

# Design und additive Fertigung von individualisierten biofunktionellen Implantaten in klinisch relevanten Dimensionen

David Kilian, Philipp Sembdner, Stefan Holtzhausen, Tilman Ahlfeld,  
Christine Schöne, Anja Lode, Ralph Stelzer und Michael Gelinsky

## 1 Einführung

### 1.1 Additive Fertigung in der Medizintechnik

Neue Technologien der additiven Fertigung läuten auch im Bereich der Medizin, Medizintechnik und der biomedizinischen Forschung eine neue Ära ein: Über verschiedene Fertigungsverfahren wie lithographische Techniken oder Laser-Sintering ist es bereits jetzt möglich, aus biokompatiblen Materialien entsprechend eines spezifischen Designs und ohne zusätzlich nötige Fertigungsmasken dreidimensionale Implantate in anatomischer oder patientenindividueller Geometrie herzustellen.

Großes Potential ergibt sich daraus beispielsweise für Lösungen zu orthopädischen Fragestellungen: Hierzu gehören u.a. die potentielle Korrektur von Fehlbildungen im mund-, kiefer- und gesichtschirurgischen Bereich, der Ersatz größerer Knochendefekte sowie der Ausgleich von kleineren Gelenkdefekten. Letztere beschreiben die Anwendung am Gelenkknorpel-Knochen-Übergang, um Eingriffen zur Implantation einer Totalendoprothese zu entgehen oder diese ggf. hinauszuzögern. Aus diesem Grund finden für entsprechende zukünftige, klinische Konzepte, sowie in den entsprechenden Forschungsbereichen unterschiedlichste Fertigungsmethoden Anwendung. Die additive Fertigung hat nicht nur das Design und die aufbauende Fabrikation von patientenindividuellen Titanimplantaten (Gander et al. 2015) durch Spritzgussverfahren revolutioniert, sondern auch den schnellen Aufbau von

Strukturen aus thermoplastischen Polymeren (Probst et al. 2010) und weichen Materialien durch extrusionsbasierte Techniken ermöglicht. Diese über Rapid Prototyping erhaltenen, individuellen Objekte können im Vergleich zu konventionellen Verfahren sehr schnell und ohne Materialausschuss auch in Kleinserien und Einzelanfertigungen individuell gefertigt werden.

Die essentielle Aufgabe für den klinischen Einsatz liegt hier in der Herstellung patientenindividueller Implantate. Allerdings sind die Technologien ebenso hinsichtlich spezifischer Gewebemodelle für forschungsrelevante Fragestellungen, die mittel- bis langfristig zu Erfolgen für die biomedizinische Patientenversorgung beitragen können, von großer Bedeutung.

Um hierbei eine Lücke zwischen den individualisierten, bezüglich ihrer äußeren Geometrie spezifisch designten Implantaten und einer intrinsischen Funktionalität zu schaffen, greift die biomedizinische Forschung auf die Kombination von Ansätzen aus dem Tissue Engineering (Langer & Vacanti, 1993) und den Vorteilen der additiven Fertigung sowie der damit verbundenen Konstruktion von anatomischen Geometrien zurück. Das Forschungsfeld und die Methoden der sog. Biofabrikation (Groll et al. 2016; Moroni et al. 2018) bringen die Vorteile und Konzepte dieser doch unterschiedlichen Wissenschaftsfelder zusammen, indem sie biologische Komponenten in den Fabrikationsprozess einbeziehen.

## 1.2 Biofabrikation

Im biomedizinischen Sinne sollten optimale Implantate und Ersatzstrukturen neben einer mechanischen Stabilität und Festigkeit auch eine biofunktionelle Aktivität aufweisen. Aus diesem Grund setzen die Konzepte der Biofabrikation auf die Integration von Zellen in den Fabrikationsprozess, die im weiteren Verlauf während einer Kultivierung *in vitro* und nach potentieller Implantation die Biomaterial- in natürliche Matrix umbauen und direkt die Aufgaben des Gewebes übernehmen können.

