

Aus dem Zentrum für Orthopädie und Unfallchirurgie (ZOU)
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Etablierung des kombinierten 3D-Drucks von Konstrukten aus Polylactid (PLA) mit
biokompatiblen Gelen auf Agarose-/ Kollagen-/ Gelatine- und Alginatbasis

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der
Medizin
der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz


Vorgelegt von

Jonas Maximilian Ludwig Reccius
Aus München

Mainz, 2025

Wissenschaftlicher Vorstand: Univ.-Prof. Dr. med. Philipp Drees anzugeben

1. Gutachter: Prof. Dr. rer. physiol. et med. habil. Ulrike Ritz

2. Gutachter: 

Tag der Promotion: 16. Januar 2026

Nachnutzungslizenz: CC-BY-ND-4.0

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	II
Tabellenverzeichnis	III
1 Einleitung	4
1.1 Ausgangslage	4
1.2 Zielsetzung	4
1.3 Aufbau der Dissertation	5
2 Literaturdiskussion	6
2.1 Grundlagen des 3D-Drucks	6
2.1.1 Historische Entwicklung und Anwendungsfelder	6
2.1.2 Notwendige Software	7
2.1.3 Drucktechniken	7
2.1.4 Biodruck als Sonderform des 3D-Drucks	10
2.1.5 Kombiniertes 3D-Druck	11
2.2 Biofabrikation - 3D-Biodruck im Tissue Engineering	12
2.2.1 Begriffsdefinition	12
2.2.2 Bone Tissue Engineering	12
2.3 Relevante Werkstoffe	13
2.3.1 Thermoplastische Polymere	14
2.3.2 Polylaktidsäure	14
2.3.3 Hydrogele – Grundstoff für Biomaterial-Tinten	15
2.3.4 Weitere Hilfsstoffe	17
2.4 Marktübersicht zu 3D-Drucksystemen	18
2.4.1 Kurzübersicht zu relevanten Modellen	19
2.4.2 Modellsteckbrief: Black Drop Super Fill Robo®	21
3 Material und Methoden	23
3.1 Methodenentwicklung als Forschungsziel	23
3.2 Eingesetztes Drucksystem	24
3.2.1 3D-Biodrucker: Black Drop Super Fill®	24
3.2.2 Zugehörige Software	25
3.3 Verwendete Werkstoffe	29
3.3.1 Eingesetzter thermoplastischer Kunststoff für Extrusionsdruck	30
3.3.2 Eingesetzte Hydrogele für Drop-on-Demand-Druck	30
4 Ergebnisse	32
4.1 Methodenentwicklung: Etablierung des Kombinationsdrucks	32
4.1.1 Entwicklung des Kunststoff-Modells	32
4.1.2 Entwicklung der Hydrogel-Komponente	37
4.1.3 Entwicklung des kombinierten Workflows	43
4.1.4 Zusammenfassung der Methodenentwicklung	48
4.2 Ergebnisse des Kombinationsdrucks	48

4.2.1	Kombinationsdruck mit Agarose	49
4.2.2	Kombinationsdruck mit Natriumalginat.....	50
5	Diskussion der Ergebnisse	52
5.1	Eignung der verwendeten Werkstoffe	53
5.1.1	Thermoplastischer Kunststoff	53
5.1.2	Biomaterial-Tinten	53
5.2	Eignung der ausgewählten Drucktechniken	55
5.3	Eignung des verwendeten Druckers	56
5.4	Limitierungen der Arbeit.....	59
5.5	Zukunftsperspektiven des Kombinationsdrucks	61
6	Zusammenfassung.....	63
7	Literaturverzeichnis	64
8	Anhang	73
8.1	Materialliste	73
9	Danksagung.....	74
10	Tabellarischer Lebenslauf	75

Abkürzungsverzeichnis

ABS	Acrylnitril-Butadien-Styrol
BTE	Bone Tissue Engineering
CaCl	Calciumchlorid
CAD	Computer-Aided Design
DBB	Droplet-basierter Biodruck
DoD	Drop-on-Demand
FDM	Fused Deposition Modeling
FLM	Fused Layer Modeling
PCL	Polycaprolacton
PLA	Polylactidsäure
RM	Regenerative Medizin
SLA	Stereolithographie
TE	Tissue Engineering

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 - Vorbereitung eines 3D-Drucks	7
Abbildung 2 - FLM-3D-Druck schematischer Ablauf	9
Abbildung 3 - Droplet-3D-Druck mit Mikroventil schematischer Ablauf	10
Abbildung 4 - Darstellung eines Kombinationsdrucks mit FLM und Droplet-Technik.....	12
Abbildung 5 - PLA-Filamente in verschiedenen Farben für den 3D-Druck	13
Abbildung 6 - Molekülstruktur Polylaktidsäure	14
Abbildung 7 - Molekülstruktur Natriumalginat	17
Abbildung 8 - Aufbau der Microventil-DoD-Druckkartusche	21
Abbildung 9 - Black Drop Super Fill Robo®	21
Abbildung 10 - Methodische Vorgehensweise	23
Abbildung 11 - Benutzeroberfläche der Slicing-Software	26
Abbildung 12 - Fein-Einstellungen zu Tropfenplatzierung.....	27
Abbildung 13 - Benutzeroberfläche zur Vorbereitung des Druckvorgangs	28
Abbildung 14 - Feinparameter-Einstellung für Kombinationsdruck.....	29
Abbildung 15 - Filamentdruck eines porösen Kunststoffmodells	32
Abbildung 16 - Standardeinstellungen des Black Drop Super Fill Robo®	33
Abbildung 17 - PLA-Konstrukt mit Überextrusion.....	34
Abbildung 18 - Druckmodell mit Stringing	36
Abbildung 19 - Weiterentwicklung der Kunststoffkomponenten	37
Abbildung 20 - Digitales Modell für den Kunststoffdruck	37
Abbildung 21 - Erfolgreicher Testdruck in vorgefertigtes Kunststoffmodell (3% Agarose)	38
Abbildung 22 - Fertige Kollagenlösung	41
Abbildung 23 - Agglomerat nach 2% w/v Agarose-Testdruck	42
Abbildung 24 - Fehlschlag eines Drucks wegen Ansammlung eines Hydrogel-Tropfens	42
Abbildung 25 - Schematischer Arbeitsablauf eines kombinierten Druckvorgangs	44
Abbildung 26 - Finaler digitaler Entwurf der Hydrogelkomponente	45
Abbildung 27 - Dislokation beim Kombinationsdruck nach Austreten von Hydrogel.....	46
Abbildung 28 - PLA-Zylinder mit anhängendem Raft	46
Abbildung 29 - Finales PLA-Scaffold mit dichtem Raft für den kombinierten Druck	47
Abbildung 30 - Erfolgreicher Kombinationsdruck von PLA und Agarose (3%)	49
Abbildung 31 - Konsistenztest nach erfolgreichem Kombidruck PLA und Agarose (3%).....	50
Abbildung 32 - Ergebnis des Drucks 1%igen Na-Alg. auf ein mit CaCl beimpftes Modell	51
Abbildung 33 - Produktbild und technische Details BioX™	59

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 - Übersicht zu 3D-Drucktechniken.....	9
Tabelle 2 - Marktübersicht 3D-Drucksystemen	20
Tabelle 3 - Technische Spezifikationen des Black Drop Super Fill Robo®.....	22
Tabelle 4 - Auswahlkriterien des für das Projekt verwendeten Druckers.....	24
Tabelle 5 - Auflistung der eingesetzten Hydrogele.....	30
Tabelle 6 - Druckergebnisse bei variierender Vorschubrate.....	35
Tabelle 7 - Aushärtungseigenschaften von Agarose.....	38
Tabelle 8 - Aushärtungseigenschaften von Natriumalginat	39
Tabelle 9 - Aushärtungseigenschaften von Gelatine.....	39
Tabelle 10 - Aushärtungseigenschaften von Kollagen	40
Tabelle 11 - Zusammenfassung Ergebnisse Hydrogeldruck.....	43

1 Einleitung

1.1 Ausgangslage

Additive Fertigungsverfahren haben sich als Herstellungsmethode im industriellen Bereich in den vergangenen Jahrzehnten fest etabliert. Auch im Bereich der Medizintechnik bietet diese Technik großes Innovationspotenzial. Ein wichtiges Einsatzgebiet ist dabei der Fachbereich der Orthopädie und Unfallchirurgie. Die Herstellung von patientenindividuell angepassten Prothesen und Implantaten nimmt in der zeitgenössischen Forschung viel Raum ein. Auch in anderen chirurgischen Fachrichtungen wird die 3D-Drucktechnik bereits in der klinischen Realität eingesetzt. So zum Beispiel in der Tumor- oder Gefäßchirurgie zur visuellen und haptischen Vorbereitung der Operierenden auf komplizierte Eingriffe. Ein weiteres medizinisches Forschungsgebiet ist die Verwendung von 3D-gedruckten Organoiden und Geweben zur Simulation von pharmakologischen Wirkvorgängen oder der Entwicklung neuer Therapiemethoden. Hierbei stellt in erster Linie der Biodruck, also der 3D-Druck von bioaktiven Stoffen und/oder lebenden Zellen, ein wichtiges Werkzeug dar. Insbesondere das Arbeitsfeld des Tissue Engineerings (TE) profitiert von den Fortschritten im Bereich des Biodrucks. TE befasst sich, speziell in der Unfallchirurgie und Orthopädie, mit der Herstellung von Implantaten aus innovativen Materialien. Die Kombination unterschiedlicher Materialien in einem Implantat birgt das Potential, besonders leistungsstarke und verträgliche Prothesen herzustellen. Dies könnte den Grundstein für eine neue Generation von biokompatiblen Implantaten legen.

Für den Druck von Objekten unter Verwendung unterschiedlicher Materialien ist die Etablierung von Kombinationsdruckverfahren notwendig. Insbesondere Verfahren, bei welchen für den Druckprozess unterschiedliche Drucktechniken angewendet werden müssen, sind noch wenig erforscht. Dies ist zum Beispiel der Fall bei einem kombinierten Druck von thermoplastischem Kunststoff und Biomaterial-Tinten. Bei einem Kombinationsdruck dieser beiden Werkstoffkategorien müssen Extrusions- und Hydrogel-Druck kombiniert werden, um in einem Arbeitsgang ein kombiniertes Druckergebnis zu erhalten. Diese konkrete Forschungslücke soll in der vorliegenden Dissertation behandelt werden.

1.2 Zielsetzung

Das Ziel der vorliegenden Forschungsarbeit liegt darin, die zwei Werkstoffgruppen Kunststoffe und Biomaterial-Tinten in einer 3D-gedruckten Struktur zu kombinieren. Im Labor der Orthopädie und Unfallchirurgie der Johannes Gutenberg-Universität Mainz wurden bereits im Rahmen vorangegangener Forschungsprojekte Versuche durchgeführt, welche das osteoinduktive Potenzial von biokompatiblen Kunststoffen und Hydrogelen erforscht haben.^{1,2} Um die klinische Anwendbarkeit solcher Technologie zu ermöglichen, ist die Herstellung von 3D-gedruckten Kombinationsprodukten aus Kunststoff und Hydrogel in einem einzigen, automatisierten Arbeitsablauf der nächste, zu erforschende Schritt.

Im Rahmen der vorliegenden Dissertation liegt der Fokus auf der Entwicklung eines solchen kombinierten Arbeitsablaufs. Ferner soll die entwickelte Methodik mit alternativen Techniken verglichen und kritisch hinterfragt werden. Zentrale Erfolgsfaktoren auf dem Weg zu einem erfolgreichen Kombinationsdruck sind die sorgfältige Abstimmung der Parameter wie Temperatur, räumlicher Ausdehnung, Aushärtezeiten sowie Schrumpfung und Ausdehnung.

Der zu entwickelnde Versuchsaufbau soll auch in kleineren Laboreinrichtungen reproduzierbar sein. Demzufolge sollen diese drei Bedingungen erfüllt werden:

- Hydrogele sind eigenständig unter Laborbedingungen anmischbar
- 3D-Drucksystem ist einfach zu bedienen
- 3D-Drucksystem liegt im unteren bis mittleren Preissegment (< 50.000 Euro)

Die zugrundeliegende Forschungsfrage lautet:

Wie kann 3D-Druck mit einer Kombination aus biokompatiblen Thermoplasten und Hydrogelen für wissenschaftliche/medizintechnische Anwendungen einfach, kostengünstig und vielseitig anwendbar ermöglicht werden?

Die Operationalisierung der drei Kriterien *einfach*, *kostengünstig* und *vielseitig anwendbar* erfolgt in Kapitel 5.

1.3 Aufbau der Dissertation

Diese wissenschaftliche Arbeit basiert auf den bisherigen Erkenntnissen aus Studien zu den eingesetzten Materialien und Drucktechniken. Die Literaturdiskussion bietet den nötigen Hintergrund zur grundsätzlichen Technik des 3D-Drucks und zu den Besonderheiten seiner medizinischen Anwendung. Dabei werden relevante Publikationen zusammengefasst und eingeordnet. Im Abschnitt "Materialien und Methoden" beschreibt die Arbeit die im experimentellen Teil angewendeten Verfahren, den spezifisch ausgewählten 3D-Drucker sowie die Laborausstattung, die für die Versuchsreihen verwendet wurde. Der Ergebnisteil präsentiert die aus der Arbeit mit dem Gerät gewonnenen Daten und Erkenntnisse. Abschließend werden die Ergebnisse in Kapitel 5 im Kontext aktueller Forschung diskutiert und zusammengefasst, um ein vollständiges Bild des untersuchten Themas zu vermitteln und mögliche weitere Forschungsfelder zu beleuchten. Kapitel 6 fasst die zentralen Inhalte der Dissertation zusammen und bietet einen abschließenden Überblick über die gewonnenen Erkenntnisse.

2 Literaturdiskussion

Als erstes Kapitel dieser Arbeit liefert die Literaturdiskussion einen Überblick über Grundlagen sowie bisherige Studien und Forschungserkenntnisse, die zum Verständnis und zur Einordnung der Promotionsarbeit notwendig sind.

2.1 Grundlagen des 3D-Drucks

Der Begriff "3D-Druck" bezieht sich auf eine Reihe von technischen Herstellungsverfahren, durch die dreidimensionale, physische Objekte auf Grundlage digitaler Entwürfe hergestellt werden. Der 3D-Druck basiert auf dem Prinzip der additiven Fertigung, wobei Material schichtweise aufeinander aufgetragen wird, um ein Endprodukt zu erzeugen. Zur Verbindung des Materials kommen physikalische oder chemische Aushärtungs- oder Schmelzprozesse zum Einsatz.³

Der Begriff 3D-Druck wird oft gleichbedeutend mit dem Ausdruck Additive Fertigung verwendet. Diese Bezeichnung verdeutlicht die Abgrenzung der 3D-Druck-Technik von klassischen, subtraktiven Herstellungsmethoden, bei denen kontrolliert Material durch spanende Verfahren von einem Rohling abgetragen wird, um eine gewünschte Form zu erreichen.

Gibson et al. erklären das Grundprinzip der Additiven Fertigung folgendermaßen:

„[...] a model, initially generated using a three-dimensional Computer-Aided Design (CAD) system, [that] can be fabricated directly without the need for process planning.“⁴

Außerdem stellen die Autoren fest, dass für die Funktion der Additiven Fertigung das Zusammenfügen einzelner Lagen an Material im Mittelpunkt stehe. Jede dieser Lagen stelle dabei einen dünnen Querschnitt des ursprünglichen CAD-Datensatzes dar.⁴

Der Begriff 3D-Druck beschreibt somit Techniken, die zur Erstellung dreidimensionaler Objekte auf Grundlage von digital angefertigten Vorlagen genutzt werden können und dies durch das schichtweise Auftragen und Verbinden einzelner Lagen des verwendeten Werkstoffs erfolgt.

2.1.1 Historische Entwicklung und Anwendungsfelder

Die Anfänge der 3D-Druck-Technologie gehen auf den amerikanischen Ingenieur Charles Hull zurück, der in den 1980er Jahren ein Verfahren entwickelte, mit dem lichtempfindliche Kunstharze mit UV-Licht selektiv gehärtet und schichtweise zu dreidimensionalen Modellen aufgebaut werden konnten.³ Dieses Verfahren wurde später als Stereolithografie (SLA, engl. VAT-Polymerisation) bekannt und war die erste kommerziell verfügbare 3D-Drucktechnologie.⁵ Halls Durchbruch legte den Grundstein für die Entwicklung weiterer 3D-Drucktechnologien, darunter die Fused Layer Modeling (FLM) Technologie, die in den 1990er Jahren entwickelt wurde, sowie das Selective Laser Sintering (SLS), wodurch auch die additive Fertigung von Objekten aus Metall ermöglicht wurde.⁶

Seit dem beginnenden 21. Jahrhundert ist die Technik in der Breite der Gesellschaft angekommen und erfreut sich reger Nutzung in Kunst, Architektur, der Designbranche, dem Ingenieurwesen, der Medizin und nicht zuletzt der weltweiten Forschung.⁷

Im medizinischen Bereich gibt es zahlreiche Einsatzfelder für additive Fertigungsverfahren, zum Beispiel in der biomedizinischen Forschung. Auch in der Vorbereitung chirurgischen Personals auf schwierige Eingriffe können additive Fertigungsverfahren zum Einsatz kommen, indem 3D-gedruckte Modelle der Strukturen des OP-Gebiets angefertigt werden. Ferner wird additive Fertigung bereits zur Herstellung patientenindividueller Implantate und Prothesen, auch unter Verwendung bilddiagnostischer Datensätze, eingesetzt.^{8,9}

2.1.2 Notwendige Software

In der 3D-Drucktechnologie fungiert die eingesetzte Softwarearchitektur als Bindeglied zwischen dem digitalen Modell und dem physikalischen Fertigungsprozess. Computer-Aided-Design-Programme stellen die primäre Umgebung zur Erstellung digitaler, dreidimensionaler Modelle dar. Abbildung 1 fasst die vorbereitenden Schritte eines 3D-Drucks zusammen.

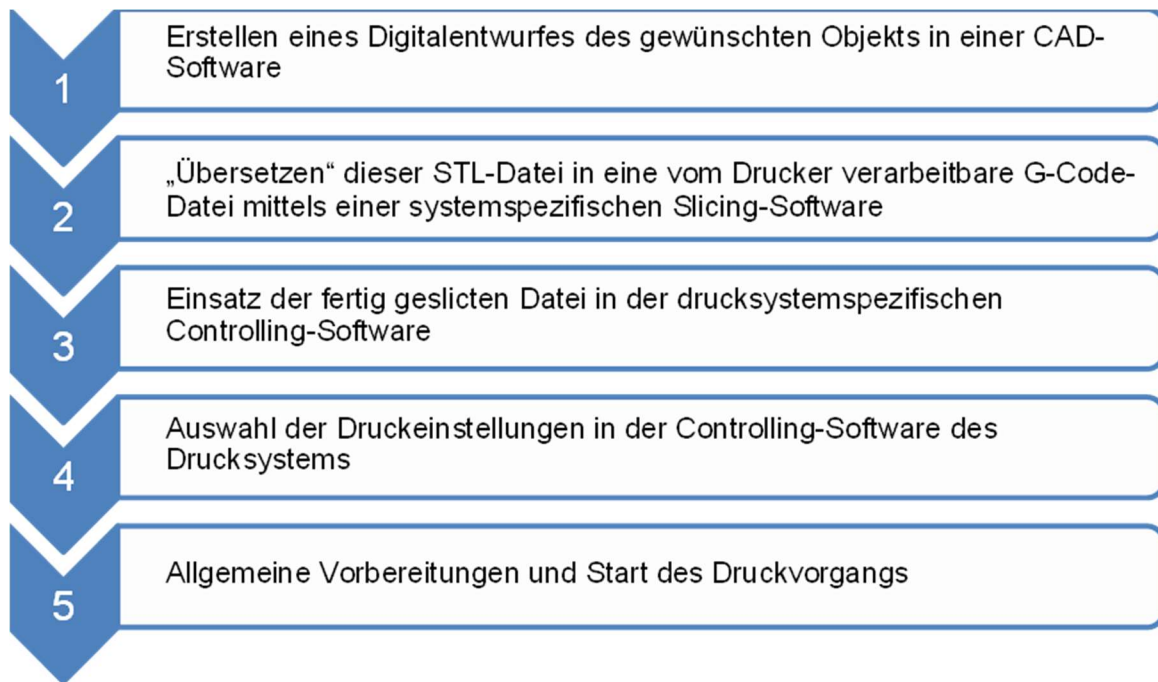


Abbildung 1 - Vorbereitung eines 3D-Drucks (Eigene Darstellung)

Zunächst wird in einem CAD-Programm eine STL-Datei erstellt. Nachdem das digitale Modell erstellt wurde, erfolgt der Export des Modells in eine sogenannte Slicer-Software. Zweck dieser Software ist die Übersetzung der STL-Datei in Anweisungen für den 3D-Druck-Vorgang. Hierfür unterteilt das Programm im Slicing-Prozess das 3D-Modell schichtweise in sogenannte „Slices“, die die zweidimensionale Form des Objekts als Querschnitt darstellen.¹⁰ Die Ausgabe des Slicing-Programms ist in der Regel eine Datei im G-Code-Format, die vom 3D-Drucksystem gelesen werden kann, um das Objekt herzustellen.

2.1.3 Drucktechniken

Das Spektrum der verschiedenen 3D-Drucktechniken ist breit und beinhaltet unter anderem Verfahren wie Extrusion, lichtbasierte Aushärtung oder laserbasierte Aushärtung. Die Eignung dieser Druckverfahren variiert je nach Werkstoff, etwa bei Polymeren, Keramik, Hydrogelen, Proteinen oder Metallverbindungen.

Es existieren diverse 3D-Druckmethoden, die sich hinsichtlich des Prozesses der Materialschichtung und der Verbindung der einzelnen Lagen zu einem dreidimensionalen Objekt unterscheiden. Jede Methode ist durch eigene Vorteile und Einschränkungen gekennzeichnet. Diese bestimmen Aspekte wie Materialauswahl, Druckgeschwindigkeit, Präzision des Ergebnisses und Kosten. Tabelle 1 bietet eine Zusammenfassung der fünf wichtigsten 3D-Drucktechniken.

1	Fused Layer Modeling	Hierbei wird das thermoplastische Material in Form eines Filaments durch eine erhitzte Düse gepresst, um das Modell Schicht für Schicht aufzubauen. ¹¹ Diese Technik ist einfach und kostengünstig in der Anwendung und deshalb auf dem Konsumentenmarkt weit verbreitet. ³
2	Stereolithografie	Dieses Verfahren basiert auf der räumlich kontrollierten Verfestigung photosensitiver Flüssigkeiten (oft Harze oder Polymere) durch einen computergesteuerten Laserstrahl oder digitale Lichtprojektion mittels eines LCD-Monitors. Lage für Lage wird ein belichtetes Muster auf eine Bauplatte geschichtet, die dafür in ein Reservoir mit dem Werkstoff getaucht werden muss. Diese Technik ermöglicht die Herstellung von Modellen mit besonders hoher Auflösung. ^{5,12}
3	Powder Bed Fusion	Pulverisiertes Material wird als dünne Schicht auf einer Bauplatte ausgebreitet und anschließend in der gewünschten Form fusioniert. Die Verbindung kommt durch Verschmelzung mit einem Laser oder das Auftragen von Klebstoff zustande. Insbesondere Kunststoff und Metall lassen sich mit dieser Technik verarbeiten. ³
4	Droplet-Basiert	Droplet-basierte 3D-Druck-Techniken haben ihre gemeinsame Wurzel in der Funktionsweise konventioneller Tintenstrahldrucker. Anstatt von Druckertinte werden jedoch flüssige Werkstoffe eingesetzt, die zur Aufschichtung geeignet sind. Durch eine angelegte Druckquelle und intermittierende Impulse (Öffnung eines Ventils oder Durchbrechung der Oberflächenspannung) werden sie aus einem Reservoir ausgestoßen. ¹³ Droplet-basierte 3D-Druck-Technologien können insbesondere zum Druck von Keramik ³ oder wasserbasierter Gele eingesetzt werden. Dadurch nimmt diese Technologie eine besondere Rolle im 3D-Biodruck ein, da die verwendeten Werkstoffe als Biotinten lebende Zellen transportieren können. ¹³ Hierbei spricht man vom Droplet-basierten Biodruck (DBB).

5 Mikroextrusion	<p>Die Mikroextrusion ist ein Verfahren der additiven Fertigung, bei dem Materialien durch eine feine Düse oder Matrize gedrückt werden. Dieses Verfahren ermöglicht die Herstellung von Komponenten mit hoher Auflösung und Genauigkeit, die in Bereichen wie der Medizintechnik, der Elektronik und der Mikromechanik Anwendung finden.¹⁴ Die Mikroextrusionstechnik ist für den Biodruck geeignet und ermöglicht die präzise Herstellung komplexer Strukturen, ggfs. mit gleichzeitiger Zelldistribution. Typischerweise werden visköse Werkstoffe eingesetzt, der Materialausstoß kann mechanisch oder pneumatisch angetrieben sein. Insbesondere pneumatische Verfahren eignen sich zum Druck von lebenden Zellen, da nur in geringem Ausmaß Scherkräfte auf den Werkstoff einwirken.¹⁵</p>
-------------------------	--

Tabelle 1 - Übersicht zu 3D-Drucktechniken (Eigene Darstellung)

Nachfolgend werden die 3D-Drucktechniken (1) Fused Layer Modeling und (4) Droplet-basierter 3D-Druck ausführlicher beschrieben, da sie für die im Zuge dieser Forschungsarbeit durchgeführten Experimente von besonderer Relevanz sind.

2.1.3.1 Fused Layer Modeling

Das Fused Layer Modeling (FLM) bezeichnet ein Fertigungsverfahren aus dem Bereich des 3D-Drucks, mit dem ein Werkstück schichtweise aus fließfähigem Material aufgebaut wird. Diese Technik wird auch als Schmelzschichtung, Fused Filament Fabrication (FFF) oder Fused Deposition Modeling (FDM) bezeichnet. Bei dem verwendeten Material handelt es sich in der Regel um Kunststoff. Dieser liegt als aufgewickelter Kunststoffdraht definierter Stärke auf eine Spule vor. Der Kunststoffdraht wird als Filament bezeichnet. Für den Druck wird das Filament in den Druckkopf eingezogen und in eine erhitzte Metalldüse gepresst. Der so bei hoher Temperatur verflüssigte Kunststoff wird Lage für Lage auf das Druckbett aufgetragen. Anschließend ergibt sich nach dem Erkalten ein formstabiles Modell.¹⁶

Abbildung 2 verdeutlicht den Prozess schematisch:

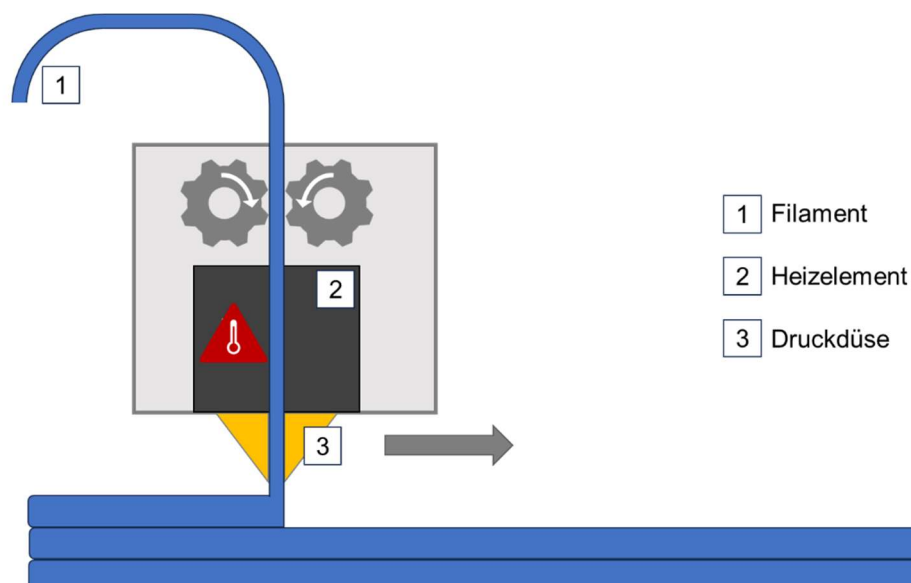


Abbildung 2 - FLM-3D-Druck schematischer Ablauf (Eigene Darstellung)

Die Grundplatte und der Druckkopf des Systems sind in drei Achsen zueinander beweglich. Angetrieben wird das System durch Elektromotoren, die die Einzelteile des Drucksystems über Zahnriemen in Bewegung versetzen.

2.1.3.2 Droplet-basierter 3D-Druck

In Tabelle 1 wurde bereits verdeutlicht, dass es sich bei den Droplet-basierten 3D-Druckverfahren um eine Reihe an Techniken handelt, die flüssige Werkstoffe als Sprühstoß auf die Bauplatte des Druckers aufbringen. Die einzelnen Techniken unterscheiden sich in der Art, wie die Tropfen generiert werden und lassen sich so in verschiedene Unterformen einteilen.¹³ Eine dieser Unterformen ist der Mikroventil-Druck. Hierbei übernimmt ein elektromagnetisch kontrolliertes Ventil den Ausstoß des Werkstoffs, der sich in einem, ggfs. unter Druck stehenden Reservoir befindet (Abb. 3). Bei der Anwendung kurzer Sprühstöße spricht man von Drop-on-Demand (DoD), im Falle längerer Sprühstöße von Continuous Inkjet.¹³

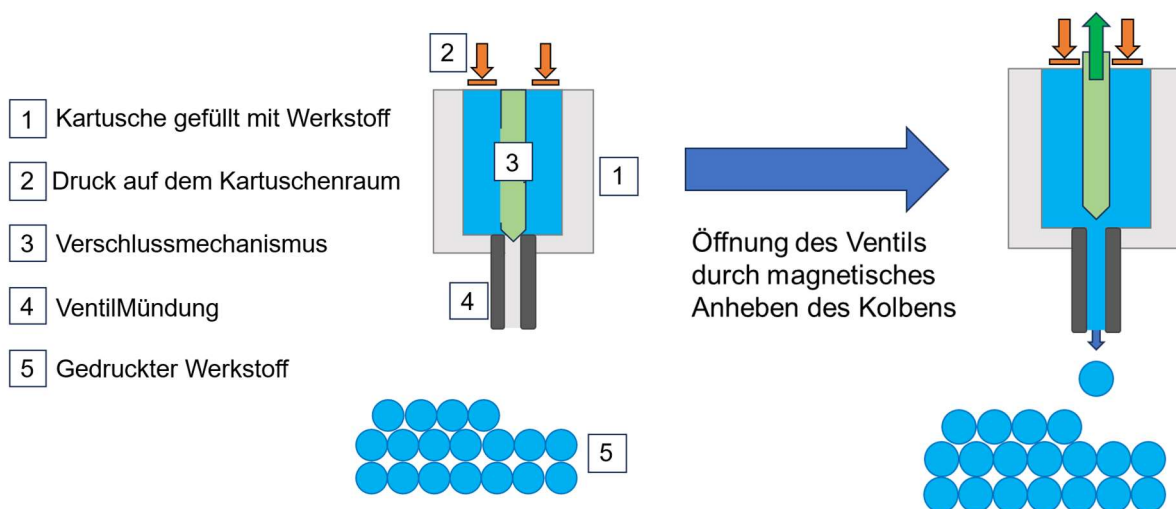


Abbildung 3 - Droplet-3D-Druck mit Mikroventil schematischer Ablauf (Eigene Darstellung)

Der Materialabscheidungsprozess kann durch verschiedene Parameter beeinflusst werden. Dazu zählen die Variation des an die Kartusche angelegten, pneumatischen Drucks, die Öffnungszeit des Ventils, die Viskosität der eingesetzten Biomaterial-Tinten sowie der Düsendurchmesser. Drucksysteme, die nach der Mikroventil-Technik arbeiten, sind besonders effektiv für den Druck von Proteinen und lebenden Zellen.¹³ Im Vergleich zu anderen Drucktechniken wirken dabei weniger starke Scherkräfte auf die Biomaterial-Tinten, was eine hohe Zellüberlebensrate begünstigt.

2.1.4 Biodruck als Sonderform des 3D-Drucks

Ogbleich Pioniere wie Klebe bereits 1987 erste Versuche des 3D-Drucks mit lebenden Zellen unternahmten¹⁷, herrschte bis ins beginnende 21. Jahrhundert Uneinigkeit über die exakte Definition der Begrifflichkeit. 2010 entwickelten Guillemot et al. die folgende Definition:

“[Bioprinting is] the use of computer-aided transfer processes for patterning and assembling living and non-living materials with a prescribed 2D or 3D organization in order to produce bio-engineered structures serving in regenerative medicine, pharmacokinetic and basic cell biology studies.”¹⁸

Nach dieser Definition grenzt sich der Biodruck nicht über die Verwendung bestimmter Druckverfahren vom regulären 3D-Druck ab, sondern über die verwendeten Materialien sowie den Zweck, zu dem der 3D-Druck durchgeführt wird. Werkstoffe, die im 3D-Biodruck angewendet werden, sind häufig Polymere oder Proteine natürlichen Ursprungs, wie beispielsweise Alginat, Gelatine, Kollagen und Fibrin.¹⁹ Die gedruckten Materialgemische werden in der gängigen Literatur als Biotinten (engl. Bioinks) bezeichnet. Groll et al.²⁰ geben in ihrer Ausarbeitung von 2018 einen Überblick zu den etablierten Begrifflichkeiten. Sie stellen

fest, dass das Beinhalt von lebenden Zellen maßgeblich für die Bezeichnung als Biotinte sei. Werkstoffe, die keine Zellen, sondern lediglich bioaktive oder biokompatible Substanzen enthalten, könnten den Autoren zufolge als Biomaterial-Tinten bezeichnet werden. Diese begriffliche Unterscheidung wird auch in der vorliegenden Arbeit angewendet.

