3-D-Bioprinting – Gewebe und Knochen aus dem Drucker

Vom Gewebeersatz mit Tissue Engineering-Knochen zum 3-D-Bioprinting von komplexen Geweben mit individueller Form für den patientenspezifischen Kieferaufbau: Die meist komplizierten dreidimensionalen Gebilde zur Deckung von Knochendefekten oder -defiziten im MKG-Bereich werden mittels CAD/CAM zunehmend computergestützt designt und hergestellt. Das neue Verfahren des 3-D-Bioprintings vereint jetzt die computergesteuerte Fertigung mit der Methode des Tissue Engineerings. Dies ermöglicht erstmals die Produktion von individuell an den jeweiligen Defekt angepassten Strukturen, die ein lebendes Gewebe darstellen.

Im Kiefer-Gesichtsbereich sind Knochendefekte oder Knochendefizite meist komplexe dreidimensionale Gebilde. Ein typisches Beispiel hierfür ist die Kieferspalte bei Patienten mit Lippen-Kiefer-Gaumen-Spalte, wie es eindrucksvoll in 3-D-rekonstruierten Röntgenbildern sichtbar wird. Auch Zysten oder Kieferabschnitte mit Knochenschwund beispielsweise nach Zahnverlust zeigen komplexe Formen, die keinen einfachen geometrischen Figuren gleichen. Zur Deckung bzw. Überbrückung solcher Defekte hat besonders in der kraniofazialen Chirurgie die Anfertigung von individuellen Implantaten (Scaffolds) zunehmend an Bedeutung gewonnen. Die Anfertigung erfolgt mittels computergestütztem Design und computergestützter Fabrikation (CAD/CAM). Die Materialien hierfür sind vielfältig: Neben Titan kommen unter anderem auch Keramiken, Kunststoffe wie PEEK und Hydroxylapatit zur Anwendung. Bei den genannten Materialien ist jeweils ein Sinterschritt bei erhöhter Temperatur zur Stabilisierung notwendig, der zu einer hohen Resorptionsbeständigkeit führt, aber einer unmittelbaren Besiedlung mit lebenden Zellen während der Herstellung – während des Drucks – diametral entgegensteht. Es gibt aber auch Biomaterialien, die bei Raumtemperatur abbinden und aus denen Gerüststrukturen hergestellt werden können, was die Einbeziehung lebender Zellen in den Druckvorgang erlaubt. Ein geeignetes, klinisch etabliertes Knochenersatzmaterial ist z. B. synthetischer, nanokristalliner Hydroxylapatit in Form von Granulaten oder pastösen Kalziumphosphat-Knochenzementen. Trägermaterialien für Zellen sind z. B. Gele auf Agar-, Alginat- oder Fibrinbasis.

Eine aktuelle, vielversprechende Entwicklung ist der Druck biologischer Gewebe. Schon früh kam die Idee auf, die Gewebearchitektur mithilfe von 3-D-Druckern nachzubauen und dabei Zellen und extrazelluläre Matrix miteinander zu vermischen und entsprechend aufzubringen. Beim 3-D-Bioprinting werden beispielsweise aus Kalziumphosphatzementpaste kombiniert mit einer Hydrogel-Zellsuspension Gewebekonstrukte für Knochen hergestellt. Dieses „Bioprinting“ vereint die computergesteuerte additive Fertigung, die eine exakte Vorgabe der Porenstruktur sowie, für die spätere klinische Anwendung entscheidend, eine individuelle Formgebung erlaubt, mit der Methode des Tissue Engineerings.