Die hierfür denkbaren additiven Fertigungsmethoden, die ein Überleben der zuvor in die zu verarbeitenden Materialien eingebrachten Zellen ermöglichen, sind der extrusionsbasierte 3D-Druck (3D-Plotten), bei dem Stränge aus pastösem Material abgelegt und daraus 3D-Konstrukte erstellt werden,

und der Inkjet-Druck, bei dem einzelne Tropfen gebildet und abgelegt werden, und – mit bisher deutlichen Abstrichen – laser-vermittelte Verfahren. Zur Herstellung von volumetrischen Strukturen in klinisch relevanten Dimensionen eignet sich allerdings primär das 3D-Plotten, bei dem durch die mittlerweile an vielen Instrumenten mögliche Mehrkanalextrusion verschiedene Materialien gemeinsam zu mehrphasigen Konstrukten verarbeitet werden können (Abbildung 1).

Dabei werden größtenteils auf natürlichen Biopolymeren basierende Hydrogele eingesetzt, also Netzwerke aus miteinander verbundenen Polymerketten mit einem enorm hohen Wassergehalt, wie er auch in nativen Geweben zu finden ist. Natürliche Materialien wie Alginat, Cellulose oder Agarose weisen eine hohe Verfügbarkeit auf Grund ihrer Gewinnungs-/Extraktionsmöglichkeiten aus Algen oder Mikroorganismen sowie eine hohe Biokompatibilität auf. Das Polysaccharid Alginat, welches biokompatibel über den Zusatz von Kalzium-Ionen zu einem Hydrogel vernetzt werden kann, ist in einer zellverträglichen Konzentration zu dünnflüssig für das 3D-Plotten. Aus diesem Grund kann eine weitere Komponente zur temporären Erhöhung der Viskosität und zum Einstellen der nötigen scherverdünnenden Eigenschaften herangezogen werden, wie am Beispiel einer Druckpaste aus 3% Alginat und 9% wasserlöslicher Methylcellulose (Alg/MC) gezeigt wurde (Schütz et al. 2017). Auch können in diese Pasten weitere Feststoffe wie das Nanosilikat Laponit, welches gleichermaßen die Viskosität sowie Scherverdünnung erhöhen und die Bindung von diversen bioaktiven Faktoren unterstützen kann, eingebracht werden (Ahlfeld et al. 2017), um volumetrische Konstrukte (Scaffolds) unterschiedlicher Geometrien zu erzeugen (siehe Abbildung 2).

Eine weitere Herausforderung stellt die schnelle und biokompatible Stabilisierung der extrudierten Stränge dar, da der Einfluss der Schwerkraft auf diese gerade in volumetrischen Dimensionen ( $> 1 \text{ cm}^3$ ) sowohl während als auch nach der Fabrikation eine kritische Größe darstellt. Zudem sollen die erzeugten Konstrukte über längere Zeit stabil und die darin enthaltenen Zellen am Leben bleiben. Hierzu können neben einer schonenden Ionen-vermittelten Netzbildung auch zusätzlich stabilisierende Materialstränge, z.B. aus thermoreversiblen Polymeren, die nach der Strangablage verfestigen, oder verschiedene technische Lösungen zur Anwendung kommen (zur

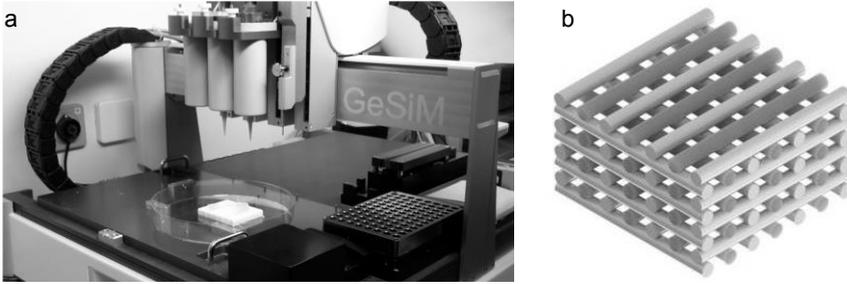


Abbildung 1: Mehrkanal-Drucker, BioScaffolder 3.1 (GeSiM mbH, Radeberg) (a). Schema eines zu einem Multimaterial-Scaffold verwobenen Netzwerks aus zellbeladenem Hydrogel (grau) und CPC-Strängen (weiß) (Kilian et al., 2017) (b)