Der 3D-Biodruck ist somit eine Sonderform des 3D-Drucks, die insbesondere in der medizinischen und biologischen Forschung Anwendung findet. Beispiele für eine erfolgreiche Anwendung von 3D-Biodruck-Techniken zur Erstellung menschlicher Gewebe *in situ*^{21,22} zeigen das zukunftsweisende Potenzial dieser Technik auf. Die Technologie bedient sich den Grundprinzipien des konventionellen, industriellen 3D-Drucks, um bioaktive, biokompatible und/oder lebende Komponenten zu einem Werkstück zu formen. Die daraus resultierenden Strukturen können als Vorlagen für die Kultivierung von Zellen und Geweben verwendet werden, um Funktionen und Eigenschaften von biologischen Systemen zu studieren und zu entwickeln.

2.1.5 Kombiniertes 3D-Druck

Der kombinierte 3D-Druck beschreibt die gemeinsame Anwendung mehrerer 3D-Druck-Technologien in einem Arbeitsgang. Im Rahmen dieser Ausarbeitung wird der Begriff Kombinationsdruck verwendet. Dies ermöglicht die Herstellung komplexer Werkstücke, die durch die Integration verschiedener Werkstoffe verschiedene Eigenschaften in sich vereinen können.

Aus den vorherigen Kapiteln geht hervor, dass viele 3D-Druckverfahren in Bezug auf ihre Einsatzmöglichkeiten sehr spezifisch sind. Insbesondere die Technik, wie Werkstoffe verarbeitet werden, die verwendbaren Werkstoffklassen und die physikalischen Parameter, die für einen erfolgreichen Druck einzuhalten sind, unterscheiden sich grundlegend. Diese Heterogenität stellt Anwender vor Herausforderungen, wenn Druckvorgänge realisiert werden sollen, die verschiedene Werkstoff-Eigenschaften vereinen. Solche Ergebnisse können nur durch die Kombination verschiedener Werkstoffe und Druckverfahren erreicht werden.

Insbesondere für Forschungsfelder in den medizinischen Fachgebieten Orthopädie und Unfallchirurgie bietet der Kombinationsdruck großes Potenzial, da so effektiv die physiologische Struktur von Knochengewebe, bestehend aus einem formstabilen Gerüst, durchzogen von Weichgewebe und Gefäßstraßen, nachgebildet werden kann.

Es gibt wissenschaftliche Abhandlungen, die sich mit einem solchen kombinierten Druck beschäftigen. Insbesondere die Verwendung von Polycaprolacton (PCL) und Polylactid (PLA) hat sich unter Forschenden durchgesetzt.²³⁻²⁷ Kombiniert werden diese thermoplastischen Kunststoffe oft mit sogenanntem bioaktivem Glas oder verschiedenen Hydrogelen.²³ Letztere können als Trägersubstanz für lebende Zellen dienen.

Um einen kombinierten Druck von PLA und Hydrogelen durchzuführen, muss das Drucksystem zwei separate Druckeinheiten für beide Techniken besitzen. Anstatt Lage für Lage einen Werkstoff aufeinander zu schichten, teilt sich bei dieser Form des Drucks jede Lage in zwei Phasen auf. In der ersten Phase wird eine Kunststoffschicht auf die PLA-Gerüstbereiche gedruckt. Vor dem Auftragen der nächsten Kunststoffschicht wird in der zweiten Phase die DoD-Einheit aktiviert. In den Bereichen der Schicht, die im digitalen Modell als Hydrogel definiert wurden, platziert der DoD-Drucker nun ein Raster aus Tropfen der verwendeten Biomaterial-Tinte. Diese Tropfen fusionieren optimalerweise vor dem Aushärten zu einer gleichmäßigen Oberfläche. In Abbildung 4 werden die zwei Phasen des Drucks einer Lage in diesem kombinierten Verfahren verdeutlicht (links der FLM-Druck und rechts der DoD-Druck).

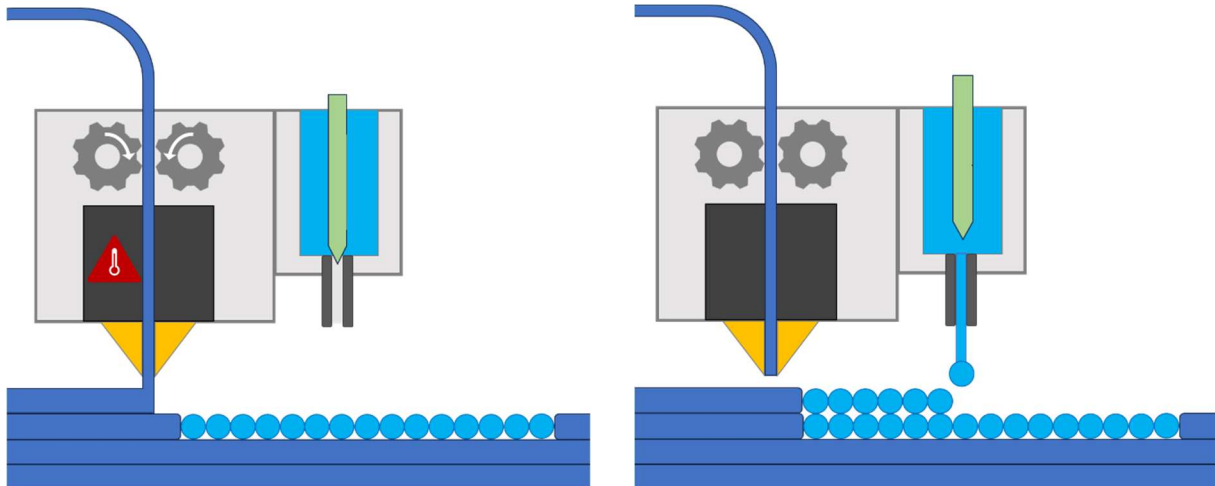


Abbildung 4 - Schematische Darstellung eines Kombinationsdrucks mit FLM und Droplet-Technik (Eigene Darstellung)

2.2 Biofabrikation - 3D-Biodruck im Tissue Engineering

2.2.1 Begriffsdefinition

Die Biofabrikation ist ein interdisziplinäres Fachgebiet, das Wissen aus Biologie, Materialwissenschaften, Ingenieurwissenschaften und Medizin vereint. Biofabrikation wird von Groll et al. in Form von drei wichtigen Begriffen in die biomedizinische Forschung eingeordnet:

“Within the TE [tissue engineering] and RM [regenerative medicine] community, the term Biofabrication emerged with the application of 3D manufacturing strategies incorporating the manipulation and positioning of living cells and/or cell aggregates.”²⁸

Dieser Einordnung folgend umfasse die Biofabrikation Techniken, die zur räumlichen und strukturellen Anordnung von Zellen für Tissue Engineering und die Regenerative Medizin verwendet werden können. Diese Techniken umfassen zu einem Großteil, beschränken sich jedoch nicht auf Varianten des 3D-Biodrucks.²⁸

Seit den Anfängen der regenerativen Medizin haben sich ihre Anwendungsfelder und die verwendeten Herstellungstechniken in verschiedene Richtungen entwickelt. Gemeinsam haben sie, dass sie auf die Grundprinzipien des Tissue Engineerings zurückgreifen, um die Anbindung der verwendeten Präparate an vitales Gewebe zu ermöglichen.^{29,30}

2.2.2 Bone Tissue Engineering

Eine Unterform des TE ist das Bone Tissue Engineering (BTE). Knochenersatzmaterialien kommen in der modernen Chirurgie vorwiegend bei der Versorgung ausgedehnter Knochendefekte zum Einsatz. Dies umfasst unter anderem komplizierte Frakturen der Extremitäten und des Beckens, Eingriffe in der Wirbelsäulen-, Tumor- oder Oralchirurgie.³¹

Den osteo-augmentativen Goldstandard stellt dabei die Anwendung homologer Knochen- transplantate dar. Weder allogene noch xenogene Knochen- transplantate finden vergleichbar häufig Anwendung, was hauptsächlich durch hohe Beschaffungs- und Lagerungskosten und ein erhöhtes Infektions- und Abstoßungsrisiko zu erklären ist.³² Homologes Knochenmaterial ist jedoch zum Teil schwer und nur unter erhöhtem Komplikationsrisiko zu gewinnen, was insbesondere die Anwendbarkeit für ältere Patienten und solche mit erhöhter Morbidität begrenzt.³²

Fokus zeitgenössischer Forschung rund um das Thema BTE ist die Anwendung bioaktiver Substanzen wie beispielsweise Bone Morphogenic Protein zur Verbesserung der Heilungschancen bei der Anwendung zur Knochen- augmentation. Im Angesicht der weltweit steigenden Lebenserwartung und dem damit verbundenen Anstieg des Bedarfs an effektiven

Knochenersatzmaterialien, welcher nicht realistisch durch allogenes Spendermaterial gedeckt werden kann, entsteht ein ausgeprägter Innovationsdruck im Bereich der synthetischen Knochenersatzprodukte.

Lauer, Ritz et al.¹ konnten 2021 am Rattenmodell zeigen, dass 3D-gedruckte Scaffolds osteoinduktive und osteodirektive Wirkung entfalten können. Erprobt wurden diese Effekte am Rattendefektmodell des Femurs, wobei Heilungsfortschritt bei Versuchstieren in Vergleichsgruppen mit unterschiedlicher Defektversorgung quantifiziert und gegenübergestellt wurde. Verwendet wurden sogenannte Hybrid-Scaffolds, poröse 3D-gedruckte Zylinder aus bioresorbierbarem Kunststoff, welche vor der Implantation manuell mit Kollagen Typ I beladen wurden.¹

Die Forschungsergebnisse von Lauer, Ritz et al. zeigen, auch in der Zusammenschau mit Forschungsarbeiten mit ähnlichen Versuchsansätzen^{23,33-35} das Potenzial solcher Hybrid-Scaffolds auf, Knochenheilung effektiv zu unterstützen.

2.3 Relevante Werkstoffe

Bei Anwendung der 3D-Druck-Technologie müssen bei der Auswahl der Werkstoffe Vor- und Nachteile der verfügbaren Optionen umsichtig abgewogen werden, um die gewünschten Druckergebnisse erzielen zu können.

In der additiven Fertigung können mit Hilfe thermischer Extrusionssysteme eine Vielzahl von Kunststoffen verarbeitet werden. Weit verbreitet ist die Anwendung von Kunststoffen wie PLA (Abb. 5) und Acrylnitril-Butadien-Styrol (ABS). Diese Polymere können einfach mit kostengünstigen Drucksystemen verarbeitet werden und werden deshalb häufig von Hobby-Anwendern benutzt.



Abbildung 5 – PLA-Filamente in verschiedenen Farben für den 3D-Druck³⁶

Metalle und Keramik können nur von spezialisierten Drucksystemen verarbeitet werden und werden aufgrund des dadurch erheblichen technischen und finanziellen Aufwands nur angewendet, wenn die gewünschte mechanische und chemische Widerstandskraft des Druckobjekts es erfordern. Diese beiden Werkstoffgruppen werden häufig für Anwendungen

verwendet, bei denen es auf eine hohe Festigkeit und Haltbarkeit ankommt, wie in der Luft- und Raumfahrtindustrie oder für medizinische Implantate.

In den folgenden Unterkapiteln werden die für diese Forschungsarbeit verwendeten Werkstoffe sowie ausgewählte Anwendungsgebiete beschrieben.

2.3.1 Thermoplastische Polymere

Thermoplastische Polymere sind Kunststoffe, die durch Erhitzen verflüssigt werden können, ohne sich in relevantem Maße zu zersetzen. Beim Abkühlen härten sie aus und bleiben formstabil. Thermoplastische Kunststoffe werden für eine Vielzahl von Anwendungen eingesetzt, einschließlich Verpackungen, Bau- und Konstruktionsanwendungen, Automobilteilen und elektronischen Geräten. Thermoplastische Kunststoffe sind ein wichtiger und weit verbreiteter Werkstoff in vielen Industriezweigen aufgrund ihrer Vielseitigkeit, unkomplizierten Verarbeitung und Kosteneffizienz. Einige Beispiele für thermoplastische Kunststoffe sind Polyethylen (PE), Polypropylen (PP), Polystyrol (PS) und ABS.

Die einzelnen Polymere unterscheiden sich in Eigenschaften wie Schmelztemperatur, Beständigkeit gegenüber Hitze und Lösungsmitteln und biologischem Abbau. Letztere Eigenschaft ist besonders für Anwendungen des TE von Interesse, weswegen biologisch abbaubare Polymere wie PLA oder PCL dort eine besondere Rolle einnehmen.³⁷ Besonders im Bereich des Bone Tissue Engineerings ist PLA ein beliebter Werkstoff. Dieser thermoplastische Kunststoff kann leicht im 3D-Druck verarbeitet werden und ergibt mechanisch belastbare Strukturen. In bisherigen Studien konnte PLA eine hohe Biokompatibilität und gute osteodirektive Eigenschaften nachgewiesen werden.^{2,33,38,39}

Im folgenden Kapitel werden Eigenschaften, chemische Zusammensetzung sowie Anwendungsbeispiele von PLA vorgestellt.

2.3.2 Polylaktidsäure

Polylaktidsäure ist ein thermoplastischer Kunststoff, der aus natürlichen Quellen wie beispielsweise Maisstärke gewonnen wird. PLA ist ein lineares, aliphatisches Polymer, das aus Lactid-Monomeren besteht. Es wird durch ringöffnende Polymerisation von Lactiden produziert. Diese Lactid-Monomere verbinden sich zu langen Polymerketten, welche die Basisstruktur von PLA formen. Die Molekülstruktur des Lactid-Monomers ist Abbildung 6 zu entnehmen.

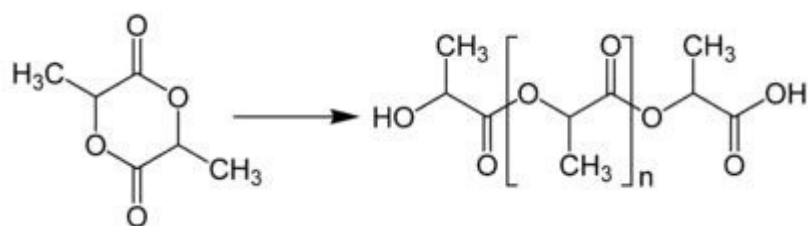


Abbildung 6 - Molekülstruktur Polylaktidsäure⁴⁰

Durch verschiedene Verfahren können die Polymerketten von PLA modifiziert werden, um die Materialeigenschaften zu verbessern, beispielsweise Steifigkeit, Härte, Transparenz und Schmelztemperatur.

Die Verwendung von PLA im 3D-Druck ist weit verbreitet, da dieser Kunststoff kostengünstig zu beziehen ist und er sich mit additiven Fertigungsverfahren einfach verarbeiten lässt. Zudem ist er unter Normalbedingungen (Raumtemperatur, Atmosphärendruck) formstabil. Ein Hauptvorteil von PLA sind ökologische Aspekte. Im Gegensatz zu anderen Thermoplasten wie ABS, die aus synthetischen Polymeren bestehen, wird PLA aus natürlichen Ressourcen gewonnen und kann unter bestimmten Bedingungen biologisch abgebaut werden. Es ist häufig Mittel der Wahl für den Druck von Prototypen ohne hohen Festigkeitsanspruch, kleinen

ästhetischen Objekten, Kunstwerken und für die Herstellung von Lebensmittelverpackungen. Trotz seiner vielen Vorteile hat PLA auch Nachteile, wie eine eingeschränkte Hitzebeständigkeit der Endprodukte und geringere Zähigkeit im Vergleich zu anderen Kunststoffen. Insbesondere für Anwendungen, bei denen längerfristige Formstabilität und mechanische Belastbarkeit im Vordergrund stehen, ist PLA eher ungeeignet. PLA ist jedoch eine gute Wahl für den 3D-Druck, wenn Umweltverträglichkeit, geringe Materialkosten und gute Druckbarkeit im Vordergrund stehen.

In den letzten Jahren hat PLA aufgrund des wachsenden Interesses an biokompatiblen Materialien kontinuierlich an Bedeutung gewonnen. Wie beispielsweise in Dhawan et al. beschrieben, gibt es bereits Ansätze zur Integration von 3D-Druckern in die individuelle Patientenversorgung im klinischen Alltag.⁴¹

In-Vitro-Studien konnten bereits zeigen, dass die kombinierte Anwendung von PLA und Kollagen zusammen mit Wachstumsfaktoren eine vielversprechende Methode zum Knochenersatz im Rattenmodell darstellt.² Demnach scheint PLA die Adhärenz lebender Zellen unterstützt, während die Anhaftung von Endotoxinen auf niedrigem Niveau verbleibt.

Die Verwendung von PLA als Bestandteil in einem Hybrid-Scaffold ist insbesondere wegen der Biokompatibilität dieses synthetischen Polymers von Vorteil. Sie kann durch ihre weitgehende Ähnlichkeit mit intaktem, vitalem Gewebe die Geweberegeneration fördern.^{37,42,43}

PLA wird bereits für Anwendungen in der orthopädischen Chirurgie genutzt. So werden PLA-haltige Produkte zur Verankerung von Fadenmaterial in Knochen bei Eingriffen an Schulter verwendet.^{44,45} Bei osteochondralen Läsionen an Gelenkflächen können PLA-Spieße zur Refixierung der Fragmente eingesetzt werden^{46,47} und bioresorbierbare Schrauben aus einer Kombination aus Hydroxylapatit und PLA finden bereits Anwendung in der klinischen Orthopädie zur chirurgischen Kreuzbandrekonstruktion.^{48 49}

Es existieren auch Anwendungsgebiete für PLA-haltige Medizinprodukte in anderen medizinischen Fachdisziplinen, wie Stents, die Medikamente freisetzen und die durch PLA als Gerüststoff biologisch abbaubar sind.⁵⁰ Die klinische Anwendung solcher Stents ist noch nicht flächendeckend verbreitet, jedoch finden sich auch in Deutschland Kliniken, die diese Medizinprodukte einsetzen.⁵¹

Die genannten Beispiele belegen die breite Etablierung von PLA als biokompatiblen, implantierbarem Kunststoff, vor allem in der klinischen Chirurgie. Vor diesem Hintergrund ist die Verwendung dieses Polymers für kombinierte Druckversuche besonders naheliegend.

2.3.3 Hydrogele – Grundstoff für Biomaterial-Tinten

Hydrogele nehmen in der Familie der Polymere eine Sonderrolle ein. Sie sind in der Lage, große Mengen polarer Flüssigkeiten in ihre dreidimensionale Struktur zu absorbieren und zu speichern, ohne sich dabei aufzulösen. Sie bestehen aus hydrophilen Polymerketten, die entweder physikalisch oder chemisch vernetzt sind, und können natürlichen oder synthetischen Ursprungs sein.^{52,53} Aufgrund ihrer physikalischen Eigenschaften, einschließlich ihrer hohen Wasseraufnahmefähigkeit, ihrer weichen Konsistenz und ihrer Flexibilität, ähneln Hydrogele den Gewebestrukturen in den Körpern von Säugetieren in vielerlei Hinsicht und finden daher in den Biowissenschaften breite Anwendung. In der Medizin werden Hydrogele zum Beispiel zur verbesserten Wundbehandlung, zur kontrollierten Arzneimittelabgabe in Lebendgeweben und im Tissue Engineering eingesetzt, wobei sie als Matrix für den 3D-Biodruck von Gewebe und Organen dienen können.⁵⁴

Einige Hydrogele besitzen eine hohe Bio- bzw. Zellkompatibilität. Sie gewährleisten ein wässriges Medium, welches gute Diffusionseigenschaften besitzt. Hydrogele lassen sich auf verschiedene Weise und zu unterschiedlichem Grad vernetzen und auf diese Weise in einen gelartigen bis festen Zustand versetzen.

Diese Mechanismen werden für den Biodruck nutzbar gemacht, indem Hydrogele in Biomaterial-Tinten integriert werden. So können diese als Trägersubstanz für lebende Zellen fungieren. Die speziellen Eigenschaften der Hydrogele wie Biokompatibilität, Zellverträglichkeit und geeignete mechanische Eigenschaften gewährleisten während und nach dem Druckvorgang Überlebens- und Wachstumsbedingungen integrierter Zellen.

Es wurde eine Reihe von Hydrogelen ausgewählt, um sie im Zuge dieser Forschungsarbeit auf ihre Druckeigenschaften zu testen und ihre Eignung für den Kombinationsdruck im ausgewählten 3D-Druck-System zu beurteilen. Dabei handelt es sich um: Agarose, Kollagen, Gelatine sowie Natriumalginat. Nachfolgend werden Eigenschaften, chemische Zusammensetzung sowie Anwendungsbeispiele der fünf aufgeführten Stoffe beschrieben.

2.3.3.1 Agarose

Agarose ist ein Polysaccharid, das aus Algen gewonnen wird und häufig in biologischen und medizinischen Labors verwendet wird. Es wird als Gelmatrix in elektrophoretischen Anwendungen eingesetzt, um DNA- und Proteinmoleküle zu trennen und zu analysieren. Einer der Vorteile von Agarose ist seine hohe Gelstärke und -stabilität, die es ermöglicht, große Moleküle wie DNA-Fragmente sicher und effektiv zu trennen. Es kann durch Guss in eine Vielzahl von Formen gebracht werden, beispielsweise Flachbett-, Kasten- und Tropfenformen, um in verschiedener Weise die Durchführung laborchemischer Analysen zu ermöglichen.⁵⁵

Agarose ist nicht-toxisch und biologisch abbaubar, was es zu einer sicheren und umweltfreundlichen Wahl für Laboranwendungen macht. In Versuchen am Rattenmodell konnte gezeigt werden, dass Agarosehaltige Verbindungen bei subkutaner Implantation keine signifikanten Abstoßungsreaktionen durch den Organismus hervorrufen.⁵⁶ Im 3D-Druck erfreut sich Agarose großer Beliebtheit als strukturbildender Inhaltsstoff in Hydrogelen, welche sonst nicht genug mechanische Festigkeit ausbilden würden. Zu diesem Zweck kann es mit anderen Stoffen vermengt werden, um die positiven Eigenschaften beider Gele nutzbar zu machen.⁵⁷ Gängige Kombinationen sind eine Vermengung mit Matrigel⁵⁸ oder Alginat^{59,60}.

2.3.3.2 Kollagen

Kollagen ist ein wichtiges Protein im menschlichen Körper. Es ist ein Hauptbestandteil vieler Gewebe, einschließlich Haut, Knochen, Knorpel und Sehnen, und ist für deren Struktur und Festigkeit verantwortlich. 30 Prozent der gesamten Proteinmenge im menschlichen Körper entfallen auf Kollagen.⁶¹ Kollagen besteht aus drei Polypeptidketten, die sich in einer charakteristischen Triple-Helix-Struktur anordnen.⁶² Die Struktur und Zusammensetzung von Kollagen kann je nach Gewebetyp variieren, was zu einer Familie von mindestens 28 verschiedenen Kollagentypen führt, die jeweils spezifische Rollen in verschiedenen Geweben und Organen spielen. Beispielsweise ist Kollagen Typ I das dominante Kollagen in Knochen, während Kollagen Typ II vorwiegend in Knorpelgewebe vorkommt.

Kollagen besitzt eine hohe biologische Kompatibilität und eine gute Adhäsionsfähigkeit, was es ihm ermöglicht, als Trägermaterial für die Kultivierung von Zellen und Geweben zu dienen. Diese Zellen und Gewebe können dann für die Forschung oder für medizinische Anwendungen wie die Regeneration von Geweben und Organen verwendet werden.⁵³

Zudem kann Kollagen auch für die Herstellung von Membranen und Gelen verwendet werden, die bei der Übertragung von Wachstumshormonen oder anderen Substanzen auf Pflanzen oder bei der Elektrophorese nützlich sind.

Aufgrund seiner biologischen Eigenschaften hat Kollagen in der 3D-Druck- und insbesondere in der Biodruck-Technologie eine wichtige Rolle gefunden.⁶³ Im Kontext des Tissue Engineerings kann Kollagen verwendet werden, um komplexe, zellbeladene Strukturen zu drucken, die zur Geweberegeneration sowie -reparatur eingesetzt werden können.⁶⁴

2.3.3.3 Gelatine

Gelatine ist ein proteinhaltiges Biopolymer, welches aus den Bindegeweben von Tieren, wie Rindern oder Schweinen, gewonnen werden kann. Im Labor wird Gelatine oft als Trägermaterial für biologische Anwendungen verwendet, insbesondere für den Aufbau von Gelen oder für die Herstellung von Gel-Membranen.

Gelatine besitzt eine hohe Gelierkraft, was es ihr ermöglicht, als Trägermaterial für den Aufbau von Gelen zu dienen. Diese Gele können dann für die Elektrophorese oder andere biologische Anwendungen verwendet werden, wie z. B. für den Proteinnachweis, DNA-Separation oder Proteinkristallisation.⁶⁵

Zudem kann Gelatine auch verwendet werden, um Gel-Membranen herzustellen. Gel-Membranen kommen unter anderem bei der Kultivierung von Zellen oder der Übertragung von Wachstumshormonen auf Pflanzen zum Einsatz.^{66,67}

2.3.3.4 Natriumalginat

Natriumalginat ist ein natürliches Polysaccharid, welches hauptsächlich aus Braunalgen gewonnen wird. Es besteht aus alternierenden Einheiten von Mannuronsäure und Guluronsäure, die über glycosidische Bindungen verbunden sind (Abb. 7). Aufgrund der hohen Biokompatibilität, geringer Toxizität, günstiger Gelierungseigenschaften und der geringen Kosten wird Natriumalginat in einer Vielzahl von industriellen, lebensmittel-technologischen und biomedizinischen Anwendungen eingesetzt.⁵²

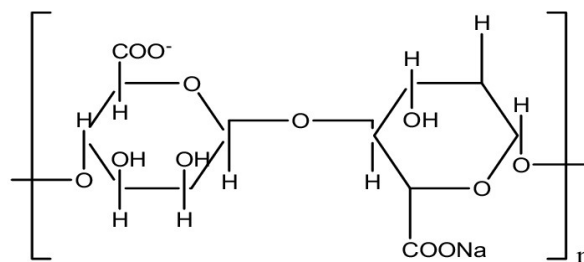


Abbildung 7 - Molekülstruktur Natriumalginat

Natriumalginat wird in der gegenwärtigen Forschung als wertvolles Material für den 3D-Biodruck dargestellt. In der Form eines Hydrogels bietet Natriumalginat eine physiologische Umgebung für lebende Zellen, ermöglicht ihre Ausbreitung und Differenzierung und imitiert gleichzeitig die natürliche extrazelluläre Matrix. Es kann in Kombination mit anderen Hydrogelen verwendet werden, um die mechanischen Eigenschaften und biologische Leistungsfähigkeit des resultierenden 3D-gedruckten Gewebes oder Organs zu verbessern.⁶³

Eine Besonderheit bei der Verwendung von Natriumalginat im 3D-Biodruck ist seine kurze Aushärtungszeit nach Kontakt mit divalenten Kationen wie beispielsweise Calciumionen, die zu einem Blockieren der Druckdüsen führen kann. Aufgrund dieser besonderen Eigenschaften werden bei der Verarbeitung dieses Werkstoffs im 3D-Druck zum Teil besondere Techniken angewendet. Ein Beispiel hierfür ist das koaxiale Drucken, bei dem die Natriumalginat-Lösung durch eine innere Düse und die Gelierungslösung durch eine äußere Düse geführt wird. Hierdurch wird die sofortige Gelierung des Alginats nach dem Druck gewährleistet und zugleich das Risiko eines verfrühten Kontakts der Agenzien und ein Verstopfen minimiert.⁶⁸

2.3.4 Weitere Hilfsstoffe

Über den thermoplastischen Polymer PLA sowie die in Kapitel 2.3.3 genannten Hydrogele hinaus wurde zusätzlich der Werkstoff Calciumchlorid (CaCl₂) eingesetzt. Bei Calciumchlorid handelt es sich um eine anorganische Verbindung, welche aus Calcium und Chlor besteht und häufig in der Form von hydratisierten Feststoffen vorkommt. Diese farblose, kristalline Substanz wirkt hygroskopisch. Sie besitzt also die Fähigkeit, Feuchtigkeit aus der Umgebung

zu absorbieren. Aufgrund dieser Eigenschaft wird Calciumchlorid in verschiedenen Industriebereichen als Trocknungsmittel verwendet.

Im Kontext des 3D-Drucks spielt Calciumchlorid eine wichtige Rolle in bestimmten Prozessen. Speziell im Bereich des 3D-Biodrucks kann Calciumchlorid zum Einsatz kommen. Hier wird es genutzt, um Hydrogele zu vernetzen und so ihre Strukturstabilität zu verbessern. Wenn eine Alginat-Lösung auf eine Calciumchloridlösung trifft, vernetzen die Calciumionen das Alginat und bilden ein Gel, das als Matrix für Zellen dienen kann.⁵² Dieses Prinzip ist entscheidend für die Herstellung von stabilen, zellbeladenen Strukturen auf Alginatbasis.

Die Verwendung von Calciumchlorid und anderen Ionenquellen im 3D-Biodruck sollte jedoch aufgrund der potenziellen Zytotoxizität sorgfältig abgewogen werden.⁶⁹

2.4 Marktübersicht zu 3D-Drucksystemen

Die meisten 3D-Drucksysteme sind durch einen ähnlichen Aufbau gekennzeichnet. Im Folgenden sind die grundlegenden Komponenten eines 3D-Druckers aufgeführt:

1. *Rahmen*

Jeder 3D-Drucker besitzt einen Rahmen, welcher der festen Verankerung der sonstigen Bauteile dient. Die Größe des Rahmens bestimmt die Größe des Druckers und auch die maximalen Maße druckbarer Werkstücke.

2. *Bauraum*

Jeder 3D-Drucker hat einen Bauraum, in dem die Objekte hergestellt werden können. Die Geometrie der herstellbaren Objekte wird durch die Größe des Bauraums begrenzt.

3. *Bauplatte*

Die Bauplatte bildet eine feste Ebene, welche in der Regel die untere Begrenzung des Baumraums darstellt. Sie dient als Startebene für die erste Lage des Materialauftrags. Damit Druckvorhaben erfolgreich vollendet werden können, muss während des Drucks eine feste Verankerung des entstehenden Werkstückes mit der Bauplatte sichergestellt werden.

4. *Druckkopf*

Der Druckkopf bildet das zentrale Element eines 3D-Drucksystems und unterscheidet sich je nach Drucktechnik. Seine Aufgabe besteht darin, das Druckmaterial auf die Bauplatte aufzutragen. In einem 3D-Drucksystem können ein einzelner oder mehrere Druckköpfe verbaut sein. Ein Beispiel für einen Druckkopf sind thermoplastische Extrudersysteme, die per Zahnrad ein Polymerfilament in eine erhitzte Metalldüse schieben und so kontinuierlich geschmolzenen Kunststoff auf die Bauplatte auftragen. Bei manchen Systemen erfolgt die Werkstoffauftragung flächig oder linienförmig, bei anderen punktuell. Weitere Informationen dazu sind in Kapitel 2.1.3 zu finden.

5. *Bewegungsmodul*

Der Bewegungsapparat des Systems hat die Aufgabe, die Montageeinheit mit den Druckköpfen in Bewegung zu versetzen. Je nach Drucktechnik ist das in ein bis drei Dimensionen notwendig und geschieht durch Servomotoren, Zahnriemen, Zahnräder und Gewindespindeln. Bei manchen Systemen werden einzelne Bewegungsdimensionen auch von einem Schlitten übernommen, welcher an der Bauplatte montiert ist. Die Bewegungssteuerung muss für eine hohe Druckqualität möglichst präzise arbeiten.

6. *Steuerungseinheit*

Die verschiedenen Module des Systems werden über eine Platine verbunden. Die Steuerungseinheit überwacht und kontrolliert den Druckprozess. Die Steuerungseinheit

bildet die Schnittstelle zur Einbringung von Objektentwürfen aus CAD-Systemen und Druckeinstellungen. Sie sorgt dafür, dass der schichtweise Materialauftrag nach Vorgaben des digitalen Entwurfs erfolgt.

2.4.1 Kurzübersicht zu relevanten Modellen

Die Gegenüberstellung in Tabelle 2 dient der Darstellung der aktuell auf dem Weltmarkt verfügbaren 3D-Biodrucksysteme. Das Hauptaugenmerk liegt auf Geräten, welche bereits mehrfache Anwendung in der wissenschaftlichen Forschung gefunden haben.

