

**3. Workshop  
Automatisierungstechnische  
Verfahren für die Medizin vom  
17.-18. September 2001 in  
Bochum**



**„Aspekte einer automatisierungstechnischen  
Beschreibung der Perfusionskultivierung von Zellen und  
Gewebe“**

M. Rabenau, F. Anderssohn, K. Brethauer, R. Poll  
Institut für Biomedizinische Technik, TU Dresden, Dresden, Deutschland  
E-Mail: rabenau@rcs.urz.tu-dresden.de

Band: Beiträge zum 3. Workshop Automatisierungstechnische Methoden und  
Verfahren für die Medizin  
Editors: Jürgen Werner, Martin Hexamer  
ISBN: 3-00-008240-9  
Pages: 12-13

## Aspekte einer automatisierungstechnischen Beschreibung der Perfusionskultivierung von Zellen und Gewebe

M. Rabenau, F. Anderssohn, K. Brethauer, R. Poll

Institut für Biomedizinische Technik, Technische Universität Dresden

rabenau@rcs.urz.tu-dresden.de

### EINLEITUNG

Die relativ junge Fachdisziplin Tissue Engineering kann nur erfolgreich sein, wenn sie geeignete Gerätesysteme für in vitro Prüfverfahren zur Verfügung hat [1]. Ein Projekt dieser Art stellt die Kultivierung menschlicher Zellen in einem neuartigen kontinuierlich perfundierten Bioreaktor dar [2]. Das entwickelte Gerätesystem soll in vitro das notwendige Lebensmilieu für Zellen und Gewebe automatisiert, das heißt rechnergesteuert, aufrecht erhalten.

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit regelungs- und automatisierungstechnischen Aspekten dieses Forschungsaufbaus. In ihr soll begonnen werden, das Verbindungsglied zwischen der Erfassung der Messwerte und dem Stellen der Prozessparameter an den einzelnen Gerätemodulen des Bioreaktors zu realisieren [3].

### MATERIALIEN UND METHODEN

Der Bioreaktor dient der in vitro Expansion menschlicher Zellen, d.h. Erhaltung und Vermehrung dieser Zellen außerhalb ihres biologischen Lebensraumes. Dazu müssen die natürlichen Umgebungsverhältnisse nachgebildet werden:

- ausreichende Versorgung mit gelösten Gasen (Sauerstoff, Kohlendioxid) in unmittelbarer Zellumgebung, verbrauchsabhängige Versorgung mit Nährstoffen (Glucose, Glutamin),
- Entsorgung von Abfallstoffen (Lactat, Ammonium),
- Temperierung des Kultursystems,
- Bereitstellung von Wachstumsfaktoren (Zytokinen).

Realisiert ist ein Kreislaufsystem bestehend aus folgenden Teilen, welche in Reihe geschaltet sind (Abb. 1) Kreislaufpumpe, Dialysator gekoppelt mit einer Nährstoffversorgungseinheit, Oxygenator gekoppelt mit einer Gasversorgungseinheit, mehrere Kulturträger für Feederzellen (Versorgungszellen) und Vergleichsuntersuchungen sowie Sensorblöcke mit zugehörigen Kalibriereinheiten als zellnahe Messsysteme.

Das Kulturmedium wird mit Hilfe der Kreislaufpumpe in den Dialysator gepumpt, wo Nährstoffe hinzugefügt und Abfallstoffe entzogen werden. Nach Passage des Dialysators gelangt das Kulturmedium in den Oxygenator und wird mit Sauerstoff und Kohlendioxid versorgt. Das aufbereitete Kulturmedium wird nun je nach Aufbau durch eine oder mehrere Kulturkammern mit vor- und/oder nachgeschalteten Sensorblöcken geleitet und zur Kreislaufpumpe zurückgeführt. In den Sensorblöcken werden Temperatur, pH-Wert, Sauer-

stoff- und Kohlendioxidsättigung des Kulturmediums bestimmt.

