122] M Van Lieshout, G Peters, M Rutten und F Baaijens, „A knitted, fibrin-covered polycaprolactone scaffold for tissue engineering of the aortic valve.“, *Tissue engineering*, Bd. 12, Nr. 3, S. 481–487, 2006.
- [123] ARTIMPLANT AB, *Artelon - A degradable polyurethaneurea*, Västra Frölunda, 2005.
- [124] AL Andraday, *Science and Technology of Polymer Nanofibers*. Wiley-Interscience.
- [125] HW Tong und M Wang, „Electrospinning of fibrous polymer scaffolds using positive voltage or negative voltage: a comparative study.“, *Biomedical materials (Bristol, England)*, Bd. 5, Nr. 5, S. 054 110, 2010.
- [126] YN Filatov, *Wissenschaftlich-technisches Zentrum Aerosol*, 2014.
- [127] aL Yarin, S Koombhongse und DH Reneker, „Taylor cone and jetting from liquid droplets in electrospinning of nanofibers“, *Journal of Applied Physics*, Bd. 90, Nr. 9, S. 4836–4846, 2001.
- [128] AE Manis, JR Bowman, GL Bowlin und DG Simpson, „Electrospun nitrocellulose and nylon: Design and fabrication of novel high performance platforms for protein blotting applications“, *Journal of biological engineering*, Bd. 1, S. 2, 2007.
- [129] MM Demir, I Yilgor, E Yilgor und B Erman, „Electrospinning of polyurethane fibers“, *Polymer*, Bd. 43, Nr. 11, S. 3303–3309, 2002.
- [130] N Wang, K Burugapalli, W Song, J Halls, F Moussy, Y Zheng, Y Ma, Z Wu und K Li, „Tailored fibro-porous structure of electrospun polyurethane membranes, their size-dependent properties and trans-membrane glucose diffusion“, *Journal of Membrane Science*, Bd. 427, S. 207–217, 2013.
- [131] S Baker, J Sigley, CC Helms, J Stitzel, J Berry, K Bonin und M Guthold, „The mechanical properties of dry, electrospun fibrinogen fibers“, *Materials Science and Engineering C*, Bd. 32, Nr. 2, S. 215–221, 2012.
- [132] SH Teng, P Wang und HE Kim, „Blend fibers of chitosan-agarose by electrospinning“, *Materials Letters*, Bd. 63, Nr. 28, S. 2510–2512, 2009.
- [133] P Van Royen, B Boschmans, A Dos Santos, E Schacht, P Dubrue, R Cornelissen, L Beenaerts und L Van Vaec, „Static secondary ion mass spectrometry for the surface characterisation of individual nanofibres of polycaprolactone functionalised with an antibacterial additive“, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, Bd. 399, Nr. 3, S. 1163–1172, 2011.
- [134] SD McCullen, DR Stevens, WA Roberts, LI Clarke, SH Bernacki, RE Gorga und EG Lobo, „Characterization of electrospun nanocomposite scaffolds and biocompatibility with adipose-derived human mesenchymal stem cells.“, *International journal of nanomedicine*, Bd. 2, Nr. 2, S. 253–263, 2007.