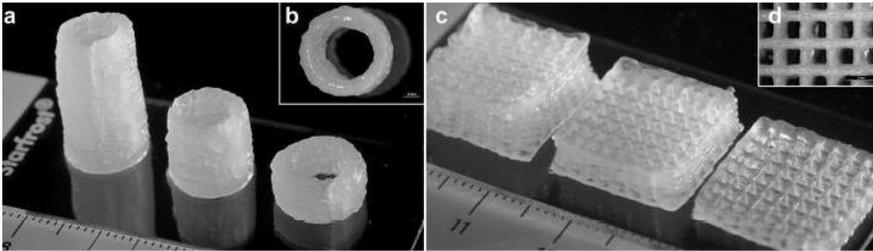


Abbildung 2: Verschiedene Geometrien mit offener Struktur 3D-geplotteter Alginat-basierter Hydrogele: Volumetrische Röhrenkörper mit variierender Höhe (a), Draufsicht auf Ringstruktur (b). Kubische Hydrogelscaffolds unterschiedlicher Schichtanzahl (10-30) mit 90°-Strangorientierung (c) und daraus resultierender offener innerer Geometrie (d) (Ahlfeld et al., 2017)

Übersicht: Kilian et al. 2017). Zur Versorgung der Zellen innerhalb der 3D-Strukturen mit Nährstoffen und Sauerstoff wird meist eine offene innere Architektur gewählt. Hierbei spielt die Formgenauigkeit sowohl bei der Extrusion einzelner Stränge, als auch der Fabrikation volumetrischer Modelle, eine große Rolle. Allerdings muss oft ein Kompromiss zwischen der Formgenauigkeit, welche mit höherem Polymergehalt und dadurch erhöhter Viskosität der Pasten steigt, und der Zellverträglichkeit gefunden werden. Zusätzlich wird die Reifung und Differenzierung der für Knochen-Knorpel-Anwendungen ins Gel eingebrachten zu differenzierenden mesenchymalen Stammzellen, oder aus humanem Gewebe isolierten Knorpelzellen (Chondrozyten) durch die Gabe von speziellen Faktoren (z.B. TGF- $\beta$ 3) unterstützt.

### 1.3 Individualisierte Implantate

Aus klinischen Daten der Computertomographie (CT) oder Magnetresonanztomographie (MRT) lassen sich geometrische Informationen gewinnen, die in den Prozess der Konstruktion einfließen und ein individuelles Design basierend auf der anatomischen Ursprungsstruktur, oder einem in Abstimmung mit klinischen KollegInnen erstellten Implantat/Gewebeersatz, ermöglichen.

Für den druckfähigen pastösen Kalziumphosphatzement (Lode et al. 2014) wurde dies kürzlich für die potentielle Anwendung am Modell eines Mittelhandknochens mittels open source Software aus vorliegenden CT-Daten realisiert (Ahlfeld et al. 2018b). Da viele Ansätze des optimierten Designs von Implantaten für die Konstruktion von Geometrien und Abläufen innerhalb der Pulverdruckverfahren bereits vorliegen (Sembdner 2016), ist nun das erklärte Ziel, diese Erkenntnisse auf den Extrusionsdruck und damit pastöse Materialien und den Aufbau aus einzelnen Strängen, damit auch auf das Feld der Biofabrikation übertragen werden.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Biofabrikation multiphasiger Gewebekonstrukte

Sowohl pure Gerüststrukturen für das Tissue Engineering (Scaffolds), zellbeladene Hydrogelkonstrukte als auch potentielle Implantatgeometrien wurden mit dem 3D-Plotter BioScaffolder 3.1 (GeSiM mbH, Radeberg), einem Mehrkanal-Extrusionsdrucker, realisiert. Multiphasige osteochondrale Konstrukte zur Nachbildung des Knochen-Gelenkknorpel-Überganges konnten durch die Kombination von zellbeladenem Hydrogel und einer mineralisierten Komponente realisiert werden:

Als Knochenstruktur-imitierende Substanz wurde ein pastöser, auf Tri-Kalziumphosphat basierender Kalziumphosphatzement (CPC) (INNOTERE GmbH, Radebeul) verarbeitet. Dieser wird im Zuge der Zementreaktion zu Hydroxylapatit, der mineralischen Hauptkomponente der nativen Knochenmatrix, umgesetzt.

