

Tissue-Engineering im Femtosekunden-Takt

Organe aus dem Drucker - davon träumen nicht nur Patienten, sondern auch die Entwickler von Pharmazeutika, die an künstlich erzeugten Gewebeproben die Wirkung neuer Medikamente untersuchen wollen. Forschern der Hochschule München ist es jetzt erstmals gelungen, mit Hilfe eines Femtosekundenlasers lebende menschliche Zellen ohne Verunreinigung oder genetische Schäden in 3D auf ein Glasplättchen zu drucken. Die Arbeit wurde unlängst im Fachmagazin PLOS ONE veröffentlicht.

Die Wirklichkeit ist zu schnell, um sie zu begreifen. Im Mikrosekundentakt schießt eine winzige Fontäne aus dem Probenbehälter und trifft auf ein mit Gel beschichtetes Glasplättchen. Innerhalb weniger Sekunden entsteht eine dreidimensionale Struktur aus lebenden menschlichen Zellen.

Um Details erkennen zu können, braucht man Zeitlupenaufnahmen. Prof. Heinz P. Huber von der Fakultät für Angewandte Naturwissenschaften und Mechatronik der Hochschule München sitzt mit seinem Team vor dem Monitor und betrachtet die Abläufe in Slow-motion: „Wir können hier sehen, wie die Lichtpulse des Femtosekundenlasers die Flüssigkeit im Probenbehälter anregen und sich unter der Oberfläche eine undurchsichtige Plasma-Blase bildet“, erklärt der Physiker. Wenige Augenblicke später explodiert die Blase und eine Fontäne, dünner als ein Haar, schießt mit 50 Stundenkilometern nach oben. Dieser „Jet“ besteht aus winzigen Wassertröpfchen, und diese enthalten lebende Zellen.

„Mit diesem Jet können wir Zellstrukturen drucken“, erläutert Jun Zhang, der gerade eine Doktorarbeit über die neue Technik schreibt: „Die Anlage lässt sich so steuern, dass die Zellen in einer Ebene, aber auch drei-dimensional und in hoher Auflösung aufgebracht werden können. So entstehen Keimzellen für neues Gewebe.“

Je nachdem, welche Zellen auf das Glasplättchen aufgedruckt werden, bildet sich Haut-, Herzmuskel- oder Knorpelgewebe. Zhang arbeitet derzeit mit Sehnen-Zellen. Aus denen will er, zusammen mit den Medizinern an der Universität Regensburg, künstliche Sehnen für Implantate herstellen. Weil diese aus körpereigenen Zellen der Patienten gewonnen werden können, sind keine Abstoßungsreaktionen zu befürchten. Bis Patienten mit Sehnenverletzungen von der neuen Technik profitieren, wird allerdings noch einige Zeit vergehen. „Noch sind wir in der Entwicklungsphase“, betont Huber.

Drucken ohne Nebenwirkungen

Schon seit Jahren wetteifern Forscherteams auf der ganzen Welt um die beste Technik zur Herstellung von künstlichem Gewebe, englisch Tissue Engineering. Ziel ist es, im Labor Gewebeersatzmaterialien zu erzeugen, die in Aufbau und Funktion identisch sind mit menschlichem Gewebe. Aus diesem sollen dann Implantate aber auch Gewebeproben für die Untersuchung neuer Wirkstoffe hergestellt werden. „Es gibt mittlerweile mehrere Druck-Verfahren, bisher hat jedoch keines die hohen Erwartungen erfüllt“, erklärt Huber. Bei gängigen Inkjet-Bioprintern beispielsweise setzt die Reibung in der Spritzdüse den Zellen zu und verringert deren Überlebensrate. In Laserdruckern, die mit infraroten Lichtpulsen arbeiten, führt eine energieabsorbierende, meist metallische, Schicht zu Verunreinigungen mit Nanopartikeln. Und UV-Laser-Drucker verursachen mitunter Schäden am Erbgut.

„Wir haben daher nach einer alternativen Methode gesucht, die die Zellen nicht belastet. Dabei sind wir auf die Multi-Photonen-Absorption gestoßen“, erinnert sich Huber. Die Photonen, die ein Femtosekundenlaser erzeugt, versetzen die Flüssigkeit in einen energetisch angeregten Zustand, ohne die Zellen zu schädigen. Das Laserlicht kann außerdem direkt, ohne Absorber, auf die Flüssigkeit gerichtet werden, Verunreinigen werden damit vermieden. Ein weiterer Vorteil: Der Jet, der entsteht, wenn die Energie aus der durch das Laserlicht erzeugten Plasmablase entweicht, ist extrem dünn und kann daher Zellen in hoher Auflösung auf einem Objektträger platzieren. Theoretisch ist die Multi-Photonen-Absorption damit eine ideale Technik, um Strukturen aus lebenden Zellen zu drucken.

Feintuning steigert die Überlebenschancen

Praktisch musste Hubers Team einige Hürden überwinden. Zwei Jahre haben die Forscher an den Details getüftelt, berichtet Zhang: „Unsere ersten Versuche mit dem Femtosekundenlaser waren wenig ermutigend, die Zellen landeten zwar an den gewünschten Stellen, haben aber nicht überlebt. Erst nach und nach haben wir herausgefunden, wie man den Prozess steuern muss, um ein optimales Ergebnis zu erzielen.“ Entscheidend für das Überleben der Zellen ist beispielsweise die Fokustiefe des Lasers: Liegt die Plasmablase zu tief unter der Oberfläche, wird der Druck, der sich aufbaut, bevor die Blase platzt, zu hoch. Ein anderer wichtiger Faktor ist die Energie der Laserstrahlen. Sie darf nicht zu hoch sein, sonst expandiert die Blase zu schnell und zerstört die Zellen. Und auch die Zeit spielt eine Rolle: Je schneller der Druckprozess abgeschlossen ist, und das Glasplättchen in den Brutschrank gelegt wird, desto mehr Zellen überleben und können sich vermehren.

Fitnessprogramm für Gewebe

Im nächsten Schritt wollen die Physiker zusammen mit Medizinerinnen und Biologen die aufgedruckte Zellstruktur in echtes Sehngewebe verwandeln. Die Arbeit ist Teil des Forschungsprojekts CANTER, die Abkürzung steht für „Centrum für Angewandtes Tissue Engineering und Regenerative Medizin“, in dem 15 Partner, darunter die Hochschule München, die TUM, die LMU und die Universität Regensburg, interdisziplinär kooperieren. Eines ist bereits klar: Damit die Zellen sich nicht nur vermehren, sondern auch so organisieren wie im menschlichen Körper, müssen die Umgebungsbedingungen stimmen: Benötigt werden gleichmäßige Temperaturen um die 37 Grad, Nährstoffe, Wachstumsfaktoren, Collagen und ein ausgetüfteltes Trainingsprogramm – nur wenn Sehnenzellen ständig bewegt werden, verwandeln sie sich in ein Gewebe, das den Belastungen im menschlichen Körper standhält.

Originalpublikation:

Zhang J, Hartmann B, Siegel J, Marchi G, Clausen-Schaumann H, Sudhop S, et al. (2018) Sacrificial-layer free transfer of mammalian cells using near infrared femtosecond laser pulses. PLOS ONE 13(5): e0195479.

<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0195479>

Weitere Informationen:

https://public.webdav.hm.edu/ppub/_oxP_1c9f900861c2775c Bilder mit Bildunterschriften