- [135] LY Yeo und JR Friend, „Electrospinning carbon nanotube polymer composite nanofibers“, *Journal of Experimental Nanoscience*, Bd. 1, Nr. 2, S. 177–209, 2006.
- [136] N Tucker und J Stanger, „The History of the Science and Technology of Electrospinning from 1600 to 1995.“, ... *Fabrics & Fibers* (... , S. 63–73, 2012.
- [137] JF Cooley, *Apparatus for electrically dispersing fluids*, 1902.
- [138] A Formhals, *Process and apparatus for preparing artificial threads*, 1934.
- [139] ScopusDocumentSearch, „Analysis of search results - keyword 'electrospinning'“, *www.scopus.com*,
- [140] H Niu und T Lin, *Fiber generators in needleless electrospinning*, 2012.
- [141] Elmarco, „Nanospider Production Line“, *Product profile*, 2011.
- [142] H Niu, X Wang und T Lin, „Needleless Electrospinning: Developments and Performances“, in *Nanofibers – Production, Properties and Functional Applications*, T Lin, Hrsg., 2011, Kap. 2, S. 17–36.
- [143] M Dubský, Š Kubinová, J Širc u. a., „Nanofibers prepared by needleless electrospinning technology as scaffolds for wound healing“, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, Bd. 23, Nr. 4, S. 931–941, 2012.
- [144] J Hannappel, „Nanomanufacturing and Analysis of Novel Integrated Continuous Nanofibers“, Masterthesis, University of Nebraska-Lincoln, 2010.
- [145] IME-Technologies, „Electrospinning Equipment“, *Brochure 2011*, 2011.
- [146] Xf Wang, ZM Huang und Ls Chen, „Comparison study on transparent composites with different patterns of nanofiber reinforcement“, *Fibers and Polymers*, Bd. 12, Nr. 3, S. 359–365, Juni 2011.
- [147] B Cowen, „E-1000 Single Syringe Pump Manual“, *New Era Pump Systems, Inc.*, 2012.
- [148] BBraun, „Infusion - Einfach sicher arbeiten“, *Produktkatalog*, 2014.
- [149] T Jarusuwannapoom, W Hongrojjanawiwat, S Jitjaicham, L Wannatong, M Nithitanakul, C Pattamaprom, P Koombhongse, R Rangkupan und P Supaphol, „Effect of solvents on electro-spinnability of polystyrene solutions and morphological appearance of resulting electrospun polystyrene fibers“, *European Polymer Journal*, Bd. 41, Nr. 3, S. 409–421, 2005.
- [150] A Theron, E Zussman und AL Yarin, „Electrostatic field-assisted alignment of electrospun nanofibres“, *Nanotechnology*, Bd. 12, Nr. 3, S. 384–390, 2001.
- [151] S Zhong, WE Teo, X Zhu, RW Beuerman, S Ramakrishna und LYL Yung, „An aligned nanofibrous collagen scaffold by electrospinning and its effects on in vitro fibroblast culture“, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, Bd. 79, Nr. 3, S. 456–463, 2006.

- [152] A Greiner und JH Wendorff, *Electrospinning: A fascinating method for the preparation of ultrathin fibers*, 2007.
- [153] MJ McClure, SA Sell, DG Simpson, BH Walpoth und GL Bowlin, „A three-layered electrospun matrix to mimic native arterial architecture using polycaprolactone, elastin, and collagen: A preliminary study“, *Acta Biomaterialia*, Bd. 6, Nr. 7, S. 2422–2433, 2010.
- [154] AR Chandrasekaran, J Venugopal, S Sundarrajan und S Ramakrishna, „Fabrication of a nanofibrous scaffold with improved bioactivity for culture of human dermal fibroblasts for skin regeneration.“, *Biomedical materials (Bristol, England)*, Bd. 6, Nr. 1, S. 015 001, 2011.
- [155] S Schlie, E Fadeeva, A Koroleva, A Ovsianikov, J Koch, A Ngezahayo und BN Chichkov, „Laser-based nanoengineering of surface topographies for biomedical applications“, *Photonics and Nanostructures Fundamentals and Applications*, Bd. In Press, Nr. 2, S. 159–162, 2011.
- [156] SD McCullen, SD Gittard, PR Miller, B Pourdeyhimi, RJ Narayan und EG Lobo, „Laser ablation imparts controlled micro-scale pores in electrospun scaffolds for tissue engineering applications.“, *Annals of Biomedical Engineering*, Bd. 39, Nr. 12, S. 3021–30, 2011.
- [157] CH Lee, YC Lim, DF Farson, HM Powell und JJ Lannutti, „Vascular Wall Engineering Via Femtosecond Laser Ablation: Scaffolds with Self-Containing Smooth Muscle Cell Populations“, *Annals of Biomedical Engineering*, Bd. 39, Nr. 12, S. 3031–3041, 2011.
- [158] SB Mitchell und JE Sanders, „A unique device for controlled electrospinning“, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, Bd. 78, Nr. 1, S. 110–120, 2006.
- [159] W Teo, R Gopal, R Ramaseshan, K Fujihara und S Ramakrishna, „A dynamic liquid support system for continuous electrospun yarn fabrication“, *Polymer*, Bd. 48, Nr. 12, S. 3400–3405, 2007.
- [160] FP Baaijens, *Preform produced by electrospinning, method for producing the same and use of such a preform*, 2008.
- [161] SC Wong, A Baji und S Leng, „Effect of fiber diameter on tensile properties of electrospun poly(epsilon-caprolactone)“, *Polymer*, Bd. 49, Nr. 21, S. 4713–4722, 2008.
- [162] EPS Tan, SY Ng und CT Lim, „Tensile testing of a single ultrafine polymeric fiber“, *Biomaterials*, Bd. 26, Nr. 13, S. 1453–1456, 2005.
- [163] V Thomas, MV Jose, S Chowdhury, JF Sullivan, DR Dean und YK Vohra, „Mechanomorphological studies of aligned nanofibrous scaffolds of polycaprolactone fabricated by electrospinning“, *Journal of biomaterials science Polymer edition*, Bd. 17, Nr. 9, S. 969–984, 2006.

