



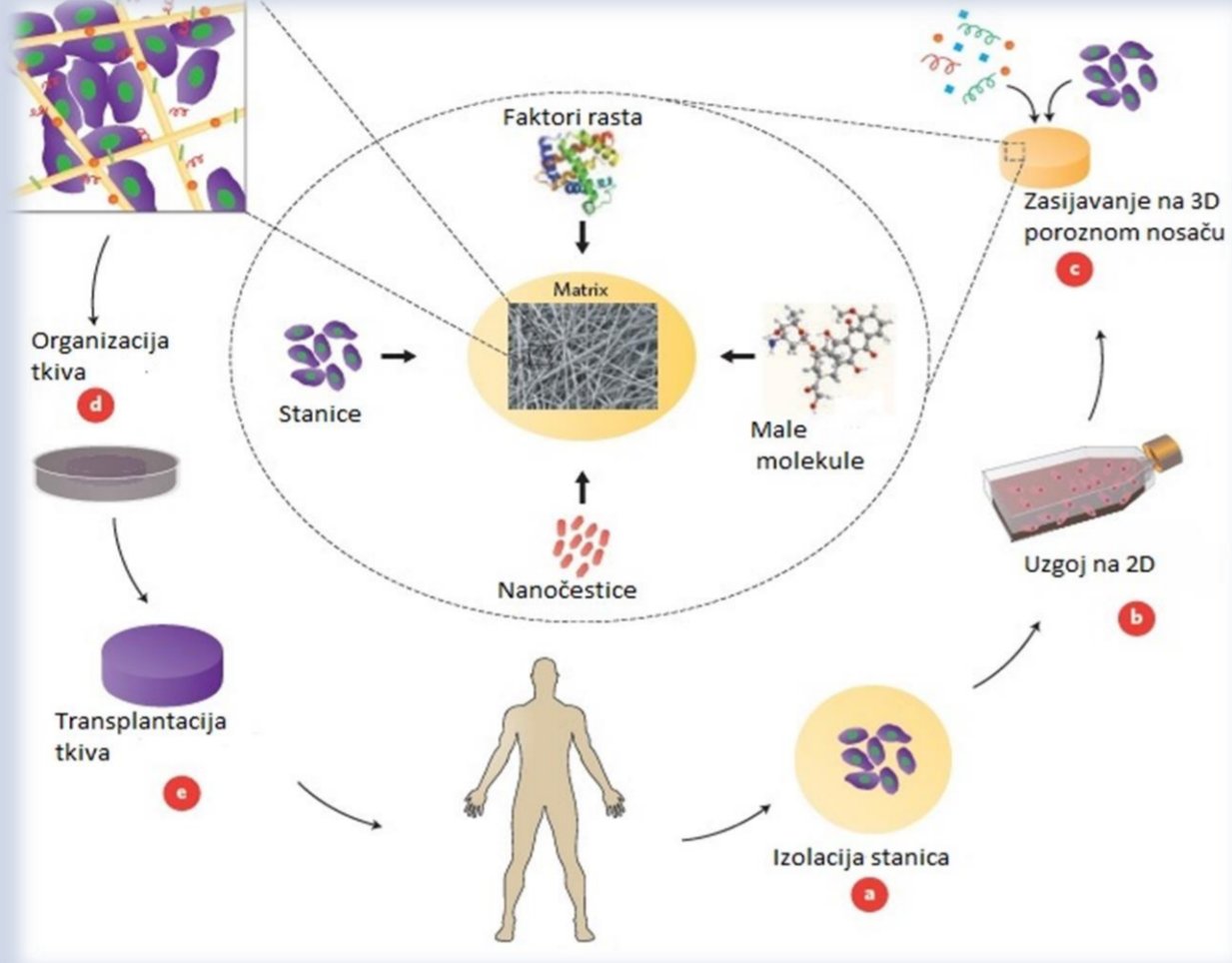
Sveučilište u Zagrebu

Izrada i karakterizacija elektroispređenih nosača s uzrokovanom topografijom za uzgoj ljudskih stanica kože ili oka

Edita Krmpotić, Petra Tominac

Ljudski organizam sklon je povredama, lakšim i težim. Kako bi se riješili teži problemi poput velikih lomova kostiju i potpuno oštećenih organa razvijene su mnoge kirurške metode poput umjetnih proteza, neživih proizvedenih tkiva te autogenih ili alogernih tkiva. Transplantacija organa jedna je od metoda, no veliko ograničenje joj je mali broj donora nasuprot svakim danom sve većom listom čekanja. Tu nastupa tkivno inženjerstvo i proizvodnja funkcionalnih tkiva i organa.