Anbieter und Drucktechniken	Modelle, Besonderheiten und Anwendung
3D Systems (USA)	
Bio-Mikroextrusion FLM	<ul style="list-style-type: none"> • Die Modelle Allevi 2 und 3 bieten mehrere Druckköpfe • Anwendung in der Forschung am Leberzellen-Modell⁷⁰ und bei Versuchen zu Vaskularisierung^{71,72}
Axolotl Biosystems (Türkei)	
Bio-Mikroextrusion FLM Melt-Elektrowriting	<ul style="list-style-type: none"> • Axo A6/A3® • Modelle mit bis zu 6 Druckköpfen für eine Vielzahl unterschiedlicher Werkstoffe • Elektrowriting mit Zellen als neue Technologie • Videogestützte Kalibrierung
Black Drop (Deutschland)	
Droplet Bio-Mikroextrusion FLM	<ul style="list-style-type: none"> • SuperFill Robo® und Superfill Regenate® als Nachfolgemodell • Präziser Druck von Biomaterialtinten • Kombiniertes Druck von Biomaterialtinten mit 2 Droplet-Einheiten und zusätzlichem FLM-Druckkopf • Konfigurierbarer Aufbau mit kühl-/heizbaren Druckköpfen und Druckbett
Cellink (Schweden)	
Bio-Mikroextrusion Droplet FLM	<ul style="list-style-type: none"> • BIO X®, BIO X6® und BIONOVA X® sind für Kombinationsdruck ausgestattet • Mehrere Steckplätze für eine Vielzahl von Druckköpfen, diese können frei kombiniert werden • Luftdichte Kammer mit Filter für sterile Druckvorgänge • Forschungsanwendungen zu vaskularisierten Hauttransplantaten⁷³, Knochen- und Nervengewebe⁷⁴, Hornhautstroma⁷⁵

Anbieter und Drucktechniken	Modelle, Besonderheiten und Anwendung
EnvisionTEC (Deutschland)	
Bio-Mikroextrusion FLM	<ul style="list-style-type: none"> • 3DBioplotter® mit modularem Aufbau und bis zu fünf Druckköpfen, steriler Druck möglich • Videogestützte Kalibrierung • Rotierende Bauplatte für zylindrische Modelle • Anwendung in Forschung zu Sehnen-Knochen-Modellen⁷⁶ und Fettgewebe⁷⁷
Gesim (Deutschland)	
Bio-Mikroextrusion Droplet-basiert FLM	<ul style="list-style-type: none"> • BioScaffolder® • Koaxialer Druck möglich • Biomaterial kann in der Kartusche automatisch gerührt werden • Spheroiderstellung für Tumorforschung⁷⁸
Regemat 3D (Spanien)	
Bio-Mikroextrusion FLM	<ul style="list-style-type: none"> • REG4LIFE®, Bio V1® • Konfigurierbar mit 3 Druckköpfen • Koaxialer Druck mit Mikroextrusion und FLM-Technik möglich • In Forschungen zu Gelenkknorpeln verwendet⁷⁹
REGENHU (Schweiz)	
Bio-Mikroextrusion Droplet-basiert FLM	<ul style="list-style-type: none"> • Bewährte Drucksysteme im TE: 3D Discovery™ Evolution, BioFactory™^{80,81} • Neue Drucksysteme: R-Gen 100 und 200
ROKIT (Südkorea)	
Bio-Mikroextrusion FLM	<ul style="list-style-type: none"> • Dr. INVIVO 4D® • Multifunktionales Drucksystem • Geschlossene Kammer für sterilen Druck • Integrierter Zellinkubator • Besonders populär¹⁵, verwendet in Forschungen zu Knorpel⁸² und vaskularisierten Tumormodellen⁸³

Tabelle 2 - Marktübersicht 3D-Drucksystemen (Eigene Darstellung)

Unter Berücksichtigung aller zentralen Auswahlkriterien wurde die Entscheidung für das Modell Black Drop Super Fill Robo® gefällt. Abbildung 8 zeigt ein Produktfoto sowie eine Detailansicht der DoD-Druckkartusche.



Abbildung 8 - Black Drop Super Fill Robo®⁸⁴

2.4.2 Modellsteckbrief: Black Drop Super Fill Robo®

Die Black Drop Biodrucker GmbH ist eine in Aachen ansässige Firma, spezialisiert auf die Bereitstellung von Produkten für 3D-Druckanwendungen mit der Möglichkeit des Biodrucks. Zu ihrem Leistungskatalog gehören Drucksysteme und ihre Komponenten, assoziierte Software, Biomaterial-Tinten, sowie Support- und Serviceleistungen.⁸⁵⁻⁸⁷ Ein Drucksystem, das 2021 auf dem Markt war, ist das Modell Black Drop Super Fill®. Dieser Drucker enthält zwei Druckköpfe mit Kartuschen zur Verarbeitung von flüssigen Werkstoffen und einen Druckkopf zur Extrusion thermoplastischen Filaments. Während der Extrusionsdruckkopf fest verbaut ist, lassen sich die einzelnen DoD-Druckkartuschen aus der Montagevorrichtung entnehmen. Abbildung 9 zeigt die einzelnen Komponenten einer DoD-Druckkartusche.

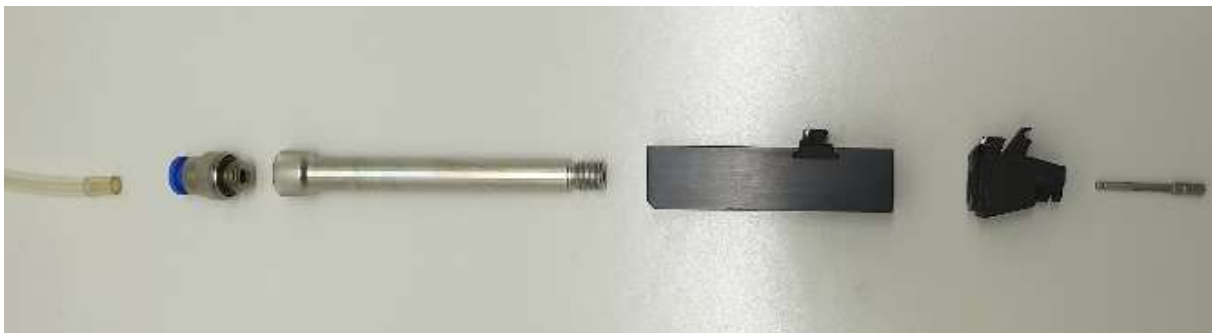


Abbildung 9 - Aufbau der Microventil-DoD-Druckkartusche (Eigene Aufnahme)

Der Systemaufbau ist modular und mit Bauteilen zum Abkühlen und Erhitzen der verwendeten Werkstoffe und der Bauplatte erweiterbar. Vorbereitung und Kontrolle der Druckvorgänge funktionieren über eigens von Black Drop bereitgestellte Software. Es bestehen Kooperationen der Firma mit internationalen Forschungsinitiativen im Bereich Hydrogele und TE. Im Marktvergleich liegen die Anschaffungskosten für ein Einzelgerät mit ca. 15.000 Euro im unteren Bereich. Im Folgenden sind technische Daten aus dem Handbuch des Geräts aufgeführt.

Tropfenvolumen	30 – 1.400 nl
Tropfendurchmesser	250 – 1.000 µm
Druckpräzision	20 – 100 µm
Viskositätsbereich	1 – 1.500 mPa
Zellüberlebensrate nach Druck	91 – 99 %
Druckköpfe	2 – 4
Temperaturbereich	10 – 60 °C
Druckluftbereich	0,1 – 3 bar

Tabelle 3 - Technische Spezifikationen des Black Drop Super Fill Robo®⁸⁴

3 Material und Methoden

In Kapitel 2 wurden das Grundkonzept der 3D-Druck-Technologie, Tissue Engineering, relevante Materialien sowie eine Übersicht marktrelevanter 3D-Drucksysteme erläutert. Kapitel 3 leitet nun zum praktischen Teil der Forschungsarbeit über. Hier werden die angewandten Methoden und der experimentelle Aufbau, einschließlich verwendeter Hardware, Software und Materialien detailliert beschrieben.

3.1 Methodenentwicklung als Forschungsziel

Das primäre Ziel dieser Arbeit besteht darin, einen integrierten Workflow zu entwickeln, mit welchem Anwendende mithilfe des Black Drop Super Fill® zwei unterschiedliche Materialien mittels unterschiedlicher Drucktechniken in einem einzigen Druckvorgang kombinieren können. Explizit gesagt sollen Hydrogele, die nach dem Drop-on-Demand-Verfahren gedruckt werden, zeitgleich mit thermisch extrudiertem Kunststoff zu einem gemeinsamen Werkstück verarbeitet werden.

Im Vergleich zu vielen anderen Dissertationen gibt es bei dieser Forschungsarbeit grundlegende Unterschiede in der Vorgehensweise. Ziel ist nicht die Anwendung eines vorgefertigten Versuchsaufbaus, der zu Beginn der experimentellen Arbeit klar definiert werden kann. Ziel ist vielmehr die Entwicklung von Versuchsvorschriften, die einen kombinierten 3D-Druck nach den zuvor erläuterten Kriterien ermöglichen. Diesen Umstand spiegeln Methoden- und Ergebnisteil dieser Arbeit wider, indem sie den Ausgangspunkt, den Prozess und die Resultate dieser Methodenentwicklung veranschaulichen.

Das Forschungsdesign orientiert sich an den drei Phasen Vorbereitung, Durchführung und Auswertung, welche in Abbildung 10 veranschaulicht werden.



Abbildung 10 - Methodische Vorgehensweise (Eigene Darstellung)

Zu Beginn dieser Forschungsarbeit steht die Materialauswahl im Fokus. Teil dieses vorbereitenden Arbeitsschrittes ist die Entscheidung, welches konkrete Drucksystem für die Forschung verwendet werden soll. Ferner muss das Feld der verfügbaren Druckmaterialien auf diejenigen eingegrenzt werden, welche im Zuge der Versuchsgänge getestet werden sollen.

Im Mittelpunkt des experimentellen Arbeitens steht die Methodenentwicklung. Dazu gehört die Etablierung und Weiterentwicklung eines Modellkonzepts mit Autodesk Fusion 360, die Etablierung eines Workflows für die einzelnen Druckmethoden, die Optimierung der Druckparameter sowie der ständige Quervergleich der einzelnen Versuchsaufbauten mit ansonsten gleichen oder ähnlichen Parametern. Nach erfolgreicher Identifizierung der optimalen Druckparameter für die Einzeldruckvorgänge stellt die Zusammenführung dieser zu einem kombinierten Vorgang das finale Produkt dieser Forschungsarbeit dar.

Die Eigenschaften des verwendeten Modells und die Werkstoffauswahl orientieren sich in ihrer ursprünglichen Form an dem Versuchsaufbau von Lauer, Ritz et al.¹ Im Laufe der Forschungsarbeit wird der Versuchsaufbau individualisiert und abgewandelt, um die Möglichkeiten und Grenzen des verwendeten Drucksystems auszuloten. Zugleich wurde stets darauf geachtet, etablierte Techniken in den Versuchsaufbau einzubeziehen.

Die Datenauswertung fand weitgehend parallel zur praktischen Arbeit statt. Zur Dokumentation wurde ein Laborbuch geführt. Die zentralen Ergebnisse werden in Kapitel 4 der vorliegenden Dissertation vorgestellt und in Kapitel 5 diskutiert.

3.2 Eingesetztes Drucksystem

Um das Potenzial und die Herausforderungen des Kombinationsdrucks in der erwünschten Anwendungstiefe herauszuarbeiten, wurde ein spezifischer 3D-Drucker für den experimentellen Teil dieser Forschungsarbeit ausgewählt. Das gewählte Drucksystem erfüllt nicht nur die technischen Projektanforderungen, sondern ist auch optimal für den Einsatz in kleineren Laboreinrichtungen mit begrenztem Budget geeignet.

In Kapitel 2.4.1 wurde bereits eine Übersicht zu den aktuell marktreif verfügbaren Systemen im Bereich Biodruck gegeben. Um zu Beginn dieser Forschungsarbeit eine begründete Entscheidung für eine der verfügbaren Optionen zu treffen, wurden Kriterien herausgearbeitet, nach denen ein Drucksystem für das Projekt ausgewählt wurde.

Diese Kriterien werden in Tabelle 4 veranschaulicht:

Drucktechniken	Mindestens zwei Techniken, Hydrogele und Thermoplasten müssen damit kombiniert angewendet werden können.
Modularität	Modularer Aufbau des Geräts zur flexiblen Anpassung im Zuge der Methodenentwicklung. Simpler Aufbau der Hydrogelkartuschen zur einfachen Handhabung mit selbstgemischtem Gel.
Parameterkontrolle	Druckparameter wie Temperatur, Geschwindigkeit und Systemdruck sollen einfach anpassbar sein.
Preis	Unter 50.000 Euro

Tabelle 4 - Auswahlkriterien des für das Projekt verwendeten Druckers (Eigene Darstellung)

3.2.1 3D-Biodrucker: Black Drop Super Fill®

Das Gerät verfügt über ein Extrudersystem, womit thermoplastischer Kunststoff 3D-gedruckt werden kann. Außerdem besitzt der Super Fill® zwei weitere Schnittstellen für die Montage von Drop-on-Demand-Kartuschen. Diese Kartuschen bestehen aus mehreren Einzelteilen, die vor Befüllung mit Werkstoffen zusammengebaut und in den Drucker eingesetzt werden müssen. Kontrolliert wird der Auftrag der Hydrogele durch ein Magnetventil mit einer

Öffnungsweite von 300µm. Die Größe der Tropfen kann durch eine veränderte Öffnungszeit in der Kontrollsoftware des Druckers, sowie die Veränderung des Drucks der angeschlossenen Druckluftquelle beeinflusst werden. Die Bereitstellung der Druckluft erfolgt über einen angeschlossenen Kleinkompressor, der von Black Drop bei Beschaffung des Druckers bereitgestellt wurde. Die Kartuschen sind bis zu einer Maximaltemperatur von 40 °C beheizbar. Bei Bedarf können die Kartuschen auch auf annähernd 0 °C gekühlt werden. Dies ist durch das Anlegen eines Kreislaufs für Kühlflüssigkeit möglich.

Das Modell, welches für diese Arbeit verwendet wurde, verfügt über zwei vollständige Kartuschengarnituren. Diese wurden zu Beginn des Projekts als Garnitur X und Y definiert und nach Möglichkeit getrennt eingesetzt, um ggfs. auftretende Fehlfunktionen oder Schäden zweifelsfrei einer Garnitur zuordnen zu können.

Um die langfristige, fehlerfreie Funktion des Drucksystems im Verlauf des Projekts und darüber hinaus gewährleisten zu können, sind Reinigungs- und Instandhaltungsmaßnahmen vorzunehmen, die insbesondere die Hydrogelkartuschen betreffen.

Da diese Kartuschen im Zuge des Projekts mit wasserbasierten Gelen beladen werden, ist eine Reinigung und Feststellung der korrekten und verstopfungsfreien Funktion der Kartuschen einschließlich der Magnetventile wichtig. Dazu werden die Kartuschen nach jedem Einsatz restentleert und zweimal mit entionisiertem Wasser aufgefüllt. Über die entsprechende Funktion im Robo Controller werden die Kartuschen mit langer Ventilöffnungszeit gespült. Dieser Vorgang wird unmittelbar vor erneuter Anwendung der Kartuschen einmalig wiederholt.

Gelagert werden die Kartuschen unter Ausschluss von Sauerstoff unter reinem Isopropan-2-ol in dafür geeigneten, verschließbaren Laborgefäßen.

Es wurde ein ein-kolbiger Kleinkompressor des Modells Aeolian Pixie® verwendet, um die notwendige Druckluft für den DoD-Druck bereitzustellen. Nach dem Anschalten des Geräts stellt der Kompressor einen stetigen Strom komprimierter Raumluft bereit, der über ein Leitungssystem aus Polyvinylchlorid-Schläuchen und Steckverbindungen zu den DoD-Kartuschen geleitet wird.

Zwingend notwendig für die Benutzung des Drucksystems ist die dauerhafte Verbindung mit einem PC, auf dem die Black Drop-spezifische Controlling-Software installiert ist. Diese Verbindung erfolgt über eine USB-Schnittstelle.

3.2.2 Zugehörige Software

Die 3D-Modelle, welche mit dem Superfill® gedruckt werden sollen, müssen digital vorbereitet werden. Mit einer CAD-Software erstellte, digitale Objekte müssen als STL-Dateien im ASCII-Format gespeichert und anschließend mithilfe einer Slicing-Software (Black Drop GmbH) in G-Code übersetzt werden.

Für die Abwicklung der Druckvorgänge stellt Black Drop eine spezifische Software-Lösung zur Verfügung. Dabei handelt es sich um zwei Module:

1. Robo Slicer® zur digitalen Vorbereitung des Druckmodells
2. Robo Controller® zur Einstellung der Druckparameter und zur Druckdurchführung

In den folgenden Kapiteln werden die Grundlagen beider Programme erklärt und relevante Besonderheiten in der Bedienung herausgestellt.

3.2.2.1 Robo Slicer

Der Robo Slicer® unterscheidet sich von anderen Slicing-Programmen dahingehend, dass für die einzelnen Druckköpfe des Black Drop Super Fill® jeweils eigene STL-Dateien eingespeist werden können, welche während des Slicing-Vorgangs in eine gemeinsame Datei kombiniert werden. Diese kombinierte Datei dient nach Übertragung in den Robo Controller als Druckanweisung für alle beteiligten Druckköpfe.

Abbildung 11 zeigt das User Interface des Robo Slicer® bei der Vorbereitung eines Kombinationsdrucks. Die Reiter „Valve A“, „Valve B“, und „Extruder“ müssen zur Vorbereitung eines Druckvorgangs mit dem jeweiligen Druckkopf einzeln angewählt und mit den gewünschten Druckeinstellungen versehen werden.

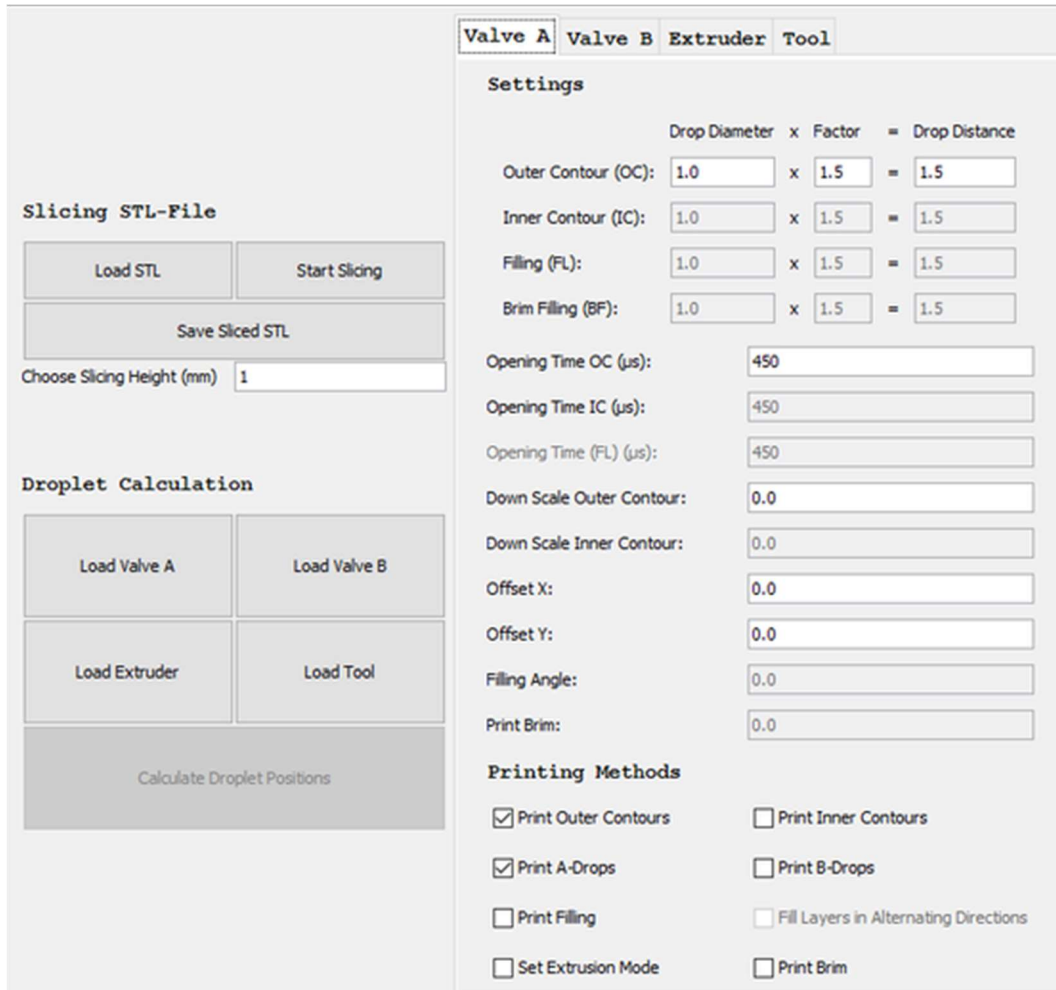


Abbildung 11 - Benutzeroberfläche der Slicing-Software (Screenshot aus Software "Robo Slicer®")

In Bezug auf den DoD-Druck kann in der Slicing-Software zusätzlich das konkrete Tropfenvolumen sowie die Tropfenplatzierung festgelegt werden. Das Tropfenvolumen wird über die Öffnungszeit (Gating-Time) der Magnetventile beeinflusst. Darüber hinaus ist es auch möglich, eine Verzögerung zwischen den einzelnen Lagen verschiedener Druckvorgänge einzubauen. Dazu dient der Parameter der Waiting Time. Abbildung 12 zeigt die Benutzeroberfläche für diese Einstellungen.

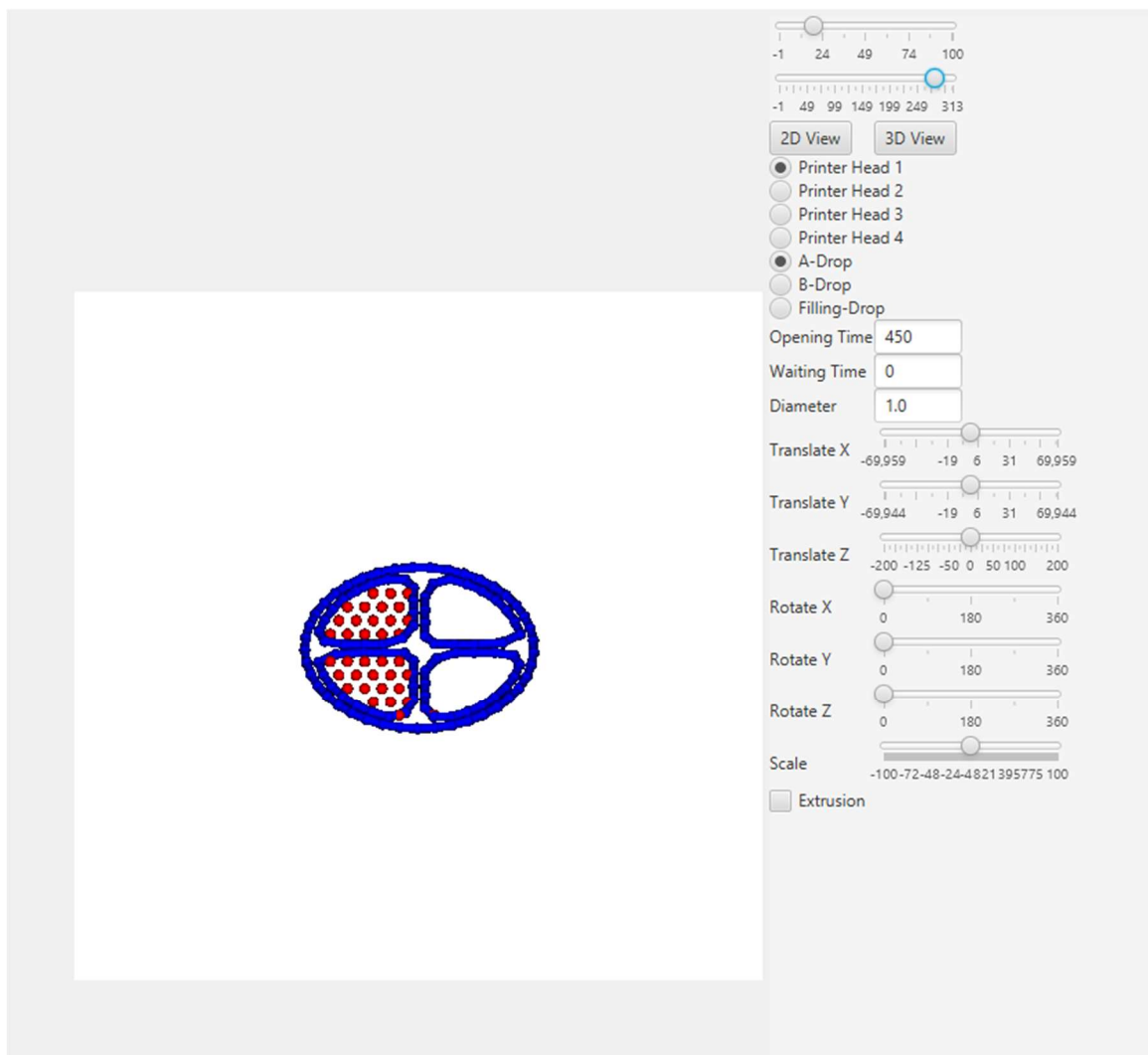


Abbildung 12 – Fein-Einstellungen zu Tropfenplatzierung (Screenshot aus Software "Robo Slicer®")

3.2.2.2 Robo Controller®

Das Computerprogramm Robo Controller® wurde von der Firma Black Drop für die Benutzung des Black Drop Super Fill® entwickelt und ermöglicht die Kontrolle und Anpassung von Druckparametern, Einbindung von Druckmodellen und Steuerung des Druckvorgangs. Voraussetzung für die korrekte Funktion ist die ständige, kabelgebundene Verbindung der Druckerschnittstelle mit einem Rechner, auf dem der Robo Controller® installiert ist.

In Abbildung 13 ist das User-Interface des Robo-Controllers abgebildet. Über diese Steuereinheit können Druckdateien hochgeladen, die einzelnen Druckköpfe und die Bauplatte erhitzt, die Druckparameter geändert und der Druckvorgang gestartet, pausiert, fortgesetzt und abgebrochen werden. Darüber hinaus können im Robo-Controller über die Funktionen ShootA und ShootB die DoD-Kartuschen manuell entleert werden. Dies ist insbesondere für die Reinigung notwendig.

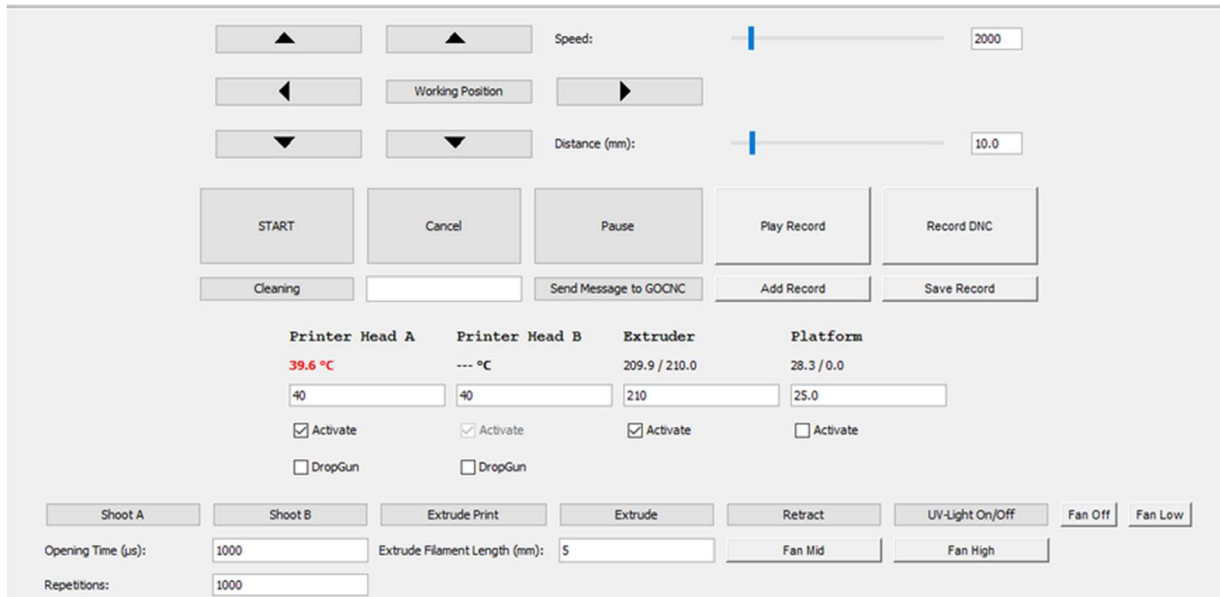


Abbildung 13 – Benutzeroberfläche zur Vorbereitung des Druckvorgangs (Screenshot aus Software "Robo Controller"-Interface)

In Abbildung 14 sind beispielhaft die Druckeinstellungen für den Black Drop Super Fill® festgehalten, wie sie im Zuge des Projekts für einen Kombinationsdruck von PLA und Gelatine verwendet wurden.

Die Einstellungen gliedern sich in fünf Bereiche:

1. In den *General Settings* lassen sich insbesondere die Geschwindigkeit der Druckkopfbewegung einstellen. Zu hohe Geschwindigkeiten können zu ungenauen Druckergebnissen führen, während langsame Geschwindigkeiten den Vorgang unnötig verzögern.
2. Mit den *Offset Settings* kann die räumliche Nähe der Druckköpfe zueinander festgelegt werden. Gerade beim Multimaterialdruck ist es entscheidend, dass diese Einstellungen korrekt kalibriert sind, um dem Druckabbruch vorzubeugen.
3. In den *Drop on Demand Settings* können Einstellungen rund um den DBB-Druck und explizit die Discard-Funktion, also das Freischießen des Microventils zwischen den DBB-Lagen vorgenommen werden.
4. In den *Extrusion Settings* finden sich die relevanten Einstellungen in Bezug auf den Vorschub und Rückzug des Filaments zwischen den einzelnen Lagen. Dazu gehören die Feeding Rate und die (Reverse) Filament Retraction. Darüber hinaus steuert die Discard-Funktion den Materialausstoß zur Säuberung zwischen den einzelnen Extrusions-Lagen. Darüber hinaus kann in diesem Bereich kalibriert werden, wenn der Vorgang auf einer unebenen Druckunterlage erfolgen soll, wie beispielsweise einer Laborwellplatte.
5. Die *Position Settings* bestimmen die Working Position sowie festgelegte Punkte für den Discard-Vorgang im DBB- und Extrusionsdruck. Die Working Position dient als Ansatzpunkt für den Druckvorgang. Die Positionen müssen dabei als Koordinaten in den drei Raumrichtungen (X, Y und Z) im Verhältnis zum Referenzpunkt (Ruheposition des Druckkopfes) definiert werden.

General Settings

Speed (Hz): 750 Reference XY during print: 0
 Travel speed (Hz): 7500 Print multiple objects: 0

Offset Settings

A - Valve Offset (mm) X: 2.5 B - Valve Offset (mm) X: -18.0
 A - Valve Offset (mm) Y: 48.0 B - Valve Offset (mm) Y: 47.0
 Extruder Offset (mm) X: 0.0 Tool Offset (mm) X: 0.0
 Extruder Offset (mm) Y: 0.0 Tool Offset (mm) Y: 0.0

Drop on Demand Settings

Discard Number: 0 Multi Drops Count: 1
 Discard Opening Time (µs): 450 Waiting Time between Drops: 0

Extrusion Settings

Extrusion Feed Rate (mm/mm): 0.04 Height of Well (mm): 0.0
 Platform Lowering during Extrusion (mm): 0.5 Platform Lowering when not Extruding (mm): 6.0
 Filament Retraction at Start (mm): 0.0 Inverse Filament Retraction at Start (mm): 3.0
 Filament Retraction (mm): 0.0 Inverse Filament Retraction (mm): 1.0
 Discard Length (mm): 80

Position Settings

Working Position (mm) X: 102.0 Discard Position (mm) X: 107.5
 Working Position (mm) Y: 94.0 Discard Position (mm) Y: 30.3
 Working Position (mm) Z: 4.6 Discard Position (mm) Z: 150.0
 Cleaning Station (mm) X: 0.0 Extruder Discard Position (mm) X: 130.5
 Cleaning Station (mm) Y: 0.0 Extruder Discard Position (mm) Y: 160.3
 Cleaning Station (mm) Z: 0.0 Extruder Discard Position (mm) Z: 4.6

Working Position is Current Position
 Cleaning Position is Current Position
 Discard Position is Current Position
 Extruder Discard Position is Current Position

Abbildung 14 – Feinparameter-Einstellung für Kombinationsdruck (Screenshot aus Software "Robo Controller®"-Einstellungen)

Insbesondere die Einstellungen zur „Working Position Z:“ (also die Raumrichtung oben/unten) ist dabei nicht als zwingend festgelegt zu betrachten. Diese Einstellungsoption ist stark vom gewählten Versuchsaufbau abhängig, da sie die Startdistanz der Extruderdüse zum Druckbett des Black Drop Super Fill® festlegt. Je nach gewählter Druckbettmontage, Adhäsionsoption und ggfs. zuvor abgespielten Druckvorgängen kann der passende Wert für diese Einstellung stark variieren.