- [164] K Lee, H Kim, M Khil, Y Ra und D Lee, „Characterization of nano-structured poly(epsilon-caprolactone) nonwoven mats via electrospinning“, *Polymer*, Bd. 44, Nr. 4, S. 1287–1294, Feb. 2003.
- [165] RR Duling, RB Dupaix, N Katsube und J Lannutti, „Mechanical characterization of electrospun polycaprolactone (PCL): a potential scaffold for tissue engineering“, *Journal of Biomechanical Engineering*, Bd. 130, Nr. 1, S. 011 006, 2008.
- [166] L Ghasemi-Mobarakeh, MP Prabhakaran, M Morshed, MH Nasr-Esfahani und S Ramakrishna, „Electrospun poly([var epsilon]-caprolactone)/gelatin nanofibrous scaffolds for nerve tissue engineering“, *Biomaterials*, Bd. 29, Nr. 34, S. 4532–4539, 2008.
- [167] J Johnson, A Niehaus, S Nichols, D Lee, J Koepsel, D Anderson und J Lannutti, „Electrospun PCL in vitro: a microstructural basis for mechanical property changes“, *Journal of biomaterials science Polymer edition*, Bd. 20, Nr. 4, S. 467–481, 2009.
- [168] GH Kim, „Electrospun PCL nanofibers with anisotropic mechanical properties as a biomedical scaffold“, *Biomedical materials Bristol England*, Bd. 3, Nr. 2, S. 025 010, 2008.
- [169] D Puppi, N Detta, AM Piras, F Chiellini, DA Clarke, GC Reilly und E Chiellini, „Development of electrospun three-arm star poly(ϵ -caprolactone) meshes for tissue engineering applications“, *Macromolecular Bioscience*, Bd. 10, Nr. 8, S. 887–897, 2010.
- [170] Y Qian, X Li, Y Su, Q Ke und X Mo, „Fabrication and Characterization of Polycaprolactone/Chlorophyllin Sodium Copper Salt Nanofibrous Mats from 2,2,2-Trifluoroethanol Solution by Electrospinning“, *Iranian Polymer Journal*, Bd. 18, Nr. 3, S. 265–274, 2009.
- [171] S Sant, CM Hwang, SH Lee und A Khademhosseini, „Hybrid PGS-PCL microfibrous scaffolds with improved mechanical and biological properties“, *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, Bd. 5, Nr. 4, S. 283–291, 2011.
- [172] KT Shalumon, NS Binulal, M Deepthy, R Jayakumar, K Manzoor und SV Nair, „Preparation, Characterization and Cell Attachment Studies of Electrospun Multi-scale Poly(caprolactone) Fibrous Scaffolds for Tissue Engineering“, *Journal of Macromolecular Science Part A*, Bd. 48, Nr. 1, S. 21–30, 2011.
- [173] Z Huang, Y Zhang, S Ramakrishna und C Lim, „Electrospinning and mechanical characterization of gelatin nanofibers“, *Polymer*, Bd. 45, Nr. 15, S. 5361–5368, 2004.
- [174] WJ Li, CT Laurencin, EJ Caterson, RS Tuan und FK Ko, „Electrospun nanofibrous structure: a novel scaffold for tissue engineering“, *Journal of Biomedical Materials Research*, Bd. 60, Nr. 4, S. 613–621, 2002.