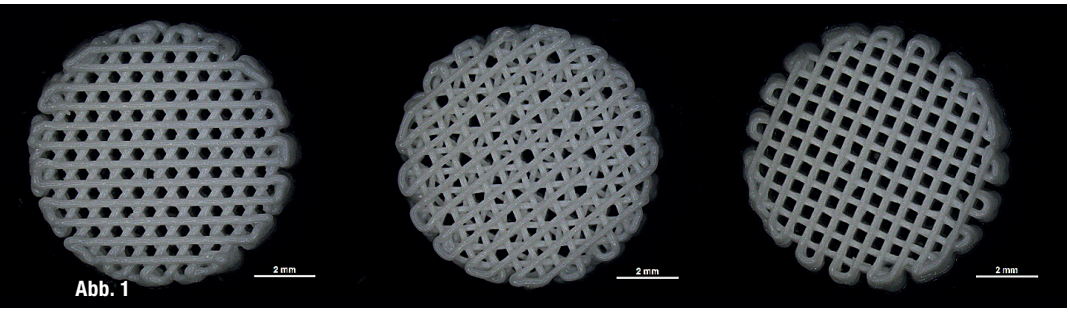


Abb. 1

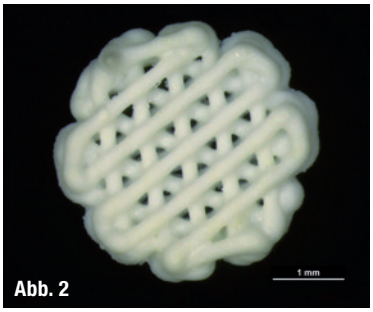
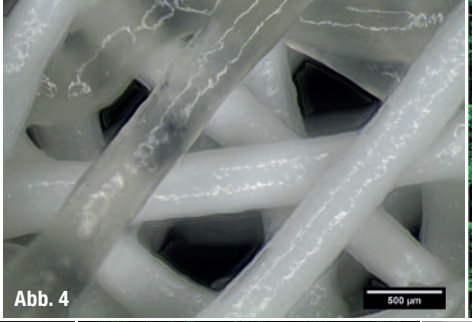
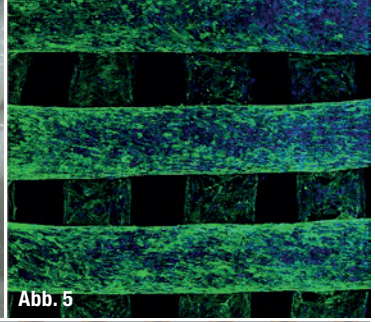
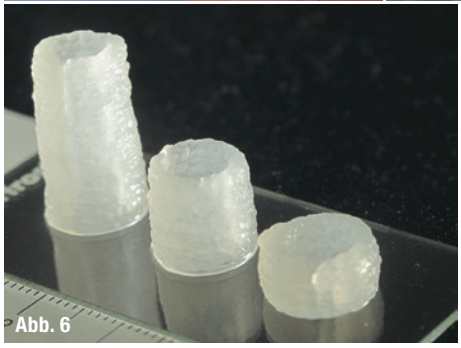


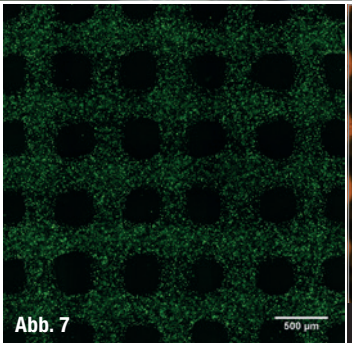
Abb. 2

Abb. 1: Der extrusionsbasierte 3-D-Druck ordnet Filamente („Stränge“) in festgelegter Ausrichtung zueinander an. Durch ein geschicktes Ablegen in mehreren Schichten können unterschiedliche Porenstrukturen erzeugt werden, die ein mechanisches und zellbiologisches Echo hervorrufen und die Einheilung der Trägerstruktur („Scaffold“) im Defekt beeinflussen. **Abb. 2:** Ein aus bioresorbierbarem Kalziumphosphatzement gedruckter Scaffold für die Heilung einer artifiziell zugefügten persistierenden Gaumenspalte einer Ratte.









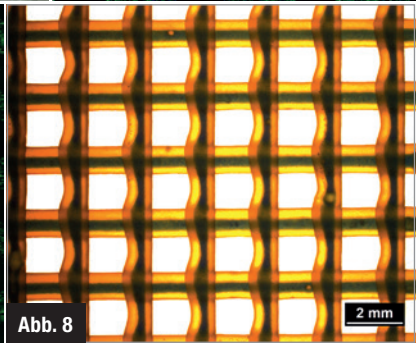


Abb. 3: Das dargestellte Kahnbein wurde aus einem CT-Datensatz einer Hand gefiltert und mithilfe eines Kalziumphosphatzements gedruckt. **Abb. 4:** Im dargestellten Fall wurde ein wasserreiches Hydrogel neben Kalziumphosphatzementstränge gedruckt, um einwandernde Zellen mit Wachstumsfaktoren und Proteinen zu versorgen. **Abb. 5:** Das Strukturprotein Aktin, welches die äußere Form von Zellen verrät, wurde angefärbt. Die Färbung zeigt die hohe Cytokompatibilität gedruckter Kalziumphosphatscaffolds. **Abb. 6:** Scaffolds, die aus einem für Zelldruck geeigneten Hydrogel erzeugt wurden. **Abb. 7:** Biodruck von Zellen. Jede lebende Zelle ist grün angefärbt. **Abb. 8:** Biogedruckte Scaffolds sollen die Einheilung fördern, u. a. indem sie die Nährstoffversorgung erhöhen. In einem innovativen Ansatz können Kern-Mantel-Strukturen gedruckt werden, indem jeder Strang einen zellulären Kern (hier blau angefärbt) besitzt, der umliegendes Gewebe unterstützt.