3.3 Verwendete Werkstoffe

Der Black Drop Super Fill® bietet die Möglichkeit, mit den drei verschiedenen Druckmodulen unterschiedliche Werkstoffe zu drucken.

In dieser Forschungsarbeit soll die Nutzung des Modells Super Fill® hinsichtlich seiner Fähigkeit zum Biodruck möglichst aussagekräftig beurteilt werden. Deshalb wurde die Entscheidung getroffen, auf Seiten der Hydrogele verschiedene Werkstoff-Varianten zu verwenden. Die Optionen zur Verwendung unterschiedlicher Werkstoffe sind im Bereich der thermoplastischen Kunststoffe zwar ebenso reichhaltig, jedoch beeinflusst vorrangig die Wahl des Hydrogels die Biokompatibilität eines Drucks. Um ein breites Feld an DoD-Werkstoffen abzudecken, wurden einzelne Hydrogele mit unterschiedlichen Eigenschaften zur Verwendung ausgewählt. Grundlegende Entscheidungskriterien für diese Auswahl waren die Biokompatibilität, der Verarbeitungsmodus sowie die Aushärtungseigenschaften. Ebenso wurden die einfache Beschaffung und Vorbereitung des Hydrogels als Entscheidungskriterium

herangezogen. Es wurden keine vorproduzierten Biomaterial-Tinten verwendet. Stattdessen wurden die Hydrogele für jede Versuchsreihe frisch angesetzt.

3.3.1 Eingesetzter thermoplastischer Kunststoff für Extrusionsdruck

Für dieses Projekt wurde PLA-Filament mit einem Durchmesser von 1,75 mm verwendet. Zu Beginn des Projekts wurde schwarz gefärbtes Filament eingesetzt (Anycubic, Shenzhen, China). Im Verlauf wurde zu ungefärbtem Filament gewechselt (DASFILAMENT, Emskirchen, Deutschland).

Die Filamente wurden mit einer Düsentemperatur von 200 °C im Druck verarbeitet.

3.3.2 Eingesetzte Hydrogele für Drop-on-Demand-Druck

Tabelle 5 führt die im Versuchsaufbau eingesetzten Hydrogele auf. Neben Herstellerinformationen und Produktausführung wird auch die gewählte Ansatzmethode beschrieben.

	Werkstoff	Hersteller	Ausführung	Ansatzmethode
1	Agarose	SIGMA-ALDRITCH Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland	Agarose, low gelling temperature	Agarose wurde unter stetigem Rühren mit einem Magnetrührgerät in auf 90 °C erhitztem, entionisiertem Wasser aufgelöst.
2	Gelatine	SIGMA-ALDRITCH Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland	Gelatine from porcine skin, strength 300, Type A	Gelatine wurde unter stetigem Rühren mit einem Magnetrührgerät in auf 60 °C erhitztem, entionisiertem Wasser aufgelöst. Höhere Temperaturen wurden bei der Vorbereitung des Gels vermieden, um die Gelierfähigkeit der Lösung nicht zu gefährden.
3	Kollagen	VISCOFAN	Soluble Collagen 5.0 mg/ml	Zur Herstellung von 1,5 ml Kollagenlösung wurden 150 µl entionisiertes Wasser, 90 µl NaHCO ₃ , 35 µl NaOH und 1,225 ml Kollagen-Lösung vermengt. Während des Anmischens wurden die Reagenzien auf Eis kühl gehalten, um den Quervernetzungsprozess möglichst lange hinauszuzögern.
4	Natrium-alginat	SIGMA-ALDRITCH Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland	Sodium alginat	Natriumalginat wurde in ein Becherglas gegeben und aufgrund seiner hydrophoben Eigenschaft erst anschließend mit entionisiertem Wasser übergossen. Das Gemisch wurde unter stetigem Rühren auf 80 °C erhitzt. Zur Aushärtung der Natriumalginat-Lösung wurde Kalziumchlorid-Lösung eingesetzt.
5	Kalzium-Chlorid (Adjuvans)	SIGMA-ALDRITCH Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland	Calcium chloride solution - BioUltra, 1M in H ₂ O	Die Kalziumchlorid-Lösung wurde ohne vorherige Verdünnung oder Modifikation zur Aushärtung der verwendeten Natriumalginat-Lösungen eingesetzt.

Tabelle 5 - Auflistung der eingesetzten Hydrogele (Eigene Darstellung)

Kollagen ist das einzige Hydrogel, bei dem im Verlauf der Forschungsarbeit eine gleichbleibende Konzentration verwendet wurde. Die Hydrogele Agarose, Gelatine und Natriumalginat hingegen werden im Laufe der Versuchsreihen in verschiedenen Konzentrationen angemischt, um die Aushärtungseigenschaften zu untersuchen. Die entsprechenden Ergebnisse werden in Kapitel 4.1.2 dargelegt.

4 Ergebnisse

In Kapitel 3 wurden die Werkstoffe sowie die Soft- und Hardware-Systeme vorgestellt, die im Rahmen dieser Forschungsarbeit zur Anwendung kamen. Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse der durchgeführten Versuchsreihen präsentiert. Da es sich um einen mehrstufigen Prozess handelt, bei dem sukzessiv aufeinander aufbauende Schritte erarbeitet wurden, spiegelt sich diese Chronologie im Aufbau des Ergebnisteils wider. Kapitel 4.1 widmet sich der Entwicklung der einzelnen Druck-Komponenten. In Kapitel 4.2 werden anschließend die Ergebnisse der Kombinationsdruck-Reihen vorgestellt.

4.1 Methodenentwicklung: Etablierung des Kombinationsdrucks

Bevor ein Kombinationsdruck im Sinne der Forschungsleitfrage durchgeführt werden konnte, musste der individuelle Druck der Kunststoff- und der Hydrogelkomponente separat erprobt werden. Im Folgenden wird die Etablierung der Arbeitsschritte für die einzelnen Drucktechniken inklusive der Vorbereitung der Druckkomponenten veranschaulicht. Im Anschluss wird die Integration beider Einzeldruckvorgänge in einem kombinierten Workflow präsentiert.

4.1.1 Entwicklung des Kunststoff-Modells

Zu Beginn des Projekts war es erforderlich, ein Konzept für den Druck von PLA im Rahmen des Kombinationsdrucks zu entwickeln. Dies umfasste das Erstellen eines passenden Modells für den 3D-Druck in einem CAD-Programm sowie die Optimierung der Druckeinstellungen in der entsprechenden Controlling-Software des Biodruckers, um reproduzierbare Druckergebnisse zu erzielen.

Im ersten Schritt wurde ein einfaches, dreidimensionales Objekt in der CAD-Software Autodesk Fusion 360 erstellt, welches sich an den Modellen orientierte, die in den Experimenten von Ritz, Gerke et. al.² verwendet wurden (siehe Abb. 15).



Abbildung 15 – Filamentdruck eines porösen Kunststoffmodells (Eigene Aufnahme)

Im weiteren Verlauf der Experimente wurde dieser Prototyp weiterentwickelt. Die Weiterentwicklung diente vor allen Dingen dem Ziel, die Eignung des Drucksystems für komplizierte Geometrien zu beurteilen. Ebenso erforderlich wurden Anpassungen, die das Modell vereinfachen, sodass es mit dem Black Drop Super Fill® mit hoher Erfolgsrate gedruckt werden kann. So wurde anstatt der feinporösen Struktur des Prototyps zuerst ein durchgängiger Hohlzylinder verwendet. In diesem Stadium der Versuche wurden insbesondere Parameter angepasst, welche eine bessere Oberflächenqualität sowie geringes Stringing gewährleisten.

Die Optimierung des Kunststoffdrucks erfolgt in einem iterativen Prozess. Dabei muss eine Vielzahl von Parametern erprobt und wechselseitig angepasst werden, um die bestmögliche

Druckqualität zu erlangen. Zu der Vielzahl von Parametern zählen unter anderem die Vorschubrate (Extrusion Feed Rate) und die Retraktion (Filament Retraction).

Ausgangspunkt der Versuche zu diesen Parametern waren die empfohlenen Einstellungen aus dem Handbuch des Drucksystems.⁸⁴ In Abbildung 16 ist ein Auszug aus dem Benutzerhandbuch des Black Drop Super Fill® dargestellt, welcher empfohlene Standardeinstellungen des Druckers wiedergibt. Bauartbedingte Abweichungen in den Dimensionen des verwendeten Drucksystems machen jedoch eine manuelle Anpassung einiger Parameter notwendig.

General Settings			
Speed (Hz):	<input type="text" value="1000"/>	Reference XY during print:	<input type="text" value="0"/>
Travel speed (Hz):	<input type="text" value="20000"/>	Print multiple objects:	<input type="text" value="X0:20;Y0:5"/>
Offset Settings			
A - Valve Offset (mm) X:	<input type="text" value="4.0"/>	B - Valve Offset (mm) X:	<input type="text" value="-18.0"/>
A - Valve Offset (mm) Y:	<input type="text" value="50.0"/>	B - Valve Offset (mm) Y:	<input type="text" value="50.0"/>
Extruder Offset (mm) X:	<input type="text" value="0.0"/>	Tool Offset (mm) X:	<input type="text" value="0.0"/>
Extruder Offset (mm) Y:	<input type="text" value="0.0"/>	Too Offset (mm) Y:	<input type="text" value="0.0"/>
Drop on Demand Settings			
Discard Number:	<input type="text" value="5"/>	Multi Drops Count:	<input type="text" value="0"/>
Discard Opening Time (µs):	<input type="text" value="450"/>	Waiting Time between Drops:	<input type="text" value="0"/>
Extrusion Settings			
Extrusion Feed Rate (mm/mm):	<input type="text" value="0.1"/>	Height of Well (mm):	<input type="text" value="5.0"/>
Plattform Lowering during Extrusion (mm):	<input type="text" value="2.0"/>	Plattform Lowering when not Extruding (mm):	<input type="text" value="5.0"/>
Filament Retraction at Start (mm):	<input type="text" value="2.0"/>	Inverse Filament Retraction at Start (mm):	<input type="text" value="5.0"/>
Filament Retraction (mm):	<input type="text" value="5.0"/>	Inverse Filament Retraction (mm):	<input type="text" value="5.0"/>
Discard Length (mm):	<input type="text" value="50"/>		
Position Settings			
Working Position (mm) X:	<input type="text" value="80.0"/>	Discard Position (mm) X:	<input type="text" value="32.4"/>
Working Position (mm) Y:	<input type="text" value="86.0"/>	Discard Position (mm) Y:	<input type="text" value="81.0"/>
Working Position (mm) Z:	<input type="text" value="21.0"/>	Discard Position (mm) Z:	<input type="text" value="28.6"/>
Cleaning Station (mm) X:	<input type="text" value="10.0"/>	Extruder Discard Position (mm) X:	<input type="text" value="47.4"/>
Cleaning Station (mm) Y:	<input type="text" value="196.0"/>	Extruder Discard Position (mm) Y:	<input type="text" value="106.0"/>
Cleaning Station (mm) Z:	<input type="text" value="241.8"/>	Extruder Discard Position (mm) Z:	<input type="text" value="21.0"/>
<input type="checkbox"/> Working Position is Current Position			
<input type="checkbox"/> Cleaning Position is Current Position			
<input type="checkbox"/> Discard Position is Current Position			
<input type="checkbox"/> Extruder Discard Position is Current Position			
<input type="checkbox"/> Membranstation is Current Position			
<input type="checkbox"/> Default Values			
<input type="button" value="Save Settings"/>			

Abbildung 16 - Standardeinstellungen aus dem Handbuch des Modells Black Drop Super Fill Robo®⁸⁴

Um eine ausreichende Haftung des Modells am Druckbett zu gewährleisten, wurden zunächst Methoden angewendet, welche im Rahmen des Hobby-3D-Drucks häufig zum Einsatz kommen. Etabliert haben sich diese Techniken, da sie mit kostengünstigen

Haushaltsmaterialien angewendet werden können und sich in Hinblick auf die Ergebnisse durchaus mit professionellen Druckplatten, welche mit Spezialbeschichtungen versehen sind, messen können. Es wurde Krepp-Klebeband auf das Druckbett aufgeklebt und anschließend Klebestift aufgetragen. Diese Methode ermöglicht unter trockenen Bedingungen eine zuverlässige Haftung des Modells am Druckbett. Im Rahmen dieses Projekts wurden auch andere Methoden der Druckbettadhäsion erprobt, wie zum Beispiel der Druck auf Glas oder der Druck auf den Deckel von labor-typischen Wellplatten. Der Druck auf eine Schicht Klebestift bzw. Klebestift mit Kreppband setzte sich jedoch gegen die sonstigen Methoden durch.

Ein weiterer wichtiger Faktor für die Druckqualität ist die sogenannte Vorschubrate des Filamentdrucks. Diese muss an die Schichtdicke des geschichteten Modells angepasst werden. Die Tests mit einem einfachen Testmodell in Form eines Hohlzylinders ergaben die beste Druckqualität bei einer Vorschubrate von 0,04 mm/mm. In der folgenden Tabelle werden die erprobten Vorschubraten den erzeugten Druckergebnissen gegenübergestellt. Deutlich wird, dass die Wahl der Vorschubrate einen maßgeblichen Einfluss auf die Qualität des Druckergebnisses hat. Abbildung 17 verdeutlicht, dass eine zu hohe Vorschubrate zu Druckergebnissen mit starker Überextrusion führt.



Abbildung 17 - PLA-Konstrukt mit Überextrusion (Eigene Aufnahme)

Anders als bei herkömmlicher 3D-Druck-Software muss bei der Begleitsoftware von Black Drop Super Fill® die Vorschubrate manuell auf die Schichtdicke des Modells abgestimmt werden. Dies bietet den Vorteil, dass die Parameter einfach angepasst werden können, erhöht jedoch zugleich den Erstaufwand für unerfahrene Benutzer. Tabelle 6 veranschaulicht die Druckergebnisse des CAD-Modells „Prototyp“ unter Variation der Vorschubrate.






Vorschubrate [mm/mm]	Ergebnis	Kommentar
0,020		Deutliche Unterextrusion, unregelmäßige Oberflächenstruktur, perlschnurartiger Materialauftrag
0,025		Leichte Unterextrusion, die Lagen fusionieren nicht vollständig
0,030		Gutes Ergebnis, gute Lagenfusion
0,035		Gutes Ergebnis, gute Lagenfusion
0,050		Deutliche Überextrusion, die Lücken der Inneren Gitterstruktur verschwinden teilweise, raue Oberflächenstruktur durch seitlich hervorgepressten Kunststoff

Tabelle 6 - Druckergebnisse bei variierender Vorschubrate (Eigene Darstellung)

Die Durchführung der Testdrucke zeigte außerdem, dass nicht alle Testdrucke bei gleichbleibender Vorschubrate die gleiche Qualität aufweisen. Der Druckerfolg variiert von Modell zu Modell. Es wurde festgestellt, dass eine Vorschubrate von 0,03 bis 0,04 mm/mm mit der gewählten Lagenhöhe zuverlässig zufriedenstellende Druckergebnisse liefert.

Ein weiterer wichtiger Druckparameter ist die sogenannte Retraktion. Mit dieser Einstellung kann die Filamentdistanz (in mm) bestimmt werden, die vor dem Absetzen der Extruderdüse vom Druckmodell (z. B. nach Vollenden einer Lage) entgegen der Druckrichtung in die Extruderdüse zurückgezogen wird. Diese Vorgehensweise hat das Ziel, zwischen den gedruckten Lagen keine Kunststofffäden hinter der Extruderdüse herzuführen. Diese können sich sonst an anderen Teilen des Werkstücks abstreifen und akkumulieren und möglicherweise den Fehlschlag des Drucks verursachen. Diese ungewollten Kunststofffäden werden auch als Stringing bezeichnet. Zur reibungslosen Funktion dieses Vorgangs ist es notwendig, dass die retrahierte Filamentdistanz beim Ansetzen der Extruderdüse an den neuen Druckort wieder protrahiert wird. Ungenauigkeiten bei diesem Vorgang führen zu

variierendem Extrusionsvolumen rund um die An- und Absetzpunkte im Modell und können dadurch die Druckqualität beeinträchtigen, insbesondere aufgrund des daraus resultierenden Stringings (Abb. 18).



Abbildung 18 - Druckmodell mit Stringing (Eigene Aufnahme)

Im Rahmen dieser Forschungsarbeit soll ein Druckmodell entwickelt werden, das möglichst vielseitig anwendbar sein soll. Um eine vielseitige Anwendbarkeit zu gewährleisten, sollte ein möglichst kompliziertes PLA-Modell mit komplexen Geometrien gedruckt werden, welches z. B. Überhänge aufweist. Für Modelle mit Überhängen müssen im 3D-Druck oftmals Stützstrukturen (Supports) verwendet werden. Beim kunststoffbasierten Extrusionsdruck werden diese Strukturen in der Regel aus demselben Kunststoff gedruckt, aus dem auch das eigentliche Modell besteht. Allerdings sind die Stützstrukturen in der Regel filigraner und weniger robust als das eigentliche Modell. Optimalerweise wird der Support so generiert, dass sich die diskontinuierlichen Kontaktpunkte einfach vom vollendeten Modell abbrechen lassen, ohne auf dessen Oberfläche signifikanten Schaden zu hinterlassen. Leider bietet die verwendete Version des Robo Slicers® keine Option, Stützstrukturen automatisch zu generieren. Die Fähigkeit des Druckers, Überhänge zu drucken, konnte deshalb lediglich am Beispiel kleiner Überhänge erprobt werden, die auch ohne den Einsatz von Stützstrukturen erfolgreich gedruckt werden konnten. Die Komplexität des PLA-Konstrukts ist also eingeschränkt.

Bei der Vorbereitung von Druckmodellen für den Druck im Black Drop Super Fill® wurde offenbar, dass sich die Benutzeroberfläche des Slicers deutlich von der Oberfläche gängiger Slicing-Softwares unterscheidet. Einerseits fehlen einige Parameter und andererseits gibt es Funktionen, die im Extrusionsdruck keinen Zweck erfüllen. Andere Einstellungen wie beispielsweise die „Drop Distance“ haben wiederum Auswirkungen auf den Druckvorgang, mussten jedoch nach dem trial-and-error-Prinzip erprobt werden.

Im weiteren Verlauf wurde der Prototyp, wie in Abbildung 19 ersichtlich, zunächst durch ein einfaches Zylinder-Modell und dieses wiederum durch einen Zylinder mit vier Quadranten ersetzt. Die Form dieses Modells mit seinen Hohlräumen wurde gewählt, um für den späteren Kombinationsdruck einzelne Kammern zu erstellen, in denen sich das Hydrogel ansammeln kann. Die Stege, die die Quadranten voneinander trennen, wurden jeweils mit einem runden Durchlass versehen, um die Fähigkeit des Systems, Überhänge zu drucken, zu erproben. Das Drucken der Durchlässe war erfolgreich, jedoch kam es zur starken Beeinträchtigung der Oberflächenqualität durch Stringing innerhalb der Kammern. In der Konsequenz wurde im finalen PLA-Modell auf die runden Durchlässe verzichtet.



Abbildung 19 - Weiterentwicklung der Kunststoffkomponenten (Eigene Aufnahme)

In Zusammenfassung lässt sich bei der Entwicklung des Kunststoff-Modells insbesondere die Abstimmung von Vorschubrate und Retraktion als größte Herausforderung identifizieren. Es wurden bedarfsabhängig verschiedene Modelle im Verlauf der Testreihen mit verschiedenen Parametern erprobt. Auf den Einsatz von Stützstrukturen wurde in Ermangelung von Optionen für die automatische Generierung verzichtet. Letztlich setzte sich ein gekammertes Modell für weitere Tests im Kombinationsdruck durch (siehe Abb. 20).

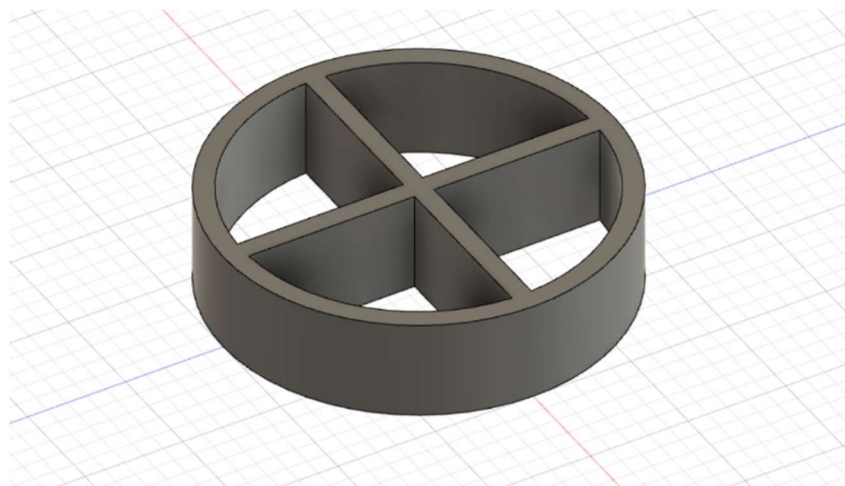


Abbildung 20 - Digitales Modell für den Kunststoffdruck (Screenshot aus CAD-Software Fusion 360)

4.1.2 Entwicklung der Hydrogel-Komponente

Bei der zweiten Komponente des in dieser Arbeit untersuchten Kombinationsdrucks handelt es sich um eine Biomaterial-Tinte. Bei der Vorbereitung dieses Werkstoffs wurden die vier ausgewählten Hydrogele primär hinsichtlich ihrer Aushärtungseigenschaften sowie ihrer Eigenschaften bei einem Testdruck per DoD-Verfahren untersucht. Für den DoD-Testdruck wurde eine Version des Kunststoff-Scaffolds, wie in Kapitel 4.1.1 beschrieben, hergestellt und als Auffanggefäß verwendet.

Als Kriterium für vollständige Aushärtung eines Hydrogels wird die stichfeste Konsistenz der Substanz definiert. Sobald die gelierte Substanz bei mechanischer Manipulation mit einer Kanüle scharfkantig reißt, anstatt sich fließend zu verformen, wird die Konsistenz als stichfest angenommen.

Für weitere Details werden die Versuchsergebnisse zu den einzelnen Hydrogelen in den folgenden Unterkapiteln einzeln zusammengefasst.

4.1.2.1 Versuchsergebnisse mit Agarose

Im Rahmen dieser Versuchsreihe weist Agarose die höchste Prozessstabilität auf. Es wurden drei verschiedene Testreagenzien mit einer Konzentration von 1, 2 bzw. 3 % w/v hergestellt. Die Ergebnisse der Aushärtung sind in Tabelle 7 zusammengefasst.

Hydrogel Aushärtemethode	Konzentration	Ergebnis
Agarose Aushärten durch Abkühlen	1 % w/v	5 min - Bildung einer Haut, darunter flüssig 15 min - fließend weiche, gelartige Konsistenz 30 min - Viskosität steigt nicht weiter
	2 % w/v	5 min - geleeartig 10 min - ausgehärtet
	3 % w/v	5 min - ausgehärtet

Tabelle 7 - Aushärtungseigenschaften von Agarose (Eigene Darstellung)

Angemischt wurde das Hydrogel unter Erhitzen auf 90 °C und Rühren mittels Magnetrührplatte für mindestens 15 Minuten. In Vitro-Untersuchungen zur Auswirkung der Agarose-Konzentration auf die Aushärtungseigenschaften ergeben, dass eine Lösung mit einer Konzentration von 2-3 % w/v ein vielversprechendes Aushärtungsverhalten zeigt. Diese Konzentration erweist sich auch über die Versuchsreihen hinweg als viskos genug, um wenig Verspritzungen beim DoD-Druckvorgang zu verursachen und innerhalb weniger Minuten nach dem Druck auszuhärten. Zugleich läuft in diesem Konzentrationsbereich der Druck in vielen Fällen verstopfungsfrei ab. Auf dieser Grundlage wird Agarose für die Versuche zum kombinierten Druck als Versuchsreagenz weiterverwendet. Die Ergebnisse des Kombinationsdrucks folgen in Kapitel 4.2.1. Abbildung 21 zeigt einen erfolgreichen Testdruck mit einer Zielkonzentration von 3 % w/v.



Abbildung 21 - Erfolgreicher Testdruck in vorgefertigtes Kunststoffmodell mit ermittelter Zielkonzentration des Hydrogels (3% Agarose) (Eigene Aufnahme)

4.1.2.2 Versuchsergebnisse mit Natriumalginat

Im Rahmen der Untersuchung des Hydrogels Natriumalginat wurden drei Alginat-haltige Testreagenzien mit Konzentrationen von 1, 2 und 3 % w/v angesetzt und auf ihre Aushärtungsfähigkeit hin untersucht. Für die Aushärtung wurde die chemische Methode durch Ionisation nach Hinzufügen von Calciumchlorid-Lösung gewählt. Dazu wurde nach dem Anmischen des Natriumalginat-Reagenzes Calciumchlorid-Lösung hinzupipettiert. Tabelle 8 fasst die Versuchsergebnisse hinsichtlich ihrer Aushärtungseigenschaften zusammen.

Hydrogel Aushärtemethode	Konzentration	Ergebnis
Natriumalginat Hinzufügen von 200µl CaCl-Lösung	1 % w/v	unmittelbar ausgehärtet, Restflüssigkeit vorhanden
	2 % w/v	unmittelbar ausgehärtet
	3 % w/v	unmittelbar ausgehärtet

Tabelle 8 - Aushärtungseigenschaften von Natriumalginat (Eigene Darstellung)

Es zeigt sich, dass die 1%-Lösung beim Hinzufügen von 200µl CaCl-Lösung geliert, wobei jedoch etwas Restflüssigkeit zurückbleibt. Dies deutet darauf hin, dass in der Lösung nicht genug Natriumalginat vorhanden war, um die gesamte Flüssigkeit zu binden. Im Gegensatz dazu ergeben 2%- und 3%-Lösungen des Reagenzes nach Ionisation ein restlos ausgehärtetes Gel.

Die Aushärtungseigenschaften wurden als vielversprechend für die Testreihe im kombinierten Druck bewertet. Die spezifischen Druckeigenschaften von Natriumalginat im DoD-Druck wurden direkt im kombinierten Workflow erforscht. Die Ergebnisse folgen in Kapitel 4.2.2.

4.1.2.3 Versuchsergebnisse mit Gelatine

Gelatine wurde zur Nutzung als Biomaterial-Tinte in verschiedenen Konzentrationen unter Erhitzung auf 80 °C und Rühren angesetzt. Auch hier wurden Reagenzien mit einer Konzentration von 1, 2 und 3 % w/v untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 9 zusammengefasst.

Hydrogel Aushärtemethode	Konzentration	Ergebnis
Gelatine Aushärten durch Abkühlen auf Raumtemperatur	1 % w/v	Bei Raumtemperatur innerhalb von 180 min nicht ausgehärtet
	2 % w/v	ca. 60 min - ausgehärtet
	3 % w/v	ca. 40 min - ausgehärtet

Tabelle 9 - Aushärtungseigenschaften von Gelatine (Eigene Darstellung)

Die 1%-Lösung zeigte bei Raumtemperatur (20 °C) keine vollständige Aushärtung und wurde dementsprechend nicht für einen DBB-Druckversuch herangezogen. Die 2%-Lösung erreichte eine ausreichende Aushärtung nach ca. 60 min bei Raumtemperatur. Die 3%-Lösung ist bei einer Ausgangstemperatur von 40 °C nach 40 Minuten zu einer stichfesten Masse ausgehärtet. Die Viskosität ist hierbei höher als bei der 2%igen Lösung.

Gelatine zeichnet sich durch eine lange Aushärtungszeit bei Raumtemperatur aus. Durch die geringe Viskosität der bereits gedruckten Flüssigkeit führt der Druck jeder weiteren DoD-Lage zum Verspritzen von flüssigem Gelatinegel. Dieses Spritzgeschehen kann im kombinierten

Druck Probleme verursachen. Sobald sich Spritzer auf der Oberfläche des unfertigen PLA-Konstrukts sammeln, kann dies die Druckqualität der weiteren PLA-Lagen beeinträchtigen und so zu einem Fehldruck des PLA-Modells führen.

In der Vergleichsbetrachtung unterlag Gelatine den anderen getesteten Hydrogelen im Hinblick auf die Verarbeitbarkeit. Aus diesem Grund wurde auf eine Versuchsreihe im Kombinationsdruck verzichtet.

4.1.2.4 Versuchsergebnisse mit Kollagen

Bei den Versuchen mit Kollagen stellt sich heraus, dass sich dieses Hydrogel nur schwer als Biomaterial-Tinte verarbeiten lässt. Kollagen nimmt in der Reihe der untersuchten Hydrogele eine Sonderstellung ein, da es als einziges Reagenz nicht durch bloßes Aushärten bei der Abkühlung seine endgültige Form erhält. Stattdessen muss Kollagen zum Erreichen der Endfestigkeit bei 37 °C kontrolliert polymerisieren. Um das Risiko für verfrühtes Aushärten zu minimieren, muss Kollagen bei niedrigen Temperaturen gelagert, auf einem Eisbett angemischt, und anschließend zügig verdruckt werden.

Ohne Präparation auf dem Eisbett kommt es nach dem Anmischen des Reagenzes in allen Fällen unweigerlich zur langsamen Quervernetzung des Kollagens. Die dadurch entstandene Verklumpung macht den Werkstoff für die Verwendung in der Druckkartusche unbrauchbar, da dies in vielen Fällen eine Verstopfung der Ventileinheit zur Folge hat. Für einen erfolgreichen Druck ist es also unumgänglich, die Quervernetzung innerhalb der Druckerkartusche zu verhindern oder zumindest so lange wie möglich hinauszuzögern. Das Anmischen und Lagern der Biomaterial-Tinte im Eisbett hat sich dabei als hilfreich erwiesen. Tabelle 10 gibt das Ergebnis der Aushärtung wieder.

Hydrogel Aushärtemethode	Konzentration	Ergebnis
Kollagen Aushärten durch Lagerung in 37 °C warmem Inkubator	Details siehe Fließtext unter Tabelle	60 min – ausgehärtet, schwer reproduzierbar

Tabelle 10 - Aushärtungseigenschaften von Kollagen (Eigene Darstellung)

Um eine Endkonzentration von 4,5 mg/ml (0,4% w/v) Kollagen zu erreichen, wurde folgendes Anmischprotokoll verwendet:

- 150 µl entionisiertes Wasser
- 90 µl NaHCO₃
- 35 µl NaOH (1n)
- 1,225 ml Kollagenlösung (6mg/ml)

Abbildung 22 zeigt eine fertig angemischte Kollagenlösung in einer Pipettenspitze.

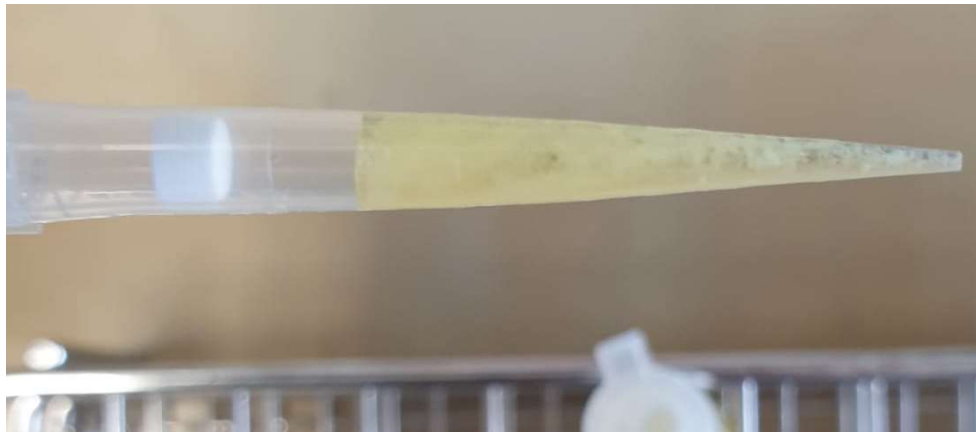


Abbildung 22 - Fertige Kollagenlösung (Eigene Aufnahme)

Um einer pH-bedingten Polymerisation in der Druckkartusche vorzubeugen, wurde nach dem Anmischen ein neutraler pH-Wert von 7,4 per Streifenfest sichergestellt. Die anschließende Inkubation bei 37 °C hat die Polymerisation und das Erreichen der endgültigen Festigkeit des Hydrogels zum Ziel. Wiederholte Versuchsreihen ergeben trotz gleichbleibender Bedingungen wechselhafte Ergebnisse bei der Aushärtung. Für die vollständige Verfestigung der Kollagen-Biomaterial-Tinte konnten keine reproduzierbaren Ergebnisse erreicht werden.