Der Knorpelanteil des 3D-Konstruktes wurde im entwickelten Konzept mittels eines alginatbasierten, zellbeladenen Hydrogels umgesetzt. Primäre humane Chondrozyten wurden hierzu durch enzymatische Extraktion aus Gewebeproben von artikulärem Knorpel des Femurkopfes isoliert; für die Verwendung von Femurköpfen für die Zellisolation nach Operationen zur Implantation einer Hüft-Totalendoprothese liegt das Einverständnis der PatientInnen sowie die Zustimmung der Ethikkommission der Technischen Universität vor (EK303082014).  $5 \times 10^6$  Zellen wurden pro 1 g der Druckpaste aus Alginat und Methylcellulose (Alg/MC) (Schütz et al. 2017) eingerührt und verarbeitet. Für zellbiologische und biochemische Analysen wurden offenporige Strukturen aus vier Schichten (Innendurchmesser der Extrusionsnadel: 410  $\mu\text{m}$ ) geplottet (siehe Abbildung 3b). Mit den vorliegenden Materialien können allerdings auch problemlos volumetrische Konstrukte von mehr als 50 Ebenen erstellt werden. Nach Aushärtung der CPC-Phasen in gesättigter Luftfeuchte bei 37°C, wurden die Hydrogelstränge für 10 min mittels 100 mM  $\text{CaCl}_2$ -Lösung vernetzt. Zellbeladene Konstrukte wurden im Folgenden unter physiologischen Bedingungen (5%  $\text{CO}_2$ , 37°C) zum Zwecke der Differenzierung inkubiert.

### 2.3 Analyse biofunktioneller osteochondraler Konstrukte

Die zellbeladenen Konstrukte wurden zu verschiedenen Zeitpunkten der Kultur auf die Viabilität der Zellen hin untersucht. Dies geschah anhand einer sog. Lebend/tot-Markierung über die Detektion von entsprechenden Fluoreszenzfarbstoffen mittels konfokalem Laserscanningmikroskop (Leica TCS SP5), dabei wurden verschiedene Bereiche der Konstrukte analysiert. Eine Färbung mit MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid) wurde darüber hinaus zur Visualisierung von metabolisch aktiven Zellen innerhalb des Hydrogels angewandt.

Zudem wurden die Zellen auf ihr Proliferationsverhalten, ihre Morphologie und ihren Differenzierungsgrad auf biochemischer (u.a. Proteinexpression von knorpeltypischem Kollagen Typ 2) und molekularbiologischer Ebene hin analysiert. Diese Analysen wurden für Expansionsbedingungen als Kontrolle (ctrl; Zellkulturmedium mit proliferationsfördernden Serumproteinen aber

ohne Differenzierungsfaktor) und für spezifische chondrogene Differenzierungsbedingungen (diff; Zellkulturmedium ohne Serumproteine aber mit chondrogenem Differenzierungsfaktor TGF- $\beta$ 3) durchgeführt.

## 2.4 Konstruktion und Fabrikation individueller Geometrien

Mittels unterschiedlicher kommerzieller und nicht-kommerzieller Softwarelösungen wurden der Transfer aus klinischen Daten und die Aufbereitung dieser für den extrusionsbasierten 3D-Druck vorangetrieben. Als Struktur für eine *proof-of-concept* Anwendung wurde die Geometrie eines menschlichen Meniskus gewählt. Aus einem CT-Datensatz eines menschlichen Kniegelenks der linken Seite wurden geometrische Daten des entsprechenden Innenmeniskus mittels Dornheim Segmenter Analyzer® 2016 extrahiert. Auf Grund der gegebenen Auflösung des CT-Datensatzes (Schichtbildabstand ca. 1 mm), der Größe eines Meniskus (ca. 40x40x10 mm) sowie der schlechten Differenzierbarkeit zum restlichen Knochengewebe infolge ähnlicher Dichteigenschaften, erfolgte die Auswahl und Markierung des Bereiches in den Bilddaten manuell in der Software in Abhängigkeit eines eingestellten Grauschwellwertes. Die markierte Region wurde anschließend als 3D-STL-Modell exportiert und in der Software Geomagic Studio® 2012 aufbereitet. Dies beinhaltete u.a. das Schließen von Löchern oder das Glätten des Modells. Die daraus resultierenden stl-Daten wurden via SOLIDWORKS® mit einer unterstützenden Struktur zur Stabilisierung der 3D-Überhänge komplettiert, und anschließend mittels Microsoft 3D Builder in ein 3mf Dateiformat überführt. Das finale Strangdesign wurde innerhalb der Gerätesoftware (GeSiM) erstellt. Am Ende wurde ein Multimaterialkonstrukt aus einem Alg/MC-Hydrogel in anatomisch korrekter äußerer Form des Innenmeniskus, sowie aus CPC als unterstützender Struktur darunter, hergestellt.

