

FRAUNHOFER-INSTITUT FÜR WERKSTOFF- UND STRAHLTECHNIK IWS

ABSCHLUSSBERICHT TEIL 1

MULTIORGAN-CHIPS/MIKRO- PHYSIOLOGISCHE SYSTEME (MPS) ZUR BEWERTUNG NEUER POTENTIELLER RADIOPHARMAZEUTIKA (MPS-RP)

IM AUFTRAG DES PROJEKTTRÄGERS JÜLICH

Institutsleiter
Prof. Dr. Christoph Leyens

Projektleiter
Dr. Frank Sonntag

Mitarbeiter
Stephan Behrens

GEFÖRDERT VOM



**Bundesministerium
für Bildung
und Forschung**

Fraunhofer-Institut für Werkstoff- und Strahltechnik IWS
Dresden

Projektnummer: 10-02837
Projektlaufzeit: 05/2021 – 07/2024
Berichtszeitraum: 05/2021 – 07/2024
Förderkennzeichen: 031L0275B

Teil I: Kurzbericht

1	Ursprüngliche Aufgabenstellung und wissenschaftlicher Stand:.....	3
2	Ablauf des Vorhabens	3
3	Wesentliche Ergebnisse	3
4	Zusammenarbeit mit anderen Forschungseinrichtungen.....	3
5	Fazit und Ausblick	4

Das Vorhaben „Alternativmethoden – Verbund MPS-RP: Multiorgan-Chips / Mikro-Physiologische Systeme (MPS) zur Bewertung neuer potentieller Radiopharmazeutika“ hatte das Ziel, innovative Methoden zur Emulation von physiologischen Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Zelltypen und Geweben in vitro zu erforschen. Ausgangspunkt war die Entwicklung von MPS-Chips, die durch die Integration pneumatischer Aktoren eine präzise Kontrolle von Volumenströmen ermöglichten.

Ursprüngliche Aufgabenstellung
und wissenschaftlicher Stand

1 Ursprüngliche Aufgabenstellung und wissenschaftlicher Stand

Die Aufgabenstellung umfasste die Entwicklung eines Systems zur Nachbildung komplexer biologischer Prozesse, insbesondere zur Untersuchung von Wirkstoffeffekten und Toxizität. Der Fokus lag auf der Nutzung MPS zur Charakterisierung radiopharmazeutischer Liganden, basierend auf bestehenden Technologien der Zellkultur und Mikrofluidik.

2 Ablauf des Vorhabens

Im Rahmen des Projekts wurden MPS-Chips entwickelt, die eine kultivierungsfähige Umgebung für Zelllinien wie A431 und MDA-MB435s boten. Diese Chips wurden mit einem geschlossenen Medienkreislauf ausgestattet, um eine konstante Nährstoffzufuhr und Abfallentsorgung zu gewährleisten. Verschiedene Testversuche wurden durchgeführt, um die Bindungsaffinität von radiomarkierten Molekülen zu analysieren, wobei die Steuereinheit zur Regulierung der Flüssigkeitsströme eingesetzt wurde.

3 Wesentliche Ergebnisse

Die optimierten MPS ermöglichten erfolgreich die Durchführung von Sättigungsassays, die die Bindungsaffinität von radioaktiv markierten Liganden im nanomolaren Bereich bestätigten. Eine maßgeschneiderte Plattform zur Integration mehrerer Chips wurde entwickelt, um parallel verschiedene Experimente durchzuführen. Weiterhin wurde ein Multilagenchip zur Kultivierung von Tumorsphäroiden konzipiert, um differenzierte Analysen der EGFR-Expression zu ermöglichen.

4 Zusammenarbeit mit anderen Forschungseinrichtungen

Das Projekt profitierte von der Zusammenarbeit mit dem Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf (HZDR). Diese Partnerschaft förderte den Wissenstransfer und die Implementierung der MPS-Technologie in praxisrelevante Anwendungen.

5

Fazit und Ausblick

Die erzielten Ergebnisse zeigen das Potenzial der MPS für die pharmakologische Forschung und die Reduzierung von Tierversuchen. Die zukünftige Integration in die Entwicklung von Radiopharmazeutika stellt einen vielversprechenden Schritt dar, um nachhaltige und ethisch verantwortliche Lösungen zu bieten. Weiterführende Studien und Kooperationen sind geplant, um die Technologie weiter zu optimieren und marktfähige Anwendungen zu entwickeln.

FRAUNHOFER-INSTITUT FÜR WERKSTOFF- UND STRAHLTECHNIK IWS

ABSCHLUSSBERICHT TEIL 2

MULTIORGAN-CHIPS/MIKRO- PHYSIOLOGISCHE SYSTEME (MPS) ZUR BEWERTUNG NEUER POTENTIELLER RADIOPHARMAZEUTIKA (MPS-RP)

IM AUFTRAG DES PROJEKTTRÄGERS JÜLICH

Institutsleiter
Prof. Dr. Christoph Leyens

Projektleiter
Dr. Frank Sonntag

Mitarbeiter
Stephan Behrens

GEFÖRDERT VOM



**Bundesministerium
für Bildung
und Forschung**

Fraunhofer-Institut für Werkstoff- und Strahltechnik IWS
Dresden

Projektnummer: 10-02837
Projektlaufzeit: 05/2021 – 07/2024
Berichtszeitraum: 05/2021 – 07/2024
Förderkennzeichen: 031L0275B

Teil II: Ausführliche Darstellung

1	Etablierung der Mikrophysiologischen Systeme am HZDR	3
2	Etablierung eines Tumorchips.....	4
3	Entwicklung Multiorgan-Chip.....	6
3.1	Vorbetrachtung des MPS-Konzepts	6
3.2	Skalierung.....	8
3.3	Charakterisierung der Volumenstromverteilung	11
3.4	Analyse der Strömungsdaten und statistische Bewertung der Flussraten ...	12
3.5	Analyse der experimentell bestimmten Volumenstrom-verteilung im MPS .	14
3.6	Validierung der Volumenstromverteilung	15
4	Nutzung der Ergebnisse	20
5	Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens.....	21
6	Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises	21
7	Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit	21
8	Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse	22

1

Etablierung der Mikrophyysiologischen Systeme am HZDR

Zu Beginn des Vorhabens wurden MPS-Chips, wie in der Abbildung 1 dargestellt, für das HZDR hergestellt. Die Zellkulturmodule (gelb) wurden im 96 Well Mikrotiterplatten Format als 6 ausgeführt. Die entsprechenden Zellen wurden darin 6-fach parallel als Monolayer oder Sphäroide gehalten. Über die Steuereinheit wurde eine pneumatisch betriebene Mikropumpe (Blau: pneumatische Anschlüsse) so betrieben, dass ein geschlossener Medienkreislauf gewährleistet war (Rot: Medienkreislauf mit integrierter Pumpe, Grün: Anschlüsse zur Zufuhr von Medien).

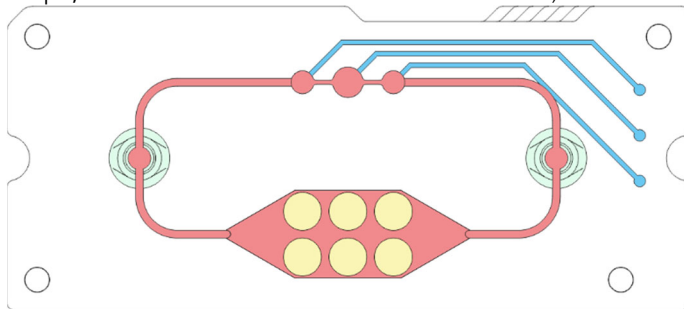


Abb. 01: MPS Layout; Rot – Medienkreislauf mit integrierter Pumpe; Blau – Pneumatik Zuführungen; Gelb – Zellkulturmodule für Organoide; Grün – LUER Anschlüsse

Während verschiedener Testversuche wurde radiomarkiertes C225 in MPS-Chips eingesetzt, um die Bindungsinteraktionen zu untersuchen. In diesen Experimenten wurden die Inkubations- und Spülzeiten optimiert, um die Effizienz der Bindung zu erhöhen.

Insbesondere konnte die spezifische Bindung des radiomarkierten C225 an A431-Zellen deutlich messbar gemacht werden. Diese Zellen zeigen eine hohe Affinität zu C225, was in den Tests klar dokumentiert werden konnte. Im Gegensatz dazu wurde an MDA-Zellen keine spezifische Bindung festgestellt, was darauf hindeutet, dass diese Zellen nicht die gleichen Bindungseigenschaften wie A431-Zellen besitzen.

Ein weiterer wichtiger Aspekt der Tests war die Minimierung der unspezifischen Bindung. Die unspezifische Bindung an den integrierten Kanälen der Chips, durch die das Medium mit der entsprechenden Aktivität gepumpt wurde, sowie an leeren Wells war auf weniger als 15 % der spezifisch gebundenen Tracermoleküle begrenzt. Dies zeigt, dass die Optimierung der Spülzeiten erfolgreich war und die spezifische Bindung gegenüber unspezifischen Bindungen signifikant gesteigert werden konnte. Am HZDR konnten Sättigungsassays an A431-Zellen, in Form von Monolayer als auch in Sphäroidform, erfolgreich durchgeführt und ausgewertet werden. Die Bindungsaffinität des radioaktiv markierten C225 lag mit K_d -Werten im niedrigen nanomolaren Bereich (1.3 bis 23 nM) in der Größenordnung früherer Berichte. Innerhalb der MPS-Assays konnte ein Trend zu einer etwas höheren Bindungsaffinität an Zellen in Monolayerkultur als an Sphäroiden beobachtet werden.

Zur parallelen Testung mehrerer MPS wurde eine Plattform zur Integration von 4 Chips entwickelt, hergestellt und den Projektpartner übergeben.