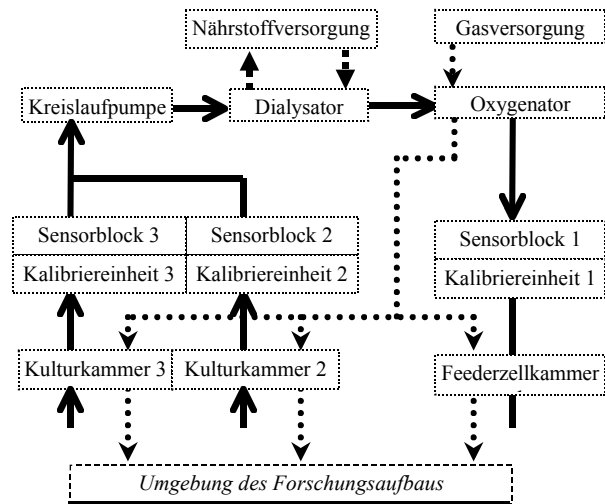


Abb. 1: Systemstruktur des Forschungsaufbaus zur Perfusionskultivierung von Zellen und Gewebe

Zuordnung: Gasversorgungszufluss .....→  
Dialysekreislauf .....→  
Versorgungskreislauf ———→

Die Funktionalität der Perfusionskultivierung besteht aus der seriellen und parallelen Zusammenschaltung folgender, wesentlicher physikalischer Prozessabläufe:

1. *Leitung flüssiger und gasförmiger Fluide mittels Schlauchleitungssystemen*  
Dabei sind verschiedene Strömungswiderstände zu überwinden, welche wiederum von Strömungsart, Eigenschaften des strömenden Mediums und den geometrischen Randbedingungen des Leitungssystems abhängen.
2. *Diffusion verschiedener Stoffe zwischen den Kreisläufen der flüssigen Medien bzw. des gasförmigen und des flüssigen Mediums durch permeable Membranen*  
Es ist zu untersuchen, wie groß der Einfluss der einstellbaren Konzentration und der sehr geringen Strömungsgeschwindigkeit auf den Verlauf der Konzentrationsgradienten entlang der Membranen in den drei Stoffaustauschern (Dialysator, Oxygenator, Kulturkammer) ist.
3. *Distribution verschiedener Stoffe und deren Weiterleitung in größeren Zwischenvolumina (Medienräumen in Dialysator, Oxygenator und Kulturkammern)*

Bedingt durch Querschnittsunterschiede im Kultursystem treten veränderte Verteilungen der fluidischen Strömungsgeschwindigkeit in den Medienräumen auf. Bei einer ausreichend geringen Strömungsgeschwindigkeit entstehen laminare Profile. Die Geschwindigkeit errechnet sich an jedem Ort in der Form  $v_x = f(y, z)$ . Der durch Strömungsvorgänge hervorgerufene konvektive Stofftransport überlagert sich mit dem diffusiven, wobei die Diffusionsrichtung gleichgerichtete und orthogonale Anteile aufweist. Aus der messtechnischen Erfassung relevanter Parameter werden wesentliche Aussagen über derartige Effekte erwartet [4].

4. Antrieb der Medien mit Hilfe einer Rollenpumpe als Volumenstromquelle

Hier spielen die Eigenschaften von Quellen eine Rolle. Sie sind hinsichtlich ihres Volumenstrom- und Druckverhaltens z. B. bezüglich Rückstrom und Lastabhängigkeit zu untersuchen.

Ziel der Systemuntersuchung ist eine automatisierungstechnische Beschreibung des Forschungsaufbaus. Auf dieser Basis soll eine Regelung der kritischen Prozessgrößen realisiert werden. Es wird dabei von der Struktur und den Funktionen der einzelnen modellier- und dimensionierbaren technischen Teilsysteme ausgegangen. Alle Einflüsse der biologischen Funktionalität, die sich auf die Prozesse der Kulturführung auswirken, sollen als nicht vorhersehbare Störgrößen einfließen.

ERGEBNISSE

Der Forschungsaufbau wurde in Teilmodule (Abb. 2) untergliedert, die sich wiederum aus einzelnen, in ihrer Annahme rückwirkungsfreien Übertragungsgliedern (Tab. 1) zusammensetzen.

