

Vliv velikosti mezivláknenných pórů na buněčnou proliferaci

Bc. Ivana Veverková, Ing. Jiří Chvojka Ph.D.

Abstrakt

Tato studie zkoumá vliv strukturovaných kolektorů na profil a uspořádání elektrostaticky zvlákněné vrstvy polymerních nanovláken. Experimentální výsledky prokázaly, že struktura kolektoru výrazně ovlivňuje ukládání nanovláken. Vytvořené nehomogenní nanovláknenné vrstvy imitují vzor kolektoru a v porovnání s konvenčními nanovláknennými vrstvami vykazovaly větší mezivláknenné póry. Tyto charakteristiky mikro a makrostruktury podpořily lepší buněčnou proliferaci a penetraci buněčného materiálu do vytvořených strukturovaných nanovláknenných scaffoldů.

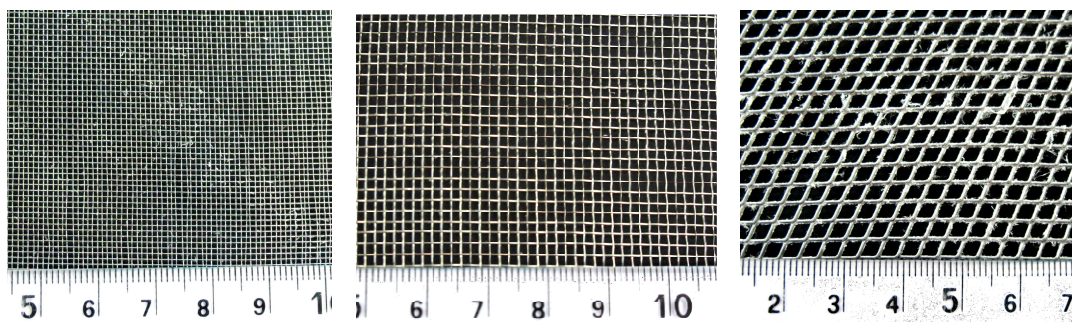
Úvod

Tkáňové inženýrství se zabývá vývojem plně funkční náhrady lidské tkáně. Jako slibné biomimetické materiály se jeví elektrostaticky zvlákněné vrstvy nanovláken, které významně imitují přirozené prostředí extracelulární matrix, jež má vláknenný charakter. Pro tkáňové inženýrství zásadním nedostatkem nanovláknenné vrstvy je velikost mezivláknenných pórů, jež odpovídá řádově průměrům vláken, což je pro buněčný materiál nedostatečné. Snahou je zvětšit póry v nanovláknenné vrstvě při zachování standardních průměrů vláken.

Výzkum a experiment byly prováděny především na základě odborných studií Lowery a kol. [1], J. Rnjak-Kovacina a kol. [2], C. Vaquette a J. J. Cooper-White [3] a I. Shabani a kol. [4], jež se danou problematikou zabývají.

Experiment a metody

Metodou, kterou bylo dosaženo větších velikostí pórů v nanovláknenné vrstvě, bylo použití speciálních strukturovaných kolektorů. Navržené kolektory mají strukturu mříž s různými parametry: kolektor A – mříž 1 mm, kolektor B – mříž 2 mm, kolektor C – mříž 3 mm (Obrázek 1). Na dané kolektory byly vytvořeny nanovláknenné vrstvy 12hm% PVA a 17hm% PCL. Vlastnosti těchto nanovláknenných vrstev byly porovnány s vrstvami nanovláken vytvořených konvenčně na deskové kolektory. Následně byla na scaffoldech testována cytokompatibilita a míra proliferace buněčného materiálu (myší fibroblasty 3T3) v průběhu sedmi dnů, testováno MTT testem.