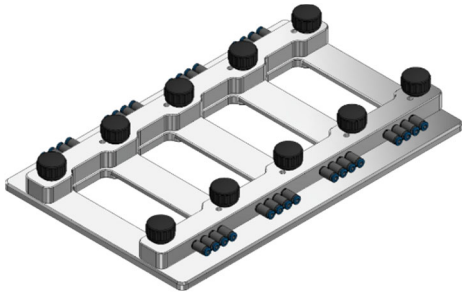


Abb. 02: MPS Plattform zur parallelen Testung von 4 MPS

2 Etablierung eines Tumorchips

Es erfolgte die Konzipierung eines Multilagenchips mit Zellkulturreservoiren zur Kultivierung von Tumorsphäroiden (siehe Abbildung 3). Konkret sollen in einem MPS zunächst Zellen mit und ohne EGFR-Expression (Reservoir 2 – Zellen ohne EGFR-Rezeptor; Reservoir 3 – Zellen mit hoher EGFR-Rezeptorkonzentration kultiviert werden. Als Zelllinie ohne EGFR-Expression (Negativ-Kontrolle) hat sich MDA-MB435s (humane Melanomzellen) bewährt, eine Zelllinie mit hoher EGFR Expression ist A431 (humane epidermoide Karzinomzellen). In Kompartiment 1 soll nur Medium zirkulieren.

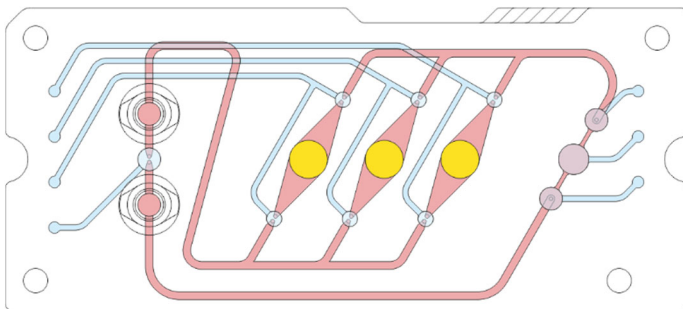


Abb. 03: Layout Tumorchip 0.1. Rot – Medienkreislauf mit integrierter Pumpe; Blau – Pneumatik Zuführungen. Gelb – Zellkulturreservoire für die Kultivierung von Tumorsphäroiden.

Durch periodisches Zuschalten der einzelnen Reservoire mittels vor und nachgeschalteter Ventile soll dabei eine gleichmäßige Volumenstromverteilung über die Zeit zu gewährleistet werden. Dafür wurde begonnen ein Ansteuerungskonzept zu entwerfen und die Implementierung in die bestehende Software zu prüfen.

Der designte Tumorchip mit Zellkulturreservoiren zur Kultivierung von Tumorsphäroiden wurde entwickelt und gefertigt. Er besteht aus einem Reservoir mit drei Kammern für die Kultivierung. Durch periodisches Zuschalten der einzelnen Reservoire mittels vor und nachgeschalteter Ventile soll dabei eine gleichmäßige Volumenstromverteilung über die Zeit zu gewährleistet werden.

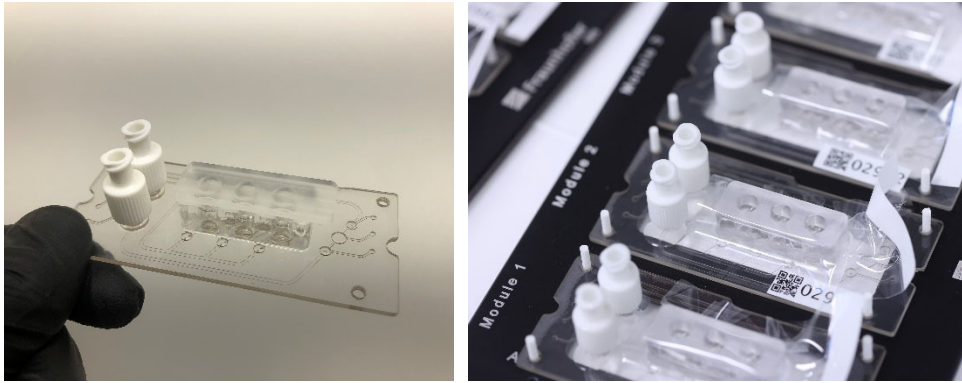


Abb. 04: Links: 3-Kammer Chip für die Kultivierung der Tumorsphäroide. Rechts: 3-Kammerchip in MPS Plattform zur parallelen Testung von 4 MPS

Zur Ansteuerung der 3-Kammer Chips wurde die Software zur Bedienung der pneumatischen Steuereinheit (MPScontrol) überarbeitet und um eine neue Funktion (MPStiming – siehe Abbildung 2) erweitert. Über die Funktion MPStiming kann das zeitliche Umschaltverhalten von Ventilen oder Pumpen auf den MPS eingestellt und angepasst werden. Somit soll unter anderem die gleichmäßige Verteilung der Volumenströme durch periodisches Öffnen und Schließen von Ventilen realisiert werden.

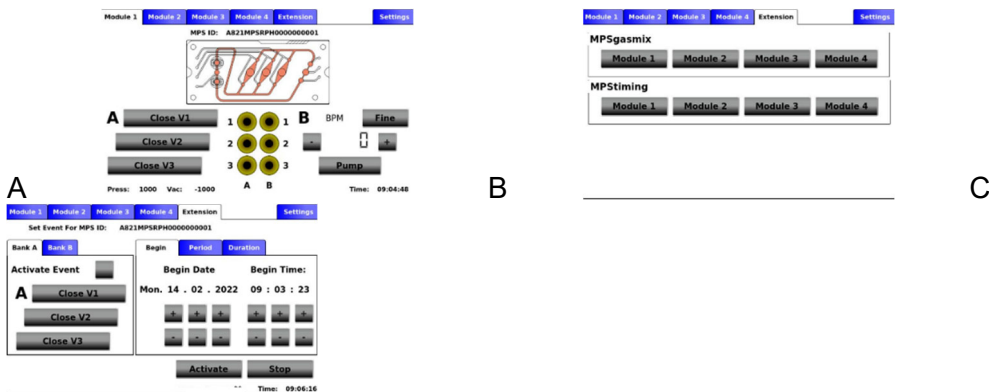


Abb. 05: Angepasste MPScontrol Software zur Ansteuerung des 3-Kammer Chips. A: Übersicht MPS. B: Auswahl der Funktion MPStiming. C: Menü zur Einstellung der Pumpparameter.

Für die Kultivierung der Sphäroide werden vom Projektpartner Nanopartikel genutzt, durch welche die Zellen innerhalb eines Magnetfeldes zusammenwachsen. Da das Heranwachsen der Sphäroide im Chip von Vorteil ist, wurde eine Magnetplatte entwickelt und hergestellt, welche sich unterhalb der in Abbildung 3 rechts dargestellten Plattform einbringen lässt. Dabei wurden runde Magneten im Abstand von 1 mm zur Chipunterseite eingebracht. Die Abstände der einzelnen Magneten entsprechen den der 3 Kammern zueinander.

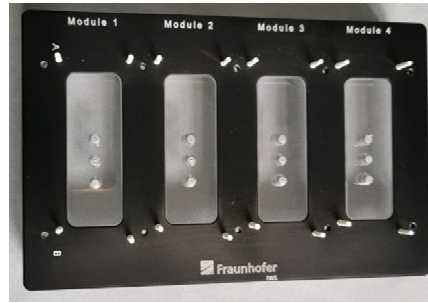
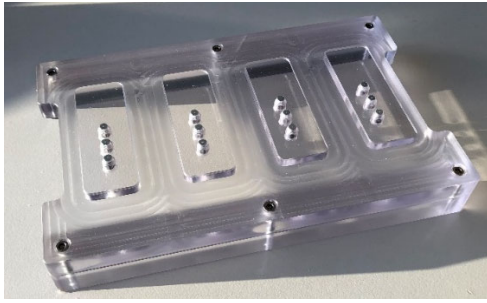


Abb. 06: : Links: Magnetplatte zur Kultivierung von Tumorsphäroiden mittels Nanopartikeln.
Rechts: MPS Plattform mit eingesetzter Magnetplatte

Es folgte die Weiterentwicklung des Niere-on-Chip-Modells. Dabei soll der proximale Tubulus als Modell unter Verwendung einer Co-Kultur von humanen renalen proximalen Tubulus-Epithelzellen (RPTEC) und humanen Nabelvenen-Endothelzellen (HUVEC) erstellt werden. Für die Etablierung des Barrieremodells werden Standardinserts für 24 well Mikrotiterplatten mit einer Porengröße von $0.4 \mu\text{m}$ genutzt. Es wurde dafür ein passendes Reservoir zur Integration der Inserts auf ein MPS entwickelt. Zur Testung der Funktionalität wurden die ersten MPS noch funktional getrennt hergestellt.

3 Entwicklung Multiorgan-Chip

Ausgehend vom Niere-on-Chip-Modell wurde mit der Überführung der einzelnen Modelle (Niere, Leber und Tumor) in einen Chip begonnen. Zunächst wurde eine grundlegende Analyse des Mikrosystems durchgeführt, um einen umfassenden Überblick über die wesentlichen Eigenschaften und Anforderungen zu erlangen. Aufbauend auf diesen Ergebnissen erfolgt eine detaillierte Charakterisierung der Volumenstromverteilung innerhalb des Systems. Zu diesem Zweck werden die Volumenströme in den verschiedenen Kanälen des MPS mithilfe der μPIV experimentell bestimmt, um ein präzises Verständnis der Strömungsverhältnisse und deren Einfluss auf die Bioverteilung zu erlangen. Abschließend wurde die Skalierung des MPS analysiert, mit dem Ziel, eine realitätsnahe Emulation physiologischer Bedingungen zu gewährleisten. Zu diesem Zweck wurden verschiedene Skalierungsmethoden analysiert und miteinander verglichen, um diejenige zu identifizieren, die den Anforderungen der Zielstellung am besten entspricht. Schließlich wurde diese Methode für das MPS implementiert. Im Rahmen dieses Prozesses werden spezifische Skalierungsparameter und Zielkriterien definiert, die als Grundlage für die Anpassung des Systems dienen.

3.1 Vorbetrachtung des MPS-Konzepts

Die Abbildung 7 zeigt das zu charakterisierende MPS, welches zur Simulation physiologischer Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Geweben und Zelltypen in einem mikrofluidischen Umfeld entwickelt werden sollte. Es sollte die Untersuchung von Wirkstoffeffekten, Toxizität und interorganischen Signalen in einem kontrollierten und in-vitro-ähnlichen Mikro-umfeld ermöglichen.