Nichtsdestotrotz wurden mit den hergestellten Kollagen-Hydrogel-Komponenten DoD-Druckversuche durchgeführt, um das Druckverhalten zu untersuchen. Die hergestellte Kollagen-Lösung weist eine dünnflüssige Konsistenz auf, was bei der Anwendung im DoD-Druck zu vermehrtem Verspritzen führt. Die Verringerung des Ausstoßdruckes und die Verringerung des Tropfenvolumens reduzieren zwar das Spritzverhalten, haben jedoch keine zufriedenstellenden Druckergebnisse hervorgebracht.

Ferner kam es wiederholt zum Verstopfen des Mikroventils beim Kollagen-Druck. Als Ursache hierfür wird die Verwendung von Isopropanol zum Reinigen der Kartusche vermutet. Isopropanol löst die Denaturierung von Kollagen aus, was zu Verstopfungen durch Kollagen-Rückstände führen kann. Vorsorglich wurde ab diesem Zeitpunkt eine gesamte DoD-Garnitur (Kartusche, Montageeinheit und Magnetventil) gesondert unter destilliertem Wasser gelagert und ausschließlich mit Kollagen verwendet. Trotz dieser Maßnahme mit erhöhtem Reinigungs- und Lageraufwand erweist sich Kollagen-Biomaterial-Tinte als problematisch in der Handhabung im 3D-Druck.

Aufgrund der beschriebenen Herausforderungen wurde eine erweiterte Versuchsreihe mit seriellem Kombinationsdruck mit Kollagen als Hydrogel-Komponente in dieser Forschungsreihe ausgeschlossen. Ein stabiler Druckprozess im Rahmen des Kombinationsdrucks ist auf Basis der gesammelten Erkenntnisse nicht zu erwarten.

4.1.2.5 Übergreifende Beobachtungen beim DoD-Druck

Unabhängig von der Wahl der Hydrogel-Komponente wurden im Rahmen der DoD-Druckversuche einige übergreifende Beobachtungen gesammelt, welche im Folgenden zusammengefasst werden. Die Versuchsreihen haben gezeigt, dass neben dem Kollagen auch andere Reagenzien anfällig für Verstopfungen sind. Dies wurde zum Beispiel bei der Anwendung von Agarose im DoD-Druck aus der beheizten Kartusche beobachtet. Trotz vollständiger Auflösung des Agarosepulvers in entionisiertem Wasser und Vorheizen der Kartusche auf 40 °C kann es zu der Formierung eines Agglomerats aus erstarrter Agarose in der Kartusche kommen. Abbildung 23 zeigt ein Agarose-Agglomerat, welches zum Fehlschlag des Testdrucks geführt hat. Eine Reinigung der DoD-Garnitur war nur mit Anwendung eines

Ultraschallbads sowie mehrmaliger Rückspülung des magnetisch geöffneten Mikroventils mit entionisiertem Wasser möglich.



Abbildung 23 - Agglomerat nach 2% w/v Agarose-Testdruck (Eigene Aufnahme)

Auch der optimale Arbeitsdruck ist entscheidend für die Qualität eines DoD-Drucks. Der Arbeitsdruck muss hoch genug sein, um die Oberflächenspannung des verwendeten Reagenzes zu überwinden. Zu hohe Werte führen allerdings zu verstärktem Spritzgeschehen, was die Druckqualität negativ beeinträchtigt. Druckluftwerte zwischen 0,1 und 0,3 bar haben sich als optimal erwiesen und wurden für die nachfolgenden kombinierten Druckversuche in diesem Projekt verwendet.

Ein weiterer kritischer Parameter im Druckprozess ist die Einstellung der Öffnungszeit des Mikroventils. Öffnungszeiten unter 200 μ s sind zu kurz, um bei den üblichen Arbeitsdrücken einen effektiven Durchfluss von Hydrogel zu gewährleisten. Längere Öffnungszeiten erhöhen das Volumen der einzelnen Tropfen, die das System ausgibt. Daher ist es wichtig, den Arbeitsdruck, die Öffnungszeit und das Tropfenverteilungsmuster beim Slicing-Prozess sorgfältig aufeinander abzustimmen.

Insbesondere bei längeren Druckvorgängen kommt es bisweilen zur Bildung von großen Tropfen an der Düsenspitze, die den weiteren Ausstoß von Hydrogel aus dem Magnetventil unmöglich machen. Abbildung 24 zeigt einen angesammelten Hydrogeltropfen.



Abbildung 24 - Fehlschlag eines Drucks wegen Ansammlung eines Hydrogel-Tropfens an der DoD-Düse (Eigene Aufnahme)

Für die Tropfenbildung kommen mehrere Ursachen in Frage. Ein Missverhältnis zwischen der Viskosität des Hydrogels, dem Arbeitsdruck, der Düsenöffnungszeit und dem Tropfenvolumen kann zu diesem Problem beitragen, indem es die Bildung blockierender Tropfen an der Düsen Spitze fördert. Zusätzlich können partielle Verstopfungen durch Fremdkörper, wie nicht vollständig aufgelöste Hydrogel-Klumpen oder Staub, den Ausfluss behindern. Dies führt zu einem erhöhten Strömungswiderstand. Die Tropfen können dadurch nicht schnell genug ausgestoßen werden und bleiben am Düsenrand haften. Diese Ansammlungen wachsen im Verlauf des Druckvorgangs stetig an, bis sie schließlich durch ihr Eigengewicht abfallen.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die Identifizierung der optimalen Konzentration bei der Herstellung von Hydrogelen die zentrale Herausforderung darstellt. Insbesondere zügige Aushärtung und Verstopfungsanfälligkeit müssen hierbei ausbalanciert werden. Darüber hinaus müssen sowohl die Reinigungsprozesse als auch die Druckeinstellungen für das verwendete Reagenz individuell angepasst werden, um ein reproduzierbares, solides Druckergebnis mit Hydrogelen zu ermöglichen.

In Tabelle 11 werden die benutzten Hydrogele im Hinblick auf die Kriterien Druckbarkeit und Einfachheit der Anwendung verglichen. "Druckbarkeit" bewertet ihre objektive Eignung für die Verarbeitung in einem 3D-Druck-System, während "Anwendbarkeit" die Herausforderungen im praktischen Umgang mit den Reagenzien reflektiert. Die Spalten für Konzentration und Temperatur zeigen die idealen Bedingungen für den Einsatz des jeweiligen Reagenzes.

Hydrogel	Druckbarkeit	Anwendung	Konzentrationsbereich [% w/v]	Temperaturbereich in der Kartusche
Agarose	++	+++	2-3	40 °C
Natriumalginat	+++	++	2-3	Raumtemperatur
Gelatine	+	++	3	30 °C bis 40 °C
Kollagen	-	-	0,4	10 °C bis Raumtemperatur

Tabelle 11 - Zusammenfassung Ergebnisse Hydrogeldruck (Eigene Darstellung)

Für den Test im Kombinationsdruck wurden Agarose und Natriumalginat als die stabilsten der betrachteten Reagenzien ausgewählt, um in weiteren Versuchen im kombinierten Druck getestet zu werden. Gelatine und Kollagen wurden wegen schlechter Performance in den oben beschriebenen Vorversuchen nicht weitergehend untersucht.

4.1.3 Entwicklung des kombinierten Workflows

Nachdem die grundsätzliche Entwicklung der Kunststoff- und der Hydrogel-Komponente in den vorangegangenen zwei Kapiteln beschrieben wurde, wird nun die Zusammenführung dieser Arbeitsschritte erläutert. Hierbei besteht die Herausforderung in der Identifikation von Konfliktfaktoren beim alternierenden Druck mit den beiden Modulen. Parameter wurden in diesem Arbeitsschritt erneut angepasst und Änderungen an den Druckmodellen vorgenommen, um einen reibungslosen Ablauf zu begünstigen.

Abbildung 25 verdeutlicht schematisch den Vorgang eines Kombinationsdrucks unter Verwendung von Agarose als Hydrogel-Komponente.

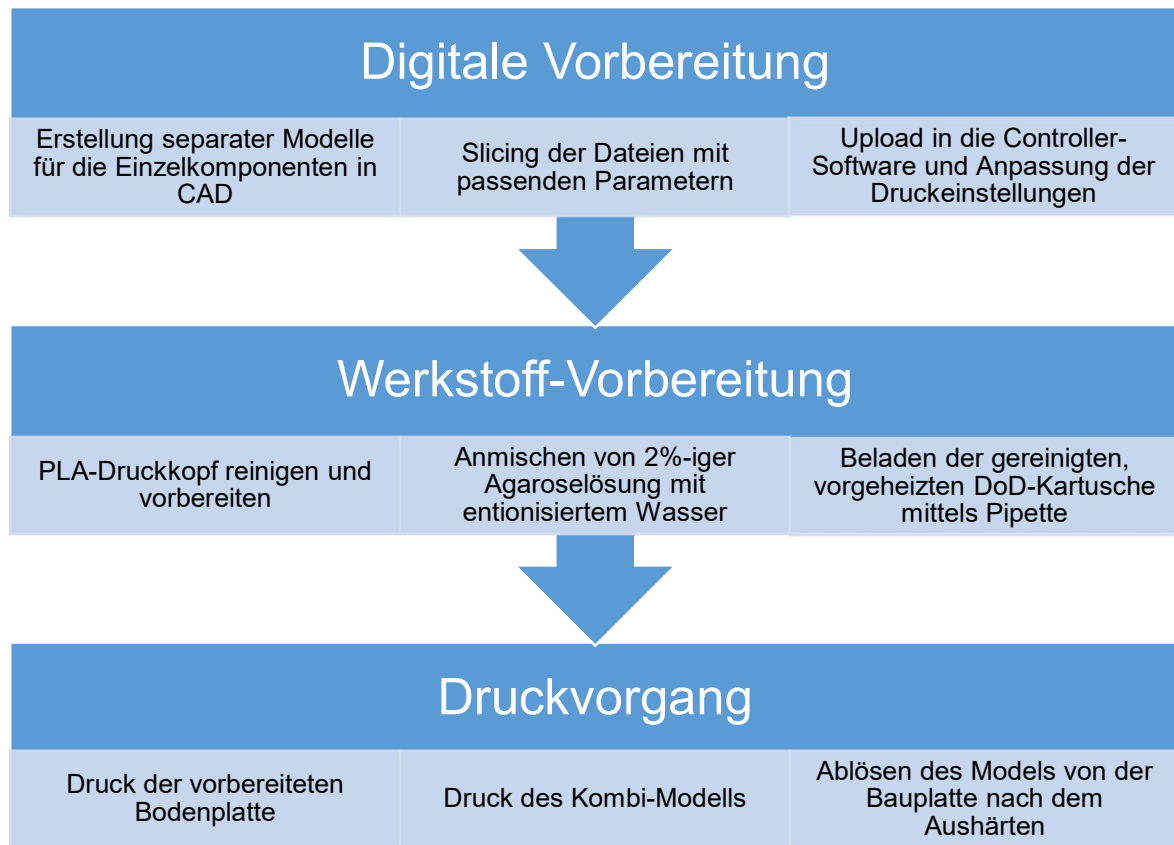


Abbildung 25 - Schematischer Arbeitsablauf eines kombinierten Druckvorgangs (Eigene Darstellung)

Um den kombinierten Druck zweier Werkstoffe mit dem Super Fill Robo® zu ermöglichen, können mit der Slicing-Software mehrere Modelle eingebunden und den gewünschten Druckeinheiten zugeteilt werden. Die einzelnen Modelle werden im Slicer zu einem kombinierten G-Code verbunden. Dieser wird anschließend über den Robo Controller® eingesetzt.

Eine Herausforderung bei der Erstellung der Hydrogel-Komponente war, dass nur zusammenhängende Körper von der Black Drop-Slicing®-Software erkannt und verarbeitet werden können. Modelle, die aus multiplen voneinander getrennten Kammern bestehen, können nicht gedruckt werden. Wie in Abbildung 20 ersichtlich, wurde als endgültige Version für den kombinierten Druck ein Modell mit vierfach gekammertem PLA-Scaffold erstellt. Diese Kammern weisen in der finalen Modell-Version keine Verbindungen auf. Um per Kombinationsdruck eine Füllung der Kammern mit Hydrogel zu ermöglichen, musste ein digitales CAD-Modell für den Hydrogeldruck erstellt werden, bei dem eine Verbindung der vier Kammern sichergestellt wird. Abbildung 26 illustriert die finale Form dieses Modells für den Hydrogeldruck. Gelöst wurde das Problem über eine Deckplatte, welche über den Kammerrand hinweg eine durchgehende Druckebene bildet.

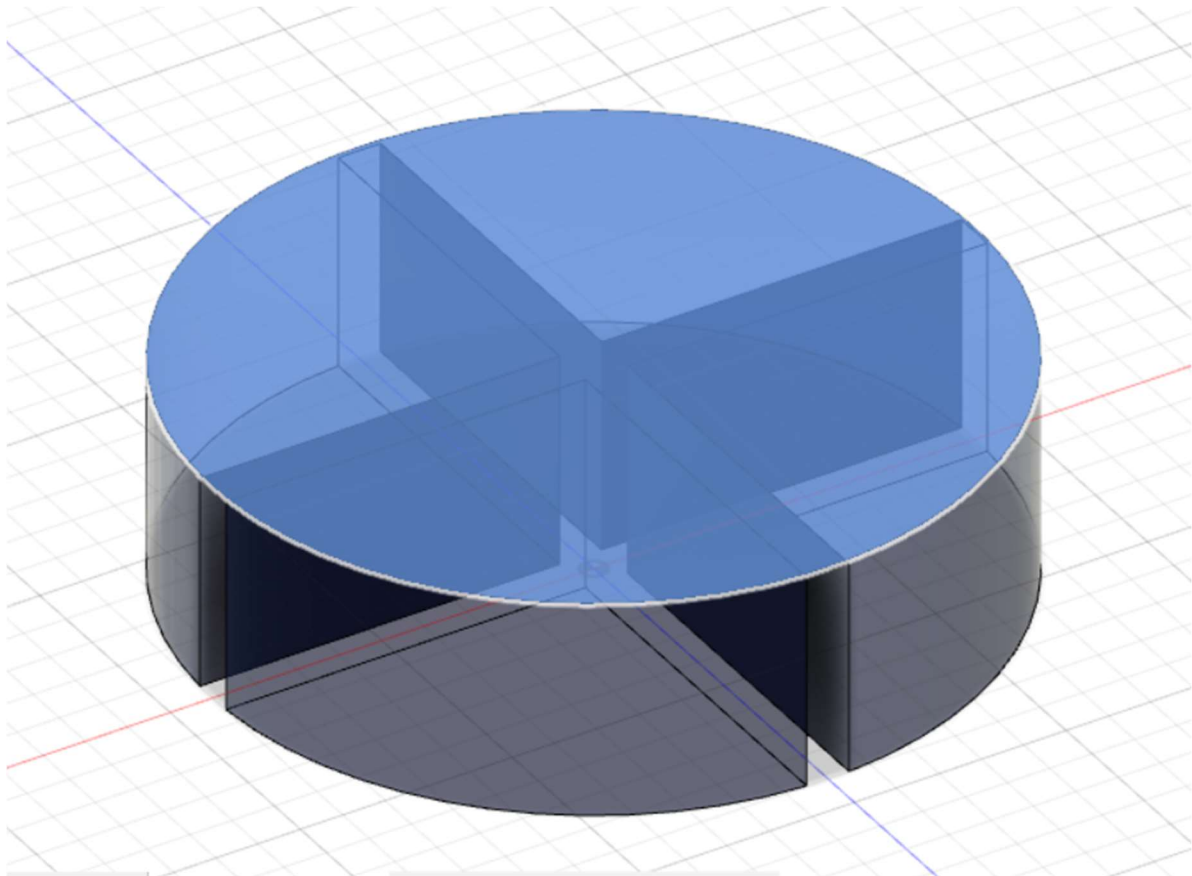


Abbildung 26 – Finaler digitaler Entwurf der Hydrogelkomponente (Screenshot aus CAD-Software Fusion 360)

Bei den ersten kombinierten Druckversuchen stellte die Haftung des Druckobjekts auf der Bauplatte eine große Herausforderung dar. Der zur Haftung des PLA auf die Bauplatte aufgetragene Klebestift weicht bereits nach wenigen Lagen des aufgespritzten Hydrogels auf. In der Folge löst sich das Modell von der Bauplatte. Versuche, auf den Kleber zu verzichten und den Kunststoff als Flüssigkeitsdichte Barriere direkt auf Glas oder die Bauplatte zu drucken, zeigen eine noch schlechtere Performance. Über verschiedene Optionen zur Verbesserung der Druckbetthaftung des PLA-Scaffolds wurde bereits unter 4.1.1 berichtet. Ein Erfolgsfaktor für den kombinierten Workflow ist, das Leckagerisiko für Hydrogel aus dem PLA-Scaffold zu verringern. Da die Hydrogele im flüssigen Zustand aufgebracht werden und während des Drucks in Abhängigkeit von Konzentration, Verarbeitungstemperatur und Eigenschaften des Reagenzes erst nach einigen Minuten aushärten, kommt es nicht selten zum Aufweichen des wasserlöslichen Klebestifts, was die Dislokation des Modells und den Fehlschlag des Drucks zur Folge hat. Dies ist in Abbildung 27 zu sehen.



Abbildung 27 - Dislokation beim Kombinationsdruck nach Austreten von Hydrogel (Eigene Aufnahme)

Diese Herausforderung wird gelöst, indem eine Bodenplatte aus PLA als Basis vorgedruckt wird. Dieses Werkstück wird im 3D-Druck als „Raft“ (dt. Floß) bezeichnet. In einem zweiten Schritt wird das eigentliche Modell auf dieses Raft als neue Bodenplatte gedruckt. Dabei wird ein flüssigkeitsdichter Abschluss zwischen den beiden Kunststoffmodellen sichergestellt. In Abbildung 28 kann dieser Aufbau nachvollzogen werden. Zu sehen ist ein gedruckter PLA-Zylinder mit anhängendem, quadratischem Raft in der Draufsicht von unten.

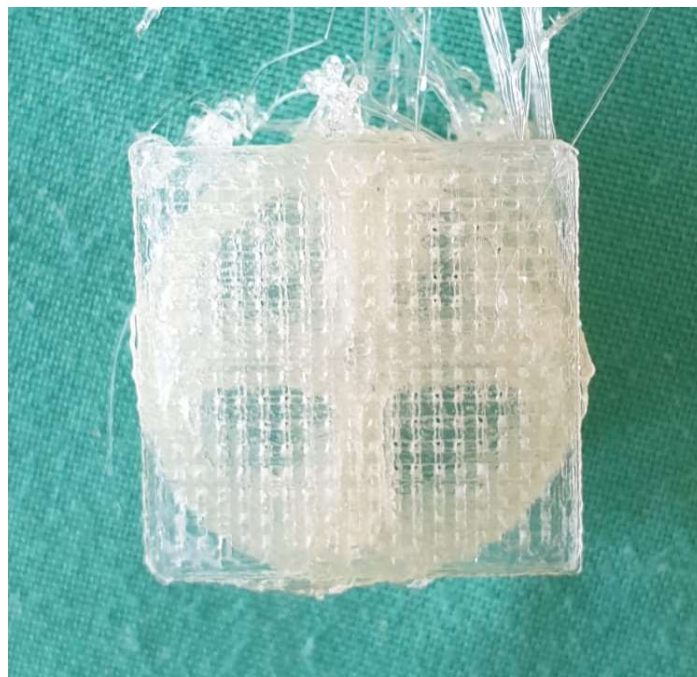


Abbildung 28 - PLA-Zylinder mit anhängendem Raft (Eigene Aufnahme)

Um eine flüssigkeitsdichte Grundplatte herzustellen, musste der passende Infill-Wert identifiziert werden. Der Infill-Wert bestimmt, wie engmaschig die einzelnen Lagen gedruckt werden. Ist dieser Wert optimal austariert, ergibt sich eine plane, flüssigkeitsundurchlässige Fläche. Nach einer Reihe von Testdrucken konnte eine flüssigkeitsdichte Grundplatte hergestellt werden, welche im Pipettiertest Flüssigkeit ohne Leckage hielt. Das in Abbildung 29 dargestellte Modell wurde im weiteren Verlauf im Kombinationsdruck verwendet.



Abbildung 29 - Finales PLA-Scaffold mit dichtem Raft für den kombinierten Druck (Eigene Aufnahme)

Bei den Versuchen des kombinierten Drucks fiel auf, dass der Druckkopf bei dem Übergang von Kunststoff- zu Hydrogel-Lagen immer an den Ansatzpunkt des Kunststoffdrucks zurückkehrt. Dabei berührt der Druckkopf mit der heißen Düse das Modell und fährt anschließend sofort weiter, um den Hydrogel-Druck zu beginnen. Dieser Vorgang führt zu einer wesentlichen Stringing-Problematik. Dieses Phänomen ließ sich nicht beheben, da eine Korrektur des Bewegungsprofils des Thermoplasten-Druckkopfs in der Programmierung nicht möglich war. Versuche, das Stringing durch den Einsatz der Discard-Funktion zu reduzieren, haben keinen maßgeblichen Erfolg gezeigt.

Darüber hinaus wurden während der Untersuchung des kombinierten Drucks eine mögliche Fehlfunktion bei der Retraktion des Super Fill Robo® festgestellt. Es wurde beobachtet, dass die Programmierung des Super Fill Robo® die Retraktion des Kunststoff-Filaments, also das Zurückziehen des Filaments in die Extruderdüse, auch während des Drucks einer DoD-Schicht ausführt. In der Folge kommt es zu einem übermäßigen Rückzug des Filaments in die Extrudereinheit, was wiederum nach wenigen Schichten durch starke Unterextrusion zum Scheitern des Drucks führt. Obwohl das Deaktivieren der Retraktion den Druckfehler verhindert, beeinträchtigt es die Oberflächenqualität des erstellten PLA-Konstrukts aufgrund des daraus resultierenden Stringings.

In Anbetracht der folgenden Auszüge aus dem Handbuch des Drucksystems sollte Retraktion auch beim Wechsel der Druckköpfe durch inverse Retraktion ausgeglichen werden:

“Filament Retraction (mm): Length of material that is retracted into extruder to avoid unwanted material flow at the start of a new printing job (new layer, structure, or change of printer head) during a running printing process.

Inverse Filament Retraction (mm): Length of material that is extruded to compensate for filament retraction after the start of a new printing job (new layer, structure, or change of printer head) during a running printing process.

To avoid material loss and printing errors, the values for retraction/inverse retraction should be chosen equally.”⁸⁴

Bei einigen Druckversuchen wurde darüber hinaus beobachtet, dass Hydrogel-Tropfen unkontrolliert zerstäuben, insbesondere wenn sie auf eine harte Oberfläche, wie das Druckbett oder das Kunststoff-Modell, treffen. Dies beeinträchtigt die Qualität der darauffolgenden Kunststoff-Extrusion. Bei Auftreffen des verflüssigten Kunststoffes auf den verspritzten Hydrogel-Rückständen, verdampfen diese. Das Verdampfen führt zu einer unzureichenden Lagenfusion der Kunststoff-Schichten und zeitweise zum Fehlschlagen von Druckdurchläufen.

Das Verspritzen des Hydrogels ist weniger ausgeprägt, wenn die Tropfen auf bereits gedruckte Hydrogel-Schichten fallen. Zu hohe Arbeitsdrücke und Hydrogele mit niedriger Viskosität begünstigen diesen unerwünschten Effekt. Im Kontext der Ausführungen unter 4.1.2.5 wird deutlich, dass die Arbeit mit Hydrogelen eine akkurate Anpassung der Druckparameter unter Beachtung des Ausstoßverhaltens der Hydrogele erfordert. Dabei muss der Arbeitsdruck niedrig und die Viskosität hoch sein, um möglichst wenig unkontrollierte Zerstäubung zu erzeugen. Zugleich führt ein zu großes Missverhältnis zwischen diesen beiden Parametern mit erhöhter Wahrscheinlichkeit zum Fehlschlag des Drucks durch Bildung von Tropfen an der Düse.

Im Umgang mit der Hydrogel-Komponente ergeben sich aus den durchgeführten Versuchen einige Erfolgsfaktoren, welche die Wahrscheinlichkeit für das Gelingen des kombinierten Drucks erhöhen:

- Systematische Versuche zur Optimierung der Druckparameter sind nötig, um das bestmögliche Verhältnis zwischen Viskosität, Druck, Öffnungszeit und Tropfenvolumen zu ermitteln.
- Druckluftwerte zwischen 0,1 und 0,3 bar haben sich als optimal erwiesen, um das Spritzverhalten des Hydrogels zu minimieren.
- Die regelmäßige und gründliche Reinigung der Düse und des Kartuschenraums kann der Verstopfung durch Fremdkörper vorbeugen.
- Nach Eintreten einer Verstopfung in der Düse ist eine Reinigung der DoD-Garnitur nur mit Anwendung eines Ultraschallbades sowie mehrmalige Rückspülung des magnetisch geöffneten Mikroventils mit entionisiertem Wasser möglich.

4.1.4 Zusammenfassung der Methodenentwicklung

Zusammenfassend setzt sich die Etablierung eines kombinierten Workflows aus der Optimierung der Einzeldruckvorgänge sowie der anschließenden Harmonisierung in einem gemeinsamen Workflow zusammen. Dabei waren drei Prozessschritte entscheidend: Die digitale Vorbereitung der Druckmodelle, die Vorbereitung der Werkstoffe sowie die Optimierung der Druckparameter. Im Rahmen der digitalen Vorbereitung stellt die Zusammenführung der CAD-Modelle aus dem Einzeldruck den größten Erfolgsfaktor dar. Hierbei müssen einerseits die technischen Umstände des Systems berücksichtigt werden und andererseits Lösungen für Herausforderungen gefunden werden, welche im Einzeldruck nicht auftreten. Zu nennen sind hier beispielsweise das Leckage-Risiko sowie die Haftungsproblematik, die sich durch die unterschiedlichen Aggregatzustände der Werkstoffe ergibt. Die Lösung ist in der vorliegenden Forschungsarbeit die Ergänzung eines Rafts unterhalb des PLA-Konstruktes. Bei der Vorbereitung und Verarbeitung der Werkstoffe ist der zentrale Erfolgsfaktor die Einhaltung strikter Reinigungsprozesse. Durch ein hohes Maß an Sauberkeit können Verstopfungen und Verunreinigungen vermieden und dadurch das Risiko für einen misslungenen Kombinationsdruck reduziert werden. Zu guter Letzt stellt die Optimierung der Druckparameter selbst einen zentralen Erfolgsparameter dar. Insbesondere der große Unterschied in der Verarbeitungstemperatur der Werkstoffe hat beim kombinierten Druck zu Herausforderungen geführt. Nur durch eine ausgewogene Parameterkontrolle können unerwünschte Begleiterscheinungen, wie Stringing, Verstopfen oder Verdampfen durch Verspritzen, vermieden und erfolgreiche Druckergebnisse erzielt werden.

4.2 Ergebnisse des Kombinationsdrucks

Nachdem die Kunststoff-Komponente, die Hydrogel-Komponente sowie der kombinierte Workflow erarbeitet wurden, können Versuchsreihen für den kombinierten Druck durchgeführt werden. Dafür werden, wie in Kapitel 4.1.2 hergeleitet, Agarose und Natrium-Alginat als Basismaterial für die Biomaterial-Tinten verwendet.

In dieser Forschungsarbeit wird ein Kombinationsdruck als erfolgreich bewertet, wenn die folgenden Kriterien erfüllt sind:

1. Der Druckvorgang läuft ohne Unterbrechung oder Abbruch ab.
2. Die PLA-Form weist eine kontinuierliche Struktur ohne Lücken oder überschüssiges Material auf.
3. Der Großteil des Hydrogels verbleibt in den dafür vorgesehenen Hohlräumen.
4. Die Hohlräume sind gleichmäßig befüllt.
5. Das Hydrogel härtet im Anschluss des Drucks zu einer geleeartigen Konsistenz aus.

Die Ergebnisse des Kombinationsdrucks werden in den folgenden Unterkapiteln vorgestellt. Im Rahmen der Versuchsreihen wurden verschiedene Erfolgsfaktoren und Hürden identifiziert, welche in der Diskussion der Ergebnisse in Kapitel 5 zusammengefasst sind.

4.2.1 Kombinationsdruck mit Agarose

Agarose wurde in kombinierten Druckversuchen in verschiedenen Konzentrationen erprobt. Über die Versuchsreihen hinweg erwiesen sich Konzentrationen von 2 bis 3 % (w/v) als viskos genug, um wenig Verspritzen zu verursachen und innerhalb weniger Minuten nach dem Druck auszuhärten. Zugleich konnte in diesem Konzentrationsbereich der Druck in vielen Fällen verstopfungsfrei ablaufen. Für die serienmäßigen Drucktests wurde eine Konzentration von 3 % (w/v) verwendet, da die Kontamination der PLA-Lagen durch verspritztes Hydrogel die häufigere Ursache für den Druckabbruch war. Die geringgradig erhöhte Rate von abgebrochenen Druckvorgängen durch Ventilverstopfung wird hierbei in Kauf genommen.



Abbildung 30 - Erfolgreicher Kombinationsdruck von PLA und Agarose (3%) (Eigene Aufnahme)

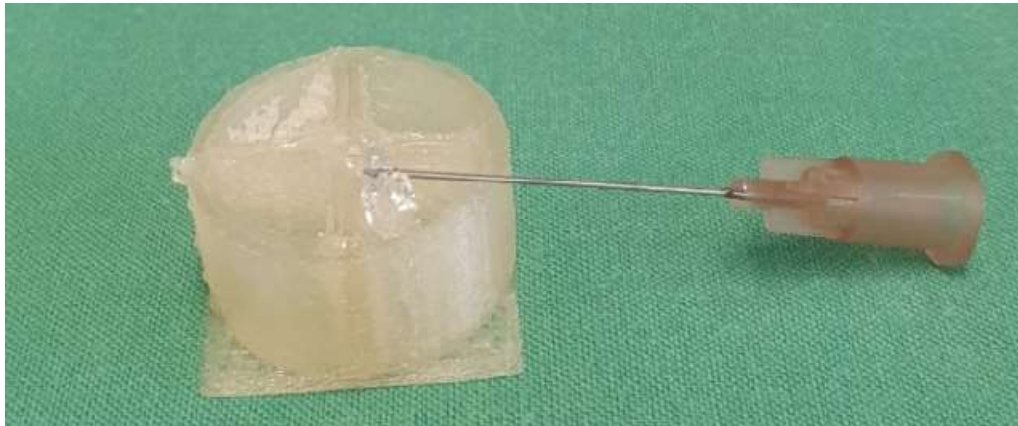


Abbildung 31 - Konsistenztest mittels Kanüle nach erfolgreichem Kombidruck PLA und Agarose (3%)
(Eigene Aufnahme)

Stabile Kombinationsdruckergebnisse, wie beispielhaft in Abbildung 30 und 31 veranschaulicht, ließen sich wiederholt mit Verlässlichkeit erzielen. Es wurden mehr als zehn Modelle in Folge gedruckt mit weitgehend gleichbleibender Ergebnisqualität und ohne zwischenzeitliches Verstopfen.

Die Abbildungen zeigen, dass beim Kombinationsdruck Kunststoffmodelle mit gleichmäßiger Oberfläche erzeugt werden konnten. Durch die Minimierung des Verspritzens von Hydrogel zwischen den Kunststoffschichten wurde unerwünschte Hohlrumbildung und Perforation vermieden. Die Hohlräume der einzelnen Quadranten des PLA-Modells wiesen einen gleichmäßigen Füllungsstand auf.

Die Aushärtung des Agarose-Gels zu einer festen Konsistenz erfolgte innerhalb von etwa 5 Minuten nach dem Ende des Druckvorgangs. Auf Grundlage der bisherigen Erkenntnisse zur Aushärtung von Agarose-Gel wäre eine schnellere Aushärtung zu erwarten gewesen. Die warme Druckplatte und die hohe Temperatur von ca. 200 Grad C beim PLA-Druck führten zu einem langsameren Abkühlen der gedruckten Agarose. Dies stellt einen Unterschied zu den Einzeldruckversuchen dar und ist eine Besonderheit für thermisch aushärtende Gele.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die Aushärtungseigenschaften der Agarose-Biomaterial-Tinte beim Kombinationsdruck vergleichbar mit den Ergebnissen aus den Einzeldruckversuchen sind. Es konnten wiederholt stabile und konsistente Druckergebnisse erzielt werden, die den definierten Erfolgskriterien entsprechen. Insgesamt konnte eine hohe Reproduzierbarkeit und Ergebnisqualität der Kombinationsdrucke mit Agarose nachgewiesen werden. Eine 3%ige Konzentration erwies sich als ideal, um Verspritzen zu reduzieren, ohne zugleich die Verstopfungsgefahr signifikant zu erhöhen.

4.2.2 Kombinationsdruck mit Natriumalginat

Natriumalginat wurde im Gegensatz zu den restlichen untersuchten Biomaterial-Tinten nicht als thermisch aushärtendes Hydrogel eingesetzt, sondern chemisch mittels Zugabe von Calciumchlorid-Lösung zur Aushärtung gebracht. Dies erforderte einen modifizierten Versuchsablauf. Eine Vermischung beider Reagenzien direkt in der Druckerkartusche wäre unzweckmäßig, da dies zu einer unmittelbaren Verfestigung und somit zu einem Verstopfen der Druckeinheit führen würde.

