

Gefäße drucken und kultivieren

Auf dem Weg zum Gefäßimplantat aus der Retorte!

Künstliche Implantate sind für Patient*innen immer mit Risiken verbunden. Es kann etwa zu einer Abstoßung kommen, außerdem müssen oft dauerhaft Medikamente eingenommen werden.

Wissenschaftler*innen der AG Blume am Institut für Technische Chemie (TCI) arbeiten daher an der Entwicklung einer patienten-individuellen Gefäßprothese als Medizinprodukt, welche langfristig als Ersatz erkrankter oder beschädigter Blutgefäße fungieren kann.

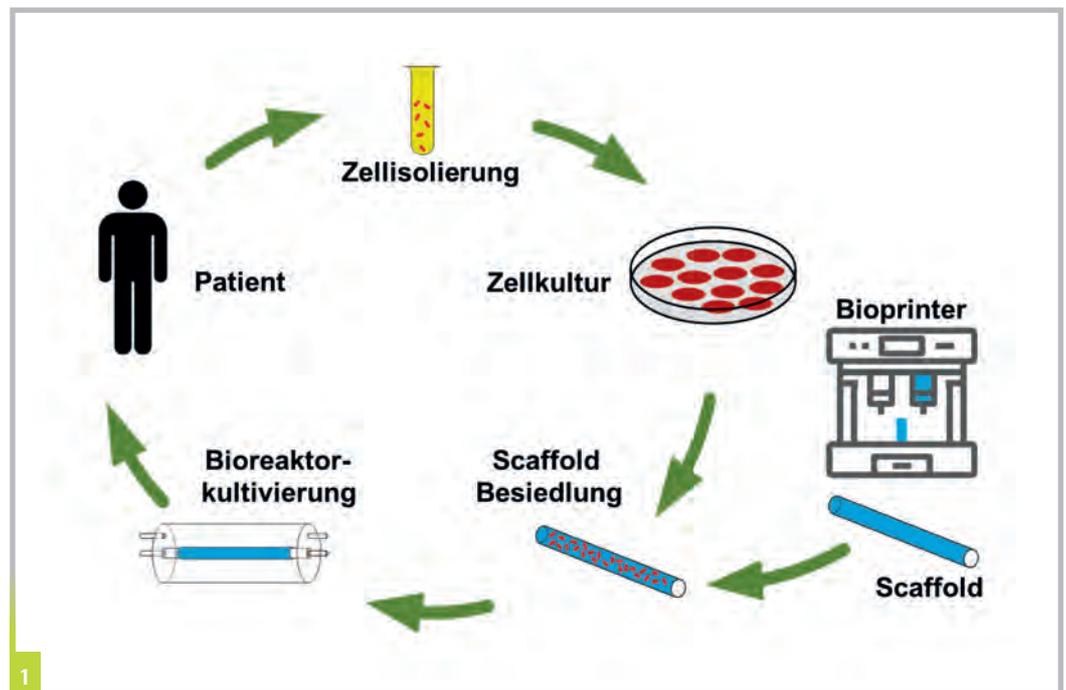


Abbildung 1
Prozessablauf für das Tissue Engineering vaskulärer Gefäßstrukturen. Der zu behandelnden Person werden mittels Biopsie Zellen entnommen und in Zellkulturen überführt. Biologisch abbaubare Polymere werden zur Herstellung von Scaffolds verwendet und können unter Verwendung von Hydrogelen mit Zellen besiedelt werden. Die Kultivierung der Gefäßprothesen erfolgt in speziellen Bioreaktoren. Die Scaffolds müssen parallel aber auf Haltbarkeit und Funktion im Tier getestet werden.
Quelle: TCI

Die AG Blume (Prof. Dr. med. C. Blume) im Institut für Technische Chemie (TCI) ist ansässig innerhalb der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Leibniz Universität Hannover und hat ihren Standort am Niedersächsischen Zentrum für Biomedizintechnik, Implantatforschung und Entwicklung (NIFE). Durch diese Beteiligung ergeben sich unter anderem zu weitergehenden Implantattestungen im Tier sowie zu Zellisolierungen aus Primärgewebe enge Kontakte zu anderen Forschungsgruppen an der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH) und der Tierärztlichen Hochschule Hannover (TiHo). Die

AG widmet sich innerhalb des TCI dem Forschungsschwerpunkt Biomedical Engineering.