- [175] K Ohgo, C Zhao, M Kobayashi und T Asakura, „Preparation of non-woven nano-fibers of Bombyx mori silk, Samia cynthia ricini silk and recombinant hybrid silk with electrospinning method“, *Polymer*, Bd. 44, Nr. 3, S. 841–846, 2003.
- [176] X Zong, S Ran, D Fang, B Hsiao und B Chu, *Control of structure, morphology and property in electrospun poly (glycolide-co-lactide) non-woven*, 2003.
- [177] K Fujihara, M Kotaki und S Ramakrishna, „Guided bone regeneration membrane made of polycaprolactone/calcium carbonate composite nano-fibers“, *Biomaterials*, Bd. 26, Nr. 19, S. 4139–4147, 2005.
- [178] S Moon, By Ryu, J Choi, B Jo und RJ Farris, „The morphology and mechanical properties of sodium alginate based electrospun poly(ethylene oxide) nanofibers“, *Engineering*, Bd. 49, Nr. 1, S. 52–59, 2009.
- [179] N Bhattarai, DIL Cha, SRAJ Bhattarai, MS Khil und HAKY Kim, „Biodegradable Electrospun Mat: Novel Block Copolymer of Poly (p-dioxanone-co-lactide)“, *Polymer*, S. 1955–1964, 2003.
- [180] A Pedicini und RJ Farris, „Mechanical behavior of electrospun polyurethane“, *Polymer*, Bd. 44, Nr. 22, S. 6857–6862, 2003.
- [181] GE Wnek, ME Carr, DG Simpson und GL Bowlin, „Electrospinning of Nanofiber Fibrinogen Structures“, *Nano Letters*, Bd. 3, Nr. 2, S. 213–216, 2003.
- [182] DIN, „Zugeigenschaften von textilen Flächengebilden - Teil 1: Bestimmung der Höchstzugkraft-Dehnung mit dem Streifen-Zugversuch (Textiles - Tensile properties of fabrics)“, *EN ISO 13934-1*, Bsi, Hrsg., 1999.
- [183] Astm, „ASTM D638-08: Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics“, *Test*, Bd. 08-01, Nr. January, S. 170–179, 2003.
- [184] —, „ASTM D1708-10: Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics by Use of Microtensile Specimens“, *Techn. Ber.*, 2010.
- [185] A D’Amore, JA Stella, WR Wagner und MS Sacks, „Characterization of the complete fiber network topology of planar fibrous tissues and scaffolds“, *Biomaterials*, Bd. 31, Nr. 20, S. 5345–5354, 2010.
- [186] NJ Amoroso, A D’Amore, Y Hong, WR Wagner und MS Sacks, „Elastomeric electrospun polyurethane scaffolds: the interrelationship between fabrication conditions, fiber topology, and mechanical properties.“, *Advanced materials*, Bd. 23, Nr. 1, S. 106–111, 2011.
- [187] CM Murphy, MG Haugh und FJ O’Brien, „The effect of mean pore size on cell attachment, proliferation and migration in collagen-glycosaminoglycan scaffolds for bone tissue engineering“, *Biomaterials*, Bd. 31, Nr. 3, S. 461–466, 2010.
- [188] KI Voigt, „Automatisierung“, *Gabler Wirtschaftslexikon*, Bd. 14, 2014.

-
- [189] R Langmann, *Taschenbuch der Automatisierung*. Leipzig: Fachbuchverlag Leipzig im Carl Hanser Verlag, 2004.
- [190] Cellro, „Automatisierungsstufe“, <http://www.cellro.com/German/Automatisierungsstufe/166/>
- [191] AN Annaidh, M Ottenio, K Bruyère, M Destrade und MD Gilchrist, „Mechanical properties of excised human skin“, in *IFMBE Proceedings*, Bd. 31 IFMBE, 2010, S. 1000–1003.
- [192] C Pailler-Mattei, S Bec und H Zahouani, „In vivo measurements of the elastic mechanical properties of human skin by indentation tests“, *Medical Engineering and Physics*, Bd. 30, Nr. 5, S. 599–606, 2008.
- [193] RJ Okamoto, JE Wagenseil, WR DeLong, SJ Peterson, NT Kouchoukos und TM Sundt, „Mechanical properties of dilated human ascending aorta“, *Annals of Biomedical Engineering*, Bd. 30, Nr. 5, S. 624–635, 2002.
- [194] JM Lee und DR Boughner, „Mechanical properties of human pericardium. Differences in viscoelastic response when compared with canine pericardium“, *Circulation Research*, Bd. 55, Nr. 3, S. 475–481, 1985.
- [195] MA Silver und WC Roberts, „Detailed anatomy of the normally functioning aortic valve in hearts of normal and increased weight.“, *The American journal of cardiology*, Bd. 55, Nr. 4, S. 454–461, 1985.
- [196] Z Song, X Hou, L Zhang und S Wu, „Enhancing crystallinity and orientation by hot-stretching to improve the mechanical properties of electrospun partially aligned polyacrylonitrile (PAN) nanocomposites“, *Materials*, Bd. 4, Nr. 4, S. 621–632, 2010.
- [197] AL Szentivanyi, „Producing fiber coating or sleeve-like fleece body from electrospun fibers, comprises removing fiber from spinneret impinged with electric high voltage relative to collector and placing fiber on coaxially rotating spindle relative to nozzle“, *Patent - DE102010025302*, 2010.
- [198] N Bhardwaj und SC Kundu, „Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique“, *Biotechnology Advances*, Bd. 28, Nr. 3, S. 325–347, 2010.
- [199] K Hak-Yong, *Method of manufacturing continous mats by Electrospinning and mats manufactured thereby*, 2006.