In ersten Versuchsreihen wurde daher ein sequenzielles Verfahren gewählt:

1. Druck eines offenen PLA-Konstrukts
2. Dieses wurde im Drucker belassen, 1 ml CaCl-Lösung wurde in das Konstrukt pipettiert, um eine Benetzung aller Hohlräume zu gewährleisten

3. Entfernen der Lösung nach einer Einwirkzeit von 5 Minuten
4. Befüllen der DoD-Kartusche mit 1%iger Natriumalginat-Lösung
5. Start des DoD-Druckprozesses als nachgelagerten Hydrogel-Druckvorgang

Mit Vorgehen nach diesem Schema wurde ein zufriedenstellendes Druckergebnis erreicht. Dies umfasst beinahe unmittelbare Aushärtung neu aufgetragenen Hydrogels bei Kontakt mit dem imprägnierten Scaffold, kontinuierliche Formstabilität und festen Lagenzusammenhalt im gesamten Hohlraum, wie zu sehen in Abbildung 32.

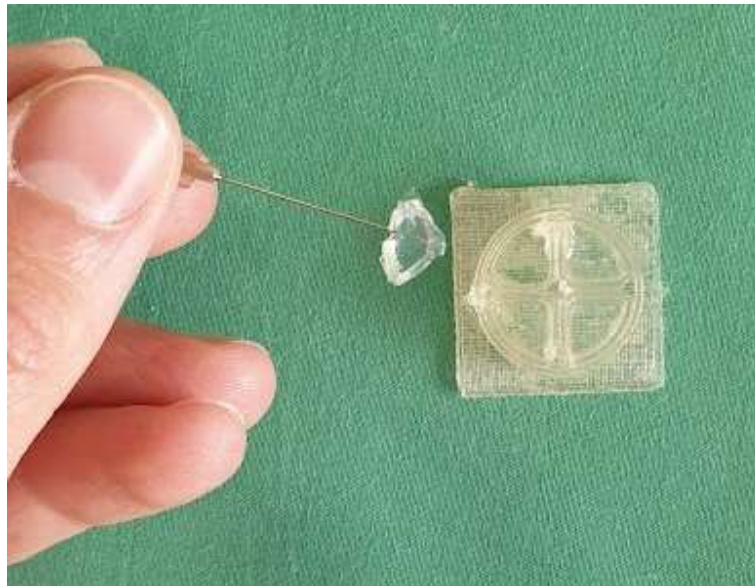


Abbildung 32 - Ergebnis des Drucks 1%igen-Natriumalginats auf ein mit CaCl2 beimpftes Modell (Eigene Aufnahme)

Im Sinne der Forschungsfrage und der Ansprüche an den Vorgang eines kombinierten Drucks von Kunststoff und Hydrogel genügt dieses sequenzielle Verfahren jedoch nicht. Um einen kombinierten Druckvorgang zu ermöglichen, wird die zweite DoD-Kartusche für weitere Versuchsreihen mit CaCl₂-Lösung befüllt. Beim kombinierten Druckvorgang werden nun alternierend PLA, Natriumalginat und Calciumchlorid als Lagen aufgebracht. In den ersten Minuten des Drucks erzielt diese Vorgehensweise gute Ergebnisse. Mit fortschreitender Lagenhöhe kommt es jedoch zur Kompromittierung des PLA-Drucks durch das Verspritzen von nicht umgesetzter CaCl₂-Lösung. Selbst bei technisch kleinstmöglicher Tropfengröße, also minimal möglichem Ausstoßvolumen bezüglich des Calciumchlorids, sammelt sich mit der Zeit überschüssige, flüssige Lösung in den Zwischenräumen des Scaffolds an. Dies führt zu vermehrtem Verspritzen, Haftungsverlust oder unkontrollierter Leckage.

Das minimale Ausstoßvolumen ist durch die Einstellung der geringstmöglichen Gating-Time begrenzt. Diese beträgt beim Black Drop Super Fill® 50 µs. Versuchsreihen mit progredienter Vergrößerung des Auftragsvolumens an Natriumalginat bei gleichzeitiger Verringerung des aufgetragenen Calciumchlorid-Volumens führen nicht zu einer signifikanten Verbesserung der Problematik. Konsolidierte und verlässlich wiederholbare Ergebnisse lassen sich mit diesem Versuchsaufbau im Kombinationsdruck nicht erreichen.

In Zusammenfassung bietet Natriumalginat als Werkstoff im gewählten Versuchsaufbau großes Potential und produziert im leicht angepassten zweistufigen Druckvorgang die stabilsten Ergebnisse.

5 Diskussion der Ergebnisse

Im folgenden Kapitel werden die erzielten Ergebnisse im Sinne der Forschungsfrage bewertet sowie im Abgleich mit gegenwärtiger Literatur diskutiert. Die zugrundeliegende Forschungsfrage befasst sich damit, wie ein 3D-Druck mit einer Kombination aus biokompatiblen Thermoplasten und Hydrogelen für wissenschaftliche/medizintechnische Anwendungen einfach, kostengünstig und vielseitig verwendbar ermöglicht werden kann. Um diese Frage zu beantworten, werden zunächst die Schlüsselbegriffe "einfach", "kostengünstig" und "vielseitig verwendbar" konkret definiert und operationalisiert.

1. Einfach

Das Kriterium "einfach" bezieht sich in dieser Forschungsarbeit auf mehrere Aspekte des 3D-Druckprozesses mit biokompatiblen Thermoplasten und Hydrogelen. Hierzu zählen insbesondere die Benutzerfreundlichkeit der Drucktechnologie, simple Anfertigung der Designs der Druckobjekte und die leichte Beschaffung und Verarbeitung der Materialien. Eine Technologie gilt dann als einfach, wenn sie ohne umfangreiche Vorkenntnisse oder spezialisiertes Training von Endnutzern angewendet werden kann, was besonders in temporär genutzten oder ressourcenbeschränkten Laboreinrichtungen von Vorteil ist.

2. Kostengünstig

Das Kriterium "kostengünstig" bezeichnet die Minimierung der Gesamtkosten für Anschaffung, Wartung, Verbrauchsmaterial und Betrieb des 3D-Drucksystems. Als Vergleich werden dabei alternative Systeme mit ähnlicher technischer Ausstattung herangezogen. Die durchschnittlichen Anschaffungskosten für 3D-Drucker mit Biodruck-Technik liegen im Bereich zwischen 10.000 und 300.000 Euro. Ein System, das als sehr kostengünstig gilt, sollte daher für einen Preis unter 20.000 Euro zu beschaffen sein. Wartungs- und Ersatzteilkosten sind in der Regel proportional zum Anschaffungspreis, während die laufenden Kosten für Verbrauchsmaterialien und Betrieb als vergleichbar für die betrachteten Systeme angenommen werden.

3. Vielseitig verwendbar

Das Kriterium der vielseitigen Verwendbarkeit von 3D-Drucksystemen für den kombinierten Druck von PLA und Hydrogelen bezieht sich auf die breite Anwendbarkeit dieser Technologie in diversen medizinischen und biotechnologischen Bereichen. Mögliche Einsatzgebiete umfassen unter anderem die Gewebezüchtung, in der derartige Drucksysteme zur Herstellung von Scaffolds für den Gewebeersatz genutzt werden.^{2,9,25,27,85,86} Darüber hinaus finden sie Anwendung in der Medizintechnik, beispielsweise zur Produktion bioresorbierbarer Implantate^{25,84,85,80}, sowie in der Entwicklung von Drug-Delivery-Systemen zur kontrollierten Freisetzung von Wirkstoffen.⁸⁷⁻⁸⁹ Ein flexibel einsetzbares 3D-Drucksystem sollte daher idealerweise mehrere dieser Anwendungsfelder mit minimalem Anpassungsaufwand abdecken können.

In den folgenden Unterkapiteln werden nacheinander die drei Bereiche Werkstoffe, Drucktechniken sowie Drucksystem im Hinblick auf die drei Kriterien bewertet. Gleichzeitig werden jeweils aktuelle Erkenntnisse aus anderen Forschungsarbeiten zur Einordnung der Ergebnisse ergänzt. Anschließend wird die angewendete Methodenarbeit kritisch betrachtet und verschiedene Limitationen der Arbeit aufgezeigt. Abschließend werden verbleibende Forschungslücken sowie Zukunftsaussichten für den biologischen, kombinierten 3D-Druck beschrieben.

5.1 Eignung der verwendeten Werkstoffe

Im Zuge dieser Forschungsarbeit wurden verschiedene 3D-druckbare Materialien behandelt und in Experimenten getestet. Festgelegt war von Beginn an, dass formgebende Modellanteile als festes Scaffold zusammen mit Biomaterial-Tinte das endgültige Modell bilden sollen. Die Auswahl der Werkstoffe für diese beiden Klassen orientiert sich, der Forschungsfrage folgend, an den unter 5. definierten Kriterien⁰.

5.1.1 Thermoplastischer Kunststoff

Im Rahmen der Forschungsreihen konnten im Kombinationsdruck vielversprechende Ergebnisse unter Verwendung eines thermoplastischen Kunststoffs erzielt werden. Zu Beginn der Forschung wurde die Entscheidung getroffen, als Werkstoff für die Thermoextrusion PLA anzuwenden. Wie bereits in Kapitel 2.3.2 ausgeführt, werden PLA-haltige Medizinprodukte inzwischen erfolgreich in der klinischen Chirurgie eingesetzt. Herausforderungen bei der Anwendung von PLA im klinischen Kontext sind insbesondere eine überschießende Immunreaktion oder die Bildung eines Biofilms auf den Werkstücken.⁸⁸

Im Rahmen der vorliegenden Forschungsarbeit sollten die gewählten Werkstoffe einfach verarbeitbar sein. Dadurch rückten Keramik- und mineralhaltige Stoffe von vornherein aus dem Fokus. Diese sind nur unter hochgradig angepassten Bedingungen verarbeitbar. Synthetische, thermoplastische Polymere lassen sich hingegen von einer Filament-Spule kontinuierlich abrollen und ohne komplizierte Arbeitsschritte im 3D-Druck verarbeiten. Darüber hinaus können synthetische, thermoplastische Polymere kostengünstig beschafft werden (ca. 20 EUR/kg). Die Robustheit des Werkstoffs gegenüber äußeren Einflüssen, sowie die Resistenz gegenüber Chemikalien machen ihn darüber hinaus vielseitig einsetzbar. Insbesondere die hohe Strukturintegrität gedruckten PLAs ermöglicht die Erstellung komplexer Geometrien. Somit lassen sich komplizierte Scaffolds herstellen, was einen vielseitigen Einsatz unterstützt.

Vorangegangene Forschungsergebnisse legen nahe, dass Kollagen und PLA synergistische Effekte in Hinblick auf Osteoinduktion und antimikrobielle Wirkung entfalten können.^{2,33,38,39} Damit ist die gemeinsame Anwendung dieser Werkstoffe gerade für die unfallchirurgisch-orthopädische Forschung beispielsweise als Gelenk- oder Knochenersatz eine vielversprechende Option.

Als naheliegende Alternative zu PLA hätte Polycaprolacton (PCL) eingesetzt werden können. PCL ist ein Kunststoff, der gegenwärtig in Forschungen im Bereich des TE für verbesserte Knochen-Regeneration, Wundheilung, Medikamentenfreisetzung und auch zur Anwendung im Biodruck eingesetzt wird.^{24-27,89,90} In-vitro und in-vivo-Tierversuche suggerieren eine gute Verträglichkeit von PCL im lebenden Organismus, weshalb dieser Kunststoff seit einigen Jahren auch in der klinischen Medizin durch Implantation in den menschlichen Körper erprobt wird. Anwendungsfelder erstrecken sich hierbei über die Kraniofazial- und Dentalchirurgie, sowie die ästhetische Chirurgie.⁹¹⁻⁹⁴

Die Bio- und Zellkompatibilität ist laut aktueller Studienlage bei PLA und PCL insofern gegeben, dass sich selbst bei längerem Verbleib im organischen Gewebe keine relevante Toxizität nachweisen lässt.⁹⁵⁻⁹⁷ Es ist jedoch zu beachten, dass die hohe Arbeitstemperatur beim Biodruck zum Tod verwendeter Zellen führen kann.⁹⁸ Aus diesem Grund sollte thermoplastischer Kunststoff bei der Implementierung von lebenden Zellen nie direkt als Trägerstoff, sondern immer nur als formgebende, stabilisierende Struktur verwendet werden.

PCL stellt für die Anwendung in der vorliegenden Forschungsarbeit eine zu PLA weitgehend gleichwertige Alternative dar. Dass PLA für die Durchführung der Experimente ausgewählt wurde, ist vorrangig durch die einfache Beschaffung als gebrauchsfertiges Filament bedingt.

5.1.2 Biomaterial-Tinten

Ein wichtiges Element des experimentellen Teils dieser Arbeit war die Anwendung einfacher Biomaterial-Tinten aus gängigen labormedizinisch verfügbaren Werkstoffen. Für die

durchgeführten Versuchsreihen wurden vier verschiedene Hydrogele betrachtet. Ausgewählt wurden Agarose, Natriumalginate, Gelatine sowie Kollagen. Die Wahl fiel auf diese vier Hydrogele, da diese in der gegenwärtigen Forschungslandschaft bereits häufig als Biomaterial-Tinten angewendet werden.^{99,100} Die positiven Eigenschaften und die Anwendungsfelder in Medizin und Forschung wurden bereits in Kapitel 2.3.3 zusammengefasst. Eine entscheidende Eigenschaft stellt dabei die Biokompatibilität der Reagenzien dar.

Eine weitere Prämisse für die Auswahl der Biomaterial-Tinten war, dass diese unter Laborbedingungen mit vertretbarem Aufwand anzumischen sind und das Ergebnis reproduzierbar sein soll. Durch diese Vorgehensweise konnten im Rahmen der Versuchsreihen die Materialeigenschaften über verschiedene Konzentrationsbereiche hinweg untersucht werden. In der Anschaffung sind die Einzelkomponenten der Hydrogele preiswerter als vorgemischte Biomaterialtinten. Vor diesem Hintergrund wurde die Verwendung von selbstgemischten Tinten bevorzugt.

Das Einbinden lebender Zellen in den Biodruckprozess ist ein bedeutender Aspekt in Arbeiten der aktuellen Forschungslandschaft zum Thema Biodruck. Lebende Zellen werden für Forschungszwecke genutzt, um beispielsweise die Auswirkungen von Medikamenten auf lebende Gewebe zu untersuchen.¹⁰¹⁻¹⁰³ Darüber hinaus ermöglicht es die Herstellung funktionalisierter Gewebe, die in vielerlei Hinsicht Organen und Geweben des menschlichen Körpers ähneln.¹⁰⁴⁻¹⁰⁷ Folglich stellt der Biodruck mit Zellen einen wichtigen Forschungsaspekt dar, um Techniken zur Erleichterung und Verbreitung der künstlichen Geweberegeneration zu entwickeln. Das Bioprinting ermöglicht hierbei maßgeschneiderte Lösungen, die den individuellen anatomischen und physiologischen Bedürfnissen eines Patienten entsprechen können.

Jedoch stellt auch die Entwicklung eines zellfreien Knochenersatzes nach dem Prinzip des kombinierten 3D-Drucks einen vielversprechenden Forschungsansatz dar, der die weitere Optimierung und Erforschung solcher Technologie ermöglichen kann. Die effektive Anwendung zellfreier Komponenten ist im Tissue Engineering verbreitet und es konnten mit solchen Ansätzen bereits verbesserte Heilungsraten für Knochendefekte erzielt werden.^{1,108} Die Entscheidung, keine vitalen Zellen in den Experimenten zu verwenden, wurde in Hinblick auf den zeitlichen Aufwand getroffen, der notwendig gewesen wäre, um die gewählten Hydrogele auf ihre Verwendbarkeit im Kombinationsdruck zu testen.

Die besten Druckergebnisse zeigte in dieser Forschungsarbeit der Kombinationsdruck von PLA mit Natriumalginate unter Aushärtung mit Calciumchlorid. Leider war es nicht möglich, dieses Drucksetup mit CaCl in der zweiten Druckkartusche zu optimieren, da das von der Kartusche ausgegebene Minimalvolumen mit 200µl zu groß ist, um einen reibungslosen Druck zu gewährleisten. Insbesondere durch die geringe Viskosität der verwendeten CaCl-Lösung störte die überschüssige Flüssigkeit den Fortlauf des Druckvorgangs in den dazu durchgeführten Versuchsreihen. Sollte ein effektiver Versuchsaufbau konzipiert werden können, der es ermöglicht, kleinere Mengen CaCl in das Druckmodell einzubringen, könnte diese Kombination eine effektive Möglichkeit für den Kombinationsdruck darstellen. Einen Ansatz für eine solche Technik stellt der simultane Tropfenausstoß aus zwei unterschiedlichen Düsen dar, der mit einem Bioscaffolder 2019 erfolgreich von einer deutschen Forschungsgruppe getestet wurde.¹⁰⁹

Der getestete Versuchsaufbau mit einem Druck von Natriumalginate und Calciumchlorid hätte auch insofern abgewandelt werden können, dass in der Kartusche mit Calciumchlorid ein weiteres Reagenz beigemischt wird. Beispielsweise das Beimischen von Agarose könnte die Konsistenz und den präzisen Materialauftrag im DoD-Verfahren positiv beeinflussen. Das Austesten dieser Hypothese könnte Inhalt von Folgeversuchen sein.

Darüber hinaus hätte auch die Aushärtung durch Ionisation in abgewandelter Weise zum Einsatz kommen können. So wäre es denkbar gewesen, den zur schnellen Aushärtung von

Natriumalginate benötigen, ionisierenden Aktivator in das verwendete PLA zu integrieren, um eine Aushärtung unmittelbar bei Kontakt mit dem bereits gedruckten Kunststoff anzustoßen. Solange die Strukturintegrität des Kunststoffes dadurch nicht kompromittiert wird, wäre in solcher Versuchsaufbau in der Theorie vielversprechend.

Als Alternative zur Aushärtung durch Ionisation käme auch eine Aushärtung durch Lichtexposition in Frage. Alginathaltige Biomaterial-Tinten können durch den Zusatz verschiedener, photosensibler Aktivatoren bei Lichtanwendung zum Aushärten gebracht werden, wie aktuelle Forschungsergebnisse belegen.¹¹⁰⁻¹¹³ Hierbei wurde beispielsweise in Experimenten der Druck von Biomaterial-Tinten mit Gelatine und Alginate, jeweils in Mischung mit Methacrylat, durchgeführt.¹¹⁰ Zu beachten ist, dass bei diesen Untersuchungen nicht nach dem DoD-Verfahren, sondern mit Bioextrusion gedruckt wurde. Gerade vor dem Hintergrund der als viskos beschriebenen Biomaterial-Tinten mit Methacrylatanteil¹¹⁰ scheint eine Anwendung im DoD-Verfahren nicht vielversprechend. Sofern ein Photoaktivator mit niedriger Viskosität eingesetzt wird, könnten hierzu weitere Versuche durchgeführt werden.

Die vier gewählten Hydrogele erfüllen größtenteils die drei Leitkriterien der Forschungsfrage. Natriumalginate sticht dabei besonders positiv hervor. Die Anwendung von Agarose, Gelatine und Natrium-Alginate als Biomaterial-Tinte war einfach. Das Verdrucken von Kollagen hingegen ist nicht gelungen. Verschiedene Ansätze, wie die Anwendung weiter vereinfacht werden könnte, wurden vorangehend diskutiert. Darüber hinaus stellt der Ansatz, die Biomaterial-Tinten eigenständig anzumischen, eine kostengünstige Alternative zum Erwerb fertig gemischter Tinten dar. Zu guter Letzt bieten die gewählten Hydrogele die Option, weitere Versuchsreihen mit dem Einsatz von lebenden Zellen anzuschließen. Dies eröffnet vielseitige Anwendungsmöglichkeiten.

5.2 Eignung der ausgewählten Drucktechniken

Wie aus der Literaturrecherche hervorgeht, ist das Feld der einsetzbaren 3D-Drucktechnologien breit gefächert und stellt einen rasch expandierenden Zweig der modernen Technologielandschaft dar. Hierbei unterliegen insbesondere die Techniken des biomedizinischen 3D-Drucks einer kontinuierlichen Weiterentwicklung. Die vorliegende Forschungsarbeit basiert auf der Grundüberlegung, den kombinierten Druck eines Scaffolds mit fester Struktur aus thermoplastischem Kunststoff zusammen mit Hydrogel-basierten Biomaterial-Tinten zu untersuchen. Vor diesem Hintergrund wurden verschiedene Drucktechniken hinsichtlich ihrer Eignung bewertet.

Thermoplastische Polymere lassen sich einfach und verlässlich per Extrusionsdruck nach dem FLM-Prinzip verarbeiten. Grundsätzlich können diese Werkstoffe zwar auch mittels alternativer 3D-Drucktechniken verarbeitet werden, beispielsweise mit Sinterungsverfahren. Im Sinne der Forschungsfrage und im Hinblick auf die hohen Kosten für Drucksysteme mit dieser Alternativtechnik stellt die Kunststoffextrusion im gewählten Versuchsaufbau die sinnvollste Drucktechnik dar. Durch diese Festlegung kamen auch für den Druck der Biomaterial-Tinten nur druckkopfgestützte Techniken in Frage, da andere Verfahren sich kaum mit dem FLM-Druck kombinieren lassen. Vor allem die SLA-Technik rückt hierdurch aus dem Fokus.

Für diese Forschungsarbeit wurde für den Druck von Biomaterial-Tinten ausschließlich droplet-basierter Biodruck mit Mikroventil-Technik angewendet. Grund dafür ist, dass sich die DoD-Technologie im Rahmen der anfänglichen Literaturrecherche in vieler Hinsicht als die vielversprechendere Drucktechnik für Biodruckanwendungen darstellte. In der Literatur findet sich starke Evidenz für hohe Überlebensraten von Zellen, die im DoD-Druckprozess verarbeitet wurden.^{19,114} Durch Anwendung des DBB konnte der Zielsetzung entsprochen werden, die allgemeine Leistungsfähigkeit des Black Drop Super Fill Robo® als Biodrucksystem zu untersuchen. Auf diese Weise konnte die Drucksystematik für zukünftige Biodruckexperimente mit lebenden Zellen mit dem Black Drop Super Fill® so realistisch wie möglich erprobt werden. Fortgeschrittene Droplet-basierte Techniken, wie der akustisch

aktivierte DoD-Druck bieten in Hinblick auf das Zellüberleben sogar noch bessere Ergebnisse.¹¹⁵ Auch mit mikroventilbasierten Drucksystemen können mit Kollagen als Trägermedium gute Zellüberlebensraten erreicht werden.¹¹⁶ Diese Alternativen bieten Potential für Folgeversuche, in denen die Zellverträglichkeit dieser Techniken verglichen werden könnte.

DBB-Technologie wird in der Forschungslandschaft aufgrund von einigen Vorteilen bevorzugt. Sie bietet die Möglichkeit zur besonders präzisen Materialplatzierung, wobei einzelne Tropfen exakt und punktgenau abgelegt werden, was die Erzeugung komplexerer Anordnungen im Vergleich zu Extrusionsverfahren ermöglicht. Insbesondere die Komplexität natürlicher Gewebe kann auf diese Weise besser nachgeahmt werden.¹¹⁷ Die präzise Ablage ist insbesondere beim Kombinationsdruck von Vorteil, da sie es erlaubt, heterogene Zellkonstrukte mit verschiedenen Biomaterialien besonders präzise zu integrieren. Dies stellt einen entscheidenden Vorteil gegenüber anderen Techniken dar.

Darüber hinaus besitzt DBB großes Potenzial im klinischen Einsatz für das Tissue-Bioprinting, da es sich durch den Abstand zwischen Druckkopf und Auftragsfläche besonders für In-situ-Bioprinting eignet. Hierbei können Defekte im lebenden Gewebe durch das kontaktlose Aufbringen von therapeutischen Biotinten rekonstruiert werden. In einer Reihe von Tierversuchen haben solche Ansätze bereits Evidenz für eine verbesserte Defektheilung gezeigt.^{22,118,119} DBB-Techniken bieten auch außerhalb klassischer Bioprinting-Anwendungen wertvolle Anwendungsfälle. Einer ist die schnelle und verlässlich reproduzierbare Fertigung von Probearrays durch den Einsatz mehrerer Düsen, was insbesondere bei Hochdurchsatz-Screening-Anwendungen wie Medikamententests und Krebs screenings von Bedeutung ist.¹²⁰⁻¹²²

Eine Herausforderung für DBB-Verfahren ist die Fertigung poröser Gewebekonstrukte, welche Perfusion und stofflichen Austausch innerhalb des fertigen Modells ermöglichen sollen. Da DBB-Verfahren nur Werkstoffe mit geringer struktureller Integrität verarbeiten, können poröse Gewebekonstrukte nur eingeschränkt erzeugt werden.¹³ Solche Architekturen können leichter mittels Extrusion- oder SLA-Technik gedruckt werden.

Die PLA-Extrusion zeigt im alleinigen Druck mit dem Super Fill® eine deutlich bessere Performance als im kombinierten Druck. Dies ist zum Teil auf die Haftproblematik zurückzuführen, die sich bei der Kombination mit flüssigen Werkstoffen ergibt. Auf spezifische Techniken, wie beim 3D-Druck gute Adhäsion des Druckmodells an der Bauplatte erreicht werden kann, wurde bereits in Kapitel 4.1.1 eingegangen.

Im Rahmen der Forschungsarbeit wurde festgestellt, dass das genaue Austarieren verschiedener Parameter, wie der Feeding-Rate und der Retraktion, die Qualität der Druckergebnisse maßgeblich beeinflusst. Auch andere Forschende identifizieren die Feeding-Rate als bestimmenden Parameter für die Qualität der Druckergebnisse beim FLM-Druck. Ferner werden Schwierigkeiten bei der Optimierung der Drucktemperatur beschrieben.¹⁶

Der in Kapitel 4.1.3 beschriebene Materialverlust resultiert maßgeblich aus einer fehlerhaften Softwareeinstellung, welche die Retraktion während der einzelnen Lagen eines DoD-Drucks ausführt, diese jedoch nicht suffizient durch inverse Retraktion ausgleicht. Dieser Retraktionsfehler in der Software des Super Fill® stellt ein relevantes Problem dar. Bis zum Bugfix muss eine Balance zwischen Druckkontinuität und Druckqualität gefunden werden.

5.3 Eignung des verwendeten Druckers

Die Auswahl des Drucksystems, mit dem die Experimente durchgeführt werden, stellte eine grundlegende Entscheidung zu Beginn der Forschungsarbeit dar. Wie in Kapitel 2.4.1 bereits deutlich wurde, stehen am internationalen Markt diverse Optionen zur Verfügung.

Ein mögliches Entscheidungskriterium ist die Orientierung an renommierten, häufig verwendeten Drucksystemen. Einige der genannten Drucksysteme wurden in Studien sogar schon für kombinierte Druckvorgänge benutzt und erzielten vielversprechende Ergebnisse.

In Hinblick auf die Kriterien Einfachheit, kostengünstiges Preisniveau und Vielseitigkeit im Einsatz, wie sie für diese Dissertation gewählt wurden, zeigt sich jedoch, dass einige dieser Drucksysteme insbesondere den Anforderungen an den Anschaffungspreis nicht gerecht werden können. Geräte mit der für kombinierten Druck nötigen technischen Ausstattung gehören eher zum teuren Preissegment ab 100.000 USD Anschaffungspreis. Zu dieser Gruppe gehören Drucksysteme, die in der gegenwärtigen Forschung im Bereich Tissue Engineering häufig eingesetzt werden, wie der Bioscaffolder (GeSiM) und der Bioplotter (EnvisionTEC).¹²³

Diese Biodrucker bieten im Vergleich zu preisgünstigeren Alternativen mehr Montageplätze für Druckköpfe, eine höhere Präzision durch geringere Verarbeitungstoleranzen und Bauteile für hochtechnologische Spezialanwendungen, wie Plasmasterilisatoren, Module für Koaxialdruck, Metallverarbeitung oder Hochtemperaturextrusion.^{124,125} Obwohl für kombinierten Biodruck modulare Drucksysteme mit flexiblen Druckkopfkonfigurationen von Vorteil sind, treiben derart spezialisierte Montageoptionen den Anschaffungspreis in die Höhe, ohne konkrete Verwendungsvorteile für den gewählten Versuchsaufbau zu bieten.

Auch ein Blick in die Forschungslandschaft untermauert den Stellenwert des gewählten „Low-Budget-Ansatzes“. ^{15,126-128} So bietet diese Einschränkung Potential für Forschungsarbeiten mit knapper monetärer Unterstützung und verringert Investitionshürden für Institute.

Die Entscheidung für die Firma Black Drop und das Modell Super Fill® wurde getroffen, weil dieses Drucksystem die Kernkriterien der Forschungsfrage am besten zu erfüllen schien. Die konkreten Argumente können in Kapitel 3.2.1 nachvollzogen werden.

Nach Durchführung der Versuchsreihen lassen sich die zu Beginn angenommenen Eigenschaften und Vorteile des Drucksystems wie folgt einordnen:

Einfachheit:

Die verwendeten Software-Lösungen wurden vom Hersteller eigens für das Drucksystem entwickelt. Es kommt dadurch zu weniger Kompatibilitätsproblemen als bei der Benutzung von Fremdsoftware. Es besteht so ein geringerer Vorbereitungsaufwand, es muss beispielsweise kein Druckerprofil manuell eingerichtet werden.

Darüber hinaus bietet die Zusammenarbeit mit einem Gerätehersteller mit Sitz in Deutschland die Option zügiger und engmaschiger Unterstützung bei Supportanfragen.

Das Drucksystem verfügt über Kartuschen aus Edelstahl, die für den DBB-Druck verwendet werden. Diese Druckerkartuschen sind wiederverwendbar und können einfach mit selbstgemischtem Biomaterial-Tinten beladen werden.

Vielseitige Anwendung:

Ein wesentlicher Vorteil des gewählten Drucksystems liegt in dessen technischer Flexibilität, die eine Verarbeitung unterschiedlicher Werkstoffe ermöglicht. Die wiederbefüllbaren Kartuschen bieten die Möglichkeit, eine Vielzahl verschiedener Materialien einzusetzen. Zudem erlaubt der Super Fill® spezifische Modifikationen für den Forschungseinsatz. So kann beispielsweise über eine Schlauchverbindung zwischen einem externen Kühlaggregat und der Bodenplatte eine kontinuierliche Kühlung während des Druckprozesses gewährleistet werden. Dies eröffnet die Möglichkeit, auch instabilere Werkstoffe zu verarbeiten, die eine sofortige Abkühlung nach der Materialeextrusion erfordern.^{129,130}

Ein weiterer Vorteil ergibt sich aus der auf den Super Fill® abgestimmten Software, die eine Vielzahl anpassbarer Parameter bereitstellt. Dadurch können Feineinstellungen am

Druckvorgang optimiert werden. Lediglich Optionen zum Drucken von Supportmaterialien für überhängende Strukturen sowie Funktionen zur Verbesserung der Haftung auf der Bauplatte und für verschiedene Infill-Strategien fehlen in der Software. Während dies bei einfachen Druckaufträgen in der Regel keine Einschränkung darstellt, könnte das System in der getesteten Version bei komplexeren Versuchsaufbauten an seine Grenzen stoßen.

Hinsichtlich der räumlichen Anforderungen zeichnet sich das Drucksystem durch seine kompakte Bauweise aus. Dadurch kann es unter einem Abzug oder in einer sterilen „BioBench“ betrieben werden. Obwohl also das System über keinen vollständig keimdichten Abschluss des Bauraums verfügt, kann es mit entsprechenden Maßnahmen auch für sterile Versuche eingesetzt werden.

Ein weiterer kritischer Punkt betrifft die Fixierung der Kartuschen für den Hydrogeldruck in der verwendeten Version des Super Fill®. Diese erfolgt durch eine Montagespange aus Kunststoff, die sich als thermosensibel erwiesen hat. Bei Temperaturen über 45 °C kam es wiederholt zur Lockerung und in einigen Fällen sogar zum Herausfallen der Kartusche während des Druckvorgangs. Dies stellt eine Einschränkung für Anwendungen dar, die höhere Temperaturen erfordern.

Die Druckluftversorgung erfolgt über einen externen Kompressor. Das werkseitig bereitgestellte Modell erweist sich jedoch als unzureichend für eine präzise Regulierung des Arbeitsdrucks. Da die Druckluftzufuhr über eine standardisierte Steckverbindung erfolgt, besteht jedoch die Möglichkeit, ein alternatives Gerät mit feinerer Druckeinstellung zu verwenden. Dies kann als Vorteil gegenüber Systemen mit integriertem Kompressor gewertet werden, da hier eine flexiblere Anpassung an spezifische Druckanforderungen möglich ist.

Im vorangehenden Abschnitt wurden Vor- und Nachteile des verwendeten Drucksystems erläutert. Um die aufgezählten Eigenschaften in Relation zu setzen, wird das genutzte Biodrucksystem mit einem vergleichbaren Produkt eines anderen Anbieters verglichen.