In diesem Bereich beschäftigt sich die AG mit der Zellisolierung, der Zellcharakterisierung, der Optimierung von Zellkulturbedingungen, der Erstellung von Gerüststrukturen (engl. Scaffolds) für die Besiedlung mit Zellen sowie der Untersuchung und Entwicklung von geeigneten Materialien für die Herstellung solcher Scaffolds. Diese Arbeitsthemen vereinigen sich im Forschungsgebiet des Tissue Engineering. Tissue Engineering verfolgt die Herstel-

lung von künstlichem Gewebe bis hin zu ganzen Organen. Diese Gewebestrukturen können aus Zellen (Primärzellen aus Blut, Fettgewebe, Knochenmark wie zum Beispiel differenzierbare mesenchymale Stammzellen oder endotheliale Progenitorzellen) sowie natürlichen und künstlichen Materialien wie zum Beispiel nativen extrazellulären Matrixproteinen wie Kollagen oder aus bioabbaubaren Polymeren entwickelt werden. Sie sollen die Funktion des zu ersetzenden Gewebes übernehmen und damit als Gewebeamplantate oder als Alternative bei Transplantationen zur Verfügung stehen. Die Her-

stellung künstlicher Blutgefäße stellt dabei eine Schlüsseltechnologie dar. Sie können sowohl für den Ersatz von blockierten oder beschädigten Blutgefäßen selbst verwendet werden, werden aber ebenso auch für die Entwicklung größerer Gewebestrukturen benötigt, um die Nährstoff- und Sauerstoffversorgung dieser sicherzustellen.

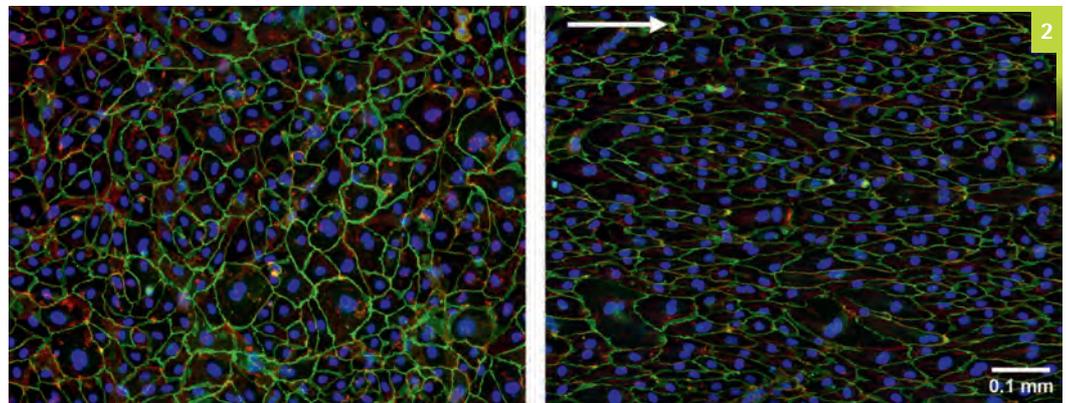
Das hier näher vorgestellte DFG-geförderte Projekt beschäftigt sich mit der Entwicklung einer patientenindividuellen Gefäßprothese als Medizinprodukt, welche langfristig als Ersatz erkrankter oder beschädigter Blutgefäße, zum Beispiel bei Bypass-Operationen, dienen soll. Die Vorteile dieser mittels Tissue Engineering hergestellten bioartificialen Gefäßprothesen liegen darin, dass diese, im Gegensatz zu aktuellen Produkten wie Stents, vollständig in das Gewebe der Patient*innen einwachsen können. Ebenfalls könnte auf eine langfristige Einnahme von Medikamenten, wie sie bei vollsynthetischen Gefäßprothesen zur Verhinderung einer post-implantationem-Okklusion (einem Verschluss des Gefäßes) durch Atherosklerose oder ein Einwachsen von Gefäßmuskelzellen häufig vorkommt, verzichtet werden. Die Entwicklung und anschließende Implantation solcher künstlichen Blutgefäße ist insgesamt ein komplexes Vorhaben, welches von einer Vielzahl an Faktoren abhängig ist.

Einzelne ausgewählte Schritte, welche für die Entwicklung eines solchen Medizinproduktes entscheidend sind, werden im Folgenden näher dargestellt. Da es sich bei der bioartificialen Gefäßprothese um ein Medizinprodukt handelt, sind im zukünftigen Verlauf der Entwicklung auch Tierversuche notwendig. Diese werden mit hohen ethischen Standards in Kooperation mit pro-

fessionellen Tierversuchszentren (phenos, Medimplant) durch erfahrene Tierärzte und in enger Kooperation mit Kollegen der MHH (Klinik für Herz-, Thorax, Gefäßchirurgie, Prof. Wilhelmi) durchgeführt.