## 3 Ergebnisse und Diskussion

### 3.1 Fabrikation multiphasiger Hydrogel-CPC-Strukturen

Einfache Gerüststrukturen (Scaffolds) und potentielle Implantatgeometrien wurden durch den Aufbau aus extrudierten Hydrogel- und CPC-Strängen generiert. Auch der anvisierte Übergang von Knochengewebe zur überziehen-

den Knorpelschicht für osteochondrale Gewebeäquivalente konnte erfolgreich realisiert werden – zu diesem Zweck wurde ein multiphasiges Konzept zur Fusion einer potentiell zellbeladenen Alg/MC-basierten Knorpelschicht mit den subchondralen Knochen nachbildenden Schichten aus CPC erarbeitet (Abbildung 3) (Ahlfeld et al. 2018).

Eine große Herausforderung des Prozesses der kombinierten Verarbeitung von Pasten besteht in der simultanen Vernetzung und Stabilisierung der Phasen. Die Methode sollte sowohl für die immobilisierten Zellen verträglich, als auch für die Stabilität der Materialien effektiv sein. Da diese auf Seiten des Alginats auf ionischen Wechselwirkungen mit Kalzium-Ionen, die durch Inkubation in einer entsprechenden Lösung eingebracht werden, und für CPC auf einem Aushärtvorgang in Wasser oder Luftfeuchte basieren, galt es, die beiden Konzepte aufeinander abzustimmen. Dies konnte am effektivsten durch ein kurzzeitiges Verweilen in Luftfeuchte und nachfolgende ionische Vernetzung in  $\text{CaCl}_2$ -Lösung und Inkubation in Zellkulturmedium gelöst werden (Ahlfeld et al. 2018). Die Inkubation in Luftfeuchte verhindert die Bildung von Mikrorissen, die die mechanische Stabilität des CPC reduzieren (Akkineni et al. 2015, Ahlfeld et al. 2017).

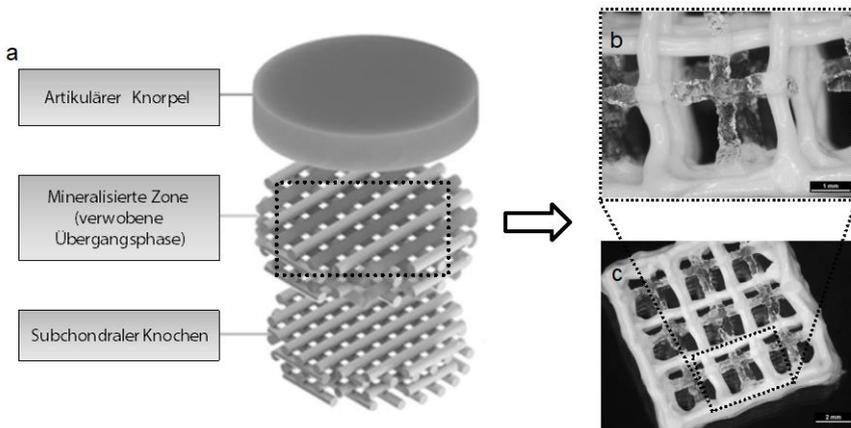


Abbildung 3: A: Konzept zur Nachbildung der Grenzsicht zwischen Röhrenknochen und artikulärem Knorpel (Gelenkknorpel), wie man sie in ähnlicher Weise in menschlichen Gelenkoberflächen findet (Ahlfeld et al., 2018) (a) Fusion von Strängen innerhalb eines multiphasigen Konstruktes aus Alg/MC-Hydrogel und CPC, welches die mineralisierte Knorpelschicht imitiert, mit gezielten Makroporen zur Versorgung der im Hydrogel eingebrachten Zellen mit Sauerstoff und Nährstoffen hergestellt

(b: Maßstabsbalken 1 mm; c: 2 mm)

### 3.2 Biofunktionalität – Viabilität und Morphologie immobilisierter Zellen

Die Viabilität eingebrachter Zellen konnte innerhalb sowohl mono- als auch biphasiger Konstrukte über mehrere Wochen während des Differenzierungsvorganges und der damit verbundenen Ausbildung einer eigenen extrazellulären Matrix sichergestellt werden. Der Großteil der Zellen überlebte den Fabrikationsvorgang und die Inkubation im Hydrogel, wobei ein leichter initialer Abfall der lokalen Zellviabilität an den Hydrogel-CPC-Kreuzungspunkten in Folge der Zementierungsreaktion des CPC zu beobachten war (Ahlfeld et al., 2018).