Das gewählte Vergleichsmodell ist der Biodrucker BioX™ des Herstellers Cellink. Das schwedische Unternehmen hat sich seit seiner Gründung im Jahr 2016 als führender Akteur im Bereich des Bio-Drucks etabliert. Mit einem Drucksystem mit mehreren austauschbaren Druckköpfen bietet Cellink zahlreiche Möglichkeiten für kombiniertes Drucken. Das Produktsortiment umfasst sieben 3D-Biodruckesysteme¹³¹, die in Laboreinrichtungen weltweit eingesetzt werden. Allein 2024 wurden mindestens 247 wissenschaftliche Veröffentlichungen unter Beteiligung des Drucksystems BioX™ veröffentlicht.¹³² Bedeutende Hauptbereiche der Forschung, die mit Geräten von Cellink unternommen werden, umfassen die Lebensmitteltechnik, Kosmetik, Medizintechnik und biologische Zellkultur. Die folgende Abbildung zeigt das Produktdesign sowie die technischen Details des BioX™.

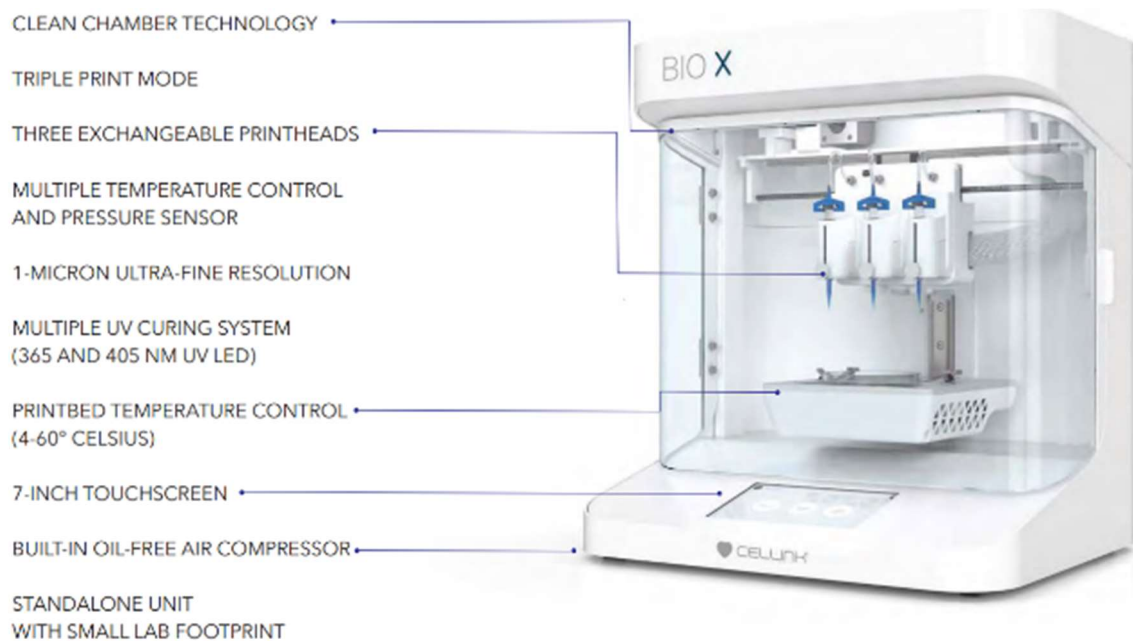


Abbildung 33 - Produktbild und technische Details BioX™ 133

Für die vorliegenden Forschungsarbeit hätte der Drucker BioX™ eine Alternative darstellen können. Im Folgenden werden die technischen Eigenschaften der beiden Produkte verglichen.

Es handelt sich beim BioX™ von Cellink mit Anschaffungskosten von über 35.000 Euro um ein teureres Fabrikat.

Der BioX™ verfügt über ein integriertes Slicing-Programm. Im Gegensatz zum Super Fill® können dadurch STL-Dateien unmittelbar ins System des Druckers geladen werden, ohne dass zuvor eine Konvertierung der Datei notwendig ist. Der BioX™ bietet, ebenso wie der Black Drop Super Fill®, keine Möglichkeit, Daten aus einer Drittanbieter-Slicing-Software zu verarbeiten.

Der BioX™ verfügt über eine luftdichte Kammer, die steriles Arbeiten unter Schutzatmosphäre ermöglicht. Die Zuluft wird durch ein HEPA-Filtersystem gereinigt, was ein keimfreies Milieu sicherstellt. Dies ist notwendig, wenn ein Biodruck unter Verwendung lebender Zellen durchgeführt wird, um einer Kontamination durch Keime oder makroskopische Verunreinigungen vorzubeugen. Der integrierte Kompressor vereinfacht die Anwendung für den Endbenutzer, da der gewünschte Arbeitsdruck über das Bedienfeld direkt eingestellt werden kann. Durch diese integrierte Lösung zur Bereitstellung der Druckluft entfällt die Notwendigkeit, einen leistungsstärkeren Kompressor nachzurüsten.

Die Forschungsfrage bezieht nicht nur technologische, sondern auch finanzielle und operative Faktoren in die Bewertung des Drucksystems ein. Vor diesem Hintergrund erfolgt bereits zu Beginn eine Selektion der betrachteten Drucksysteme. Dieser Prozess muss insbesondere bei der Einordnung der Forschungsergebnisse berücksichtigt werden.

Der Black Drop Super Fill® weist im Vergleich zu anderen Biodruckern einige Eigenschaften auf, die ihn auch im Vergleich zu Konkurrenzmodellen wie dem BioX™ für Forschungsprojekte wie die durchgeführte Arbeit als solide Wahl auszeichnen. Im Vordergrund stehen das gute Preis-Leistungsverhältnis sowie der flexible Funktionsumfang.

5.4 Limitierungen der Arbeit

Die vorliegende Dissertation hat die Grundlagen der biokompatiblen 3D-Drucktechnologie durch ein Kombinationsdruckverfahren umfassend untersucht. Während dieses Prozesses

und im Zuge der anschließenden, kritischen Auseinandersetzung mit den Ergebnissen wurden verschiedene Limitationen identifiziert, die im Folgenden adressiert und diskutiert werden. Dies soll eine objektive Auseinandersetzung mit Vorgang und Ergebnissen ermöglichen.

Der gewählte Forschungsansatz ermöglicht die breite Evaluierung verschiedener Werkstoffe und Arbeitstechniken. Darauf aufbauend könnte in nachfolgenden Forschungsarbeiten der Fokus auf die Verbesserung der Druckergebnisse mit einem einzelnen Hydrogel gelegt werden. So könnte die freie Konfigurierbarkeit des Super Fill® effektiver erprobt und spezifische Druckprotokolle im kombinierten Druck mit PLA erforscht werden.

Die Verwendung selbst hergestellter Reagenzien anstelle von vorgefertigten Biomaterial-Tinten wurde bereits mit der Definition von Forschungsfrage und Forschungsziel festgelegt. Die Benutzung vorgefertigter Tinten hätte den Optimierungsaufwand für das Anmischen der einzelnen Agenzien reduziert. Dadurch hätte die Prozessqualität der Versuchsschemata unter Umständen gesteigert und mehr Durchläufe in derselben Zeit durchgeführt werden können. Ferner stellt das Anmischen von Biomaterial-Tinten einen komplexen Vorgang dar, bei dem sich ohne spezialisierte Ausrüstung nur schwerlich reproduzierbare Ergebnisse erzielen lassen.

Die aussagekräftige Dokumentation der Druckergebnisse stellte sich, insbesondere hinsichtlich der Konsistenzunterschiede der gedruckten Objekte, als herausfordernd dar. Diese Unterschiede waren schwer erkennbar und hätten durch klar definierte, wissenschaftliche Kriterien und Messmethoden deutlicher aufgezeigt werden können. Zudem waren die Farben des verwendeten PLA-Materials wenig kontrastreich, was die visuelle Dokumentation durch Fotoaufnahmen erschwerte.

Während der Experimente traten mehrere technische Herausforderungen auf, die vermutlich die Ergebnisqualität beeinflussten. Dazu gehört die fehlende Möglichkeit für die Feineinstellung des Manometers, was eine genaue Kontrolle des verwendeten Arbeitsdruckes unmöglich macht. Darüber hinaus kam es im Verlauf zu Verstopfungen der DoD-Ventile, welche durch oben beschriebene Reinigungsprotokollen aufgehoben werden konnten. Ob jedoch geringgradige Verunreinigungen innerhalb der Bauteile zurückgeblieben sind, kann nicht eindeutig beurteilt werden. Im Fall von sich graduell aufbauenden Verkrustungen ist eine unbemerkte Beeinträchtigung der Versuchsergebnisse schwer auszuschließen.

Zu hinterfragen ist, warum das Drucken von Kollagen in dieser Arbeit nicht gelang. Literaturrecherchen zeigen, dass die Verarbeitung dieses Werkstoffs in anderen Forschungsarbeiten erfolgreich war, teilweise pur oder unter Vermischen mit Hydrogelen wie Agarose.^{25,34,60,134,135} Das im Zuge dieser Arbeit verwendete Anmischprotokoll weicht leichtgradig von vergleichbaren Experimenten mit Biodruckversuchen ab, insbesondere bezüglich der akkuraten Kontrolle des pH-Werts in der Biomaterialtinte. Diese Unterschiede und auch die Kombination mit anderen Werkstoffen oder schrittweise veränderten Konzentrationsbereichen könnte mehr Aufschluss über den Umgang mit Kollagen-haltigen Biomaterialtinten liefern. Ebenso könnte die Testung von Kollagen mit einem anderen Drucksystem unter ansonsten möglichst gleichbleibenden Bedingungen hierzu eine wertvolle Ergänzung darstellen.

Die Optimierung der Druckparameter, insbesondere bei der Verwendung langsam aushärtender Biomaterial-Tinten wie Gelatine und Kollagen, war ein diffiziler und iterativer Vorgang, bei dem die gegenseitige Beeinflussung der Druckparameter genau abgewogen werden musste. So hätte sich unter Anwendung niedriger DoD-Druckgeschwindigkeiten möglicherweise das Verspritzen reduziert.¹³⁶ Allerdings kam es bereits bei mittleren Geschwindigkeiten ohne Wartezeiten zwischen den Lagen schon so häufig zur Aushärtung der Tinte im Druckkopf, dass Druckversuche mit Minimalgeschwindigkeit keine realistischen Erfolgsaussichten hatten. Mit höherpreisigen und spezialisierten Drucksystemen könnten solche Experimente unter Einsatz leistungsstarker Kühlreservoirs versucht werden.

Die Produktion des Druckermodells Super Fill Robo® wurde während der Laufzeit dieser Projektarbeit eingestellt. Stattdessen bietet die Black Drop GmbH ein weiterentwickeltes

Nachfolgesystem an.⁸² Dies erfordert eine differenzierte Betrachtung der Übertragbarkeit der erarbeiteten Forschungsergebnisse auf andere Drucksysteme. Im Zuge der Projektarbeit wurden Optimierungen der Druckparameter vorgenommen, die nicht ohne Weiteres auf andere Systeme anwendbar sind, da sie von spezifischen Eigenschaften des Systems wie vom Druckkopfaufbau oder der räumlichen Konfiguration abhängig sind. Die methodischen Erkenntnisse zur Materialkombination, zur Charakterisierung der Hydrogel-Eigenschaften und zu den Grundprinzipien des kombinierten Druckverfahrens behalten jedoch ihre wissenschaftliche Gültigkeit. Insbesondere die systematische Bewertung verschiedener Biomaterialtinten nach den gesetzten Kriterien liefert übertragbare Entscheidungsgrundlagen für die Materialauswahl in vergleichbaren Forschungsvorhaben. Die rasche Entwicklung kommerzieller Bio-3D-Drucksysteme unterstreicht die Notwendigkeit, Forschungsvorhaben so zu konzipieren, dass die Ergebnisse möglichst technologieübergreifend verwertbar sind. Dieses Prinzip lässt sich als Leitgedanke für zukünftige Forschungsarbeiten festhalten.

5.5 Zukunftsperspektiven des Kombinationsdrucks

Der kombinierte Bio-3D-Druck stellt eine vielversprechende technologische Entwicklung dar, die das Potenzial besitzt, Felder wie die regenerative Medizin, das Tissue Engineering und die personalisierte Medizin grundlegend zu transformieren. In dieser Forschungsarbeit wurde die simultane Verarbeitung von thermoplastischem Kunststoff und Hydrogelen getestet. Im Gegensatz zum Biodruck mit nur einem einzigen Material bietet der kombinierte Druck flexiblere Möglichkeiten zum Erstellen von heterogenen Geweben. Insbesondere zur Herstellung komplexer Gewebe ist es vorteilhaft, ein Multimaterialverfahren einzusetzen, um die differenzierten Eigenschaften der Einzelkomponenten besser abbilden zu können.

Aufbauend auf den in dieser Arbeit durchgeführten Experimenten kann im nächsten Schritt der kombinierte Druck um die Einbringung lebender Zellen erweitert werden. Damit können Druckobjekte erstellt werden, die in Struktur und Eigenschaften mehr Gemeinsamkeiten mit menschlichem oder tierischem Gewebe aufweisen. Die möglichst akkurate Nachbildung solcher Gewebe *in vitro* bietet Vorteile für die Medikamentenentwicklung, die onkologische Forschung und Erstellung implantierbarer Gewebekonstrukte. Diese Forschungsansätze reichen bis hin zu Ansätzen zur künstlichen Nachbildung von Organen, mit dem Fernziel, Alternativen zur Transplantation humaner Spendeorgane zu schaffen.^{80,106,135,137,138} Sofern nun auch die Einbringung von Zellen und deren Überleben während und nach einem kombinierten Druckvorgang funktionieren, können im weiteren Verlauf Versuche unternommen werden, die gedruckten Gewebe im Tierversuch zunächst auf mögliche Abstoßungsreaktionen und schließlich auch auf ihre Funktionalität zu überprüfen.

Eine Kernherausforderung, die sich aus der Verwendung lebender Zellen im 3D-Bioprinting ergibt, ist die Herstellung zusammenhängender Gewebekonstrukte in klinisch relevanter Größe, also vergleichbar mit Organen im menschlichen Körper. Solch große Gewebemengen mit einem Biodrucksystem zu erstellen, erfordert neben einem darauf angepassten Bauraum Kartuschen mit entsprechend großen Volumina, um die benötigte Werkstoffmenge zu drucken zu können. Drucksysteme müssten hierfür anwendungsbezogen umgebaut werden und könnten baulich an Grenzen stoßen.

Das Einbringen von lebenden Zellen bringt außerdem die Aufgabe mit sich, diese bis zur Fertigstellung des Drucks und darüber hinaus am Leben zu halten. Hierbei spielt der Zeitfaktor eine wichtige Rolle. So würde es mit einem Extrusions- und DoD-basierten Biodruckgerät wie dem Black Drop SuperFill Robo® Stunden bis Tage dauern eine Organ-ähnliche Struktur mit hoher Auflösung zu erstellen. Ein solch langer Fertigungsprozess birgt das Risiko verringerter Zellvitalität im hergestellten Konstrukt. Mögliche Herangehensweisen, um dieser Herausforderung zu begegnen, umfassen die Beschleunigung des Druckprozesses und die bessere Kontrolle des Milieus im Bauraum, um das Absterben von Zellen während des Druckvorgangs zu minimieren. Für letzteren Ansatz könnte die Anwendung von Embedded

Printing eine vielversprechende Chance darstellen, da das Drucken unter Schutzatmosphäre in einem Becken eher die Abschirmung der Zellen von schädlichen Umwelteinflüssen zulässt.¹³⁹

Insbesondere in Hinblick auf Patientenindividuelle Implantate werden große Fortschritte im TE erzielt. Bereits etabliert ist die Verwendung von 3D-gedruckten Implantaten für komplizierte Rekonstruktionen in der Osteochirurgie.^{9,91} In Entwicklung befinden sich gegenwärtig diverse Forschungsansätze zur Verwendung bildgebender Daten wie MRT- oder CT-Daten für die Herstellung solcher Implantate. So ist beispielsweise bereits 2021 mit dem 3D-Drucksystem Bioscaffolder eine ausführliche proof-of-concept-Studie fertiggestellt worden, in der Möglichkeiten zur Fertigung patientenspezifischer, gelenknaher Implantate für den klinischen Einsatz beleuchtet werden.¹⁴⁰ Ebenso konnten in Tierversuchen an Rhesusaffen schon gute Ergebnisse mit 3D-gedruckten und implantierten Aorta-Prothesen mit mehrjährigen Überlebensraten und vielversprechender Geweberegeneration erzielt werden.¹⁴¹

Je realitätsnäher die Nachbildung lebendiger Gewebe auf struktureller Ebene durch Biodruck gelingt, desto eher müssen auch biophysilogische Gesichtspunkte mitbetrachtet werden. Mit der Einbringung von lebenden Zellen in komplexe, mehrschichtige Gewebestrukturen wird eine ausreichende Vaskularisierung notwendig, um auch tiefer eingebettete Zellen nach Fertigstellung des Konstrukts mit lebenswichtigen Nährstoffen und Sauerstoff zu versorgen. Hier bietet der kombinierte Druck von Hydrogelen die Option, die späteren Lumina mit einem temporär stabilen auszufüllen. Nach dem Abschluss des Drucks können die Lumina durch Spülung freilegt und perfundiert werden.¹⁴² Experimentelle Studien zum kombinierten Druck von Matrix- und Gelatine-basierten Bio-Materialtinten legen diese Kombination als tragfähige Option für Vaskularisierung im Biodruck nahe, insbesondere in Hinblick auf den Erhalt einer hohen Rate an Zellvitalität.¹⁴²

Der 4D-Biodruck ist ein weiterer vielversprechender Anwendungsfall des kombinierten Biodrucks. Diese Technik bietet Möglichkeiten zur spezifischen Anpassung von Druckmodellen nach der Fertigstellung. Konkret kann der Umbau der räumlichen Struktur des Werkstücks durch chemische oder physikalische Stimuli wie pH-, oder Temperatur-Änderung angestoßen werden. Der 4D-Biodruck bindet die Umstrukturierung der Konstrukte als weitere Modifikationskomponente in den Druckvorgang mit ein und bietet dadurch vielversprechende Anwendungsmöglichkeiten für die Geweberegeneration.¹⁴³⁻¹⁴⁷ Insbesondere im Feld „in situ bioprintings“, also wenn gedruckte Konstrukte oder Gewebe direkt im lebenden Organismus hergestellt werden,¹⁴⁸ bietet der 4D-Biodruck beeindruckende Anwendungsmöglichkeiten. Ein eindrückliches Beispiel sind Forschungen zu Licht-basierten Drucktechniken die nach dem 4D-Prinzip die Erstellung von Strukturen im lebenden Weichgewebe ermöglichen könnten.¹⁴⁹

Eine neuartige Herangehensweise, um die Druckqualität von Biodrucken zu verbessern, ist der Einsatz maschineller Lernverfahren, sogenannter „Künstlicher Intelligenz“.¹⁵⁰ Durch bilddatengestützte Analyse des Druckvorgangs in Hinblick auf die Substratposition, Materialauftrag und in Verbindung mit anderen digital ausgewerteten Parametern, kann die Ausführung dynamisch angepasst werden, um auftretende Fehler nach dem Erkennen zu korrigieren.¹⁵¹ Diese Technik kann außerdem angewendet werden, um den Biodruck auf in Bewegung befindlichen Unterlagen, wie beispielsweise Lungenflügeln bei laufender Atemarbeit, zu ermöglichen.^{152,153}

Die Herstellung mehrzellulärer, heterogener und biomimetisch-funktionaler Strukturen erfordert weitere Innovationen in der Materialwissenschaft und der Mehrkomponenten-Biodrucktechnologie. Die Untersuchung des kombinierten Bio-3D-Drucks war ein wichtiger Schritt auf dem Weg zur Nachbildung artifizierlicher menschlicher Gewebe und ihrer Eigenschaften.

6 Zusammenfassung

Additive Fertigungsverfahren haben mittlerweile einen bedeutenden Stellenwert in der Medizintechnik. Insbesondere im Bereich des Tissue Engineerings bietet der Bio-3D-Druck die Möglichkeit, komplexe Strukturen unter Anwendung verschiedener Werkstoffklassen herzustellen. Um solche mehrkomponentigen Druckmodelle herstellen zu können, bedarf es der Kombination unterschiedlicher Drucktechnologien. Trotz wachsender Relevanz ist der kombinierte Einsatz verschiedener 3D-Druck-Technologien bislang nur unzureichend wissenschaftlich untersucht.

Im Rahmen der vorliegenden Dissertation wurde behandelt, wie der kombinierte 3D-Druck von Polylaktidsäure und Biomaterialtinten einfach, kostengünstig und vielseitig anwendbar in einem integrierten Herstellungsprozess ermöglicht werden kann. Die Literaturrecherche verdeutlicht, dass unterschiedliche Materialien spezifische 3D-Druckverfahren erfordern, deren Funktionsprinzipien stark variieren. In dieser Forschungsarbeit wurden zwei Verfahren zur Anwendung festgelegt: Das Fused Layer Modelling zur Verarbeitung des thermoplastischen Polymers PLA und ein Droplet-basiertes Verfahren zum Druck von Biomaterialtinten. Im Rahmen einer Marktanalyse wurde der Black Drop Super Fill Robo® aufgrund seiner modularen Bauweise und Fähigkeit zur Kombination verschiedener Drucktechniken zur Anwendung ausgewählt. Die Entwicklung des integrierten Workflows umfasste die Konstruktion eines geeigneten digitalen Druckmodells, die Optimierung der Hydrogel-Vorbereitung sowie die sorgfältige Justierung der Druckparameter für die Einzeldruckverfahren. Aufbauend auf diesen Vorarbeiten sind systematische Versuchsreihen zum kombinierten Druck durchgeführt worden.

Die Versuchsergebnisse zeigen, dass der kombinierte 3D-Druck nach den gewählten Vorgaben grundsätzlich realisierbar ist. Unter sorgfältiger Abstimmung der Druckparameter wurden stabile Verbundstrukturen hergestellt, die als biokompatibles Gerüst dienen können. PLA ist leicht zu verarbeiten und bietet eine formstabile Struktur. Im Droplet-basierten Biodruck weist Biomaterialtinte auf Alginat-Basis die besten Versuchsergebnisse auf. Durch die erfolgreiche, kombinierte Verarbeitung beider Werkstoffklassen innerhalb eines Druckprozesses wurde demonstriert, dass die Kernanforderungen hinsichtlich Einfachheit, Kosteneffizienz und Vielseitigkeit erfüllt werden können.

Das verwendete 3D-Drucksystem erfüllt die Erwartungen an einen geeigneten Kombinationsdrucker und ermöglicht die Umsetzung des kombinierten Druckverfahrens im Labormaßstab. Die Entscheidung für ein einfaches, modular aufgebautes Gerät erweist sich als vorteilhaft, da dieses trotz niedriger Anschaffungskosten die parallele Verarbeitung verschiedener Materialien ermöglicht und flexible Anpassungen zulässt. Allerdings treten im Verlauf der Versuchsreihen auch technische Limitierungen auf. So wird beispielsweise die Halterung der Hydrogel-Kartusche bei erhöhten Betriebstemperaturen instabil, was zu Unterbrechungen im Druckprozess führen kann. Ebenso ist die Einsatzfähigkeit des Drucksystems durch die zugehörige Software-Ausstattung in Teilen eingeschränkt. Gängige Funktionen, wie beispielsweise die automatische Generierung von Stützstrukturen, stehen nicht zur Verfügung. Diese Einschränkungen machen gezielte Anpassungen und Optimierungen am System erforderlich, schränken die prinzipielle Durchführbarkeit des Kombinationsdrucks jedoch nicht ein.

Die vorliegende Dissertation demonstriert die erfolgreiche Entwicklung eines kombinierten Biodruckverfahrens unter Verwendung kostengünstiger Technologie. Durch die etablierten Methoden sind Grundlagen für weiterführende Untersuchungen an biokompatiblen 3D-gedruckten Strukturen (z. B. für Implantate oder In-vitro-Modelle) gelegt. Außerdem ergeben sich konkrete Ansatzpunkte, um die Anwendbarkeit des Verfahrens in der regenerativen Medizin zu erproben. Hierzu zählen die Erweiterung der Materialpalette um weitere, biokompatible Werkstoffe, sowie die Integration lebender Zellen in den Druckprozess. Im Rahmen weiterführender Untersuchungen kann das entwickelte Konzept optimiert und dessen Potenzial für zukünftige biomedizinische Anwendungen realisiert werden.

7 Literaturverzeichnis

1. Lauer A. *Biofabrikation eines mit Wachstumsfaktoren funktionalisierten, 3D-gedruckten Scaffolds zur Knochenregeneration im Rahmen des Bone Tissue Engineerings*. Universitätsbibliothek der Johannes Gutenberg-Universität Mainz; 2021.
2. Ritz U, Gerke R, Götz H, Stein S, Rommens PM. A New Bone Substitute Developed from 3D-Prints of Polylactide (PLA) Loaded with Collagen I: An In Vitro Study. *Int J Mol Sci*. 2017;18(12). doi:10.3390/ijms18122569
3. Ngo TD, Kashani A, Imbalzano G, Nguyen KT, Hui D. Additive manufacturing (3D printing): A review of materials, methods, applications and challenges. *Composites Part B: Engineering*. 2018;143:172-196. doi:10.1016/j.compositesb.2018.02.012
4. Gibson I. *Additive Manufacturing Technologies: 3D Printing, Rapid Prototyping, and Direct Digital Manufacturing*. 2nd ed. 2015. Springer; 2015.
5. Melchels FPW, Feijen J, Grijpma DW. A review on stereolithography and its applications in biomedical engineering. *Biomaterials*. 2010;31(24):6121-6130. doi:10.1016/j.biomaterials.2010.04.050
6. Wohlers T, Gornet T, Mostow N, et al. *History of Additive Manufacturing*. 2023.
7. Palmara G, Frascella F, Roppolo I, Chiappone A, Chiadò A. Functional 3D printing: Approaches and bioapplications. *Biosens Bioelectron*. 2021;175:112849. doi:10.1016/j.bios.2020.112849
8. Gibson I. *Advanced Manufacturing Technology for Medical Applications*. Wiley; 2005.
9. Kim D, Lim JY, Shim KW, et al. Sacral Reconstruction with a 3D-Printed Implant after Hemisacrectomy in a Patient with Sacral Osteosarcoma: 1-Year Follow-Up Result. *Yonsei Med J*. 2017;58(2):453-457. doi:10.3349/ymj.2017.58.2.453
10. Jing Hu. STUDY ON STL-BASED SLICING PROCESS FOR 3 D PRINTING. 2017. <https://www.semanticscholar.org/paper/STUDY-ON-STL-BASED-SLICING-PROCESS-FOR-3-D-PRINTING-Hu/0f0e802f0a9f5f2762fa3a88eb4552dfd4edb56e>
11. Bhushan B, Caspers M. An overview of additive manufacturing (3D printing) for microfabrication. *Microsyst Technol*. 2017;23(4):1117-1124. doi:10.1007/s00542-017-3342-8
12. Xu X, Awad A, Robles-Martinez P, Gaisford S, Goyanes A, Basit AW. Vat photopolymerization 3D printing for advanced drug delivery and medical device applications. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*. 2021;329:743-757. doi:10.1016/j.jconrel.2020.10.008
13. Gudapati H, Dey M, Ozbolat I. A comprehensive review on droplet-based bioprinting: Past, present and future. *Biomaterials*. 2016;102:20-42. doi:10.1016/j.biomaterials.2016.06.012
14. Udofia EN, Zhou W. A Guiding Framework for Microextrusion Additive Manufacturing. *Journal of Manufacturing Science and Engineering*. 2019;141(5). doi:10.1115/1.4042607
15. Tong A, Pham QL, Abatemarco P, et al. Review of Low-Cost 3D Bioprinters: State of the Market and Observed Future Trends. *SLAS Technol*. 2021;26(4):333-366. doi:10.1177/24726303211020297
16. Zein I, Hutmacher DW, Tan KC, Teoh SH. Fused deposition modeling of novel scaffold architectures for tissue engineering applications. *Biomaterials*. 2002;23(4):1169-1185. doi:10.1016/S0142-9612(01)00232-0
17. Klebe RJ. Cytoscribing: a method for micropositioning cells and the construction of two- and three-dimensional synthetic tissues. *Experimental cell research*. 1988;179(2):362-373. doi:10.1016/0014-4827(88)90275-3
18. Guillemot F, Mironov V, Nakamura M. Bioprinting is coming of age: Report from the International Conference on Bioprinting and Biofabrication in Bordeaux (3B'09). *Biofabrication*. 2010;2(1):10201. doi:10.1088/1758-5082/2/1/010201
19. Murphy SV, Atala A. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nat Biotechnol*. 2014;32(8):773-785. doi:10.1038/nbt.2958

20. Groll J, Burdick JA, Cho D-W, et al. A definition of bioinks and their distinction from biomaterial inks. *Biofabrication*. 2018;11(1):13001. doi:10.1088/1758-5090/aaec52
21. Cui X, Breitenkamp K, Finn MG, Lotz M, D'Lima DD. Direct human cartilage repair using three-dimensional bioprinting technology. *Tissue Eng Part A*. 2012;18(11-12):1304-1312. doi:10.1089/ten.TEA.2011.0543
22. Skardal A, Mack D, Kapetanovic E, et al. Bioprinted amniotic fluid-derived stem cells accelerate healing of large skin wounds. *Stem Cells Transl Med*. 2012;1(11):792-802. doi:10.5966/sctm.2012-0088
23. Setayeshmehr M, Esfandiari E, Rafieinia M, et al. Hybrid and Composite Scaffolds Based on Extracellular Matrices for Cartilage Tissue Engineering. *Tissue Eng Part B Rev*. 2019;25(3):202-224. doi:10.1089/ten.TEB.2018.0245
24. Ayran M, Dirican AY, Saatcioglu E, et al. 3D-Printed PCL Scaffolds Combined with Juglone for Skin Tissue Engineering. *Bioengineering (Basel)*. 2022;9(9). doi:10.3390/bioengineering9090427
25. Chang T, Yin H, Yu X, et al. 3D PCL/collagen nanofibrous medical dressing for one-time treatment of diabetic foot ulcers. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2022;214:112480. doi:10.1016/j.colsurfb.2022.112480
26. Liu C, Wang Z, Wei X, Chen B, Luo Y. 3D printed hydrogel/PCL core/shell fiber scaffolds with NIR-triggered drug release for cancer therapy and wound healing. *Acta Biomater*. 2021;131:314-325. doi:10.1016/j.actbio.2021.07.011
27. Merk M, Chirikian O, Adlhart C. 3D PCL/Gelatin/Genipin Nanofiber Sponge as Scaffold for Regenerative Medicine. *Materials (Basel)*. 2021;14(8). doi:10.3390/ma14082006
28. Groll J, Boland T, Blunk T, et al. Biofabrication: reappraising the definition of an evolving field. *Biofabrication*. 2016;8(1):13001. doi:10.1088/1758-5090/8/1/013001
29. Bakhshandeh B, Zarrintaj P, Oftadeh MO, et al. Tissue engineering; strategies, tissues, and biomaterials. *Biotechnol Genet Eng Rev*. 2017;33(2):144-172. doi:10.1080/02648725.2018.1430464.
30. Sharma P, Kumar P, Sharma R, Bhatt VD, Dhot PS. Tissue Engineering; Current Status & Futuristic Scope. *J Med Life*. 2019;12(3):225-229. doi:10.25122/jml-2019-0032
31. Heiß C, Rupp M, Knapp G. Knochenersatz und Knochenaufbau. *Z Orthop Unfall*. 2019;157(6):715-728. doi:10.1055/a-0756-2768
32. Fernandez de Grado G, Keller L, Idoux-Gillet Y, et al. Bone substitutes: a review of their characteristics, clinical use, and perspectives for large bone defects management. *J Tissue Eng*. 2018;9:2041731418776819. doi:10.1177/2041731418776819
33. Dewey MJ, Johnson EM, Weisgerber DW, Wheeler MB, Harley BAC. Shape-fitting collagen-PLA composite promotes osteogenic differentiation of porcine adipose stem cells. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2019;95:21-33. doi:10.1016/j.jmbbm.2019.03.017
34. Bardakova KN, Grebenik EA, Istranova EV, et al. Reinforced Hybrid Collagen Sponges for Tissue Engineering. *Bull Exp Biol Med*. 2018;165(1):142-147. doi:10.1007/s10517-018-4116-8
35. Teixeira BN, Aprile P, Mendonça RH, Kelly DJ, Da Thiré RMSM. Evaluation of bone marrow stem cell response to PLA scaffolds manufactured by 3D printing and coated with polydopamine and type I collagen. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2019;107(1):37-49. doi:10.1002/jbm.b.34093
36. TWI Global. Thermoplastische Polymere Beispielbild. Accessed April 6, 2024. <https://www.twi-global.com/image-library/hero/abs-pla-filament-istock-1032726224.jpg>
37. Stratton S, Shelke NB, Hoshino K, Rudraiah S, Kumbar SG. Bioactive polymeric scaffolds for tissue engineering. *Bioact Mater*. 2016;1(2):93-108. doi:10.1016/j.bioactmat.2016.11.001
38. Martin V, Ribeiro IA, Alves MM, et al. Engineering a multifunctional 3D-printed PLA-collagen-minocycline-nanoHydroxyapatite scaffold with combined antimicrobial and osteogenic effects for bone regeneration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2019;101:15-26. doi:10.1016/j.msec.2019.03.056