Als Grundlage werden immunneutrale, patienteneigene Zellen für die Besiedlung der Scaffolds benötigt. Diese sind essentiell für eine optimal funktionierende bioartificiale

vorbeiströmende Zellkulturmedium simuliert hierbei den späteren durch Reibung entstehenden physiologischen Scherstress durch den Blutfluss, es entsteht ein durchgehender Endothelzell-Layer auf dem 3D-gedruckten Scaffold. Dadurch, dass diese Zellen individuell aus dem Blut eines möglichen Gefäßprothesenträgers isoliert werden können, wird einer späteren Abstoßungsreaktion vorgebeugt.



Gefäßprothese. Endotheliale Vorläuferzellen (Vorläufer von Gefäßinnenhautzellen) der Patient*innen können hierfür aus einer Blutprobe isoliert werden und anschließend im Labor charakterisiert und vermehrt werden. Sie bilden später die innerste Schicht der Gefäßprothese, dies hat sich als günstig gegen einen vorzeitigen Verschluss der neuentwickelten Gefäßprothesen erwiesen. In der AG Blume werden dafür Isolations-Protokolle und Methoden zur Expansion und Analyse der Zellen etabliert, um aussichtsreiche endotheliale koloniebildende Zellen auf ihre biomedizinische Eignung zu untersuchen und zu vermehren. Der positive Einfluss einer Vorkultivierung der Endothelzellen unter mechanischer Stimulation durch vorbeiströmendes Zellkulturmedium in einem Bioreaktor konnte bereits anhand antithrombogener und Atherosklerose-vorbeugender Eigenschaften gezeigt werden. Das

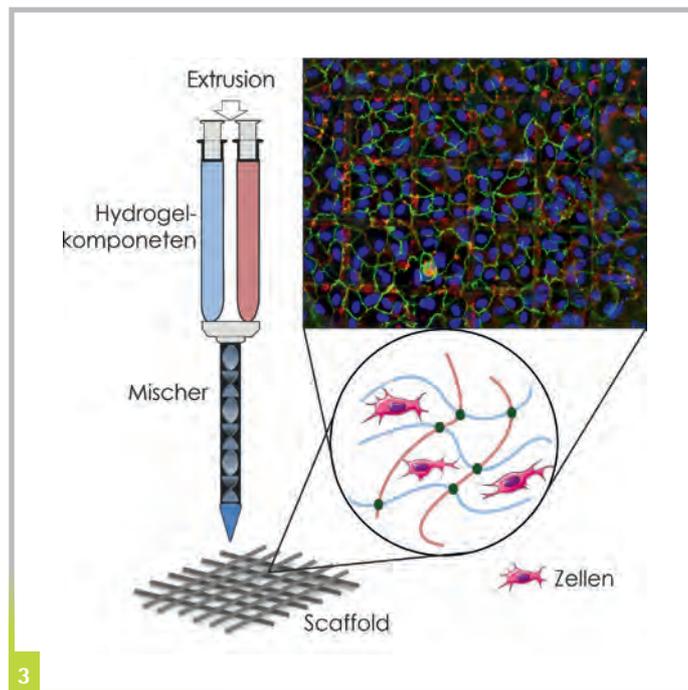
In einem weiteren Schritt müssen zusätzlich zu dem Endothel auch noch andere Gefäßzellen, wie Gefäßmuskelzellen oder Fibroblasten, auf der Gerüststruktur aufgebracht werden. Dies erfolgt mittels 3D Druck. Hierbei werden die Zellen in ein Hydrogel eingebettet, einem wässrigen dickflüssigen Medium, welches sowohl als Transportvehikel als auch als physiologische Umgebung für die eingebetteten Zellen fungiert und die hochpräzise Anordnung von Zellen durch den Druckprozess ermöglicht (Bioprinting). Voruntersuchungen haben dabei das komplexe Zusammenspiel der Hydrogeleigenschaften auf das Wachstumspotenzial der darin befindlichen Zellen gezeigt. Spezielle 3D-Druckverfahren, wie zum Beispiel bei der Verwendung eines Zwei-Komponenten-Hydrogels, stellen dabei eine Notwendigkeit dar.