U tkivnom inženjerstvu stanice se zasijavaju na/u biomaterijale koji služe kao privremeni nosači koji unaprijeđuju reorganizaciju stanica za formiranje funkcionalnog tkiva. Jedna od metoda za izradu nosača je elektroispređanje, koja je korištena u ovom radu.



Slika 1. Primjer koncepta tkivnog inženjerstva koji uključuje zasijavanje stanica unutar poroznog nosača načinjenog od biomaterijala. (a) Stanice su izolirane iz pacijenta i spremne za uzgoj (b) *in vitro* na dvodimenzionalnoj površini za uspješniji razvoj. (c) Stanice su zasijane na poroznom nosaču zajedno sa faktorima rasta, malim molekulama i mikro/nano česticama. Nosači služe kao mehanička potpora i kalup te njihova poroznost osigurava visoki prijenos mase. (d) Daljnji rast stanica odvija se u bioreaktoru koji osigurava optimalne uvjete za organizaciju i funkciju tkiva. (e) Nakon što je funkcionalno tkivo dobiveno, konstrukcija je transplantirana na ranu kako bi se povratila funkcija.

Elektroispređanjem se proizvodi submikronski do nanomikronski materijal fine vlaknaste strukture koji se dobiva iz polimernih otopina ili talina. Takvi nosači se koriste u biomedicini zbog fizikalno-kemijskih svojstava koja možemo kontrolirati.

Jedan od načina proizvodnje modificiranih kolektora za sakupljanje vlakana tijekom elektroispređanja je 3D printanje.



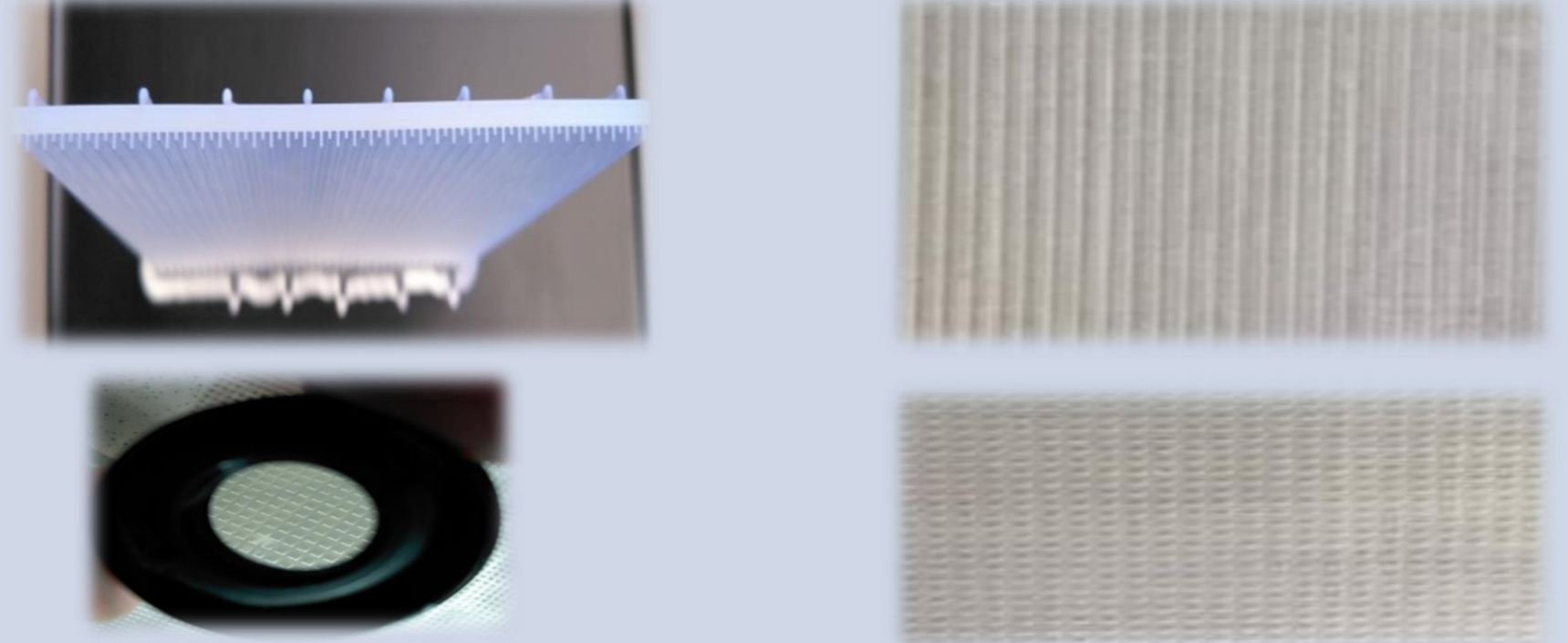
Slika 2. Prikaz kože dobivene 3D printanjem

