



Resorbierbare Flockscaffolds aus einem Einstoffsystem für das Tissue Engineering

E. Gossla^{1,2}, R. Tonndorf², D. Aibibu², M. Kirsten², C. Cherif², M. Gelinsky¹

Kontakt: elke.gossla@tu-dresden.de, robert.tonndorf@tu-dresden.de, michael.gelinsky@tu-dresden.de, chokri.cherif@tu-dresden.de

¹Zentrum für Translationale Knochen-, Gelenk- und Weichgewebeforschung,
TU Dresden <http://tu-dresden.de/med/mf/tfo>

²Institut für Textilmaschinen und Textile Hochleistungswerkstofftechnik,
TU Dresden <http://tu-dresden.de/ing/maschinenwesen/itm>

Für Tissue Engineering-Anwendungen und Zellkultivierung in dreidimensionaler Umgebung werden biokompatible, poröse Trägermaterialien, so genannte Scaffolds benötigt. Wie bei konventionellen Materialien für konstruktive Anwendungen besteht bei diesen das Problem, dass eine erhöhte Porosität zwangsläufig zu einer Reduktion der mechanischen Festigkeit führt.

In einer Zusammenarbeit zwischen der Professur für Textiltechnik (Professor Chokri Cherif) und dem Zentrum für Translationale Knochen-, Gelenk- und Weichgewebeforschung an der Medizinischen Fakultät (Professor Michael Gelinsky) der TU Dresden wurde weltweit erstmals das textiltechnische Verfahren des elektrostatischen Flockens für die Herstellung von Biomaterial-Scaffolds mit einstellbarer Porosität und ausgezeichneten mechanischen Festigkeiten genutzt. Die inzwischen von der TU Dresden auch weltweit patentierte Anwendung im Biomaterialbereich bietet gegenüber anderen Verfahren zur Herstellung poröser Scaffolds den Vorteil, dass Strukturen mit hochgradig anisotropen Eigenschaften entstehen, mit denen sich die gleichfalls anisotropen Gewebe des menschlichen Körpers weitaus besser nachbilden lassen als mit konventionellen (isotropen) Materialien.

Besonders interessant scheint dieser neue Scaffoldtyp für Tissue Engineering-Anwendungen im Bereich des Gelenkknorpels zu sein. Hierfür wird dem Patienten gesunder Knorpel aus einem nicht-belasteten Bereich entnommen, die Knorpelzellen werden aufgereinigt und dann im Labor in vitro vermehrt (Matrix-assoziierte autologe Chondrozytentransplantation). Dadurch dedifferenzieren die Zellen und verlieren die Eigenschaften einer Knorpelzelle. Die -in nun deutlich erhöhter Zahl vorhandenen Zellen- werden dann in einem dreidimensionalen Trägermaterial, dem Scaffold, redifferenziert und dieses in das defekte Gewebe des Patienten transplantiert. Die Therapie von Knorpeldefekten mittels Tissue Engineering stellt aufgrund der schlechten Regenerationsfähigkeit des Knorpelgewebes eine besondere Herausforderung dar: Biomaterialien für das chondrale Tissue Engineering sollten eine hohe Druckstabilität aufweisen und die chondrogene Differenzierung eingebrachter Zellen unterstützen, um eine funktionale Knorpelmatrix zu erzeugen. Durch das Flocken wurden biologisch abbaubare und druckelastische Flockscaffolds auf der Basis des biokompatiblen Biopolymers Chitosan hergestellt. Chitosanfasern (240 tex und



Einzelfilamentdurchmesser zwischen 20 und 60 μm), in einem Nassspinnverfahren hergestellt, wurden auf 1-3 mm Länge geschnitten und nach Trocknung der Kurzfasern in einen Chitosanklebstoff (5 %w/v in Essigsäure) geflockt. Faserdichte (10-110 Fasern/ mm^2) bzw. Porosität konnten durch Veränderung der Prozessparameter (Menge, Länge und Durchmesser der Fasern sowie Trocknung und elektrische Spannung) gezielt angepasst werden. Die Neutralisation der geflockten Struktur erfolgte in 0,1 M Natronlauge in 90 % Ethanol, um eine Deformation bei der abschließenden Trocknung zu vermeiden. Vor der Verwendung in der Zellkultur wurden die Flockscaffolds mittels Gammastrahlung sterilisiert. Die Scaffolds zeigten in vitro keine zytotoxischen Effekte. Bei der direkten Kultivierung von humanen Stammzellen und humanen Knorpelzellen mit den Chitosanscaffolds adhärten die Zellen an den Chitosanfasern. Die Zellzahl nahm über eine Kultivierungszeit von 2 Wochen kontinuierlich zu. Wurden humane Stammzellen aus dem Knochenmark oder humane Knorpelzellen in Kombination mit Hydrogelen in die Chitosanscaffolds eingebracht und entsprechend kultiviert, konnten nach 21 Tagen die Eigenschaften von Knorpelzellen nachgewiesen werden.