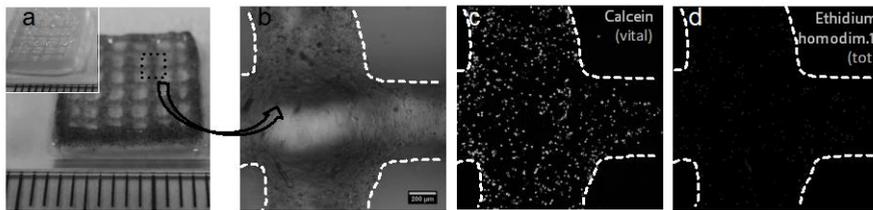
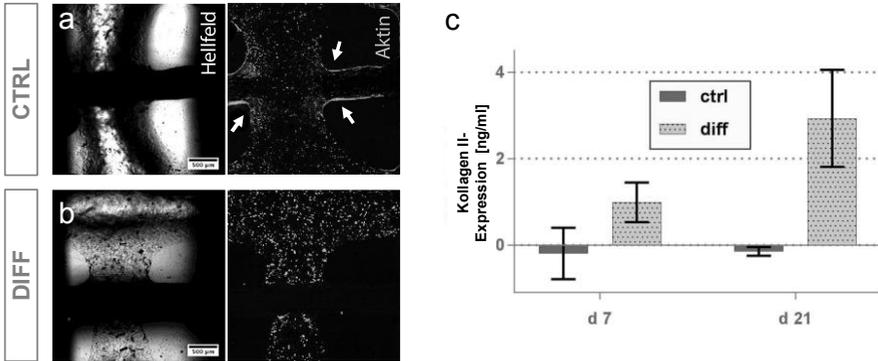


Abbildung 4: MTT-Färbung eines monophasigen zellbeladenen Scaffolds zur Analyse der metabolischen Aktivität eingebrachter Chondrozyten im Vergleich zu einem zellfreien Scaffold (a). Lebend-Tot-Färbung der eingebrachten Zellen nach Ablauf des Fabrikationsvorganges und initialer Inkubation unter Zellkulturbedingungen (Tag 1): Hellfeldbild der Strangkreuzung, Maßstabsbalken: 200 µm (b). Calcein-Färbung der lebenden Zellen an Tag 1 (c). Tote Zellen zum identischen Zeitpunkt im identischen Scaffoldausschnitt, markiert durch Ethidium Homodimer 1 (d)

Differenzierte und undifferenzierte Zellen wurden nach 21 Tagen, der für die chondrogene Differenzierung üblichen Zeit, hinsichtlich ihrer Morphologie und des Differenzierungszustandes analysiert. Eine Fluoreszenzfärbung der Aktin-Filamente des Zytoskeletts der Chondrozyten zeigte, dass nur diejenigen Zellen innerhalb der Knorpel-imitierenden Hydrogelmatrix verblieben, welche unter Differenzierungsbedingungen kultiviert worden waren. Undifferenzierte Zellen zeigten die Tendenz, das Gel zu verlassen und auf das steifere Material des CPC überzuwandern, um dort auf der Oberfläche zu adhären und zu proliferieren (Abbildung 2 a, b). Der Reifungsgrad der Chondrozyten unter Differenzierungsbedingungen konnte über die Detektion des für Knorpelgewebe charakteristischen Proteins Kollagen II nachgewiesen werden (Abbildung 2 c).



### 3.3 Individuelles Design aus DICOM Daten

Aus klinischen CT-Daten konnte aus den in der Studie verwendeten Materialien ein Modell eines menschlichen Innenmeniskus aus Alg/MC-Hydrogel erzeugt und anschließend mit hoher Formgenauigkeit gedruckt werden. Als stabilisierendes Material der zentralen Meniskusstruktur wurde hierbei CPC als offenporiges Gerüst verwendet, während das Design des Hydrogels der nativen Meniskusgeometrie ohne Makroporen nachempfunden wurde. In Abbildung 6 sind die (wesentlichen) Schritte der Aufbereitung und Umsetzung des Designs und der Fabrikation der Strukturen dargestellt.