39. Cui M, Liu L, Guo N, Su R, Ma F. Preparation, cell compatibility and degradability of collagen-modified poly(lactic acid). *Molecules*. 2015;20(1):595-607. doi:10.3390/molecules20010595
40. Szuman K, Krucińska I, Boguń M, Draczyński Z. PLA/PHA-Biodegradable Blends for Pneumothermic Fabrication of Nonwovens. *Autex Research Journal*. 2016;16(3):119-127. doi:10.1515/aut-2015-0047
41. Dhawan A, Kennedy PM, Rizk EB, Ozbolat IT. Three-dimensional Bioprinting for Bone and Cartilage Restoration in Orthopaedic Surgery. *The Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*. 2019;27(5):e215-e226. doi:10.5435/JAAOS-D-17-00632
42. Ma PX. Biomimetic materials for tissue engineering. *Adv Drug Deliv Rev*. 2008;60(2):184-198. doi:10.1016/j.addr.2007.08.041
43. Uzun N, Martins TD, Teixeira GM, et al. Poly(L-lactic acid) membranes: absence of genotoxic hazard and potential for drug delivery. *Toxicol Lett*. 2015;232(2):513-518. doi:10.1016/j.toxlet.2014.11.032
44. Arthrex, Inc. Knotted Suture Anchors. Accessed February 1, 2025. https://www.arthrex.com/hand-wrist/knotted-suture-anchors?objectID=human.taxonomy_item.en.2342dc46-22d6-4dac-ab18-41e5866409dc&queryID=3bcc9960ad51e26898a56947c6d0fea
45. Arthrex, Inc. Knotless Suture Anchors. Accessed February 1, 2025. https://www.arthrex.com/hand-wrist/knotless-suture-anchors?objectID=human.taxonomy_item.en.5f852422-821f-49d2-be99-05ed55dc9eae&queryID=3bcc9960ad51e26898a56947c6d0fea
46. Arthrex, Inc. Chondral Dart™. Published 01/2025. Accessed February 1, 2025. https://www.arthrex.com/de/knie/chondral-dart?objectID=human.taxonomy_item.de.8d4b0d43-db2f-41ba-b22b-6fba9932ffc3&queryID=68bcd3ae53864abd766b9c454340c4d1
47. Arthrex, Inc. Osteochondral Flap Repair System Using the Chondral Dart™ Implant. Accessed February 1, 2025. <https://www.arthrex.com/de/weiterfuehrende-informationen/LT1-000237-en-US/osteochondral-flap-repair-system-using-the-chondral-dart-implant?referringteam=knee>
48. Vaishya R, Agarwal AK, Ingole S, Vijay V. Current practice variations in the management of anterior cruciate ligament injuries in Delhi. *Journal of Clinical Orthopaedics & Trauma*. 2016;7(3):193-199. doi:10.1016/j.jcot.2015.12.001
49. STRYKER. Biosteon HA/PLLA-Interferenzschrauben. Published Letzte Aktualisierung Juni/2021. Accessed February 1, 2025. <https://www.stryker.com/de/de/sports-medicine/products/biosteon-ha-plla-interference-screws/index-eu.html>
50. Serruys PW, Ormiston JA, Onuma Y, et al. A bioabsorbable everolimus-eluting coronary stent system (ABSORB): 2-year outcomes and results from multiple imaging methods. *Lancet (London, England)*. 2009;373(9667):897-910. doi:10.1016/S0140-6736(09)60325-1
51. Marien Gesellschaft Siegen gGmbH. Bioresorbierbare Stents. Accessed February 1, 2025. <https://www.marien-kliniken.de/kliniken-institute/klinik-fuer-kardiologie-angiologie-und-internistische-intensivmedizin/patienteninformationen/stentimplantation>
52. Lee KY, Mooney DJ. Alginate: properties and biomedical applications. *Prog Polym Sci*. 2012;37(1):106-126. doi:10.1016/j.progpolymsci.2011.06.003
53. Hoffman AS. Hydrogels for biomedical applications. *Adv Drug Deliv Rev*. 2002;54(1):3-12. doi:10.1016/s0169-409x(01)00239-3
54. Bhaskar B, Sreenivasa Rao P, Kasoju N, Nagarjuna V, Baadhe RR, eds. *Biomaterials in Tissue Engineering and Regenerative Medicine: From Basic Concepts to State of the Art Approaches*. Springer Singapore; Imprint Springer; 2021.
55. *BIOMEDICAL HYDROGELS: Biochemistry, Manufacture and Medical Applications*. WOODHEAD; 2016.
56. García-Honduvilla N, Coca A, Ortega MA, et al. Improved connective integration of a degradable 3D-nano-apatite/agarose scaffold subcutaneously implanted in a rat model. *J Biomater Appl*. 2018;33(5):741-752. doi:10.1177/0885328218810084

57. Kreimendahl F, Köpf M, Thiebes AL, et al. Three-Dimensional Printing and Angiogenesis: Tailored Agarose-Type I Collagen Blends Comprise Three-Dimensional Printability and Angiogenesis Potential for Tissue-Engineered Substitutes. *Tissue Eng Part C Methods*. 2017;23(10):604-615. doi:10.1089/ten.TEC.2017.0234
58. Fan R, Piou M, Darling E, Cormier D, Sun J, Wan J. Bio-printing cell-laden Matrigel-agarose constructs. *J Biomater Appl*. 2016;31(5):684-692. doi:10.1177/0885328216669238
59. López-Marcial GR, Zeng AY, Osuna C, Dennis J, García JM, O'Connell GD. Agarose-Based Hydrogels as Suitable Bioprinting Materials for Tissue Engineering. *ACS Biomater Sci Eng*. 2018;4(10):3610-3616. doi:10.1021/acsbomaterials.8b00903
60. Yang X, Lu Z, Wu H, Li W, Zheng L, Zhao J. Collagen-alginate as bioink for three-dimensional (3D) cell printing based cartilage tissue engineering. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2018;83:195-201. doi:10.1016/j.msec.2017.09.002
61. Adolph M, Arends J, Arens-Azevêdo U, et al. *Ernährungsmedizin: Nach dem Curriculum Ernährungsmedizin der Bundesärztekammer*. 5., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage. Georg Thieme Verlag; 2018.
62. Shoulders MD, Raines RT. Collagen structure and stability. *Annu Rev Biochem*. 2009;78:929-958. doi:10.1146/annurev.biochem.77.032207.120833
63. Gopinathan J, Noh I. Recent trends in bioinks for 3D printing. *Biomater Res*. 2018;22:11. doi:10.1186/s40824-018-0122-1
64. Sawkins MJ, Mistry P, Brown BN, Shakesheff KM, Bonassar LJ, Yang J. Cell and protein compatible 3D bioprinting of mechanically strong constructs for bone repair. *Biofabrication*. 2015;7(3):35004. doi:10.1088/1758-5090/7/3/035004
65. Ahmady A, Abu Samah NH. A review: Gelatine as a bioadhesive material for medical and pharmaceutical applications. *International journal of pharmaceutics*. 2021;608:121037. doi:10.1016/j.ijpharm.2021.121037
66. Liu H-W, Su W-T, Liu C-Y, Huang C-C. Highly Organized Porous Gelatin-Based Scaffold by Microfluidic 3D-Foaming Technology and Dynamic Culture for Cartilage Tissue Engineering. *Int J Mol Sci*. 2022;23(15). doi:10.3390/ijms23158449
67. Welling C. *Entwicklung einer Matrix zum Studium physiologischer Hautfunktionen in-vitro*. 2001.
68. Ouyang L, Yao R, Zhao Y, Sun W. Effect of bioink properties on printability and cell viability for 3D bioplotting of embryonic stem cells. *Biofabrication*. 2016;8(3):35020. doi:10.1088/1758-5090/8/3/035020
69. Gungor-Ozkerim PS, Inci I, Zhang YS, Khademhosseini A, Dokmeci MR. Bioinks for 3D bioprinting: an overview. *Biomater Sci*. 2018;6(5):915-946. doi:10.1039/c7bm00765e
70. Mazzocchi A, Devarasetty M, Huntwork R, Soker S, Skardal A. Optimization of collagen type I-hyaluronan hybrid bioink for 3D bioprinted liver microenvironments. *Biofabrication*. 2018;11(1):15003. doi:10.1088/1758-5090/aae543
71. Ji S, Almeida E, Guvendiren M. 3D bioprinting of complex channels within cell-laden hydrogels. *Acta Biomater*. 2019;95:214-224. doi:10.1016/j.actbio.2019.02.038
72. Dikici S, Claeysens F, MacNeil S. Pre-Seeding of Simple Electrospun Scaffolds with a Combination of Endothelial Cells and Fibroblasts Strongly Promotes Angiogenesis. *Tissue Eng Regen Med*. 2020;17(4):445-458. doi:10.1007/s13770-020-00263-7
73. Baltazar T, Merola J, Catarino C, et al. Three Dimensional Bioprinting of a Vascularized and Perfusable Skin Graft Using Human Keratinocytes, Fibroblasts, Pericytes, and Endothelial Cells. *Tissue Eng Part A*. 2020;26(5-6):227-238. doi:10.1089/ten.TEA.2019.0201
74. Liu X, Gaihre B, George MN, et al. 3D bioprinting of oligo(polyethylene glycol fumarate) for bone and nerve tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2021;109(1):6-17. doi:10.1002/jbm.a.37002
75. Kutlehria S, Dinh TC, Bagde A, Patel N, Gebeyehu A, Singh M. High-throughput 3D bioprinting of corneal stromal equivalents. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2020;108(7):2981-2994. doi:10.1002/jbm.b.34628

76. Cao Y, Yang S, Zhao D, et al. Three-dimensional printed multiphasic scaffolds with stratified cell-laden gelatin methacrylate hydrogels for biomimetic tendon-to-bone interface engineering. *Journal of orthopaedic translation*. 2020;23:89-100. doi:10.1016/j.jot.2020.01.004
77. Qi D, Wu S, Kuss MA, et al. Mechanically robust cryogels with injectability and bioprinting supportability for adipose tissue engineering. *Acta Biomater*. 2018;74:131-142. doi:10.1016/j.actbio.2018.05.044
78. Jiang T, Munguia-Lopez JG, Gu K, et al. Engineering bioprintable alginate/gelatin composite hydrogels with tunable mechanical and cell adhesive properties to modulate tumor spheroid growth kinetics. *Biofabrication*. 2019;12(1):15024. doi:10.1088/1758-5090/ab3a5c
79. Antich C, Vicente J de, Jiménez G, et al. Bio-inspired hydrogel composed of hyaluronic acid and alginate as a potential bioink for 3D bioprinting of articular cartilage engineering constructs. *Acta Biomater*. 2020;106:114-123. doi:10.1016/j.actbio.2020.01.046
80. Noor N, Shapira A, Edri R, Gal I, Wertheim L, Dvir T. 3D Printing of Personalized Thick and Perfusible Cardiac Patches and Hearts. *Advanced science (Weinheim, Baden-Wuerttemberg, Germany)*. 2019;6(11):1900344. doi:10.1002/adv.201900344
81. Filardo G, Petretta M, Cavallo C, et al. Patient-specific meniscus prototype based on 3D bioprinting of human cell-laden scaffold. *Bone & joint research*. 2019;8(2):101-106. doi:10.1302/2046-3758.82.BJR-2018-0134.R1
82. Kim HS, Kim C, Lee KY. Three-dimensional bioprinting of polysaccharide-based self-healing hydrogels with dual cross-linking. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2022;110(4):761-772. doi:10.1002/jbm.a.37325
83. Han S, Kim S, Chen Z, et al. 3D Bioprinted Vascularized Tumour for Drug Testing. *Int J Mol Sci*. 2020;21(8):2993. doi:10.3390/ijms21082993
84. Blackdrop Biodrucker GmbH. Black Drop SuperFill - Robo; Operating instructions 2021 01.
85. Blackdrop Biodrucker GmbH. Bioinks. Accessed February 3, 2025. <https://thebioprinting.com/bioinks>
86. Blackdrop Biodrucker GmbH. Bioprinter. Accessed February 3, 2025. <https://thebioprinting.com/bioprinter>
87. Blackdrop Biodrucker GmbH. Service & Consulting. Accessed February 3, 2024. <https://thebioprinting.com/service-and-consulting>
88. Ramot Y, Haim-Zada M, Domb AJ, Nyska A. Biocompatibility and safety of PLA and its copolymers. *Adv Drug Deliv Rev*. 2016;107:153-162. doi:10.1016/j.addr.2016.03.012
89. Dong Q, Zhang M, Zhou X, et al. 3D-printed Mg-incorporated PCL-based scaffolds: A promising approach for bone healing. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2021;129:112372. doi:10.1016/j.msec.2021.112372
90. Gharibshahian M, Salehi M, Beheshtizadeh N, et al. Recent advances on 3D-printed PCL-based composite scaffolds for bone tissue engineering. *Front Bioeng Biotechnol*. 2023;11:1168504. doi:10.3389/fbioe.2023.1168504
91. Park H, Choi JW, Jeong WS. Clinical Application of Three-Dimensional Printing of Polycaprolactone/Beta-Tricalcium Phosphate Implants for Cranial Reconstruction. *J Craniofac Surg*. 2022;33(5):1394-1399. doi:10.1097/SCS.00000000000008595
92. Moon JW, Choi S-Y, Kim S-J, Shin J-M, Park I-H. Wedge resection combined with 3D-printed polycaprolactone mesh for caudal septal deviation. *J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2023;52(1):69. doi:10.1186/s40463-023-00677-y
93. Kusirisin T, Suwanprateeb J, Buranawat B. Polycaprolactone versus collagen membrane and 1-year clinical outcomes: A randomized controlled trial. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2023;25(2):330-342. doi:10.1111/cid.13166
94. Kim JS. Changes in Dermal Thickness in Biopsy Study of Histologic Findings After a Single Injection of Polycaprolactone-Based Filler into the Dermis. *Aesthet Surg J*. 2019;39(12):NP484-NP494. doi:10.1093/asj/sjz050
95. Finotti PFM, Costa LC, Capote TSO, Scarel-Caminaga RM, Chinelatto MA. Immiscible poly(lactic acid)/poly(ϵ -caprolactone) for temporary implants: Compatibility and

- cytotoxicity. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2017;68:155-162.
doi:10.1016/j.jmbbm.2017.01.050
96. Pogorielov M, Hapchenko A, Deineka V, et al. In vitro degradation and in vivo toxicity of NanoMatrix3D® polycaprolactone and poly(lactic acid) nanofibrous scaffolds. *Journal of Biomedical Materials Research Part A.* 2018;106(8):2200-2212. doi:10.1002/jbm.a.36427
97. Jeong H, Rho J, Shin J-Y, Lee DY, Hwang T, Kim KJ. Mechanical properties and cytotoxicity of PLA/PCL films. *Biomed Eng Lett.* 2018;8(3):267-272. doi:10.1007/s13534-018-0065-4
98. Qu Z, Yue J, Song N, Li S. Innovations in 3D printed individualized bone prosthesis materials: revolutionizing orthopedic surgery: a review. *Int J Surg.* 2024;110(10):6748-6762. doi:10.1097/JS9.0000000000001842
99. Cheng W, Zhang J, Liu J, Yu Z. Granular hydrogels for 3D bioprinting applications. *View.* 2020;1(3):20200060. doi:10.1002/VIW.20200060
100. Mancha Sánchez E, Gómez-Blanco JC, López Nieto E, et al. Hydrogels for Bioprinting: A Systematic Review of Hydrogels Synthesis, Bioprinting Parameters, and Bioprinted Structures Behavior. *Front Bioeng Biotechnol.* 2020;8:776. doi:10.3389/fbioe.2020.00776
101. Mathew E, Pitzanti G, Larrañeta E, Lamprou DA. 3D Printing of Pharmaceuticals and Drug Delivery Devices. *Pharmaceutics.* 2020;12(3). doi:10.3390/pharmaceutics12030266
102. Goole J, Amighi K. 3D printing in pharmaceuticals: A new tool for designing customized drug delivery systems. *International journal of pharmaceuticals.* 2016;499(1-2):376-394. doi:10.1016/j.ijpharm.2015.12.071
103. Beg S, Almalki WH, Malik A, et al. 3D printing for drug delivery and biomedical applications. *Drug discovery today.* 2020;25(9):1668-1681. doi:10.1016/j.drudis.2020.07.007
104. Dhariwala B, Hunt E, Boland T. Rapid prototyping of tissue-engineering constructs, using photopolymerizable hydrogels and stereolithography. *Tissue engineering.* 2004;10(9-10):1316-1322. doi:10.1089/ten.2004.10.1316
105. Ozbolat IT. Bioprinting scale-up tissue and organ constructs for transplantation. *Trends in biotechnology.* 2015;33(7):395-400. doi:10.1016/j.tibtech.2015.04.005
106. Kang H-W, Lee SJ, Ko IK, Kengla C, Yoo JJ, Atala A. A 3D bioprinting system to produce human-scale tissue constructs with structural integrity. *Nat Biotechnol.* 2016;34(3):312-319. doi:10.1038/nbt.3413
107. Zhu W, Qu X, Zhu J, et al. Direct 3D bioprinting of prevascularized tissue constructs with complex microarchitecture. *Biomaterials.* 2017;124:106-115. doi:10.1016/j.biomaterials.2017.01.042
108. Lyons FG, Al-Munajjed AA, Kieran SM, et al. The healing of bony defects by cell-free collagen-based scaffolds compared to stem cell-seeded tissue engineered constructs. *Biomaterials.* 2010;31(35):9232-9243. doi:10.1016/j.biomaterials.2010.08.056
109. Gast F-U, Baudisch F, Bohatzsch T, Wegener T, Zimmermann R. Mischen von Tröpfchen im Flug zum orts aufgelösten 3D-Druck von Hydrogelen. *Biospektrum.* 2019;25(6):650-651. doi:10.1007/s12268-019-0217-9
110. Mihyun Lee, Riccardo Rizzo, F. Surman, M. Zenobi-Wong. Guiding Lights: Tissue Bioprinting Using Photoactivated Materials. *Chem Rev.* 2020.
https://www.semanticscholar.org/paper/Guiding-Lights%3A-Tissue-Bioprinting-Using-Materials.-Lee-Rizzo/7bdd89c193494be762ca1a79bfdc878b261684ca?utm_source=consensus
111. Sakai S, Kamei H, Mori T, et al. Visible Light-Induced Hydrogelation of an Alginate Derivative and Application to Stereolithographic Bioprinting Using a Visible Light Projector and Acid Red. *Biomacromolecules.* 2018;19(2):672-679. doi:10.1021/acs.biomac.7b01827
112. Yu C, Schimelman J, Wang P, et al. Photopolymerizable Biomaterials and Light-Based 3D Printing Strategies for Biomedical Applications. *Chem Rev.* 2020;120(19):10695-10743. doi:10.1021/acs.chemrev.9b00810

113. Wang Z, Abdulla R, Parker B, Samanipour R, Ghosh S, Kim K. A simple and high-resolution stereolithography-based 3D bioprinting system using visible light crosslinkable bioinks. *Biofabrication*. 2015;7(4):45009. doi:10.1088/1758-5090/7/4/045009
114. Panda S, Hajra S, Mistewicz K, et al. A focused review on three-dimensional bioprinting technology for artificial organ fabrication. *Biomater Sci*. 2022;10(18):5054-5080. doi:10.1039/d2bm00797e
115. Jentsch S, Schnakenberg U, Fischer H. *Skalenübergreifendes Und Zellschonendes 3D-Drucken Humaner Zellen Mittels Düsenfreier Akustischer Tropfenerzeugung: Fachgruppe Für Materialwissenschaft Und Werkstofftechnik / Lehr- Und Forschungsgebiet Zahnärztliche Werkstoffkunde Und Biomaterialforschung*: Dissertation, Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen, 2023. <https://publications.rwth-aachen.de/record/960330>
116. Lee W, Debasitis JC, Lee VK, et al. Multi-layered culture of human skin fibroblasts and keratinocytes through three-dimensional freeform fabrication. *Biomaterials*. 2009;30(8):1587-1595. doi:10.1016/j.biomaterials.2008.12.009
117. Xu C, Chai W, Huang Y, Markwald RR. Scaffold-free inkjet printing of three-dimensional zigzag cellular tubes. *Biotechnology and Bioengineering*. 2012;109(12):3152-3160. doi:10.1002/bit.24591
118. Cooper GM, Miller ED, Decesare GE, et al. Inkjet-based biopatterning of bone morphogenetic protein-2 to spatially control calvarial bone formation. *Tissue Eng Part A*. 2010;16(5):1749-1759. doi:10.1089/ten.TEA.2009.0650
119. Albanna M, Binder KW, Murphy SV, et al. In Situ Bioprinting of Autologous Skin Cells Accelerates Wound Healing of Extensive Excisional Full-Thickness Wounds. *Sci Rep*. 2019;9(1):1856. doi:10.1038/s41598-018-38366-w
120. Fang Y, Frampton JP, Raghavan S, et al. Rapid generation of multiplexed cell cocultures using acoustic droplet ejection followed by aqueous two-phase exclusion patterning. *Tissue Eng Part C Methods*. 2012;18(9):647-657. doi:10.1089/ten.TEC.2011.0709
121. Yusof A, Keegan H, Spillane CD, et al. Inkjet-like printing of single-cells. *Lab Chip*. 2011;11(14):2447-2454. doi:10.1039/C1LC20176J
122. Xu F, Celli J, Rizvi I, Moon S, Hasan T, Demirci U. A three-dimensional in vitro ovarian cancer coculture model using a high-throughput cell patterning platform. *Biotechnology journal*. 2011;6(2):204-212. doi:10.1002/biot.201000340
123. Tarassoli SP, Jessop ZM, Jovic T, Hawkins K, Whitaker IS. Candidate Bioinks for Extrusion 3D Bioprinting-A Systematic Review of the Literature. *Front Bioeng Biotechnol*. 2021;9:616753. doi:10.3389/fbioe.2021.616753
124. Desktop Metal, Inc. 3D-Bioplotter®: The trusted bioprinting solution — from R&D to regulatory-approved manufacturing. Published 2024. Accessed February 4, 2025. https://3043720.fs1.hubspotusercontent-na1.net/hubfs/3043720/Desktop%20Health/Resources/DH%203D-Bioplotter%20Brochure%2007212023_compressed.pdf
125. Gesellschaft für Silizium-Mikrosysteme mbH. BioScaffolder: A Family of Versatile Bioprinters. Published 2023. Accessed February 4, 2024. https://gesim-bioinstruments-microfluidics.com/wp-content/uploads/2023/04/GeSiM_BioScaffolder_2023_web.pdf
126. Kahl M, Gertig M, Hoyer P, Friedrich O, Gilbert DF. Ultra-Low-Cost 3D Bioprinting: Modification and Application of an Off-the-Shelf Desktop 3D-Printer for Biofabrication. *Front Bioeng Biotechnol*. 2019;7:184. doi:10.3389/fbioe.2019.00184
127. Pérez-Cortez JE, Sánchez-Rodríguez VH, Gallegos-Martínez S, et al. Low-Cost Light-Based GelMA 3D Bioprinting via Retrofitting: Manufacturability Test and Cell Culture Assessment. *Micromachines (Basel)*. 2022;14(1). doi:10.3390/mi14010055
128. Gingras AA, Jansen PA, Smith C, et al. 3D Bioprinting of Acellular Corneal Stromal Scaffolds with a Low Cost Modified 3D Printer: A Feasibility Study. *Curr Eye Res*. 2023;48(12):1112-1121. doi:10.1080/02713683.2023.2251172

129. Budharaju H, Sundaramurthi D, Sethuraman S. Insights on the role of cryoprotectants in enhancing the properties of bioinks required for cryobioprinting of biological constructs. *J Mater Sci Mater Med*. 2025;36(1):8. doi:10.1007/s10856-024-06855-2
130. Warburton L, Rubinsky B. Cryopreservation of 3D Bioprinted Scaffolds with Temperature-Controlled-Cryoprinting. *Gels*. 2023;9(6). doi:10.3390/gels9060502
131. Cellink®. Bioprinters. Accessed March 2, 2025. <https://www.cellink.com/bioprinting/>
132. Cellink®. Publikationen unter Anwendung des Produkts BioX. Accessed March 2, 2024. <https://www.cellink.com/publications/>
133. Cellink®. Cellink BioX Brochure. Accessed August 22, 2024. https://www.cellink.com/wp-content/uploads/2022/07/Cellink_BioX_brochure_ENG_16P_20211202_digital.pdf
134. Duarte Campos DF, Blaeser A, Buellesbach K, et al. Bioprinting Organotypic Hydrogels with Improved Mesenchymal Stem Cell Remodeling and Mineralization Properties for Bone Tissue Engineering. *Advanced healthcare materials*. 2016;5(11):1336-1345. doi:10.1002/adhm.201501033
135. Lee A, Hudson AR, Shiwarski DJ, et al. 3D bioprinting of collagen to rebuild components of the human heart. *Science (New York, N.Y.)*. 2019;365(6452):482-487. doi:10.1126/science.aav9051
136. A. M. Worthington. XXVIII. On the forms assumed by drops of liquids falling vertically on a horizontal plate. *Proceedings of the Royal Society of London*. <https://www.semanticscholar.org/paper/XXVIII.-On-the-forms-assumed-by-drops-of-liquids-on-Worthington/9cd5803b75018bb606d9451a859d0d8b7f744133>
137. Bulanova EA, Koudan EV, Degosserie J, et al. Bioprinting of a functional vascularized mouse thyroid gland construct. *Biofabrication*. 2017;9(3):34105. doi:10.1088/1758-5090/aa7fdd
138. Rak-Raszewska A, Hauser PV, Vainio S. Organ In Vitro Culture: What Have We Learned about Early Kidney Development? *Stem Cells International*. 2015;2015(1):959807. doi:10.1155/2015/959807
139. Ravanbakhsh H, Karamzadeh V, Bao G, Mongeau L, Juncker D, Zhang YS. Emerging Technologies in Multi-Material Bioprinting. *Advanced materials*. 2021;33(49):e2104730. doi:10.1002/adma.202104730
140. Kilian D, Sembdner P, Bretschneider H, et al. 3D printing of patient-specific implants for osteochondral defects: workflow for an MRI-guided zonal design. *Bio-des Manuf*. 2021;4(4):818-832. doi:10.1007/s42242-021-00153-4
141. Jiang X, Zuo X, Wang H, Zhu P, Kang YJ. Fabrication of Vascular Grafts Using Poly(ϵ -Caprolactone) and Collagen-Encapsulated ADSCs for Interposition Implantation of Abdominal Aorta in Rhesus Monkeys. *ACS Biomater Sci Eng*. 2024;10(5):3120-3135. doi:10.1021/acsbomaterials.3c01209
142. Kolesky DB, Truby RL, Gladman AS, Busbee TA, Homan KA, Lewis JA. 3D bioprinting of vascularized, heterogeneous cell-laden tissue constructs. *Advanced materials*. 2014;26(19):3124-3130. doi:10.1002/adma.201305506
143. Gao B, Yang Q, Zhao X, Jin G, Ma Y, Xu F. 4D Bioprinting for Biomedical Applications. *Trends in biotechnology*. 2016;34(9):746-756. doi:10.1016/j.tibtech.2016.03.004
144. Yang GH, Yeo M, Koo YW, Kim GH. 4D Bioprinting: Technological Advances in Biofabrication. *Macromol Biosci*. 2019;19(5):e1800441. doi:10.1002/mabi.201800441
145. Li Y-C, Zhang YS, Akpek A, Shin SR, Khademhosseini A. 4D bioprinting: the next-generation technology for biofabrication enabled by stimuli-responsive materials. *Biofabrication*. 2016;9(1):12001. doi:10.1088/1758-5090/9/1/012001
146. Ashammakhi N, Ahadian S, Zengjie F, et al. Advances and Future Perspectives in 4D Bioprinting. *Biotechnology journal*. 2018;13(12):e1800148. doi:10.1002/biot.201800148
147. Arif ZU, Khalid MY, Ahmed W, Arshad H. A review on four-dimensional (4D) bioprinting in pursuit of advanced tissue engineering applications. *Bioprinting*. 2022;27:e00203. doi:10.1016/j.bprint.2022.e00203

148. Jazayeri HE, Kang S, Masri RM, et al. Advancements in craniofacial prosthesis fabrication: A narrative review of holistic treatment. *The journal of advanced prosthodontics*. 2018;10(6):430-439. doi:10.4047/jap.2018.10.6.430
149. Chen Y, Zhang J, Liu X, et al. Noninvasive in vivo 3D bioprinting. *American Association for the Advancement of Science*. Published June 5, 2020. Accessed March 13, 2025. <https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.aba7406>.
150. Conev A, Litsa EE, Perez MR, Diba M, Mikos AG, Kavraki LE. Machine Learning-Guided Three-Dimensional Printing of Tissue Engineering Scaffolds. *Tissue Eng Part A*. 2020;26(23-24):1359-1368. doi:10.1089/ten.TEA.2020.0191
151. Conev A, Litsa EE, Perez MR, Diba M, Mikos AG, Kavraki LE. Machine Learning-Guided Three-Dimensional Printing of Tissue Engineering Scaffolds. *Tissue Eng Part A*. 2020;26(23-24):1359-1368. doi:10.1089/ten.TEA.2020.0191
152. Zhu Z, Park HS, McAlpine MC. 3D printed deformable sensors. *Science advances*. 2020;6(25):eaba5575. doi:10.1126/sciadv.aba5575
153. Zhu Z, Ng DWH, Park HS, McAlpine MC. 3D-printed multifunctional materials enabled by artificial-intelligence-assisted fabrication technologies. *Nat Rev Mater*. 2021;6(1):27-47. doi:10.1038/s41578-020-00235-2

8 Anhang

8.1 Materialliste

In folgender Tabelle werden die verwendeten Materialien, Hard- und Softwareprodukte aufgelistet.

Bezeichnung	Hersteller	Kennnummer
Black Drop SuperFill- Robo	Black Drop Biodrucker GmbH	
Robo Slicer	Black Drop Biodrucker GmbH	
Robo Controller	Black Drop Biodrucker GmbH	
PLA-Filament schwarz	Anycubic	
PLA-Filament klar	DASFILAMENT	
Gelatin from porcine skin gel strength 300, Type A	SIGMA-ALDRICH Co.	G2500-100G
Agarose, low gelling temperature	SIGMA-ALDRICH Co.	A9045-5G
Sodium alginat	SIGMA-ALDRICH Co.	W201502
Soluble collagen	VISCOFAN BIO ENGINEERING	500080835
Calcium chlorid solution, bioUltra ~ 1 M in H ₂ O	SIGMA-ALDRICH Co.	21115
Kompressor AEOLIAN PIXIE AS176	WilTec	
Klebstift	pro-office	160 9220 00

9 Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei meiner Betreuerin, Frau Prof. Dr. Ulrike Ritz, für die hervorragende wissenschaftliche Betreuung dieser Arbeit bedanken. Ihre fachliche Expertise, ihre konstruktiven Anregungen und ihre ausdauernde Unterstützung haben die stabile Grundlage für das Gelingen dieser Dissertation geschaffen. Die zahlreichen, richtungsweisenden Diskussionen und Ihre ausgesprochen geduldige Begleitung während des gesamten Promotionsprozesses waren von unschätzbarem Wert.

Mein besonderer Dank gilt dem gesamten Team des Labors für Orthopädie und Unfallchirurgie der Universitätsmedizin Mainz. Die kollegiale Atmosphäre, die hilfreiche Unterstützung bei praktischen Arbeiten und ein freundlicher und zwangloser Umgang haben mir die im Labor verbrachten Tage versüßt. Da persönlicher Kontakt insbesondere in Zeiten der Corona-Pandemie nicht vollumfänglich stattfinden konnte, bin ich umso dankbarer für die gemeinsam verbrachte Zeit.

Von ganzem Herzen danke ich meiner Familie, die mir während der Promotionszeit den Rücken gestärkt hat. Meiner Mutter und meinem Vater danke ich für ihre bedingungslose Unterstützung, ihr Verständnis und ihre Ermutigung, auch in schwierigen Phasen der Arbeit. Meiner Schwester danke ich für ihre aufmunternden Worte und ihren Glauben an mich und das Gelingen der Arbeit.

Ganz besonders möchte ich meiner Lebenspartnerin danken, die mich mit ihrer Liebe, ihrem unvoreingenommenen Blick auf fachlich anspruchsvolle Detailfragen und mit bedingungslosem Rückhalt durch Höhen und Tiefen der Promotionszeit begleitet hat. Ohne Deine Unterstützung und auch in stressigen Phasen für mich da zu sein, wäre dieses Vorhaben gescheitert.

Allen hier Genannten und allen weiteren Personen, die mich auf dem Weg zur Promotion begleitet haben, gilt mein herzlicher Dank.

10 Tabellarischer Lebenslauf

(im elektronisch veröffentlichten Pflichtexemplar nicht enthalten)