Durch die Verarbeitung von Chitosan wurden erstmals vollständig biologisch abbaubare Flockscaffolds hergestellt und damit ein Scaffoldtyp entwickelt, der sich aufgrund seiner Struktur und Materialeigenschaften für die Regeneration von Knorpelschäden mittels Tissue Engineering eignet.

Die Verwendung Chitosan-basierter Flockscaffolds ist - auch aufgrund der nachgewiesenen Zytokompatibilität - ein vielversprechender Ansatz zur Knorpelregeneration im Tissue Engineering.

Application of flock technology for the generation of fully resorbable scaffolds for tissue engineering

E. Gossla^{1,2}, R. Tonndorf², D. Aibibu², M. Kirsten², C. Cherif², M. Gelinsky¹

Contact: elke.gossla@tu-dresden.de, robert.tonndorf@tu-dresden.de, michael.gelinsky@tu-dresden.de, chokri.cherif@tu-dresden.de

¹Centre for Translational Bone, Joint and Soft Tissue Research, University Hospital and Medical Faculty, Technische Universität Dresden, Germany.

<http://tu-dresden.de/med/mf/tfo>

² Institute of Textile Machinery and High Performance Material Technology , Technische Universität Dresden, Germany

<http://tu-dresden.de/ing/maschinenwesen/itm>

Regeneration of damaged cartilage is still challenging due to the low self-healing capacity of this tissue. The replacement of cartilage through biomaterials colonized with cells (tissue engineering) needs biocompatible and porous substrates. Special requirements for chondral scaffolds are biodegradable three-dimensional structures with particularly high elasticity to withstand the



mechanical forces in the joint. The use of flock technology allows manufacturing scaffolds for tissue engineering meeting these requirements. However, it has not yet been possible to use biodegradable biomaterials with this technique. Researchers from the Institute of Textile Machinery and High Performance Material Technology (professor Chokri Cherif) and the Centre for Translational Bone, Joint and Soft Tissue Research (professor Michael Gelinsky) of TU Dresden successfully used electrostatic flocking for the manufacturing of a biodegradable scaffold with high porosity and mechanical strength based on the biodegradable polysaccharide chitosan. Chitosan, a biodegradable and biocompatible biopolymer is a promising material for this approach. Due to its versatile processing options and low immunogenicity it is frequently applied in tissue engineering approaches. This worldwide patented approach leads to anisotropic scaffolds which meet the anisotropic properties of cartilage tissue better, compared to other usually isotropic biomaterials.

For the tissue engineering of cartilage (matrix-associated chondrocyte transplantation) healthy cartilage is sampled arthroscopically from a less weight bearing area of the joint. The enzymatically isolated chondrocytes are grown in vitro in a laboratory. During cell expansion the chondrocytes dedifferentiate; whereby they lose some of their essential properties. For redifferentiation the cells are seeded on a three-dimensional scaffold before implantation into the defect. Via flocking of chitosan, suitable biodegradable three-dimensional (3D) matrices with high mechanical properties can be used for this purpose. For this, wet-spun chitosan fibers (240 tex, single filament diameter 20-60 μm) were cut to 1-3 mm length, dried and flocked vertically on a viscous chitosan solution (5 % w/v in acetic acid), acting as flock substrate and adhesive. The chitosan fibers were shown to form a homogeneous flock structure with adjustable fiber density (10-110 fibers/ mm^2) and compressive strength, depending on fiber diameter, quantity and length as well as fiber drying and voltage. Before finale drying, the flocked scaffold was neutralized in 0.1 M sodium hydroxide solution in 90 vol% ethanol to avoid swelling and deformation. For the use in cell culture the scaffolds were sterilized by gamma-irradiation. Chitosan-based flocked scaffolds supported adhesion and proliferation of human stem cells and chondrocytes and showed no cytotoxic effects. The number of cells cultivated directly on the fibers increased continuously during the cultivation period and microscopic evaluation revealed the attachment of the cells to the fibers. Chondrogenically differentiated human stem cells and chondrocytes embedded within hydrogels into the pores of the flock scaffolds showed gene expression of chondrogenic markers as well as production of typical extracellular matrix.

This is the first demonstration of a scaffold made of a fully degradable material and manufactured by electrostatic flocking. Substrate and fibers are composed of chitosan, which has been widely used in tissue engineering applications. Based on the obtained results, flocked chitosan fibers are a promising biomaterial for cartilage tissue engineering.