

Gabriel Alexander Salg
Dr. med.

Bioprinting of insulin-secreting tissue

Fach/Einrichtung: Chirurgie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Thilo Hackert

Die Behandlung von Patienten mit unzureichender endogener Insulinsekretion erfordert wirksame Therapien zur Vermeidung hyperglykämischer Stoffwechsellagen und der damit verbundenen Komplikationen. Intensivierte Insulintherapie und innovative externe Insulinabgabesysteme können den Glucosestoffwechsel effektiv normalisieren und dadurch langfristige mikro- und makrovaskuläre Komplikationen evident reduzieren. Diese externe Applikation von Insulin bleibt dabei dennoch einer physiologischen, endogenen Insulinsekretion unterlegen, in welcher Insulin-produzierende β -Zellen in Echtzeit auf Blutglucosekonzentrationen reagieren können und entsprechend dosierte Mengen an Insulin in die Zirkulation abgeben. Die intraportale Inselzelltransplantation ist eine etablierte Behandlungsoption für ausgewählte Patienten, die an Typ-1- oder Typ-3c-Diabetes mellitus erkrankt sind. Jedoch steht diese Therapieoption aufgrund der begrenzten Menge an Spendergewebe, des beträchtlichen Verlusts von Insulin-produzierenden Zellen unmittelbar nach der Transplantation sowie einer unzufriedenstellenden Langzeitfunktion noch vor Herausforderungen. Der Kontakt mit Blutbestandteilen löst eine inflammatorische Reaktion aus, die zum Untergang eines großen Anteils der transplantierten Inselzellen führt. Weitere Studien zeigten, dass die intrahepatische Transplantationslokalisation aufgrund des niedrigeren Sauerstoffpartialdrucks sowie aufgrund lokal erhöhter Konzentrationen von Stoffwechselabbauprodukten, das Langzeitüberleben und die Funktion transplanterter Langerhans-Inseln einschränken.

Tissue-Engineering-Techniken, bei welchen insulinproduzierende Zellen in Hydrogel-Materialien integriert werden, um das natürliche Mikromilieu von Langerhans-Inseln nachzuahmen, erzielen vielversprechende Ergebnisse *in vitro* und *in vivo*. Biodruck als innovative Fertigungstechnologie hat das Potenzial, solche biotechnologisch bearbeiteten Gewebeprodukte herzustellen. Dadurch könnte die extrahepatische Transplantation von insulinproduzierenden Zellen in einem biotechnologisch bearbeiteten Gewebe ermöglicht werden.

In dieser Dissertationsschrift wurde ein Konzept zur Herstellung von bioartifiziellem, insulinproduzierendem Gewebe durch Biodruck als Fertigungstechnologie entwickelt und untersucht. Dabei befassen sich die experimentellen Untersuchungen dieser Umsetzbarkeitsstudie mit der Fertigung einer hybriden, modularen Makrostruktur, der Integration von Zellen in eine Biotinte als Teil der hybriden Makrostruktur, sowie der Evaluation der Funktionsfähigkeit dieser Zellen. Unzureichende Vaskularisation, und damit unzureichende Versorgung der Zellen mit Sauerstoff und Nährstoffen, gilt als größte Limitation in Bezug auf die Skalierbarkeit von biotechnologisch bearbeiteten Gewebeprodukten. Daher gilt ein weiterer Fokus dieser Arbeit der Untersuchung der Vaskularisation des bioartifizialen Gewebes.

Durch Einsatz von 3D-Druck und Biodruck wurden die Bestandteile der hybriden Makrostruktur, genauer des soliden, Polycaprolacton-Außengitters sowie der Zell-tragenden Innenstruktur aus Biotinte, hergestellt. Nach Integration von Insulin-produzierenden INS-1 Zellen in diese Biotinte und Biodruck, konnte die Entstehung von proliferierenden Pseudoinseln beobachtet werden. Durch RNA-Sequenzierung und Analyse der differentiellen Genexpression wurde die Hochregulation proliferativer und β -Zell-spezifischer

Signalkaskaden, eine Herunterregulation apoptotischer Signalwege, eine Überexpression von Proteinbestandteilen der extrazellulären Matrix und eine erhöhte *Vegfa*-Expression in den Pseudoinseln nachgewiesen. Die Ko-Kultivierung von INS-1-Zellen mit Endothelzellen steigerte die basale Insulinsekretion sowie die Insulinsekretion in Reaktion auf Glucose signifikant. *In ovo* und *ex ovo* Chorio-Allantois-Membran-Experimente zeigten, dass eine extensive Vaskularisierung der mit Heparin funktionalisierten Polycaprolacton-Außengitter und der Xenotransplantate aus Biotinte stattfand. Nach der Explantation der Xenotransplantate wurden mittels immunhistochemischer Insulinfärbungen Überleben und Funktion der Pseudoinseln untersucht. Lebensfähige Pseudoinseln wurden dabei hauptsächlich in Randbereichen des Xenotransplantats oder in der Nähe von penetrierenden Gefäßstrukturen nachgewiesen. *In silico* Simulationen diffusionsbasierter Prozesse wurden durchgeführt, um potenzielle dreidimensionale Architekturen im Hinblick auf Überleben und Funktion von humanen Langerhans-Inseln zu untersuchen und Grenzbedingungen zu definieren. Basierend auf theoretischen und experimentellen Ergebnissen wurde abschließend ein Konzept für die perivaskuläre Implantation von modularen hybriden Makrostrukturen vorgestellt, welche eine potentielle neue Transplantationsstrategie für bioartifizielles Insulin-sezernierendes Gewebe darstellen.