PCL, koji je korišten kao polimerna otopina za izradu nosača, izrazito je hidrofobna tvar, odnosno ne upija vodu. Dodatkom $mTiO_2$ u otopinu PCL-a pokušala se smanjiti hidrofobnost, tj. povećati hidrofilitnost elektroispređenog nosača. Međutim, određivanjem kontaktnog kuta za oba uzorka, čisti PCL i PLC kojem je dodan $mTiO_2$, diferencijalnom pretražnom kalorimetrijom kao i termogravimetrijskom analizom dobiveni su rezultati koji ne podržavaju tu hipotezu. Zanimljivo mala razlika u kontaktnom kutu kao i ukupnoj energiji površine može se pripisati niskoj koncentraciji TiO_2 u uzorku, kao i mogućnosti nastanka aglomerata uslijed višesatnog elektroispređanja. Ukoliko bi se povećala koncentracija TiO_2 , možda bi se hidrofilitnost uzorka povećala, no mora se paziti i na mogući štetan učinak TiO_2 na organizam.

Dobiveno povećanje T_m kod uzorka PCL-a sa dodatnim TiO_2 u odnosu na sam PCL dobiveno diferencijalnom pretražnom kalorimetrijom, ukazuje na interakcije čestica TiO_2 i kristalne faze PCL.

Termogravimetrijskom analizom vidljivo je kako za uzorak PCL-a s dodatkom TiO_2 dolazi do malog povećanja temperature početka razgradnje kao i konačne temperature razgradnje u usporedbi sa uzorkom čistog PCL-a. Ta stabilnost se može pripisati interakcijama između polimernih lanaca PCL-a i $mTiO_2$ punila te raspodijeli punila u polimernoj matici.

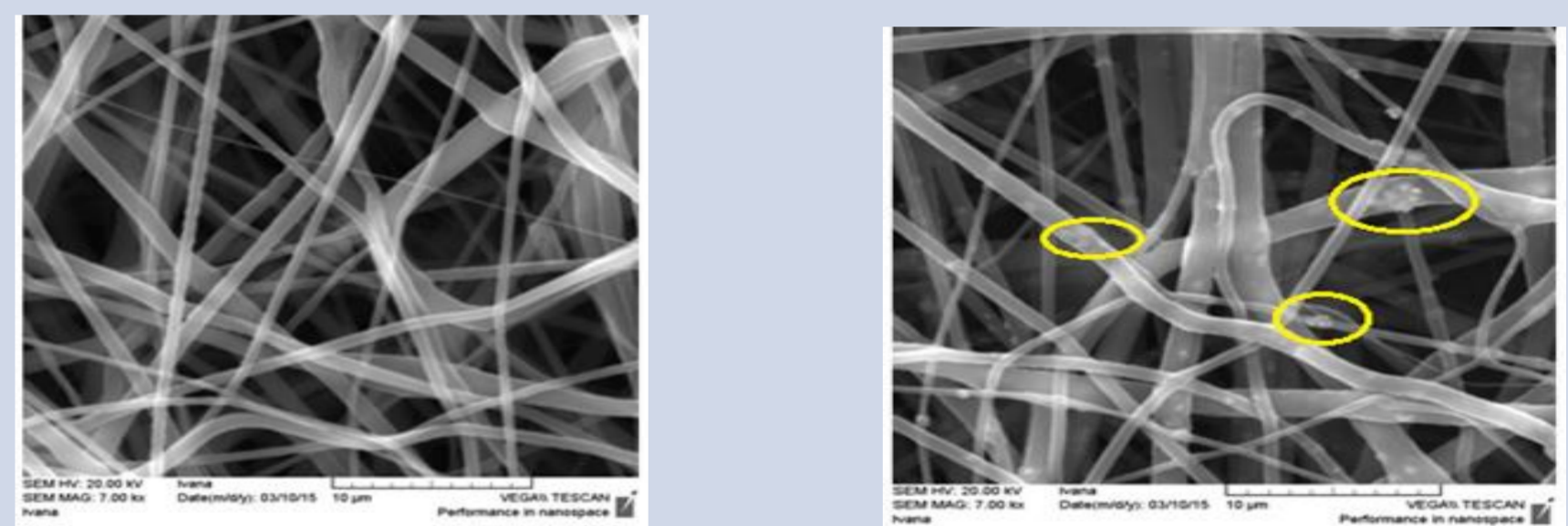
PCL elektroispređeni nosači na kojima su zasijane stanice izvrsni su kandidati za daljnja istraživanja u terapijskim svrhama upravo zbog fleksibilne geometrije, izdržljivosti, podesive hidrofilitnosti kao i funkcionalizacije prema potrebama pacijenta.



Slika 3. Struktura elektroispređenih vlaknastih matova dobivenih na kolektorima (rebrasti i mrežasti).