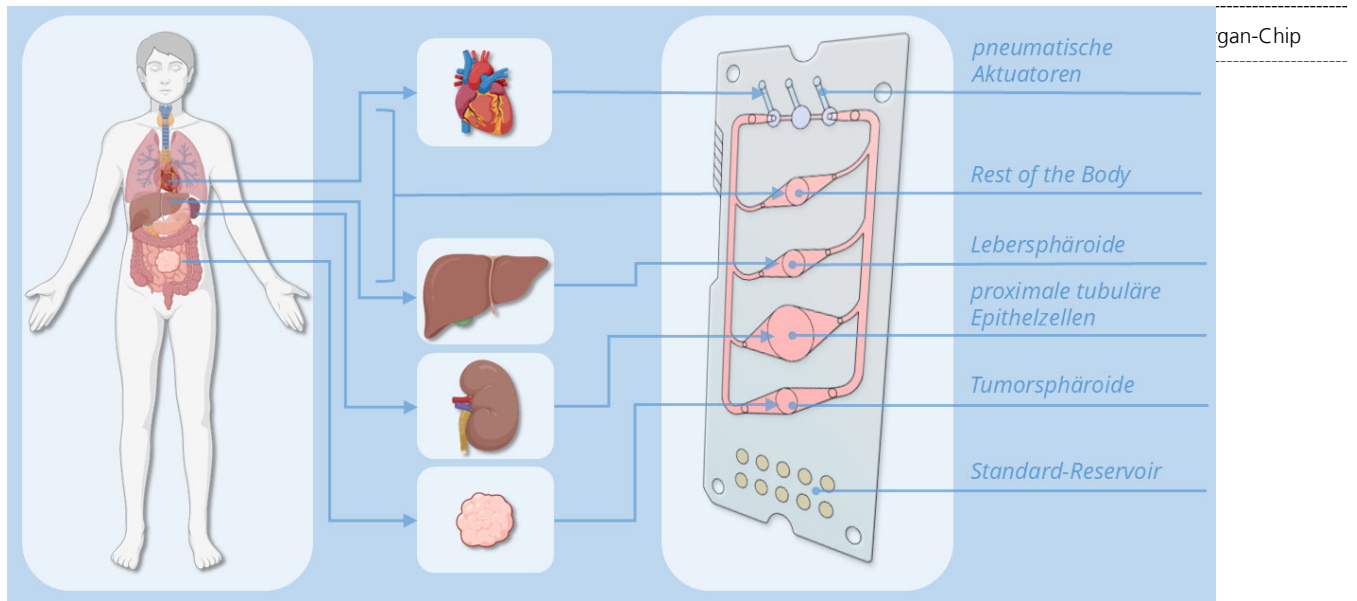


Abb. 07: Schematische Darstellung des MPS-Links ist der menschliche Körper mit hervorgehobenen Zielorganen (Herz, Leber, Niere und Tumor) dargestellt, die durch das System simuliert werden. Rechts zeigt der mikrofluidische Chip vier spezifische Zellreservoirs: ein Modell für den systemischen Kreislauf (»Rest of the Body«), Lebersphäroide, proximale tubuläre Epithelzellen und Tumorsphäroide. Der Flüssigkeitsfluss wird durch pneumatische Aktuatoren reguliert, während ein Standard-Reservoir für die Durchführung von Aktivitätstests mit radiomarkierten Liganden vorgesehen ist.

Das System umfasst vier Reservoirs, die jeweils unterschiedliche Gewebe und Zelltypen beherbergen. Das erste Reservoir, "Rest of the Body" fungiert als pharmakologisches Dimensionierungs-Modell für den systemischen Kreislauf. Das zweite Reservoir beinhaltet Leber-sphäroide, beispielsweise HepG2-Zellen, welche für die Simulation der Leberfunktion zum Einsatz kommen. Um eine ungewollte Ausspülung dieser Sphäroide während des Flüssigkeitsflusses zu verhindern, erfolgt deren Positionierung in einer tieferen Lage. Das dritte Reservoir ist mit proximalen tubulären Epithelzellen (RPTEC/TERT-1) und Endothelzellen (HUVEC) besiedelt, welche die Funktion der Niere, insbesondere Filtrations- und Transport-prozesse, nachbilden. Das vierte Reservoir beinhaltet Tumorsphäroide, beispielsweise A431- oder PC-12-Zellen, welche ebenfalls tiefer positioniert sind, um eine ungewollte Ausspülung zu verhindern. Die Steuerung des Flüssigkeitsflusses sowie die Schaffung einer dynamischen Umgebung für die Zellen werden durch die Integration pneumatischer Aktoren auf dem Chip gewährleistet. Des Weiteren ist ein Standard-Reservoir integriert, welches für den Einsatz von Standards in Aktivitätstests mit radioaktiv markierten Liganden ausgelegt ist. An dieser Stelle besteht die Möglichkeit, Referenzsubstanzen einzubringen, um spezifische Bindungs- und Aktivitätsana-lysen durchzuführen. Die dabei generierten Signale werden mittels BAS-Platten (Bioimaging Analyzer System) erfasst, wodurch eine präzise quantitative Evaluierung der radioaktiven Markierungen gewährleistet wird. Das Reservoir gewährleistet eine kontrollierte und reproduzierbare Umgebung, sodass standardisierte Messungen im Rahmen pharmakologischer oder toxikologischer Untersuchungen durchgeführt werden können.

3.2 Skalierung

Die Entwicklung von MPS stellt eine vielversprechende Methode dar, um menschliche physiologische Prozesse *in vitro* zu emulieren. Eine entscheidende Herausforderung bei der Entwicklung solcher Systeme ist die Skalierung der relevanten Parameter, um eine möglichst physiologische Darstellung zu gewährleisten. Die nachfolgende Abb. 08 stellt diese Faktoren schematisch dar.

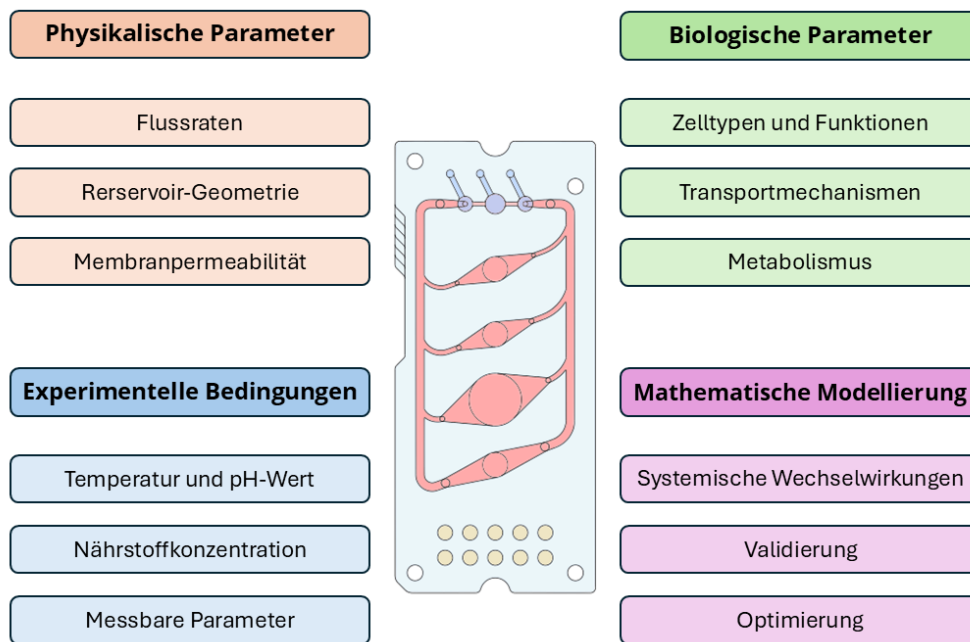


Abb. 08: Schematische Darstellung der Einflussfaktoren auf die Skalierung des MPS: Die Skalierung wird durch physikalische Parameter (z. B. Flussraten, Geometrie), biologische Faktoren (z. B. Zelltypen, Metabolismus), experimentelle Bedingungen (z. B. messbare Parameter, Nährstoffkonzentration) sowie mathematische Modellierung (z. B. Charakterisierung, Optimierung) bestimmt. Die Wechselwirkungen zwischen diesen Faktoren sind entscheidend für die präzise Abbildung physiologischer Prozesse im *In-vitro*-System.

Die Skalierung des MPS hängt maßgeblich von vier Einflusskategorien ab: physikalische Parameter, biologische Parameter, experimentelle Bedingungen und mathematische Modellierung. Physikalische Parameter umfassen insbesondere die Flussraten innerhalb des Systems, die Geometrie der Reservoirs sowie die Permeabilität der verwendeten Membranen. Diese Faktoren beeinflussen die Verweildauer von Substanzen, den Stoffaustausch zwischen den Organmodellen und die auf die Zellen wirkenden Scherkräfte. Während einige dieser Parameter, wie etwa die Geometrie, festgelegt sind, können andere – insbesondere die Flussraten – flexibel angepasst werden, um eine möglichst realistische Simulation der physiologischen Bedingungen zu ermöglichen.

Biologische Parameter sind von entscheidender Bedeutung, da sie die funktionale Skalierung direkt beeinflussen. Dazu zählen die Auswahl geeigneter Zelltypen, ihre metabolische Aktivität und Transportmechanismen sowie spezifische Zell-zu-Zell-Interaktionen. Besonders relevant sind dabei die Wechselwirkungen zwischen Leber-, Nieren- und Tumorzellen, da diese für die Emulation von Arzneimittelmetabolismus und -toxizität eine essenzielle Rolle spielen. Beispielsweise hängt die Funktion eines Leberäquivalents stark von der richtigen Mediumzusammensetzung und der Anzahl der Sphäroide ab, um eine realistische Metabolitbildung zu gewährleisten.

Experimentelle Bedingungen bestimmen die Systemstabilität und Reproduzierbarkeit der Messergebnisse. Dazu gehören unter anderem die Nährstoffversorgung, Temperatur und pH-Wert innerhalb des Systems. Außerdem sind messbare Parameter wie die Stoffwechselaktivität der Zellen oder die Konzentration spezifischer Substanzen entscheidend, um Rückkopplungsmechanismen für die Optimierung der funktionellen Skalierung zu etablieren. Diese Daten ermöglichen eine gezielte Anpassung der Flussraten und Zellbesiedlungsdichten, um die Funktionalität des Systems zu optimieren.

