

KURZVERÖFFENTLICHUNG

Entwicklung textilbasierter, phasengerecht zeitlich-definierter Wirkstoffabgabesysteme für die Therapie chronischer Wunden (IGF-Nr. 19523 BG)

Autoren:	Dr.-Ing. Andreas Scherrieble Dipl.-Ing. Martin Hoss Dr.-Ing. Martin Dauner Dr. rer. nat. Michael Doser Dr. rer. nat. Michael Wöltje (ITM) Dr.-Ing. Dilbar Aibibu (ITM) Prof. Dr.-Ing. habil. Dipl.-Wirt. Ing. Chokri Cherif (ITM) Dr. rer. nat. Eva Dohle (KGU) Prof. Dr. Dr. Shahram Ghanaati (KGU)
Forschungseinrichtungen:	DITF - Institut für Textil- und Verfahrenstechnik Technische Universität Dresden, Institut für Textilmaschinen und Textile Hochleistungswerkstofftechnik (ITM) Universitätsklinikum Frankfurt, Klinik für Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie (KGU)
Erschienen:	31.01.2020
Bearbeitungszeitraum:	01.05.2017-31.07.2019

Zusammenfassung

Durch die Forschungsk Kooperation im Rahmen des IGF-Projektes 19523 BG konnten Verfahren zur Herstellung textilbasierter Wirkstoffabgabesysteme für eine anhaltende Wirkstoffabgabe entwickelt werden, wie sie für die Therapie chronischer Wunden benötigt werden.

Basis dieser Entwicklungen sind poröse PLLA-Fasern mit interkonnektierenden Poren, die im Anwendungszeitraum nicht degradieren (ITV) und degradierbare Chitosan-Fasern (ITM). Die Funktionsweise der Wirkstoffabgabesysteme wurde mit einem neu entwickelten *in vitro* Ko-Kultur Modell aus Fibroblasten und Endothelzellen als Modell für die kutane Wundheilung untersucht (KGU).

Die Kombination beider Wirkstoffabgabesysteme erlaubt eine anhaltende Wirkstoffabgabe über den im Antrag geplanten Zeitraum von 7 Tagen, wie sie für die Behandlung chronischer Wunden relevant ist.

Ergebnisse

Chronische Wunden stellen die Medizin vor eine große Herausforderung und sind für Patienten oft mit monate- bis jahrelangen Beeinträchtigungen verbunden. Die Ursache bzw. begünstigende Faktoren für ihr Entstehen sind Erkrankungen wie Diabetes mellitus, chronisch venöse Insuffizienz oder arterielle Durchblutungsstörungen, aber auch Risikofaktoren, wie das Patientenalter, Mangel- bzw. Fehlernährung, Rauchen oder die Einnahme bestimmter Medikamente. Die Anzahl der betroffenen Patienten ist dementsprechend hoch: in den industrialisierten westlichen Ländern leiden 1 - 2 % der Bevölkerung an chronischen Wunden; mit Blick auf Deutschland sind es sogar ca. 4 Mio. Menschen^{1 2}. Die wirtschaftliche Bedeutung von chronischen Wunden ist demzufolge enorm: Die Kosten werden für Deutschland mit 4 - 5 Mrd. € jährlich angegeben³. Die Wundheilung stellt einen komplexen und dynamischen Prozess zur Regeneration äußerer oder innerer Gewebeoberflächen aus verschiedenen, sich überlappenden und teilweise parallel ablaufenden Phasen dar, der exsudativen, resorptiven und reparativen Phase. Bei chronischen Wunden stagniert der Heilungsprozess in den ersten beiden genannten Phasen. Obwohl bekannt ist, dass Wachstumsfaktoren für die Steuerung der Wundheilung verantwortlich sind, gibt es bisher keine wirksame und kostengünstige Methode zur Behandlung chronischer Wunden, die diese Wachstumsfaktoren gezielt zur Unterstützung der Wundheilung bereitstellt. Daher besteht ein großer Bedarf für ein neuartiges textilbasiertes Wundverbandssystem, das die Wachstumsfaktoren gezielt und nahe am Wirkungsort an die Phasen der Wundheilung angepasst freisetzt.

In einer Kooperation des ITV der DITF Denkendorf, des ITM der TU Dresden und der Klinik für Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie des Uniklinikums Frankfurt wurden

¹ Dissemond, J. (2006). Moderne Wundauflagen in der Therapie chronischer Wunde. *Hautarzt*, 57(10), 881-87.