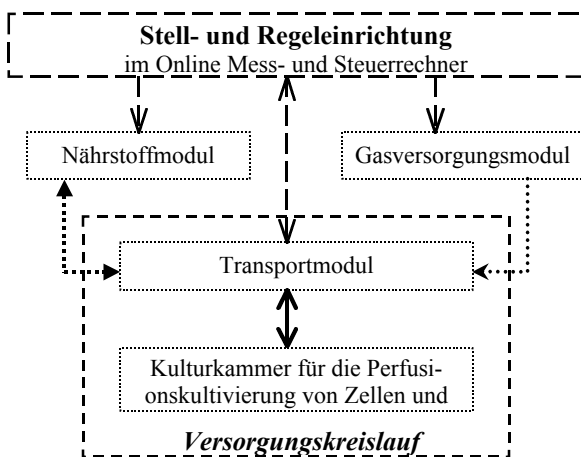


Abb. 2: Teilmodule und ihre Verbindungsarten  
 Arten: Gasfluss (gestrichelt), Dialysatfluss (gestrichelt), Gas- und Nährstofffluss (durchgezogen), Informationsfluss (gestrichelt)

Tab 1: Systembestandteile der Teilmodule

Bezeichnung der Module	Übertragungsglieder	Technische Bestandteile
Transportmodul	Leitungssystem Medienpumpe Versorgungsmedium	Schlauchsystem Rollenpumpe Nährmedium für Gas- und Nährstofftransport
Gasversorgungsmodul	Gasquelle Gasmischer Leitungssystem Gasaustauscher	Gasflaschen Ventile Schlauchsystem Oxygenator
Nährstoffmodul	Leitungssystem Medienpumpe Stoffaustauscher	Schlauchsystem Rollenpumpe Dialysator
Kulturkammer	Kulturträger	Perfusionskultur mit Gas- und Nährstoffaustausch

DISKUSSION

Das Hauptproblem besteht darin, dass die Prozesse der Teilsysteme nicht unabhängig voneinander ablaufen. Diese Unabhängigkeit wird jedoch angenommen, um sich dem Problem zu nähern. (Sollte sich diesbezüglich die Voraussetzungen für die Annahme später als unerfüllbar erweisen, ist mit den gewonnenen Erkenntnissen ein Gesamtsystem zu erstellen, in welchem die gegenseitigen Abhängigkeiten mit erfasst werden.)

In weiteren Schritten kann eine Kopplung dieser Teilsysteme zu einem Gesamtsystem erfolgen, da die Verbindungsstellen zwischen ihnen im Ein- oder Ausgangsbereich der Teilsysteme liegen. Diese Tatsache resultiert aus den physikalischen Vorgängen, die in dem System auftreten. Vertreten sind Transport von Fluiden in röhrenförmigen Leitungssystemen, Diffusion bestimmter Stoffe durch permeable Membranen und Antrieb von Fluiden. Die Übertragungsglieder der Teilsysteme nutzen zwar die selben strukturellen Elemente, sind aber funktionell voneinander unabhängig. Beispielsweise läuft die Diffusion aufgrund des CO<sub>2</sub>-Konzentrationsunterschiedes parallel zu der des O<sub>2</sub>-Konzentrationsunterschiedes ohne gegenseitige Beeinflussung ab.

LITERATURHINWEISE

[1] Kirkpatrick, C.J.: Entwicklung relevanter in vitro Prüfsysteme für Tissue Engineering. In: Weck, M. (Hrsg.): 3. Symposium Neue Technologien für die Medizin. Shaker Verlag, Aachen, 2001, 461 - 480.  
 [2] Poll, R. et al.: Optimization of Culture Conditions for Stem Cells from Umbilical Cord Blood. Medical & Biological Engineering & Computing, Proceedings of the EMBEC '99 Vienna, 1516 - 1517.  
 [3] Rabenau, M. u. a.: Konzeption zur Informationsverarbeitung für einen Bioreaktor der ex vivo Kultivierung hämatopoetischer Stammzellen. In: Biomedizinische Technik, Bd. 45 (2000), Ergbd. 1, 462 - 464.  
 [4] Jummel, I. u. a.: Ein Beitrag zu material- und verfahrenstechnischen Einflüssen auf das Verhalten von Gewebekulturen. In: Biomedizinische Technik, Bd. 45 (2000), Ergbd. 1, 452 - 454.