Schließlich spielt die mathematische Modellierung eine wesentliche Rolle für die funktionale Skalierung, da sie komplexe systemische Wechselwirkungen abbilden kann. Mithilfe von Simulationen können kritische Parameter wie Flussraten, Verweilzeiten und Stoffaustauschraten optimiert werden. Darüber hinaus erlaubt die Modellierung eine iterative Anpassung der Skalierungsstrategien, indem Vorhersagen mit experimentellen Daten abgeglichen werden, um eine möglichst hohe Übereinstimmung mit physiologischen Bedingungen zu erreichen.

Ausgehend vom Niere-on-Chip Modell wurde mit der Überführung der einzelnen Modelle (Niere, Leber und Tumor) in einen Chip begonnen. Dafür wurde eine lineare Skalierung ausgehend von der in vivo Situation der Niere, genauer des proximalen Tubulus, durchgeführt. Da die Funktionalität des proximalen Tubulus maßgeblich durch die Filtrationsfläche limitiert ist, wurde diese als Ausgangsparameter genutzt. Der proximale Tubulus wurde im Niere-on-Chip Modell innerhalb eines 24-well Transwell Inserts etabliert. Da diese eine Grundfläche von 33,6 mm² entspricht dies der 10 bis 19fachen Fläche eines proximalen Tubulus in vivo. Im Vergleich zur in vivo Fläche aller proximalen Tubuli entspricht dies einer Skalierung von ca. 1:200000. Entsprechend dieser Ausgangssituation wurden die Reservoirs von Leber und Tumor angepasst und noch ein zusätzliches Reservoir hinzugefügt, welches als Rest of the body bezeichnet wird und zusammengefasst alle nicht abgebildeten Organe abbildet. Hintergrund dessen ist der Gesamtvolumenstrom im System. Betrachtet man sich die in vivo Situation, so fließt nur ein Teil des Blutes durch Leber, Niere und potentielle Tumore. Entsprechend stellt das Reservoir. Der daraus entwickelte Chip wird nachfolgend in Abbildung 9 dargestellt.

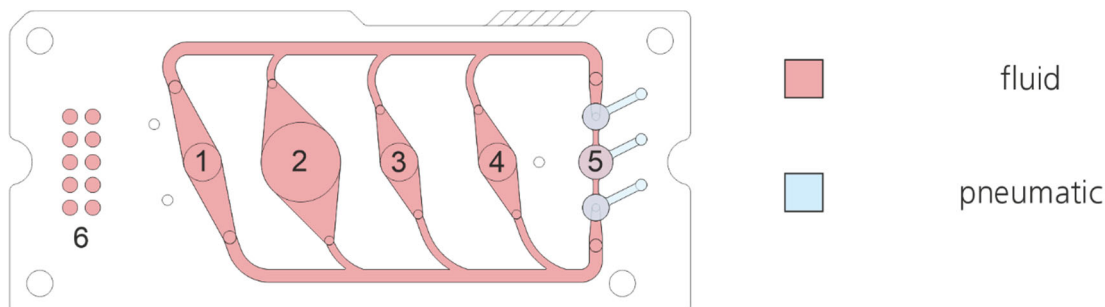


Abb. 09: MPS-RP Chip mit vier Reservoirs. Rot: Zellkulturmedium, Blau: Pneumatik. 1) Tumor Reservoir, 2) Reservoir für den proximalen Tubulus, 3) Reservoir für Lebersphäroide, 4) Rest of the body Reservoir, 5) Peristaltik Pumpe, 6) Reservoir zum Mitführen der Standardreihe.

Mit Hilfe der Software Comsol Multiphysics war es möglich, die Dimensionen der Kanäle präzise zu entwerfen und zu optimieren. Durch die Nutzung dieser fortschrittlichen Technologie konnten wir nicht nur die geometrischen Maße der Kanäle bestimmen, sondern auch deren spezifische Eigenschaften und Verhaltensweisen unter unterschiedlichen Betriebsbedingungen analysieren. Die Simulationsergebnisse lieferten wertvolle Einblicke, die es uns ermöglichten, effektive und funktionale Designs zu entwickeln, die den Anforderungen des Projekts gerecht werden.

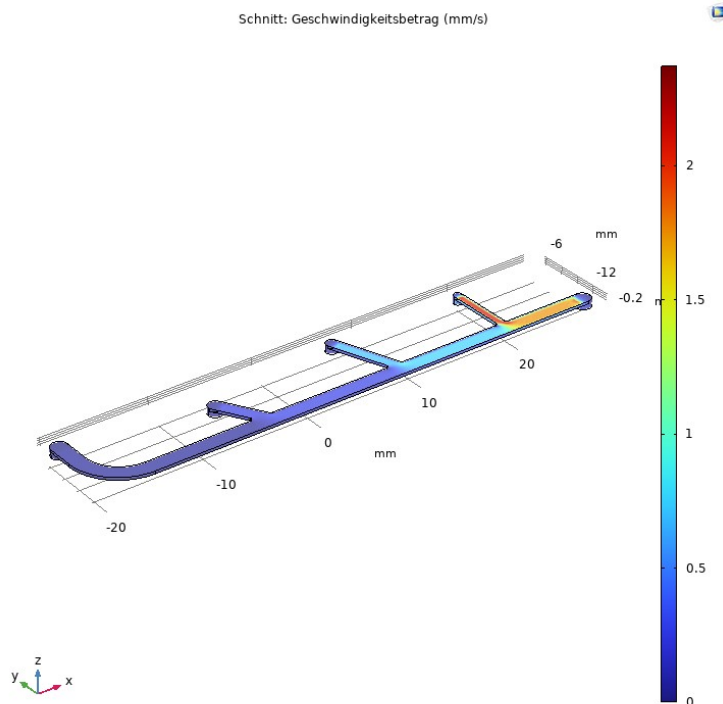


Abb. 10: Simulation der Strömungsgeschwindigkeiten in den Zulaufkanälen des MPS

In Abbildung 11 wird nachfolgend einer der gefertigten Chips ausführlich abgebildet, der im Rahmen unseres Projekts entwickelt und produziert wurde. Der Chip selbst repräsentiert das Ergebnis umfangreicher Entwicklungs- und Fertigungsprozesse, in denen modernste Technologien und Methoden zur Anwendung kamen.

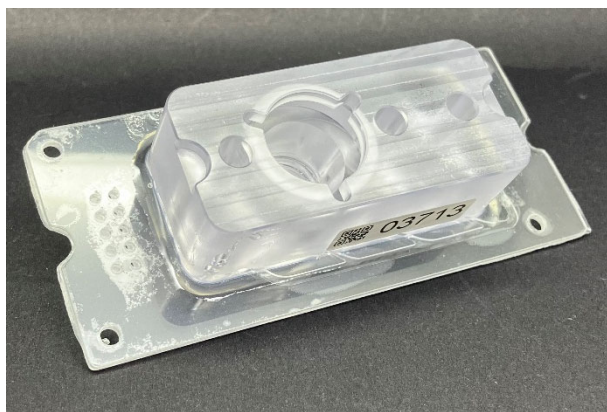


Abb. 11: Gefertigter MPS-RP Chip mit Aufnahme für Transwell Insert.

Der Chip weist mehrere konstruktive Merkmale auf, die eine einfache Handhabung und vielseitige Anwendbarkeit ermöglichen. Er ist sowohl mikroskopierbar als auch sterilisierbar, wobei hierfür Ethanol- und Ethylenoxid-Sterilisation angewendet werden können. Zudem ist der Chip lösungsmittelresistent und biokompatibel, sodass Zelltypen problemlos kultiviert werden können. Weitere technische Details können dem Anhang A dieser Arbeit entnommen werden. Die nachfolgende Abbildung 12 fasst das Konzept des MPS zusammen.

Komponente	Funktion	Besonderheiten
Rest of the Body	Simulation des systemischen Kreislaufs, Medikamentenzugabe	Einfluss auf Verweilzeit und Exposition in den Organäquivalenten
Lebersphäroide	Nachbildung der Leberfunktion	Verwendung von HepG2-Zellen, Tiefer liegend, um Ausspülung zu verhindern
Proximale tubuläre Epithelzellen	Simulation der Nierenfunktion	Besiedelung mit RPTEC/TERT-1 und Endothelzellen (HUVEC), Nachbildung nephrotoxischer Effekte
Tumorsphäroide	Untersuchung von Tumorexposition und -wirkung	Verwendung von Zelllinien wie A431 oder PC-12 Tiefer liegend, um Ausspülung zu verhindern
Standard-Reservoir	Einsatz von Standards für Aktivitätstests	Ermöglicht quantitative Analysen von Ligandenbindungen
Fluidsteuerung	Steuerung des Mediumflusses im System	Pneumatische Aktuatoren regulieren den Fluss durch die Kompartimente

Abb. 12: : Zusammenfassung des MPS-Konzepts

3.3

Charakterisierung der Volumenstromverteilung

Die Verteilung des Volumenstroms innerhalb eines MPS ist entscheidend für die Nachbildung physiologischer Bedingungen und die Reproduzierbarkeit experimenteller Ergebnisse. Nachdem das grundlegende MPS-Konzept und dessen technische Umsetzung vorgestellt wurde, lag der Fokus auf der experimentellen Charakterisierung der Volumenstromverteilung. Mithilfe der μ PIV wurden die Strömungsprofile innerhalb der Kanäle analysiert, um die Übereinstimmung mit den theoretisch festgelegten Sollwerten zu überprüfen. Die experimentellen Daten dienen zur Bewertung der Flusstabilität sowie zur Identifikation möglicher Abweichungen und Optimierungspotenziale des Systems. Dabei werden sowohl statistische Analysen als auch Vergleiche mit theoretisch berechneten Werten durchgeführt, um eine präzise Kontrolle der mikrofluidischen Bedingungen sicherzustellen. Die Werte basieren auf 12 unabhängigen Messungen pro Bedingung.

Die Volumenströme des MPS wurden basierend auf der linearen Skalierung (1:200.000) berechnet. Die angestrebte Volumenstromverteilung (SOLL-Werte) für die einzelnen Kompartimente ist in Abbildung 13 dargestellt.

