

Příprava a charakteristika vlákenného nosiče pro náhradu nervové tkáně

Bc. Ilona Krabicová, Ing. Věra Jenčová, Ph.D.

Abstrakt

Cílem této práce byla výroba a charakteristika materiálu z jednotlivých orientovaných vláken, která budou součástí scaffoldu pro regeneraci poraněné míchy. Vlákná byla vyrobena metodou drawing a modifikována povrchovou vrstvou polypyrrolu. Byly popsány vlastnosti polymerního roztoku (viskozita, povrchové napětí), vlastnosti vyrobených vláken (morfologie, mechanické vlastnosti) a jejich cytokompatibilita. Buňky na materiálu dobře proliferovaly a měly tendenci kopírovat při růstu orientaci vláken, proto by tento nosič měl být vhodný substrát pro orientovaný růst neuritů a regeneraci nervové tkáně.

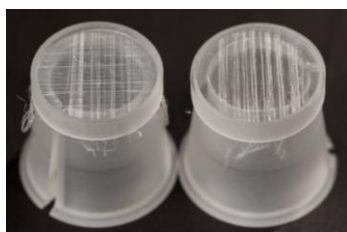
Úvod

V dnešní době stále existují nemoci a zranění, která medicína zatím nedokáže vyléčit. Mezi ně patří mimo jiné i poranění míchy. Tato práce má za úkol vyrobit, charakterizovat a otestovat cytokompatibilitu nosiče z jednotlivých orientovaných PCL vláken modifikovaných povrchovou vrstvou polypyrrolu. Tato vlákna budou součástí implantátu z hydrogelu a orientovaných vláken, který má podpořit růst neuritů požadovaným směrem a tím pomoci regenerovat míchu a obnovit její funkci.

Uspořádaná vlákna podpoří orientovaný růst nervových buněk [1], použití polypyrrolu je výhodné například při elektrické stimulaci buněk, která urychlí růst neuritů [2]. K výrobě vláken je použita metoda drawing, čili tažení jednotlivých orientovaných vláken z kapky polymeru [3], v tomto případě z roztoku polykaprolaktonu (resp. kopolymeru polykaprolaktonu a kyseliny polymléčné - PLCL).

Experiment a metody

Vlákná byla vyrobena na metodou drawing z 12% roztoku PCL (polykaprolaktonu) v chloroformu. K výrobě vláken byl použit přístroj Mikromanipulátor II, který byl sestaven na TUL ve spolupráci fakulty textilní a strojní. Vzniklá orientovaná mikrovlákná byla upevněna na kónické držáky a modifikována vrstvou polypyrrolu.



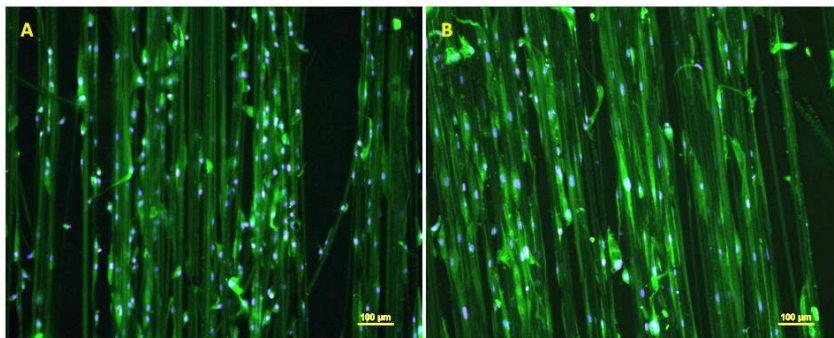
Obrázek 1. Orientovaná vlákna upevněná do kónických držáků.

Bylo testováno, zda je materiál vhodný pro použití v oblasti tkáňového inženýrství. Cytokompatibilita byla testována na buněčných liniích 3T3 (myší fibroblasty) a NHDF (lidské dermální fibroblasty). Viabilita buněk byla hodnocena kolorimetrickým MTT testem a fluorescenční mikroskopií. Původním plánem bylo testovat pouze PCL vlákna, nakonec byla přidána i vlákna kopolymeru PLCL vyrobená a modifikovaná za stejných podmínek jako vlákna PCL. Vlastnosti PCL byly popsány prostřednictvím viskozity roztoku, morfologie vláken a jejich pevnosti v tahu.

Výsledky a diskuze

Metodou drawing vznikla PCL vlákna o průměru v jednotkách mikrometrů (pro PCL $6 \pm 3 \mu\text{m}$). Polypyrrolová vrstva průměr vláken ovlivní jen minimálně a rozdíly mezi vlákny jsou dané technologií výroby, což se potvrdilo při měření na kontrolních vláknech vyrobených na Nanospideru.

Buňky na materiálech dobře rostly a morfologií kopírovaly orientaci vláken (obrázek 2), po 21 dnech byly materiály již plně porostlé a docházelo k útlumu metabolismu buněk.



Obrázek 2. Buňky NHDF na vláknech PCL s vrstvou polypyrrolu 1. testovací den (A), 21. testovací den (B), měřítko odpovídá 100 μm .

Závěr

Metodou drawing se podařilo vyrobit mikrovlákná o průměru několika mikrometrů. Buňky na vláknech dobře proliferují a při růstu kopírují orientaci vláken. V experimentech dosahovala nejlepších výsledků viability buněk 3T3 vlákna PLCL s vrstvou polypyrrolu, bylo by vhodné tyto experimenty zopakovat ještě na linii lidských buněk. Z výsledků vyplývá, že materiál by měl být vhodný pro použití na regeneraci nervové tkáně. V dalším pokračování výzkumu je možné funkcionalizovat vlákna biologicky aktivními látkami, použít elektrickou stimulaci buněk a testovat kompletní kompozitní materiál z hydrogelu a orientovaných vláken. Samozřejmě by bylo vhodné testovat materiály na nervových, příp. kmenových buňkách a sledovat vliv materiálu na diferenciaci buněk a růst neuritů. Vzhledem k tomu, že metoda drawing není v literatuře příliš popsána, bylo by také užitečné prozkoumat důkladně ji i vlastnosti takto vyrobených materiálů.

Poděkování

Touto cestou bych ráda poděkovala vedoucí mé diplomové práce Ing. Věře Jenčové, Ph.D., mé konzultantce Mgr. Kateřině Strnadové a Ing. Tereze Švarcové za cenné rady a pomoc, trpělivost a čas, který mi věnovaly při konzultacích a práci v laboratoři. Poděkování patří také Ing. Janu Lukáškoví za realizaci polypyrrolových vrstev.

Reference

- [1] YANG, F., R. MURUGAN, S. WANG a S. RAMAKRISHNA. Electrospinning of nano/micro scale poly(l-lactic acid) aligned fibers and their potential in neural tissue engineering. *Biomaterials* [online]. 2005, **26**(15), 2603–2610. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2004.06.051
- [2] LEE, Jae Y., Chris A. BASHUR, Aaron S. GOLDSTEIN a Christine E. SCHMIDT. Polypyrrole-coated electrospun PLGA nanofibers for neural tissue applications. *Biomaterials* [online]. 2009, **30**(26), 4325–4335. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2009.04.042
- [3] BAJÁKOVÁ, Jana, Jiří CHALOUPEK, David LUKÁŠ a Maxime LACARIN. „DRAWING“- THE PRODUCTION OF INDIVIDUAL NANOFIBERS BY EXPERIMENTAL METHOD. In: *Nanocon* [online]. 2011. Dostupné z: http://nanocon2013.tanger.cz/files/proceedings/nanocon_11/lists/papers/1140.pdf