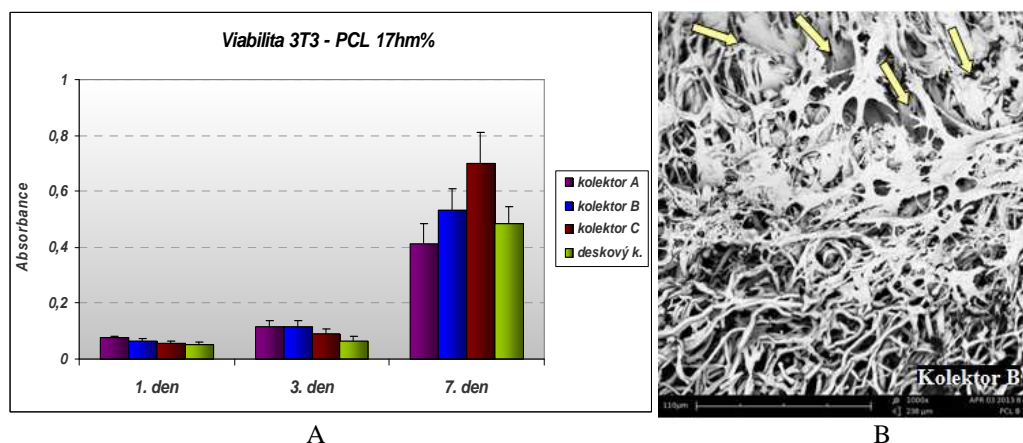


Obrázek 1 – Navržené strukturované kolektory A, B, C.

Výsledky a diskuze

Charakterizací elektrostaticky zvlákněných scaffoldů 12hm% PVA a 17hm% PCL na strukturované kolektory bylo dokázáno, že použití strukturovaných kolektorů vhodných parametrů je efektivní způsob, jak zvýšit velikost pórů v elektrostaticky zvlákněném scaffoldu. Porovnáme-li hodnoty průměrů vláken a velikostí pórů ze strukturovaných kolektorů s vlákny z deskového kolektoru, můžeme konstatovat, že jsme schopni výrazně zvýšit velikost pórů při zachování konstantních nebo i menších průměrů vláken.

Vyrobené scaffoldy vykazují řádově větší póry v segmentech mezi kovovými příčkami kolektorů než scaffoldy z deskového kolektoru. Bylo prokázáno, že tyto scaffoldy zlepšují buněčnou proliferaci a penetraci buněk do objemu matrice. Nejlepší buněčná proliferace byla zaznamenána na PCL scaffoldu z kolektoru C, kde póry v nanovlákněné vrstvě dosahovaly plochy $1,32 \mu\text{m}^2 \pm 42,37 \mu\text{m}^2$. Nejméně proliferovaly buňky na PCL scaffoldu z deskového kolektoru a z kolektoru A. Právě scaffold z kolektoru A měl nejmenší póry z charakterizovaných scaffoldů, a to $0,95 \mu\text{m}^2 \pm 1,57 \mu\text{m}^2$.



Obrázek 2 – (A) Viabilita 3T3 na 17hm% PCL scaffoldech ze strukturovaných a deskového kolektoru. (B) Proliferace a penetrace (značeno šipkami) buněk na scaffoldu z kolektoru B, 7. den kultivace, SEM (měřítko 110 μm).

Závěr

Struktura navržených speciálních kolektorů ovlivnila finální ukládání vláken a tím charakter elektrostaticky zvlákněné nanovlákněné vrstvy. Vznikl tak scaffold, jež je pro proliferaci buněčného materiálu a penetraci buněk do objemu výhodnější, než scaffoldy elektrostaticky zvlákněné na konvenčně používaný deskový kolektor.

Reference

- [1] LOWERY, J. L., N. DATTA a G. C. RUTLEDGE. Effect of fiber diameter, pore size and seeding method on growth of human dermal fibroblasts in electrospun poly(ϵ -caprolactone) fibrous mats. *Biomaterials* [online]. 2010, roč. 31, č. 3, s. 491-504 [cit. 2013-03-04]. ISSN 01429612. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2009.09.072. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961209010242>
- [2] RNJAK-KOVACINA, J., G. WISE, Zhe LI, P. K.M. MAITZ, C. J. YOUNG, Y. WANG a A. S. WEISS. Tailoring the porosity and pore size of electrospun synthetic human elastin scaffolds for dermal tissue engineering. *Biomaterials* [online]. 2011, roč. 32, č. 28, s. 6729-6736 [cit. 2013-03-11]. ISSN 01429612. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2011.05.065. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961211006363>
- [3] VAQUETTE, C. a J. J. COOPER-WHITE. Increasing electrospun scaffold pore size with tailored collectors for improved cell penetration. *Acta Biomaterialia* [online]. 2011, roč. 7, č. 6, s. 2544-2557 [cit. 2013-03-12]. ISSN 17427061. DOI: 10.1016/j.actbio.2011.02.036. Dostupné linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1742706111001061
- [4] SHABANI, I., V. HADDADI-ASL, E. SEYEDJAFARI a M. SOLEIMANI. Cellular infiltration on nanofibrous scaffolds using a modified electrospinning technique. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [online]. 2012, roč. 423, č. 1, s. 50-54 [cit. 2013-03-11]. ISSN 0006291x. DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.05.069.