Kompartiment	Volumenstrom-SOLL-Werte (μ L/s)
Rest of the Body	0,25
Leberäquivalent	0,12
Nierenäquivalent	0,05
Tumoräquivalent	0,05

Abb. 13: Tabelle 1: Angestrebte Volumenstromverteilung (SOLL-Werte) im MPS bei 5 bpm

Die Strömungsverhältnisse wurden mittels μ PIV-Technik gemessen, um die Fluidbewegung in den Kanälen zu untersuchen. Dabei wurden Tracerpartikel verwendet, und die Bildauswertung erfolgte mit der Software Trackpy. Ziel war es, die experimentellen Volumenströme mit den theoretisch berechneten Werten zu vergleichen und mögliche Abweichungen zu identifizieren. Der Analyseprozess gliederte sich in folgende Schritte:

1. **Bildvorverarbeitung:** Reduktion von Rauschen und Optimierung des Kontrasts durch Filtermethoden.
2. **Partikelverfolgung:** Verknüpfung der Partikelpositionen über mehrere Frames mittels `tp.link()`, um exakte Trajektorien zu rekonstruieren.
3. **Fehlerkorrektur und Filterung:** Entfernung unrealistischer Trajektorien zur Verbesserung der Präzision.
4. **Berechnung der Geschwindigkeitsvektoren:** Differenzierung der Partikelpositionen über die Zeit zur Bestimmung strömungsmechanischer Größen.
5. **Datenvisualisierung:** Darstellung der Ergebnisse als Diagramme.

Die ermittelten Flussgeschwindigkeiten wurden, wie in Abbildung 14 beispielhaft dargestellt, in Abhängigkeit von der Zeit visualisiert.

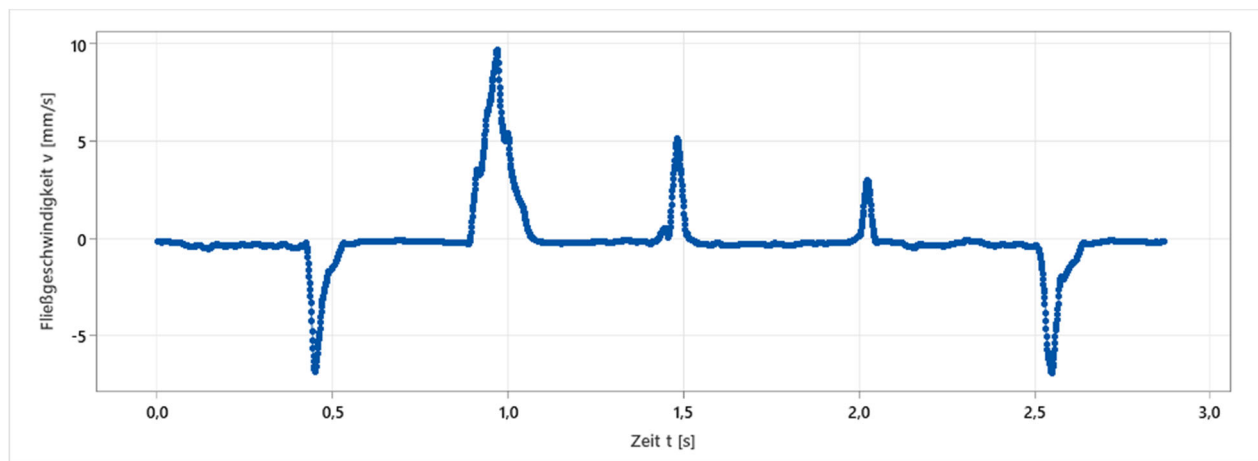


Abb. 14: Strömungsprofil der pneumatischen Pumpe, basierend auf einer μ PIV-Messung: Dargestellt ist die Flussgeschwindigkeit v [mm/s] in Abhängigkeit von der Zeit t [s]. Die periodischen Schwankungen der Geschwindigkeit zwischen -10 mm/s und +10 mm/s verdeutlichen die oszillierende Strömung, die durch die pneumatische Pulsation erzeugt wird. Dieses Muster weist auf eine gleichmäßige und reproduzierbare Fördercharakteristik hin, die für die Simulation physiologischer Flussbedingungen in mikrofluidischen Zellkultursystemen essenziell ist.

3.4

Analyse der Strömungsdaten und statistische Bewertung der Flussraten

Zur Auswertung der experimentellen Strömungsdaten wurde der Volumenstrom \dot{V} basierend auf der gemessenen Strömungsgeschwindigkeit v berechnet (Gleichung (1)).

$$\dot{V} = v \times A \quad (1)$$

Dabei wurde für die Tubuluskanäle ein Querschnitt von $A = 0,25 \text{ mm}^2$ verwendet. Zur Prüfung, ob sich die gemessenen Flussraten signifikant von den SOLL-Werten unterscheiden, wurde für jeden Kanal (Ein- und Ausgang) ein t-Test für eine Stichprobe

durchgeführt. Abb. 15 zeigt die berechneten p-Werte, wobei Werte über 0,05 auf keine signifikante Abweichung hinweisen.

Kompartiment	Kanal (Ein-/Ausgang)	p-Wert
Rest of the Body	Eingang	0,249
Rest of the Body	Ausgang	0,725
Leberäquivalent	Eingang	0,804
Leberäquivalent	Ausgang	0,456
Nierenäquivalent	Eingang	0,320
Nierenäquivalent	Ausgang	0,399
Tumoräquivalent	Eingang	0,454
Tumoräquivalent	Ausgang	0,934

Abb. 15: Ergebnisse der t-Tests zum Vergleich der gemessenen Flussraten mit den SOLL-Werten in den Kompartimenten des Multiorganchips (p-Werte > 0,05 zeigen keine signifikante Abweichung).

Die Ergebnisse zeigen, dass sich in keinem Kompartiment die gemessenen Flussraten signifikant von den SOLL-Werten unterscheiden. Der höchste p-Wert wurde für den Ausgang des Tumoräquivalents ($p=0,934$) beobachtet, was auf eine exakte Übereinstimmung mit dem SOLL-Wert hindeutet. Zusammenfassend stimmen die gemessenen Flussraten mit den Referenzwerten überein, und die Abweichungen liegen innerhalb der Reproduzierbarkeit unterstreicht die funktionale Zuverlässigkeit des Systems.

Die in Abbildung 16 dargestellten Boxplots zeigen die gemittelten Volumenströme ($\mu\text{L/s}$) für die vier Kompartimente: Rest of the Body, Leberäquivalent, Nierenäquivalent (Proximaler Tubulus) und Tumoräquivalent. Eingangs- und Ausgangsflüsse sind separat dargestellt.

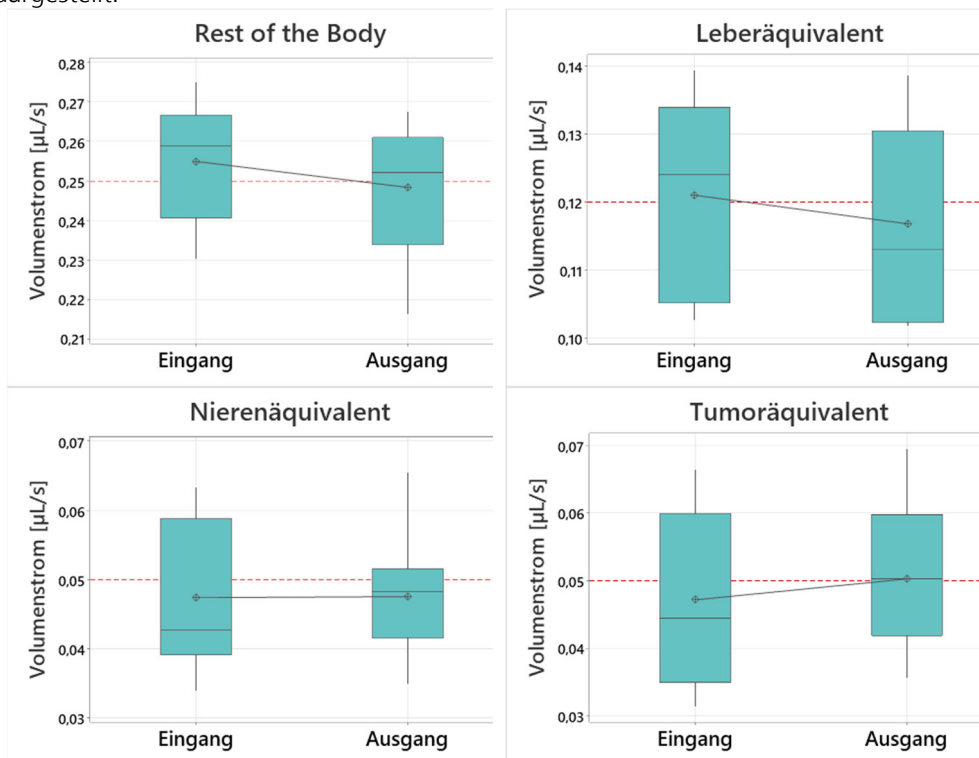


Abb. 16: Boxplots der gemessenen Volumenströme ($\mu\text{L/s}$): Volumenströme für Eingang und Ausgang in den vier Kompartimenten des Multiorganchips (Rest of the Body, Leberäquivalent, Nierenäquivalent und Tumoräquivalent). Die Boxen zeigen den IQR, der Median (horizontale Linie) sowie den Mittelwert (Verbindungsline). Rote gestrichelte Linien markieren die SOLL-Werte. Die Werte basieren auf 12 unabhängigen Messungen pro Bedingung.

Die Boxen repräsentieren die Interquartilsabstände (IQR, 25.–75. Perzentil), während der Mittelwert durch eine Verbindungslinie zwischen den Eingangs- und Ausgangsboxplots angezeigt wird. Die horizontale Linie innerhalb jeder Box stellt den Medianwert der Messungen dar. Die roten gestrichelten Linien markieren die jeweiligen SOLL-Werte, um eine visuelle Referenz für die erwarteten Flussraten bereitzustellen. Einzelne Ausreißer sind in den Diagrammen sichtbar, insbesondere im Bereich des Nierenäquivalents.

Die Boxplots zeigen, dass die gemessenen Flussraten in den meisten Kompartimenten stabil sind und nahe an den erwarteten SOLL-Werten liegen. Allerdings gibt es feine Unterschiede zwischen den Kompartimenten hinsichtlich der Verteilung und der Abweichung vom SOLL-Wert.