Studentische Arbeiten

Shirin Abedi: *Herstellung von Gartenzaunstrukturen mittels Elektrosponning für kardiovaskuläres Engineering*. Facharbeit, Leibniz Universität Hannover, 2013.

Marie Christine Auerswald: *Untersuchung der Degradation von elektrogenesponnenen Gerüststrukturen in vitro und Beeinflussung der Kristallinität der Fasermatrix durch Temperierung der Polymerlösung*. Diplomarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2012.

Alexander Becker: *Konstruktive Weiterentwicklung einer Düse für das koaxiale Elektrosponnen von Scaffolds*. Bachelorarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2014.

Michael Bode: *Etablierung und Validierung einer Methode zur Optimierung der Biegefähigkeit elektrogenesponnener Gefäßprothesen sowie Weiterentwicklung der Bifurkations-Gefäßprothese*. Masterarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2014.

Jakob Dohse: *Optimierung der mechanischen Eigenschaften von Implantatmaterialien*. Masterarbeit, Karlsruher Institut für Technologie, 2014.

Jacob Friedemann Fast: *Herstellung und Charakterisierung elektrogenesponnener Gerüststrukturen aus Fibroin des Seidenspinners Bombyx mori für das Tissue Engineering von Implantaten*. Bachelorarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2012.

Cody Gette: *Influence of Solution Parameters and Geometry on Hemocompatibility of Electrospun Tubular Scaffolds*. Projektarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2011.

Lena Heidelberg: *Herstellung und Untersuchung der mechanischen Eigenschaften von elektrogenesponnenem Garn als polymeres Nahtmaterial für das Tissue Engineering von Implantaten*. Diplomarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2012.

Anna Lena Hoheisel: *Investigation of the Suitability of Two Synthesized Polymers for Two-Photon Polymerization Fabrication of Tissue Engineering Scaffolds*. Projektarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2013.

Anna Lena Hoheisel: *Konzepte zur automatisierten Herstellung von elektrogenesponnenen Strukturen*. Diplomarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2014.

Alexander Kern: *Herstellung und Untersuchung der mechanischen Eigenschaften mehrlagiger, elektrogenesponnener Polymerfasermatten*. Projektarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2011.

Alexander Kern: *Herstellung von dreidimensionalen, polymeren Gerüststrukturen für das Herzklappen Tissue Engineering mittels Elektrosponning, Rapid Prototyping und Laser-Materialbearbeitung.* Diplomarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2012.

David Kirchhoff: *Aseptische Produktion von Fasermatten für das Tissue Engineering.* Projektarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2015.

Bartholomäus Kleina: *Optimierung des Reinigungsprozesses von Karossen vor der Decklackapplikation.* Projektarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2013.

Jona Koß: *Entwicklung eines Bildverarbeitungsprogramms zur Analyse der Mikrostruktur von Scaffolds für das neuronale Tissue Engineering.* Diplomarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2014.

Nick Krüger: *Recherche und Entwicklung von modularen Komponenten für die Peripherie beim Elektrosponning von koaxialen, Mehrschicht- und Multifaserstrukturen.* Projektarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2012.

Alexander Lackmann: *Optimierung im Bereich der Mischerei einer Greenfield-Fabrik am Beispiel der manuellen Verwiegung von Chemikalien und der Füllstoffzuführung am Innenmischer.* Diplomarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2013.

Alwin Möhlmann: *Untersuchung des Relaxations- und Retardationsverhaltens elektrosponnener Scaffolds.* Diplomarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2014.

Daniel Ohlscher: *Entwicklung und Inbetriebnahme eines Prüfstandes zur beschleunigten Alterung von Komponenten des Kühlsystems von Extrudern.* Bachelorarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2011.

Simon Prescher: *Synthese von endfunktionalisierten Polycaprolactonen für den Einsatz in der Herstellung von elektrosponnenen Fasermatten mit eingestellten Oberflächeneigenschaften.* Masterarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2011.

Irene Priyadharshini Alfred: *Alginate encapsulation of cells for cardiovascular tissue engineering.* Master Thesis, University of Madras, 2013.