Mit der Anwendung des Bioprintings kann die Integration von mesenchymalen Stromazellen[1] in den Scaffolds schon während des Druckens und damit sehr homogen und nahezu verlustfrei erfolgen, was mit der konventionellen Besiedlung nach dem Herstellungsprozess nicht erreichbar ist. Auch wurde ein Verfahren des 3-D-Plottens etabliert, mit dem sich direkt hohle Stränge erzeugen lassen. Solche könnten als Leitschienen für das Einwachsen von Gefäßen fungieren und damit die Blutversorgung der künstlichen Gewebe sicherstellen. Außerdem ist die Auskleidung von schlauchförmigen Strukturen mit den geeigneten Zelltypen, zum Beispiel mit Endothelzellen (Gefäßzellen), denkbar, um so ein Knochengewebe herzustellen, das dem freien autologen Knochentransplantat entspricht. Auch ist die Herstellung von Weichgewebestrukturen denkbar, denn es wurde erfolgreich demonstriert, dass sich die so eingebetteten Stammzellen noch zu Adipozyten differenzieren und für über drei Wochen beispielsweise weiter kultivieren lassen. Das additive Verfahren des Bioprintings ermöglicht somit eine Fertigung von individuell an den jeweiligen Defekt angepassten Strukturen, die ein lebendes Gewebe darstellen.

Vorteile und Anwendung des 3-D-Bioprintings

Vor dem klinischen Hintergrund des Behandlungskonzepts für Patienten mit Lippen-Kiefer-Gaumen-Spalten, wo der Spaltverschluss schrittweise in mehreren Operationen erfolgt, ist eine direkte klinische Anwendung für den Patienten sehr von Vorteil bzw. gewinnbringend. Im ersten Operationsschritt – dem Verschluss der Lippe – kann beispielsweise gut die Gewinnung von Knochengewebe erfolgen. Die enthaltenen Zellen (Gefäßzellen, Knochenzellen, Stammzellen) können selektiert, getrennt kultiviert und im Sinne einer individuellen „Zellbank“ kryokonserviert werden. Wenn dann der Verschluss der Kieferspalte ansteht, ist die Herstellung von individuell geformtem Knochengewebe nach dem Verfahren des Bioprintings umsetzbar. Konkret: Es wird eine dreidimensionale Bildgebung der Kieferspalte des Patienten erstellt. Auf Basis dieser Daten kann dann mittels Bioprinting aus Knochenzement, Hydrogel und kryokonservierten Knochen- und Gefäßzellen ein „lebendes Knochentransplantat“ gedruckt werden. Dieses können die MKG-Chirurgen zukünftig zur Kieferspaltosteoplastik anstelle des heute noch üblichen Transplantats aus dem Becken einsetzen. Für den meist jungen Patienten wird die lästige, oft mit Schmerzen und Gehbehinderungen einhergehende Entnahme von Knochen aus dem Becken umgangen. Deshalb wird das Bioprinting an der Klinik für MKG-Chirurgie gemeinsam mit dem Zentrum für Knochen-, Gelenk- und Weichgewebeforschung des Universitätsklinikums Dresden intensiv weiter erforscht.

Bilder: © Zentrum für Translationale Knochen-, Gelenk- und Weichgewebeforschung Universitätsklinikum Carl Gustav Carus und Medizinische Fakultät der Technischen Universität Dresden

1 Multipotente Vorläuferzellen verschiedener Zelltypen. Sie können sich unter anderem in Osteoblasten (Knochenzellen), Chondrozyten (Knorpelzellen), Myozyten (Muskelzellen) und Adipozyten (Fettzellen) differenzieren.

Kontakt

Deutsche Gesellschaft für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie (DGMKG)
Schoppastraße 4, 65719 Hofheim
postmaster@mkg-chirurgie.de
www.dgmkg.de