Die Eingangswerte im Rest of the Body-Kompartiment streuen oberhalb des SOLL-Werts von $0,25 \mu\text{L/s}$, während die Ausgangswerte näher an der Referenz liegen. Median und Mittelwert zeigen nur minimale Abweichungen, was auf eine konstante Flussregulierung in diesem Bereich hinweist. Die Eingangswerte in das Kompartiment des Leberäquivalents streuen etwas stärker als die Ausgangswerte. Der Median liegt leicht über dem SOLL-Wert von $0,12 \mu\text{L/s}$, während die Mittelwerte für Eingang und Ausgang in guter Übereinstimmung mit der Referenzlinie liegen. Eine leichte Verringerung des Flusses zwischen Eingang und Ausgang ist erkennbar, jedoch ohne signifikante Abweichung. Im Kompartiment des Nierenäquivalent zeigt sich die größte Variation, insbesondere bei den Eingangsflüssen. Einzelne Messwerte liegen deutlich unterhalb der Referenz von $0,05 \mu\text{L/s}$, was auf mögliche Variabilität innerhalb der Mikrofluidik hindeutet. Die Ausgangsflüsse zeigen hingegen eine geringere Streuung und sind näher am SOLL-Wert. Die Eingangswerte in das Kompartiment des Tumoräquivalents streuen etwas stärker, jedoch bleiben Mittelwert und Median relativ nah am SOLL-Wert von $0,05 \mu\text{L/s}$. Der Ausgang zeigt eine vergleichbare Verteilung, sodass keine systematischen Unterschiede zwischen Ein- und Ausgang erkennbar sind. Im Vergleich zu anderen Studien, die sich häufig auf theoretische Modellierungen oder weniger aufgelöste Messverfahren stützen, bietet die hier angewandte Methodik entscheidende Vorteile. Die Kombination aus experimentellen μPIV -Messungen, systematischer Bildverarbeitung und statistischer Analyse ermöglichte die Charakterisierung der Strömungsdynamik. Die Übereinstimmungen zwischen experimentellen und theoretischen Flussraten spricht für die funktionale Zuverlässigkeit des Systems und zeigt, dass die hier entwickelte Methode eine präzise und reproduzierbare Grundlage für die Untersuchung von MPS darstellt.

3.5

Analyse der experimentell bestimmten Volumenstromverteilung im MPS

Um die relative Verteilung der Volumenströme auf die verschiedenen Kompartimente des Multiorganchips zu bestimmen, wurde der Mittelwert $\dot{V}_{Mittel,i}$ der gemessenen Ein- und Ausgangsflussraten für jedes Kompartiment verwendet. Aus diesem wurde der Gesamtvolumenstrom \dot{V}_{gesamt} des Systems durch die Summe aller mittleren Volumenströme bestimmt.

$$\dot{V}_{gesamt} = \sum_i \dot{V}_{Mittel,i} \quad (2)$$

Die prozentuale Verteilung der Flüsse wurde daraufhin mittels Gleichung 5 berechnet

$$\begin{aligned} \text{Relativer Anteil} \\ = \frac{\dot{V}_{Mittel,i}}{\dot{V}_{gesamt}} \times 100 \quad (3) \end{aligned}$$

Nach Anwendung dieser Berechnungen ergeben sich für die einzelnen Kompartimente die in 15 dargestellten relativen Anteile am Gesamtvolumenstrom.

Kompartiment	Mittelwert (µl/s)	Relative Verteilung (%)	Theoretische Verteilung (%)	Abweichung (%)
Rest of the Body	0.251	53.80	52.9	+0.90
Leberäquivalent	0.1185	25.40	25.9	-0.50
Nierenäquivalent	0.047	10.08	10.7	-0.62
Tumoräquivalent	0.050	10.72	10.5	+0.22

Abb. 17: Experimentell bestimmte und theoretische Volumenstromverteilung im MPS

Bei der Betrachtung der Abweichungen fällt auf, dass der Volumenstrom im Rest of the Body-Kompartiment um 0,90 % über dem theoretischen Wert liegt. Dies könnte durch Messungenauigkeiten oder eine Flüssigkeitsakkumulation innerhalb des Systems verursacht worden sein. Das Leberäquivalent zeigt eine geringe negative Abweichung von -0,50 %, was darauf hindeutet, dass der dortige Fluss etwas unter dem erwarteten Wert liegt. Ebenso zeigt das Nierenäquivalent mit -0,62 % eine leicht verringerte Flussrate im Vergleich zur Theorie. Das Tumoräquivalent hingegen zeigt mit +0,22 % eine sehr gute Übereinstimmung mit dem erwarteten Wert.

Insgesamt bestätigen diese geringen Abweichungen die Präzision des mikrofluidischen Systems. Die gemessenen Flussraten stimmen mit den theoretischen Referenzwerten überein, was darauf hindeutet, dass die Fluidik des Systems stabil arbeitet. Damit zeigt sich, dass die Strömungsverhältnisse im Multiorganchip gut kontrolliert sind und eine zuverlässige Simulation der physiologischen Bedingungen gewährleistet wird.

3.6

Validierung der Volumenstromverteilung

Um die experimentell bestimmte Volumenstromverteilung im Multiorganchip zu validieren, wurde ein Versuch durchgeführt, bei dem künstliche Sphäroide in das System eingebracht wurden. Diese Sphäroide sollen physiologische Zellaggregate simulieren, um deren Einfluss auf die Strömungsbedingungen innerhalb des Chips zu untersuchen. Konkret wurden 60 Sphäroide mit einem Durchmesser von 0,5 mm in das Leberäquivalent-Reservoir sowie 12 Sphäroide mit einem Durchmesser von 1 mm in das Tumoräquivalent-Reservoir eingebracht. Ziel des Versuchs ist es, mögliche Veränderungen der Volumenstromverteilung aufgrund der zusätzlichen hydrodynamischen Widerstände zu analysieren.

Die Anzahl der Sphäroide ergab sich aus den vorangegangenen Validierungsexperimenten, während die Durchmesser der Sphäroide anhand der realen Zellsphäroide gemessen wurden (siehe Mikroskopaufnahmen in 18).

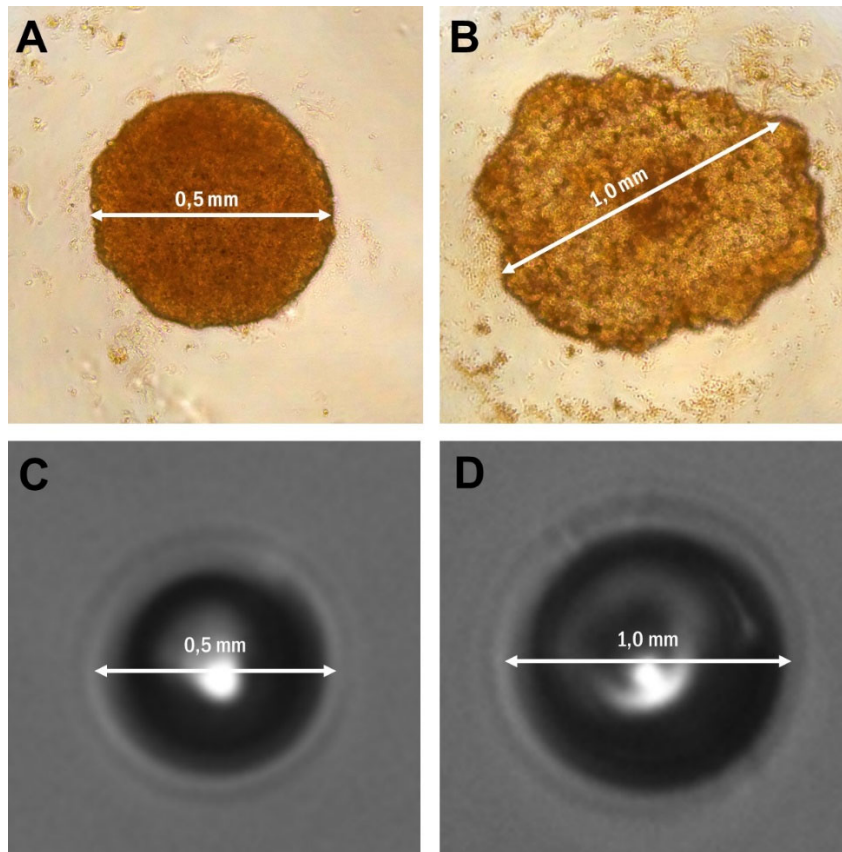


Abb. 18: Mikroskopische Aufnahmen der Sphäroide: (A) zeigt ein HepG2-Sphäroid mit einem Durchmesser von 0,5 mm, (B) zeigt ein PC-12-Sphäroid mit einem Durchmesser von 1,0 mm, (C) zeigt ein künstliches Sphäroid mit einem Durchmesser von 0,5 mm und (D) zeigt ein künstliches Sphäroid mit einem Durchmesser von 1,0 mm. Alle Sphäroide sind mit einer Messkala versehen, die den jeweiligen Durchmesser anzeigt.

Für HepG2 Sphäroide ergaben sich bei der Messung des Durchmessers Größen zwischen 0,5 und 0,7 mm, während die Durchmesser der PC-12 Sphäroide im Bereich von 1 mm lagen.

Die künstlichen Sphäroide wurden aus Alginat hergestellt und vor der Messung in die mit Mikropartikelsuspension gefüllten MPS eingebracht. Die Ergebnisse der μ PIV-Messung sind in den folgenden Diagrammen dargestellt und werden mit den Ergebnissen ohne Sphäroide verglichen.

Die nachfolgende Abbildung **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.** 19 stellt die gemessenen Volumenströme für jedes Kompartiment des Multiorganchips dar. Die Balkendiagramme zeigen die Werte für die Messungen mit und ohne Sphäroide jeweils für den Eingang und Ausgang jedes Kompartiments.