Alexander Renold Pusch: *Electrospun hierarchial meshes with different fiber diameters to control dexamethasone release functionality.* Projektarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2011.

Alexander Renold Pusch: *Laserbearbeitung von polymeren Gerüststrukturen für das Tissue Engineering von Implantaten.* Diplomarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2014.

Daniel Andre Riechelmann: *Herstellung und Charakterisierung von polymeren Gerüststrukturen für das kardiovaskuläre Tissue Engineering mittels Elektrosponning und Infiltration der Faser-matrix in einem Perfusionsbioreaktor.* Masterarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2012.

Tim Rittinghaus: *Produktion von schichtweise ausgerichteten Faserverbundstrukturen.* Diplomarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2013.

- Tim Rittinghaus: *Elektrospinning von orientierten Faserstrukturen für das Herzklappen Tissue Engineering*. Projektarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2011.
- Robert Scharf: *Besiedlung elektrogenespinnener Polymer-Gerüststrukturen für das Tissue Engineering mittels Alginat-Beschichtung und mikroverkapselten 3T3-Fibroblasten*. Diplomarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2012.
- Malte Schickedanz: *Siebdruck nanofunktionalisierter Polymerschichten für aktive medizinische Implantate*. Diplomarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2014.
- Tasja Schwenke: *Beschichtung von Fasermatten mit Hydrogelen als DDS*. Bachelorarbeit. TU Braunschweig, 2010.
- Christian Stallmann: *Untersuchung des Einflusses der Kollektordrehzahl auf die Faserausrichtung und mechanischen Eigenschaften von elektrogenespinnenen Fasermatten für das Tissue Engineering*. Projektarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2015.
- Simon Steinkamp: *Erprobung und Bewertung von Protokollen zur Besiedlung elektrogenespinnener Scaffolds mit Endothelzellen*. Projektarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2012.
- Jan Stieghorst: *Coextrusion- und Overmoldingverfahren für nanofunktionalisierte, elektrisch stimulierende Implantate*. Diplomarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2014.
- Matthias Stüber: *Mechanische Charakterisierung elektrogenespinnener Gefäßprothesen*. Diplomarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2012.
- Katharina Tegtmeier: *CNT-basierte Neuroprothetik: Innere elektrische Leitfähigkeit und immobilisierte Neuriteninterfaces*. Masterarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2014.
- Sara Tribuzi Morais: *Porosity of fiber mats from different polymer solutions - evaluating the influence of process and solution parameters*. Integrated Master's Thesis Work, Universidade do Minho, 2011.
- Lina Vollenweider: *Modifikation von elektrogenespinnenen Polycaprolacton-Fasermatten durch Plasmabehandlung*. Forschungspraktikum B, TU Braunschweig, 2011.
- Moritz Weber: *Dynamische mechanische Prüfung von Faserverbundstrukturen für das Tissue Engineering*. Bachelorarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2013.
- Moritz Weber: *Analyse und Steuerung des Elektrospinnprozesses durch dynamische Bildanalyse mittels OpenCV*. Projektarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2015.
- Richard Wenzel: *Optimierung der Fertigung mehrlagiger, elektrogenespinnener Strukturen hinsichtlich der Reproduzierbarkeit für das Tissue Engineering von Implantaten*. Bachelorarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2013.

Jana Wiegand: *Methodische Evaluation der Einflüsse von Probenkörpern und Arbeitsabläufen bei der mechanischen Charakterisierung von elektrogenesponnenen Fasermatten*. Projektarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2012.

Jana Wiegand: *Herstellung mehrschichtiger Feinstfasermatten aus unterschiedlichen Polymeren*. Projektarbeit, Leibniz Universität Hannover, 2011.

Lebenslauf

Holger Zernetsch, geboren am 4. März 1984 in Braunschweig.

Schulbildung

1990 - 1994	Gebrüder-Grimm-Grundschule, Letter
1994 - 1996	Geschwister-Scholl-Schule, Letter
1996 - 2003	Georg-Büchner-Gymnasium, Letter

Hochschulausbildung

2003 - 2009	Gottfried Wilhelm Leibniz Universität, Hannover, Diplomstudiengang Maschinenbau mit den Vertiefungsrichtungen Mikromechatronik und Biomedizintechnik
2009	Diplomprüfung

Berufliche Tätigkeit

2009 - 2014	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Mehrphasenprozesse der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität, Hannover, Leitung: Prof. Dr.-Ing. Birgit Glasmacher
seit 2015	Strategischer R&D Manager, Continental AG, Stöcken

Hannover, im August 2015