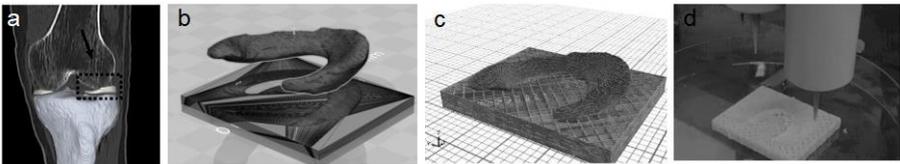


Abbildung 6: Realisierung eines Modells einer Außenmeniskus-Struktur nach Datentransfer und -aufbereitung aus humanen klinischen CT-Aufnahmen des Kniegelenkes (a), mit Teilen des Tibia- und Femurknochens. Transfer und Virtualisierung der Strukturumgebung in einer digitalen Umgebung (Microsoft Builder, b) und Umsetzung der Konstruktion in der entsprechenden Instrumentensoftwareumgebung (GeSiM), aufgebaut aus Einzelsträngen von Hydrogel und CPC als Support-Material (c). Herstellung mittels Multikanalextrusion (d).

## 4 Fazit und Ausblick

Die vorliegende Studie demonstriert das Potential des Zusammenwirkens von Konstruktionstechnik und Biomedizin im Hinblick auf die Herstellung von biofunktionellen Modellen und Implantaten mit vitalen menschlichen Zellen, die bei Bedarf über hydrogelvermittelte Applikation in den Fabrikationsprozess eingebunden werden können.

Nach einzelnen Geweben und (aus technischen Gründen) zugehörigem Support-Material sollen zukünftig auch heterogene Gewebetypen aus klinischen Bilddaten konstruiert und nachgebildet werden. Hierzu zählt primär die osteochondrale Übergangsschicht zwischen Knochen und Gelenknorpel. Um dieses Ziel zu erreichen, sind weitere Konstruktionslösungen sowie Materialentwicklungen notwendig.

Um die Biofabrikation-assozierten Ansätze weiter auszubauen, sollen zu den bisherigen einzelnen Kulturen von humanen Chondrozyten im Gel und innerhalb des multiphasigen Konstruktes, weitere Zelltypen hinzugefügt werden. Dies kann durch die Verwendung von mesenchymalen Stammzellen erfolgen, die durch mechanische oder biochemische Stimulation dann in Knochenzellen (osteogen) differenzieren sollen. Dies wäre ein weiterer Schritt in Richtung der Ko-Kultivierung verschiedener Gewebezelltypen und im speziellen der Biofunktionalität eines osteochondralen 3D-Modells. Über die Extrusion von koaxialen Kern-Mantel-Strängen, in denen verschiedene Zelltypen oder Differenzierungsfaktoren mit definierter räumlicher Auflösung appliziert werden können, könnte diese lokale Differenzierung von Stammzellen oder unterschiedlichen vordifferenzierten Zelltypen gelingen.

Ein großes Augenmerk innerhalb des Feldes liegt hierbei auch auf der Charakterisierung und Optimierung der makroporösen Struktur. Zum einen spielt deren Einfluss auf mechanische Eigenschaften hinsichtlich Kompressions- und Scherverhalten eine große Rolle, zum anderen dient diese offene Porenstruktur und deren spezifische Geometrie der Aufrechterhaltung physiologischer Bedingungen der Zellen bezüglich der Nährstoffversorgung und des Sauerstofflevels innerhalb der dreidimensionalen Konstrukte.

Die Betrachtung all dieser interdisziplinären Aspekte soll ermöglichen, vorliegende Entwicklungen weiter voranzutreiben und den Herausforderungen

auf dem Weg zu mittels Biofabrikation erstellten individuellen Ersatzgeweben und spezifischen 3D-Modellen zu begegnen.

## Danksagung

Die AutorInnen danken dem Europäischen Sozialfonds (ESF) und dem Freistaat Sachsen für die finanzielle Unterstützung des interdisziplinären und kooperativen Projektes im Rahmen der institutsübergreifenden Nachwuchsfor-  
schergruppe *IndivImp* an der TU Dresden.