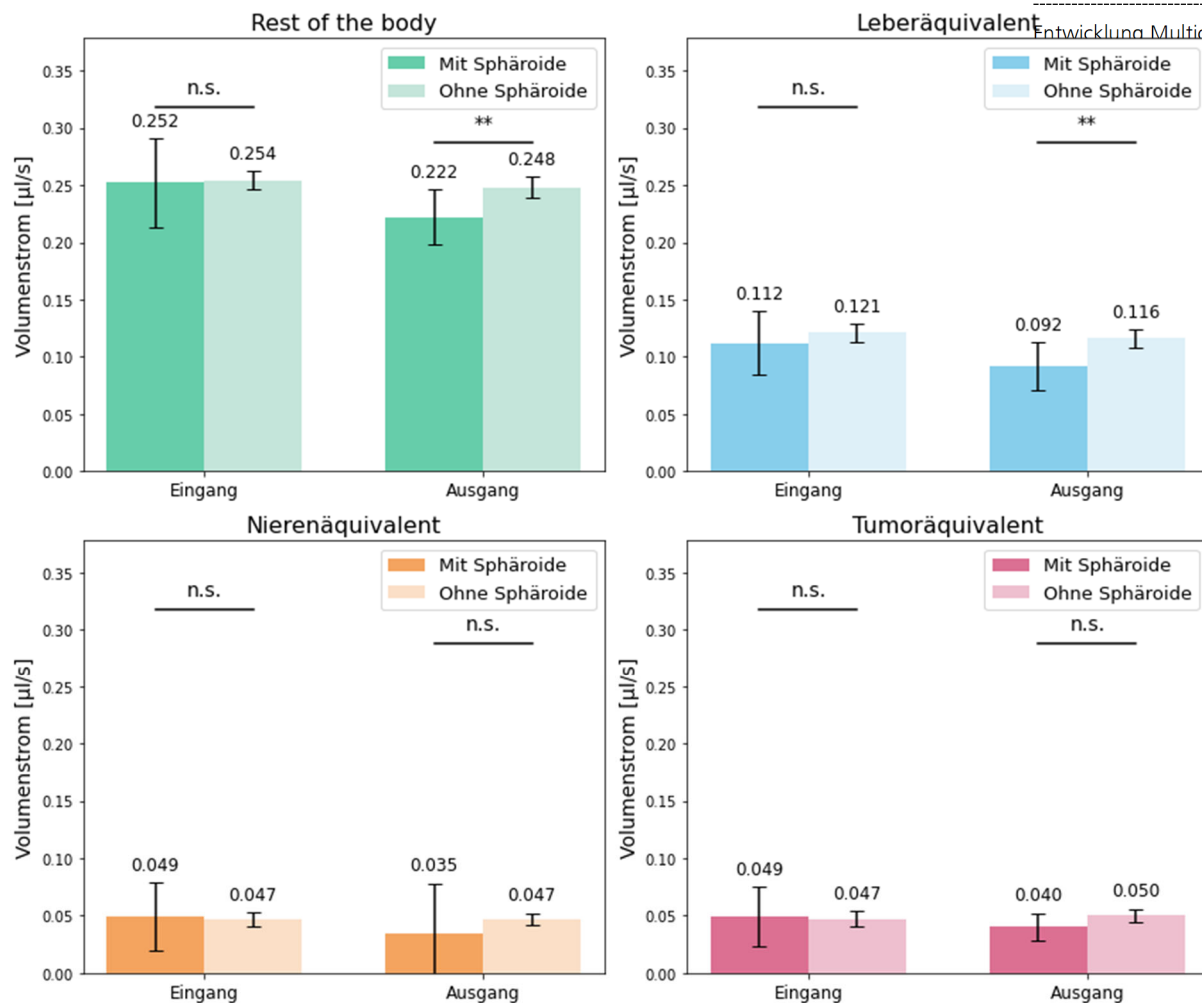


Abb. 19: Vergleich der Volumenströme in den Kompartimenten des Multiorganchips mit und ohne Sphäroide: Die Balkendiagramme zeigen die gemessenen Volumenströme für den Eingang und Ausgang der vier betrachteten Kompartimente: Rest of the Body, Leberäquivalent, Nierenäquivalent und Tumoräquivalent. Dunklere Balken repräsentieren die Messwerte mit Sphäroiden, während hellere Balken die Werte ohne Sphäroide darstellen. Dargestellt sind die Mittelwerte aus drei unabhängigen Messungen pro Bedingung. Die Fehlerbalken repräsentieren das 95 %-Konfidenzintervall.

Die dargestellten Diagramme zeigen die Volumenstromverteilung in einem Multiorganchip mit und ohne das Einbringen von Sphäroiden in die jeweiligen Kompartimente. Jedes Diagramm stellt die Messwerte eines spezifischen Kompartiments dar (Rest of the Body, Leberäquivalent, Nierenäquivalent, Tumoräquivalent) und vergleicht die Volumenströme am Eingang und Ausgang des jeweiligen Bereichs. Die Balken repräsentieren die mittleren gemessenen Volumenströme, während die Fehlerbalken die 95 %-Konfidenzintervalle angeben. Im Kompartiment Rest of the Body zeigt sich, dass der Eingangstrom mit Sphäroiden (0,252 µl/s) und ohne Sphäroide (0,254 µl/s) nahezu identisch ist. Das 95 %-Konfidenzintervall für die Messung mit Sphäroiden ist jedoch breiter ($\pm 0,039$ µl/s) als für den Sollwert ($\pm 0,008$ µl/s), was auf eine größere Variabilität der Messwerte hinweist. Am Ausgang reduziert sich der Volumenstrom leicht von 0,248 µl/s (ohne Sphäroide) auf 0,222 µl/s (mit Sphäroiden), was auf eine geringfügige Beeinflussung durch den zusätzlichen hydrodynamischen Widerstand hindeutet. Im Leberkompartiment zeigt sich ein deutlicherer Unterschied zwischen den Bedingungen. Der Eingangstrom reduziert sich von 0,121 µl/s (ohne Sphäroide) auf

0,112 $\mu\text{l/s}$ (mit Sphäroiden), wobei das Konfidenzintervall bei der Messung mit Sphäroiden ($\pm 0,028 \mu\text{l/s}$) breiter ist als beim Sollwert ($\pm 0,008 \mu\text{l/s}$). Der Ausgangsstrom zeigt eine ähnliche Tendenz: Ohne Sphäroide beträgt der Strom 0,116 $\mu\text{l/s}$, während er mit Sphäroiden auf 0,092 $\mu\text{l/s}$ absinkt. Die Differenz zwischen Ein- und Ausgang ist hier mit Sphäroiden größer, was darauf hinweist, dass der Fluss stärker durch den zusätzlichen Widerstand der Sphäroide beeinflusst wird.

Im Nierenkompartiment zeigt sich eine Reduktion des Eingangsstroms von 0,047 $\mu\text{l/s}$ (ohne Sphäroide) auf 0,049 $\mu\text{l/s}$ (mit Sphäroiden), wobei der Unterschied marginal ist. Der Ausgangsstrom hingegen zeigt eine stärkere Abweichung: Ohne Sphäroide liegt der Wert bei 0,047 $\mu\text{l/s}$, während er mit Sphäroiden auf 0,035 $\mu\text{l/s}$ sinkt. Zudem weist dieses Kompartiment die größten Konfidenzintervalle auf, insbesondere bei den Messungen mit Sphäroiden ($\pm 0,030 \mu\text{l/s}$ am Eingang und $\pm 0,043 \mu\text{l/s}$ am Ausgang), was auf eine hohe Messunsicherheit oder Fluktuationen in der Strömungsverteilung hinweisen könnte.

Im Tumorkompartiment ist der Einfluss der Sphäroide auf die Volumenstromverteilung ebenfalls erkennbar. Der Eingangsstrom ohne Sphäroide beträgt 0,047 $\mu\text{l/s}$ und steigt mit Sphäroiden leicht auf 0,049 $\mu\text{l/s}$. Der Ausgangsstrom zeigt eine stärkere Reduktion von 0,050 $\mu\text{l/s}$ (ohne Sphäroide) auf 0,040 $\mu\text{l/s}$ (mit Sphäroiden). Die Konfidenzintervalle sind hier moderat, wobei die Unsicherheit in den Messungen mit Sphäroiden größer ist als in den Sollwerten.

Die Ergebnisse zeigen, dass das Einbringen der Sphäroide die Volumenstromverteilung in den verschiedenen Kompartimenten beeinflusst. Besonders in den Kompartimenten Leberäquivalent und Nierenäquivalent zeigt sich eine deutliche Reduktion des Ausgangsstroms, was darauf hindeutet, dass die Sphäroide dort eine signifikante Erhöhung des hydrodynamischen Widerstands bewirken. Die Konfidenzintervalle der Messwerte mit Sphäroiden sind in der Regel breiter als die der Sollwerte, was auf größere Variabilität und potenzielle Messunsicherheiten hinweist. Insgesamt deuten die Ergebnisse darauf hin, dass die Integration von Sphäroiden in das System die Strömungsbedingungen beeinflusst und bei zukünftigen Experimenten berücksichtigt werden muss.

Die folgende Tabelle zeigt die relative Volumenstromverteilung für die einzelnen Kompartimente des Multiorganchips mit und ohne Sphäroide sowie die prozentuale Abweichung zwischen beiden Bedingungen. Die Werte geben an, wie sich der Volumenstrom durch die eingefügten Sphäroide verändert hat und liefern wichtige Hinweise auf potenzielle Umverteilungen des Mediums innerhalb des Systems. Die Berechnung der relativen Volumenstromverteilung erfolgte für jeden Ein- und Ausgangskanal nach Gleichung 6.

$$\begin{aligned}
 & \textit{Relative Verteilung}_i \\
 &= \left(\frac{\textit{Mittelwert von } \dot{V} \textit{ im Kanal}_i}{\textit{Summe der Mittelwerte der } \dot{V} \textit{ aller Kanäle}} \right) \times 100 \% \quad (6)
 \end{aligned}$$

Kompartiment	Kanal	Relative Verteilung ohne Sphäroide (%)	Relative Verteilung mit Sphäroiden (%)	Abweichung (%)
Rest of the Body	Eingang	54,62	54,16	0,46
	Ausgang	56,98	53,8	3,19
Leber-äquivalent	Eingang	24,17	25,8	-1,63
	Ausgang	23,74	25,16	-1,43
Nieren-äquivalent	Eingang	10,53	10,02	0,51
	Ausgang	9,08	10,2	-1,11
Tumor-äquivalent	Eingang	10,68	10,02	0,66
	Ausgang	10,2	10,85	-0,65

Abb. 20: Vergleich der relativen Volumenstromverteilung in den Kompartimenten des Multiorganchips mit und ohne Sphäroide

Die Analyse der relativen Volumenstromverteilung in den verschiedenen Kompartimenten des MPS zeigt einige Abweichungen von den erwarteten SOLL-Werten. Im Bereich Rest of the Body ist eine Erhöhung des relativen Volumenstroms sowohl am Eingang als auch am Ausgang zu beobachten. Diese Abweichung könnte darauf hindeuten, dass der Widerstand in anderen Kompartimenten zu einer Umverteilung des Mediums führt. Da dieser Bereich kein spezifisches Zellmodell enthält, verbleibt möglicherweise mehr Medium dort oder wird weniger effizient umverteilt.