² Neubauer, G., Knappe, E., Seeger, T., & Sullivan, K. (2002). Die Bedeutung von Medizinprodukten im deutschen Gesundheitswesen. Studie initiiert u. a. vom Bundesverband für Medizintechnologie (BVMed e.V.). Abgerufen am 06. 04 2016 von http://www.bvmed.de/publikationen/article/Studie_Die_Bedeutung_von_Medizinprodukten_im_deutschen_Gesundheitswesen.html

³ Moderne Wundversorgung steigert Heilungsraten und senkt Therapiekosten. Studie des Bundesverbandes für Medizintechnologie e.V. Berlin. Von http://www.bvmed.de/presse/pressearchiv_2007/pressemitteilung/Neue_MedTech-Studie_belegt_Moderne_Wundversorgung_steigert_Heilungsraten_und_senkt_Therapiekosten.html?search=Kosten%20chronische%20Wunden abgerufen

Verfahren zu Herstellung textilbasierter Wirkstoffabgabesysteme für die Behandlung chronischer Wunden entwickelt. Hierbei kamen zwei Ansätze zum Einsatz, die in einem neuentwickelten Ko-Kultur Modell für die kutane Wundheilung bestehend aus primären Fibroblasten und primären Endothelzellen charakterisiert wurden.

In dem an FE 1 (ITV) verfolgten Forschungsansatz wurden mikroporöse Wirkstoff gefüllte Fasern entwickelt die während der Wirkstoffabgabe nicht degradieren und die Wirkstoffe aus ihren Poren freisetzen. Bei dieser Entwicklung wurden Fasern aus Poly-L-lactid (PLLA) mit unterschiedlichen wasserlöslichen Polymeren ausgesponnen und verstreckt. Dabei ergaben sich bei Polyvinylalkohol (PVA), und Polyethylenoxid (PEO) Domänen, die durch einen Auswaschprozess in Poren überführt werden konnten. Die Tatsache der Porenbildung und der mikroskopische Nachweis von fluoreszenzmarkiertem Gel in den Poren beweist die Interkonnektivität der Poren. Insbesondere Fasern aus dem PLLA/PEO-Compound erzeugten feinverteilte Poren mit durchschnittlicher Querschnittsfläche von 0,14 μm^2 .

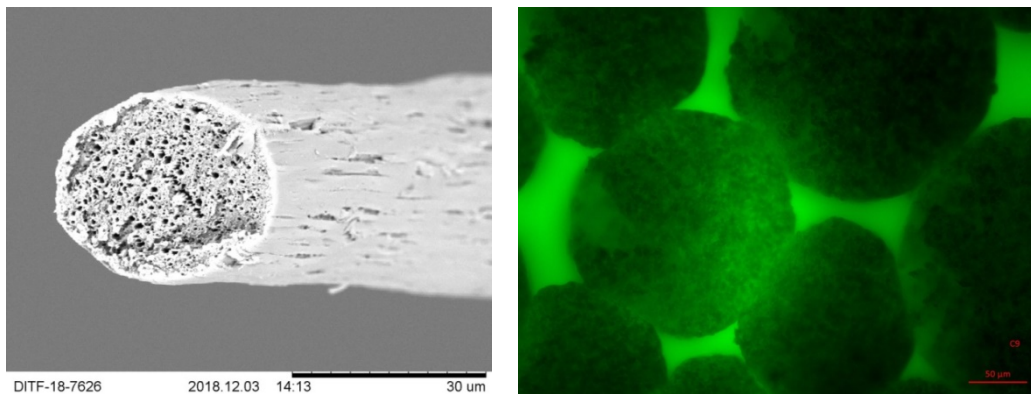


Abbildung: links: Rasterelektronenmikroskop-Aufnahme des Querschnitts einer porösen PLLA-Faser; rechts: Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahme des Querschnitts poröser PLLA-Fasern nach Befüllung mit fluoreszenzmarkiertem Gel