Die zugrundeliegende röhrenförmige Gerüststruktur, die

Abbildung 2
Mechanische Stimulation der Blutgefäßzellen durch Scherstress. Vorbereitung auf die natürlichen Verhältnisse, wie Blutfluss und Herzschlag, spielen eine essentielle Rolle für die langfristige Gewebefunktion der bioartificialen Gefäßprothese. Deutlich zu erkennen ist die Anpassungen der Zellen unter Einfluss von Scherstress durch vorbeifließendes Zellkulturmedium (statische Kultivierung links, dynamische Kultivierung rechts, die Flussrichtung ist durch den Pfeil rechts markiert).
Quelle: TCI

Abbildung 3
Scaffold-Erstellung für Gewebeersatz. Für die Scaffold-Erstellung kommen verschiedene 3D-Druck Techniken zum Einsatz. Biokompatible Materialien werden mittels Hochauflösten 3D Druck Verfahren in mikrostrukturierte Gerüststrukturen gedruckt. Die Anordnung der Zellen auf dem Scaffold erfolgt durch den 3D-Druck von Hydrogelen in denen Zellen eingebettet sind.

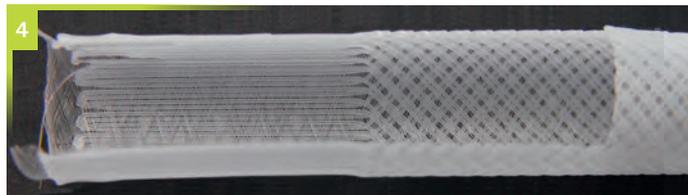
Quelle: TCI



3

Abbildung 4
Durch Einsatz eines rotierenden Druckbetts in Koordination mit dem Druckkopf eines 3D-Druckers kann die AG Blume nahtlose tubuläre Gefäßscaffolds mit feiner Mikrostrukturierung in mehreren Lagen produzieren.

Quelle: TCI/IMS



4

die Form vorgibt und zudem für die Stabilität und Flexibilität der bioartificialen Gefäßprothese sorgt, wird ebenfalls mittels 3D-Druck hergestellt. Hierzu wurde die additive Fertigung eines 3D-Druckers durch ein rotierendes Druckbett ergänzt.

Die Oberfläche dieser Gerüststruktur ist entscheidend für die Anhaftung, Form und Ausrichtung der angesiedelten Zellen. In der AG werden dafür Untersuchungen durchgeführt, welche die notwendi-

gen mikrostrukturellen Merkmale dieser Gerüststrukturen analysieren. Die dabei verwendeten Materialien sind auf eine nebenwirkungsarme Verwendung in den Patient*innen ausgelegt und in ihren mechanischen Eigenschaften den entsprechenden Strukturen im menschlichen Körper möglichst ähnlich. Sie sollen nach Implantation in den Patient*innen nach und nach abgebaut sowie durch körpereigenes Gewebe ersetzt werden. Bei diesem Austausch ist es entscheidend, dass der Aus-

tausch des Gerüsts durch körpereigenes Material gleichmäßig mit dem Abbau des künstlichen Materials stattfindet.

Ein weiterer wichtiger Aspekt in der Entwicklung der bioartificialen Gefäßprothese liegt in den optimalen Kultivierungsbedingungen im Bioreaktor. Mechanische Stimulationen, wie der durch den Blutfluss entstehende Scherstress entlang der innersten Zellschicht und andererseits die Dehnung des Blutgefäßes aufgrund der durch den Herzschlag verursachten Druckwelle, spielen eine Schlüsselrolle bei der Reifung der bioartificialen Gefäßprothese. Diese Reifung ist notwendig, um das wachsende Gewebe auf die späteren Anforderungen im menschlichen Körper vorzubereiten. Die geeigneten Kultivierungsbedingungen werden durch ein spezielles Bioreaktorsystem erzeugt, welches in enger Abstimmung mit dem Institut für Mikroelektronische Systeme (IMS) entwickelt wurde.

Auf Literaturangaben musste in diesem Artikel verzichtet werden. Interessierte Leser*innen finden auf der Homepage des TCI, AG Blume (<http://go.lu-h.de/Cfpj>) Verweise auf die zugrundeliegenden Publikationen.

Sebastian Heene
Sebastian Loewner
Jannis Renzelmann
Cornelia Blume

→ Weitere Informationen siehe Autor*innenseiten.