## Literaturverzeichnis

- Gander, T, Essig, H, Metzler, P, Lindhorst, D, Dubois, L, Rücker, M & Schumann, P (2015), Patient specific implants (PSI) in reconstruction of orbital floor and wall fractures, *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 43 (1), 126-130
- Probst, FA, Hutmacher DW, Müller DF, Machens, HG, Schantz, JT (2010), *Handchirurgie - Mikrochirurgie - Plastische Chirurgie*, 42 (6), 369-373
- Langer, R & Vacanti, JP (1993), *Tissue engineering*, *Science*, 260 (5110), 920-926
- Groll, J, Boland, T, Blunk, T, Burdick, JA, Cho DW, Dalton, PD, Derby, B, Forgacs, G, Li, Q, Mironov, VA, Moroni, L, Nakamura, M, Shu, W, Takeuchi, S, Vozzi, G, Woodfield, TB, Xu, T, Yoo, JJ, Malda, J (2016), Biofabrication: reappraising the definition of an evolving field, *Biofabrication*, 8 (1)
- Moroni, L, Boland, T, Burdick, JA, Da Maria, C, Derby, B, Forgacs, G, Groll, J, Li, Q, Malda, J, Mironov, VA, Mota, C, Nakamura, M, Shu, W, Takeuchi, S, Woodfield, TBF, Xu, T, Yoo, JJ, Vozzi, G (2018), *Biofabrication: A Guide to Technology and Terminology*, 36 (4)
- Kilian, D, Ahlfeld, T, Akkineni AR, Lode A, Gelinsky M (2017), Three-dimensional bioprinting of volumetric tissues and organs, *MRS Bulletin*, 42 (8), 585-592
- Schütz, K, Placht, AM, Paul, B, Brüggemeier, S, Gelinsky, M, Lode, A (2017), Three-dimensional plotting of a cell-laden alginate/methylcellulose blend: towards biofabrication of tissue engineering constructs with clinically relevant dimensions, *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 11 (5), 1574-1587
- Ahlfeld, T, Cidonio, G, Kilian, D, Duin, S, Akkineni, AR, Dawson, JJ, Yang, S, Lode, A, Oreffo, ROC, Gelinsky, M (2017), Development of a clay based bioink for 3D cell printing for skeletal application, *Biofabrication*, 9 (3)
- Lode, A, Meissner, K, Luo, Y, Sonntag, F, Glorius, S, Nies, B, Vater, C, Despang, F, Hanke, T, Gelinsky, M (2014), *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 8 (9), 682-693

- Ahlfeld, T, Köhler, T, Czichy, C, Lode, A, Gelinsky, M (2018), A Methylcellulose Hydrogel as Support for 3D Plotting of Complex Shaped Calcium Phosphate Scaffolds, *Gels*, 4 (3)
- Sembdner P (2016), Rechnergestützte Planung und Rekonstruktion für individuelle Langzeit-Knochenimplantate am Beispiel des Unterkiefers, Dissertation, Technische Universität
- Ahlfeld, T, Doberenz, F, Kilian, D, Vater, C, Korn, P, Lauer, G, Lode, A, Gelinsky, M (2018), Bioprinting of mineralized constructs utilizing multichannel plotting of a self-setting calcium phosphate cement and a cell-laden bioink, *Biofabrication*, 10 (4)
- Akkineni, AR, Luo, Y, Schumacher, M, Nies, B, Lode, A, Gelinsky, M (2015), 3D plotting of growth factor loaded calcium phosphate cement scaffolds, *Acta Biomaterialia*, 27, 264-274
- Ahlfeld, T, Akkineni, AR, Förster, Y, Köhler, T, Knaack, S, Gelinsky, M, Lode, A (2017), Design and Fabrication of Complex Scaffolds for Bone Defect Healing: Combined 3D Plotting of a Calcium Phosphate Cement and a Growth Factor-Loaded Hydrogel, *Annals of Biomedical Engineering*, 45 (1), 224-236

## Kontakt

David Kilian (MSc), Dipl.-Ing. Tilman Ahlfeld, Dr. Anja Lode, Prof. Dr. Michael Gelinsky  
 Zentrum für Translationale Knochen-, Gelenk- und Weichgewebeforschung  
 Universitätsklinikum und Medizinische Fakultät *Carl Gustav Carus*  
 Technische Universität Dresden  
*david.kilian@tu-dresden.de*  
*www.biofabrikation.de*

Dr. Philipp Sembdner, Dr. Stefan Holtzhausen, Dr. Christine Schöne, Prof.  
 Dr. Ralph Stelzer  
 Professur für Konstruktionstechnik/CAD  
 Institut für Maschinenelemente und Maschinenkonstruktion  
 Technische Universität Dresden  
*philipp.sembdner@tu-dresden.de*