Zum Schutz des Wirkstoffs vor Degradation wurde als Wirkstoffträger das Gel-bildende Polysaccharid Gellan Gum eingesetzt. Der Befüllungsprozess der Fasern mit dem Wirkstoff gefüllten Gel erfolgte über ein Unterdruckverfahren. Dieser konnte steril durchgeführt werden, was ein wichtiges Kriterium für einen in ein Produkt übertragbaren Prozess darstellt. Die Analyse der Wirkstoffabgabe wurde mit einem eigens entwickelten, kostengünstigen quantitativen Nachweis auf Basis des Modellwirkstoffs Meerrettichperoxidase (HRP) ermöglicht. Dieser Lumineszenz-Assay ergab eine hohe Sensitivität mit einer unteren Nachweisgrenze von 0,090 ng und einem hohen Bestimmtheitsmaß von $R^2 > 0,99$. Die Eignung des so entwickelten Messsystems für Wirkstofffreisetzungsuntersuchungen wurde durch eine Reihe von Freisetzungsstudien

verifiziert. Die Abgabekinetik des Wirkstoffs aus den Fasern wurde durch Variation der Vernetzung des Gels optimiert. PLLA-Fasern deren Mikroporen mit CaCl_2 ionisch vernetztem Gel gefüllt waren ergaben eine Freisetzungsdauer des Wirkstoffs von 3 Tagen. Damit konnte gezeigt werden, dass die Fasern für den Einsatz als Wirkstoffabgabesysteme für die exsudative und resorptive Phase der Wundheilung angepasst sind. Aus den PLLA/PEO-Garnen wurden an einer Rundstrickmaschine Gestricke angefertigt, die analog der Vorgehensweise an den Fasern in einem Waschprozess vom PEO befreit und unter sterilen Bedingungen mit VEGF-haltigem Gel befüllt wurden. Bei einer Verfahrensvariante wurde das Gestrück vor der Gel-Befüllung in eine Histidin-Lösung getaucht, um die negative Oberflächenladung der Fasern zu maskieren. Bei einer anderen Variante wurde das Gestrück nach Befüllung mit Carboxymethylchitosan beschichtet, um das VEGF-Freisetzungsverhalten zusätzlich zu verzögern. Die so erzeugten Funktionsmuster wurden am KGU auf ihre VEGF-Freisetzung und angiogene Wirkung hin untersucht.

In dem an FE 2 (ITM) verfolgten zweiten Forschungsansatz wurden degradierbare, nassersponnene Chitosan-Fasern mit unterschiedlichen Deacetylierungsgraden (Dac) untersucht, die durch einen an die Wundheilungsphasen angepassten Aufbau eine mehrphasige Wirkstoffabgabe ermöglichen sollten. Die Beladung der bereits ausgesponnenen CS-Fasern erfolgte über das Quellverhalten und die Diffusion. Die phasengerechte und zeitlich definierte Abgabe sollte über die Mechanismen des polymeren Abbaus und des Herausdiffundierens der Wirkstoffe durch unterschiedliche Deacetylierungsgrade und chemische Vernetzungsgrade des Chitosans und die Variation der Schichtdicke realisiert werden. Dies wurde zum einen durch eine zweistufige Beschichtung von CS-Filamenten mit CS-Material unterschiedlicher DAc-Grade und zum anderen durch die Generierung von CS-Fasern mit geringeren DAc-Graden umgesetzt. Für die Beschichtungen wurde CS-Pulver reacyliert und unter Verwendung einer Methanol- CaCl_2 -Lösung und durch Variation der Versuchsparameter (Temperatur, Zeit und Volumen) zu CS-Lösungen mit DAc-Graden von 5 % bis 40 % verarbeitet. Chitosan-Fasern mit unterschiedlichen DAc-Graden wurden durch nachträgliche Reacylierung von CS-Fasern erfolgreich realisiert. Um eine effektive Freisetzung des Wirkstoffes aus den CS-Fasern einzustellen, wurden die Einflüsse der Schichtdicken, des DAc-Grades und die Menge des chemischen Vernetzers EDC/NHS auf die Wirkstofffreisetzung zunächst an CS-Folien systematisch untersucht. Die aus den Ergebnissen dieser Untersuchungen abgeleiteten Reaktionsbedingungen wurden dann auf die Wirkstoffvernetzung an CS-Filamente übertragen. Hierbei zeigte sich, dass analog zum Freisetzungsprofil der HRP aus EDC/NHS-vernetzten Chitosanfolien die Wirkstoffbeladenen und vernetzten Chitosangarne