Im Leberäquivalent zeigt sich eine leichte Reduktion des relativen Volumenstroms sowohl am Eingang als auch am Ausgang. Dies könnte durch einen erhöhten Strömungswiderstand innerhalb des Kompartiments verursacht sein, der die Durchflussrate verringert. Eine mögliche Erklärung wäre die spezifische Geometrie oder Anordnung der Kanäle, die den Fluss leicht beeinflussen kann.

Im Nierenäquivalent ist eine Erhöhung des Eingangszuflusses festzustellen, während der Ausfluss leicht unter den erwarteten Werten liegt. Dies deutet auf veränderte strukturelle Gegebenheiten oder veränderte Strömungsdynamik hin. Ein ähnlicher Effekt zeigt sich im Tumoräquivalent, wo der Eingangszufluss leicht erhöht, der Ausgangsfluss jedoch reduziert ist. Dieser Effekt könnte auf strukturelle Gegebenheiten oder veränderte Strömungsdynamik zurückzuführen sein. Diese Unterschiede in der Strömungsverteilung sind wahrscheinlich auf die hydrodynamischen Eigenschaften der verwendeten Strukturen zurückzuführen. Die Untersuchung wurde mit künstlichen Sphäroiden durchgeführt, die möglicherweise eine andere Morphologie und mechanische Stabilität aufweisen als echte Zellaggregate. Insbesondere Alginate- oder Agarose-Sphäroide könnten eine höhere strukturelle Stabilität haben, was den Strömungswiderstand stärker beeinflusst als lebende Zellen mit flexibler Morphologie. Tatsächlich wäre bei realen Zellsphäroiden ein geringerer Widerstand zu erwarten, da Zellaggregate eine gewisse Durchlässigkeit für das Medium besitzen.

Für zukünftige Experimente ist es daher entscheidend, die Strömungseigenschaften mit biologisch relevanten Zellaggregaten erneut zu untersuchen. Nur so lässt sich eine realistische Einschätzung der Perfusionsverhältnisse im Multiorganchip treffen. Darüber hinaus könnten Anpassungen der Kanalgeometrien erforderlich sein, um eine gleichmäßige Verteilung der Perfusion zu gewährleisten.

Langfristig muss das System so optimiert werden, dass realistische Perfusionsbedingungen erreicht werden, ohne dass einzelne Kompartimente über- oder unterversorgt werden. Dies erfordert möglicherweise eine gezielte Anpassung der Strömungsparameter oder den Einsatz strömungslenkender Elemente, um die gewünschte Verteilung der Volumenströme zu stabilisieren.

Nutzung der Ergebnisse

Der voraussichtliche Nutzen des fortgeschriebenen Verwertungsplans liegt in der effektiven Überführung der gewonnenen Erkenntnisse und Technologien in praxistaugliche Anwendungen, insbesondere durch die Implementierung von MPS in der Entwicklung und Charakterisierung von Radiopharmazeutika.

Verwertbarkeit der Ergebnisse:

- **Wissenstransfer und Zusammenarbeit:** Durch den kontinuierlichen Austausch zwischen den Forschungseinrichtungen wird sichergestellt, dass die Fachkenntnisse optimal genutzt werden, was zu einer besseren Qualität der Forschungsergebnisse führt.
- **Methodenentwicklung:** Die Anpassung und Weiterentwicklung von MPS zur Erfüllung spezifischer Anforderungen der Radiopharmazeutika-Charakterisierung ermöglicht präzise und reproduzierbare Testverfahren.
- **Implementierung von MPS-Assays:** Die Priorisierung der Entwicklung von MPS-Assays für die simultane Testung an verschiedenen Modellen wird den Übergang von Forschungsergebnissen in praktische Anwendungen erleichtern.
- **Publikationen und Networking:** Die Sichtbarkeit des Projekts wird durch Veröffentlichungen und Konferenzen erhöht, was den wissenschaftlichen Austausch fördert und neue Kooperationen ermöglicht.
- **Integration in Folgestudien:** Die langfristige Integration der MPS-Technologie in zukünftige Projekte sichert die kontinuierliche Entwicklung und Marktfähigkeit von Radiopharmazeutika.
- **Monitoring und Evaluierung:** Regelmäßige Erfolgskontrollen gewährleisten, dass die gesetzten Ziele erreicht werden und Anpassungen bei Bedarf vorgenommen werden können.

Konkrete Planungen für die nähere Zukunft:

- **Pilotstudien zur Optimierung von MPS-Assays werden durchgeführt**, um die Testverfahren zu verfeinern und zuverlässige Ergebnisse zu gewährleisten.
- **Systematische Validierung** der Assays mit der Einbindung externer Partner wird angestrebt, um objektives Feedback zu erhalten und die Qualität zu sichern.
- **Akquise von Fördermitteln** und die Suche nach Industriepartnerschaften werden intensiv verfolgt, um die Forschung nachhaltig zu finanzieren und die Ergebnisse in marktfähige Produkte zu überführen.

Des Weiteren entwickelt sich derzeit ein vielversprechendes Projekt in Zusammenarbeit mit ROTOP Pharmaka, das darauf abzielt, den Einsatz von Tierversuchen zu minimieren. ROTOP Pharmaka GmbH, ein Unternehmen am Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf, legt besonderen Wert auf die Reduzierung von Tierversuchen im Kontext der Qualitätskontrolle etablierter Radiopharmazeutika. Üblicherweise sind Tierversuche entscheidend zur Gewährleistung der Qualitätsstandards in diesem Bereich. Es wird untersucht, ob der Einsatz mikrophysiologischer Systeme in der Qualitätssicherung und

Standardisierung Tierversuche vermeiden oder zumindest deren Anzahl signifikant reduzieren kann. Dieses Projekt findet großen Anklang in der Industrie, da es nachhaltige und ethisch verantwortliche Lösungen für die Qualitätskontrolle verspricht.

Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens

Insgesamt zielt der Verwertungsplan darauf ab, einen nachhaltigen Beitrag zur Entwicklung innovativer Radiopharmazeutika zu leisten und die Notwendigkeit von Tierversuchen zu reduzieren.

5 Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens

Im Rahmen des Projektes wurde eine systematische Literaturrecherche durchgeführt, bei der insbesondere Studien berücksichtigt wurden, die für die Entwicklung von MPS von entscheidender Relevanz sind. Das Verständnis methodischer Aspekte ist dabei von zentraler Bedeutung. Die MPS-Technologie bietet ein vielversprechendes Potenzial als Werkzeug in der Pharmaforschung, da sie die Arzneimittelentwicklung fördert und ein tieferes Verständnis der Gewebe- und Pathophysiologie ermöglicht. Darüber hinaus ist auch ein Einsatz in der Medizintechnik vorstellbar. Es liegen jedoch bisher keine Hinweise in der Literatur vor, die den Einsatz der MPS-Technologie zur Charakterisierung potenzieller Radiopharmazeutika unterstützen.

6 Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Die wesentlichen Kosten im Projekt MPS waren Personalkosten. Diese sind durch die Arbeitsergebnisse fachlich untersetzt. Das gebuchte Material wurde im Wesentlichen für den Aufbau der Mikrofluidischen Systemen sowie die Funktionalisierung verwendet. Des Weiteren wurden die für die Aktuierung der MPS notwendigeren Anpassungen an den MPS Plattform beschafft. Sonstige unmittelbare Vorhabenkosten haben sich in den Lizenzkosten der Simulationssoftware eingesetzt.

7 Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die Personal- und Sachmittel wurden in Übereinstimmung mit den zuvor festgelegten und detailliert ausgearbeiteten Arbeitspaketen sachgerecht und effizient eingesetzt. Jeder eingesetzte Mitarbeiter sowie jedes verwendete Material und jede Ressource wurden sorgfältig ausgewählt und eingeplant, um den spezifischen Anforderungen des Projekts gerecht zu werden. Der hierfür geleistete Arbeitsumfang war nicht nur notwendig, sondern auch entscheidend, um die definierten Projektziele erfolgreich zu erreichen. Durch die gezielte Allokation der Ressourcen konnten wir sicherstellen, dass alle Teilschritte im Projektverlauf optimal unterstützt wurden, was letztlich zu einem reibungslosen Ablauf und zur Erreichung der gewünschten Ergebnisse führte.

8

Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse

Erfolgte oder geplante
Veröffentlichungen der
Ergebnisse

Sihver, Wiebke; Nitt-Weber, Anne-Kathrin; Behrens, Stephan; Schmieder, Florian; Reissig, Falco; Walther, Martin et al. (2023a): Assessing the binding affinity of a ^{64}Cu -labeled PSMA ligand in a micro physiological system. In: Nuclear Medicine and Biology 126-127, S. 108426. DOI: 10.1016/j.nucmedbio.2023.108426.

Sihver, Wiebke; Nitt-Weber, Anne-Kathrin; Behrens, Stephan; Schmieder, Florian; Ullrich, Martin; Bachmann, Michael et al. (2021): Establishing Micro Physiological Systems by means of a radiolabeled anti-EGFR antibody for the evaluation of new radioligands.

Sihver, Wiebke; Nitt-Weber, Anne-Kathrin; Behrens, Stephan; Ullrich, Martin; Pietzsch, Hans-Jürgen; Sonntag, Frank et al. (2023b): Functionality of a co-culture kidney model: testing the renal barrier with ^{18}F fluorodeoxyglucose. In: Nuclear Medicine and Biology 126-127, S. 108767. DOI: 10.1016/j.nucmedbio.2023.108767.

Sihver, Wiebke; Nitt-Weber, Anne-Kathrin; Behrens, Stephan; Ullrich, Martin; Pietzsch, Hans-Jürgen; Namazian Jam, Negin et al. (2022): Introducing micro physiological systems to evaluate new radiopharmaceuticals: A binding study with radiolabeled cetuximab. In: Current Directions in Biomedical Engineering 8 (2), S. 532–535. DOI: 10.1515/cdbme-2022-1136.

Es folgt eine weitere Veröffentlichung auf der Conference of the Swiss (SSBE), Austrian (ÖBMT) and German (VDE DGBMT) Societies for Biomedical Engineering 2025.