

Differenzierung von nasoseptalen Chondrozyten in durch thermische Phasentrennung hergestelltem porösen PLLA Konstrukt mit bioaktivem Glas 1393

Stölzel K¹, Conoscenti G², Pavia Carvia F², Ongaro A², Brucato V², Goegele C³, Schwarz S³, Boccaccini AR⁴, LA Carrubba V², Schulze-Tanzil G³

¹Charité- Universitätsmedizin Berlin, Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde, CCM/CVK, ²Department of Civil, Environmental, Aerospace, Materials Engineering Bio and Tissue Engineering Lab, Università di Palermo, Palermo, Italia, ³Abteilung für Anatomie, Paracelsus Medizinische Privatuniversität, Nürnberg, ⁴Institut für Biomaterialien, Department Werkstoffwissenschaften, Universität Erlangen-Nürnberg, Erlangen

Hintergrund: Für die 3D-Kulturen der Chondrozyten ist man noch immer auf der Suche nach dem bestmöglichen Biomaterial. Poly α Hydroxycarbonsäuren sind intensiv als Biomaterial für das Tissue Engineering untersucht worden [45]. Sie haben gute mechanische Eigenschaften. In der Familie der Poly α Hydroxycarbonsäuren hat sich die Poly-L-Milchsäure (PLLA) als am besten geeignet gezeigt. Sie degradiert in natürliche Abbauprodukte, kann einfach hergestellt werden und die mechanischen Eigenschaften und Abbaueigenschaften können auf spezielle Ansprüche angepasst werden. Verschiedene Techniken werden zur Produktion der porösen PLLA Scaffolds mit unterschiedlicher Mikrostruktur genutzt, wie z.B. Teilextraktion, Phasentrennung (Abb. 1), Elektrosponning und 3D Micro-printing.

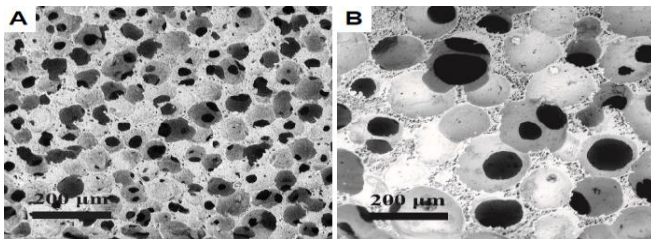


Abb. 1 PLLA Konstrukt unter dem Rasterelektronenmikroskop (REM). Porengröße: A 100 μ m, B 200 μ m.

Durch die besondere Herstellung mittels therminduzierter Phasentrennung (TIPS) und der Supplementierung von bioaktivem Glas erhofft man sich eine höhere Differenzierungsrate und homogene Dispersion der Chondrozyten im Konstrukt.

Methodik: Die porösen PLLA Konstrukte mit und ohne unterschiedlichen Anteil von bioaktivem Glas (BG) 1393 wurden durch die TIPS-Technik aus einer ternären Lösung von Polymer, Lösungsmittel und Fällungsmittel (PLLA, 1,4 Dioxan, destilliertes Wasser) in eine einfache Lösung umgewandelt. Es entstanden die unten genannten Schaumstoffchips (Abb. 2).

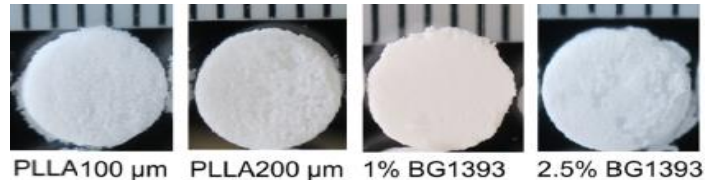


Abb. 2 PLLA Chips mit unterschiedlichen Anteilen BG.

Mittels REM, Röntgendiffraktometrie und Differential-Scanning-Kalorimetrie wurden die Schaumstoffe analysiert (Abb. 3).

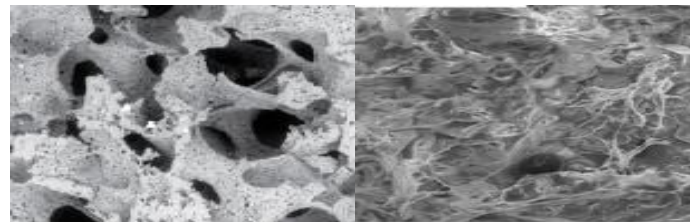


Abb. 3 Oberflächenmorphologie unter dem REM von PLLA. Links: mit 2.5% BG. Rechts: mit 2.5% BG und Chondrozytenbesiedlung

Die Kultivierung mit humanen nasalen Chondrozyten erfolgte über 7 und 14 Tage. Zu diesen Zeitpunkten wurden die Vitalität, die Anlagerung und Morphologie der Chondrozyten sowie SOX9 als chondrogener Transkriptionsfaktor und die Produktion der extrazellulären Matrix untersucht.

Ergebnisse: Die Mehrzahl der Chondrozyten war zu den Entnahmezeiten vital, hatte sich im gesamten Konstrukt verteilt und synthetisierte Glukosaminoglykane. Die extrazellulären Proteine Kollagen II und Aggrecan wurden in den Konstrukten mit einem Anteil von 1% bioaktivem Glas besonders hoch exprimiert (Abb. 4,5). Damit behalten die Chondrozyten in diesem Konstrukt ihre Differenzierungsmerkmale bei.

Fazit: Das poröse PLLA Konstrukt mit bioaktivem Glas scheint ein geeignetes Biomaterial für die Kultivierung von nasoseptalen Chondrozyten zu sein.

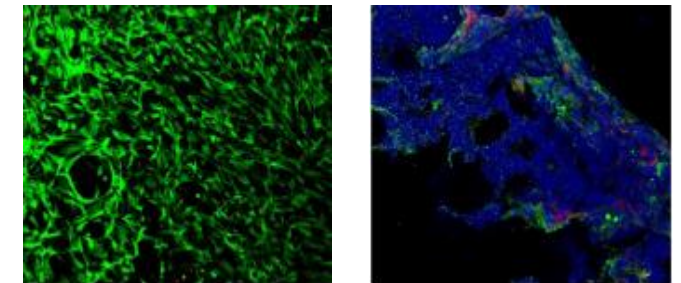


Abb. 4 Links: Vitalfärbung (Fluoresceindiacetat/Propidiumjodid) PLLA mit 1% BG. Rechts: Immunhistochemische Analyse von Kollagen I rot und II (grün), Zellkerne:blau

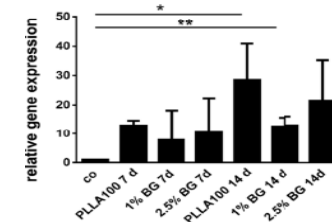


Abb. 5 Genexpression von Aggrecan