die gleiche Freisetzungskinetik über den Untersuchungszeitraum von 4 Tagen aufwiesen. Dieser Effekt war zudem abhängig vom DAC-Grad der verwendeten CS-Materialien. Darüber hinaus zeigten Vliese aus den Wirkstoffbeladenen und vernetzten Chitosangarnen eine konstante Freisetzung der HRP sogar über einen Zeitraum von 7 Tagen. Aufbauend auf diesen Ergebnissen wurden drei Funktionsmustertypen in Form von textilen Strukturen (Vliesstoffe) konzipiert und gefertigt. Diese waren zunächst mit dem Modellwirkstoff HRP vernetzt und wurden experimentell überprüft, um die Übertragung des Freisetzungsprofils des Wirkstoffes aus den CS-Fäden auf die Wundauflagenauslegung zu evaluieren. Nachdem dies experimentell bestätigt war, wurden die Funktionsmuster mit dem humanen Wachstumsfaktor VEGF als Wirkstoff gefertigt, zur Messung der VEGF-Freisetzung und der angiogenen Wirkung am KGU.



Abbildung: Offen poröses degradierbares NSN-Vlies als textile Wundauflage

An FE 3 (KGU) wurde ein *in vitro* Ko-Kultur Modell aus primären Fibroblasten und primären Endothelzellen als Modell für die kutane Wundheilung entwickelt. Die Isolation der primären Zellen aus humanem Überschussmaterial wurde etabliert und in einem festgelegten zellulären Verhältnis als *in vitro* Wundheilungsmodell ko-kultiviert und charakterisiert. Als zu untersuchender Wundheilungsparameter wurde die Induktion gefäßähnlicher Strukturen (angiogene Aktivierung) im Modell gewählt. Das entwickelte Modell wurde zudem erweitert, indem verschiedene Wundheilungsmodulationen, wie die Simulation einer bakteriellen Infektion bzw. die Induktion einer Inflammation, im *in vitro* Modell durchgeführt wurden. Nach Untersuchungen zum Konzentrations-Wirkungsverhältnis des einzusetzenden Wirkstoffs und Festlegung der Wirkstoffkonzentration am Zellkulturmodell, wurden die durch die FE 1 und FE 2 entwickelten Funktionsmuster im *in vitro* Wundheilungsmodell im Hinblick auf die Wundheilung (Angiogenese) charakterisiert sowie die Wirkstoffabgabe aus den Funktionsmustern im *in vitro* Modell über einen Zeitraum von 7 Tagen analysiert.

Es konnte bei zwei Varianten der Funktionsmuster des ITV aus den porösen Fasern (VEGF und Histidin + VEGF) eine deutliche angiogene Aktivierung der Endothelzellen im *in vitro* Modell beobachtet werden. Die höchste VEGF-Freisetzung korrelierte dabei mit der deutlichsten angiogenen Aktivierung.

Alle am ITM gefertigten Funktionsmustern aus den degradierbaren CS-Fasern zeigten wie auch schon mit dem Modellwirkstoff HRP ebenso im Zellkulturmodell eine konstante Abgabe des Wirkstoffes über einen Zeitraum von 7 Tagen.

Somit erlaubt die Kombination der Wirkstoffabgabesysteme der beiden Forschungseinrichtungen eine anhaltende Wirkstoffabgabe über den im Antrag geplanten Zeitraum von 7 Tagen. Mit den im Vorhaben erforschten Methoden und Technologien ist es somit möglich, Wundverbände mit Wirkstoffabgabe für die Therapie chronischer Wunden zu erreichen. Die daraus resultierenden Kostenvorteile gegenüber hydroaktiven Wundverbänden bewirken eine gute Finanzierbarkeit der industriellen Umsetzung der Forschungsergebnisse für die KMU der Textil- und Medizintechnikbranche. Auch in anderen Branchen, wie Wellness und im Sport- sowie im Freizeitbereich sind die Entwicklungen zu den wirkstoffbeladenen Fasern in Produkte umsetzbar und bieten den KMU die Möglichkeit, außerhalb des zulassungsintensiven Medizintechnikmarktes, textilbasierte Wirkstoffabgabesysteme zu entwickeln.

Danksagung

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

Das IGF-Vorhaben 19523 BG der Forschungsvereinigung Forschungskuratorium Textil e.V., Reinhardtstraße 14-16, 10117 Berlin wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Unser Dank gilt außerdem allen Mitgliedern im Projektbegleitenden Ausschuss für die freundliche und tatkräftige Unterstützung.

Der Abschlussbericht des Forschungsvorhabens 19523 BG und weiterführende Informationen sind an den Deutschen Instituten für Textil- und Faserforschung Denkendorf (DITF) erhältlich.

Ansprechpartner

Dr.-Ing. Andreas Scherrieble, andreas.scherrieble@ditf.de