Ova specifična topografija elektroispređenog vlaknastog mata potrebna je kako bi na njima zasijane fibroblastne stanice rasle i migrirale prema obliku površine elektroispređenog vlaknastog mata, tj. da stvaraju tkivo s navedenom 3D mikrogeometrijom strukture elektroispređenog vlaknastog mata.

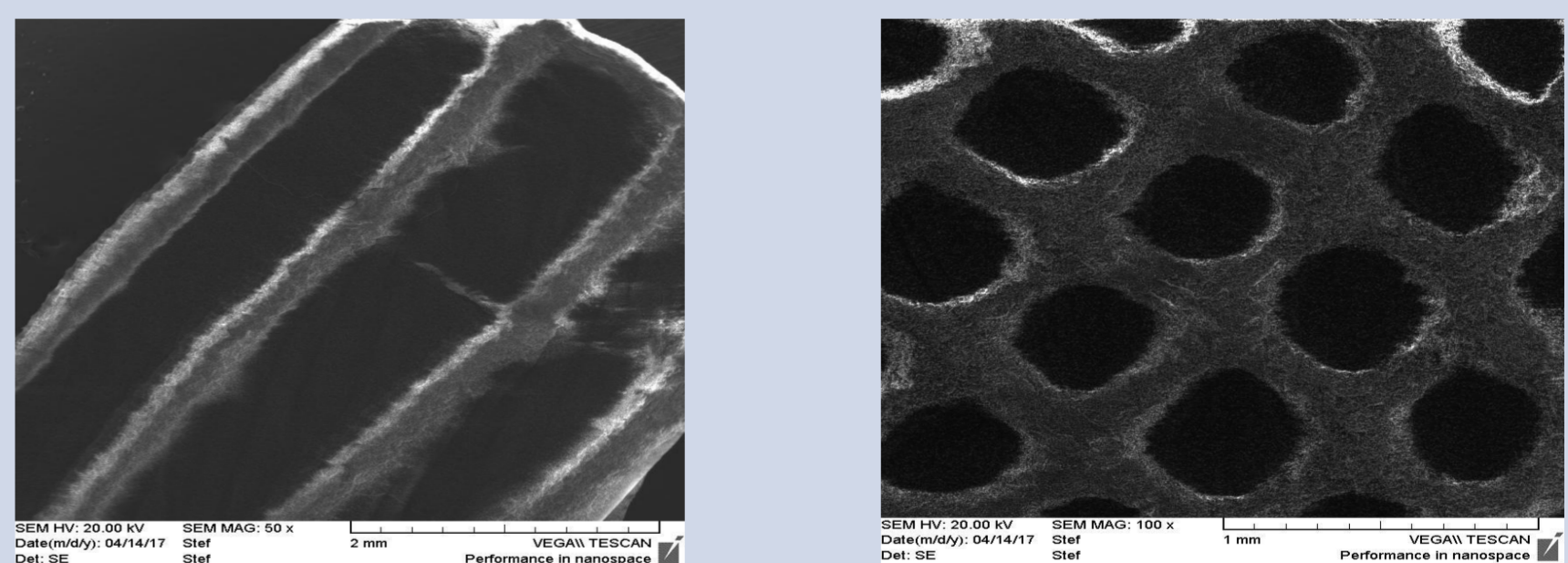
U radu je korištena 10%-tna otopina PCL-a. Naknadno je u polimernu otopinu dodano 2 mas.% mikro TiO_2 punila u cilju smanjenja hidrofobnosti PCL-a.



Slika 4. Morfološka struktura elektroispređenog PCL vlaknastog mata dobivena SEM analizom

Na SEM slici (lijevo) vidljiva je cilindrična struktura vlakana s pojavom nasumično raspoređenih zrnatih deformacija na nano i mikro razini.

Na SEM slici (desno) prikazana je morfološka struktura elektroispređenog PCL/ $mTiO_2$ vlaknastog mata. Na slici je vidljiva relativno ujednačena raspodjela mikro čestica TiO_2 unutar vlakana, ali vidljiva je i pojava aglomerata po dužini vlakna.



Slika 5. SEM slike a) elektroispređenog PCL vlaknastog mata dobivenog elektroispređanjem (a) na rebrastom kolektoru (uvećana 50 puta) i b) na mrežastom kolektoru (uvećana 100 puta).

Na osnovi SEM analize može se vidjeti da je dobivena porozna struktura elektroispređenih vlaknastih matova koja prati strukturu kolektora na kojima je vršeno elektroispređanje. Ovakva struktura elektroispređenih vlaknastih matova na koje bi se posijale stanice omogućila bi efektivnu penetraciju stanica u udubine na matu kao i područja za koje se stanice trebaju pričvrstiti.