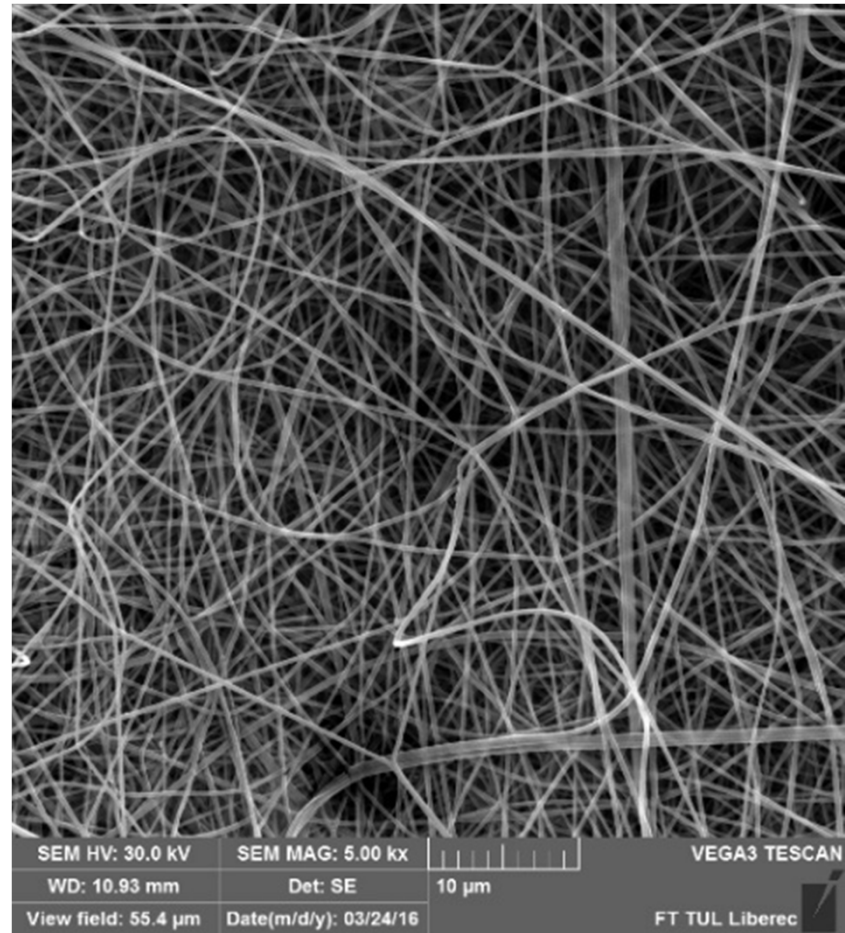


Nanovláknenné materiály v hojení ran

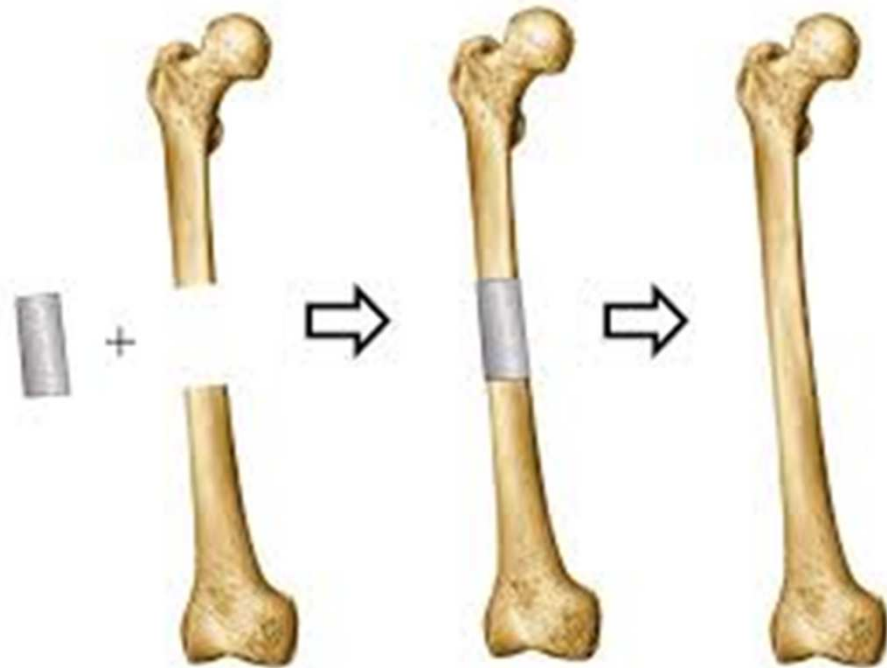
V. Jenčová, B. Kopřivová, M. Lisnenko, K. Solarska-Sciuk, R. Procházková, E. Filová, P. Mikeš, D. Lukáš

Technická univerzita v Liberci

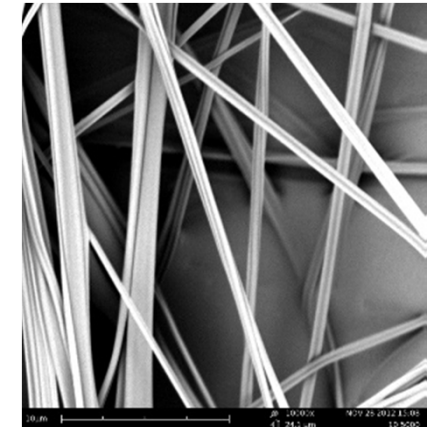
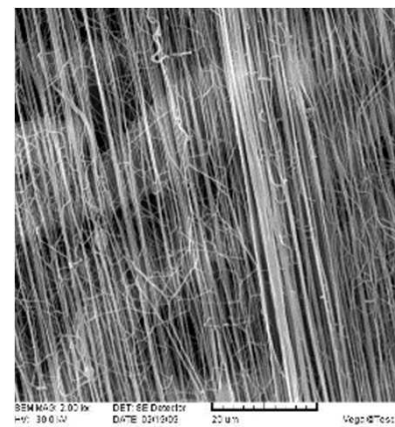
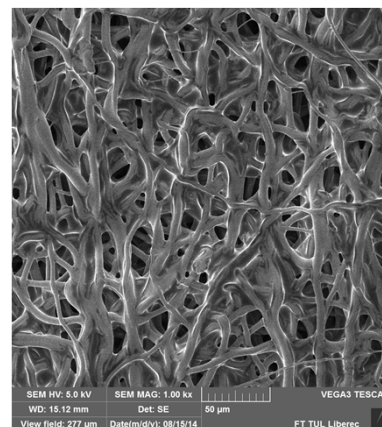
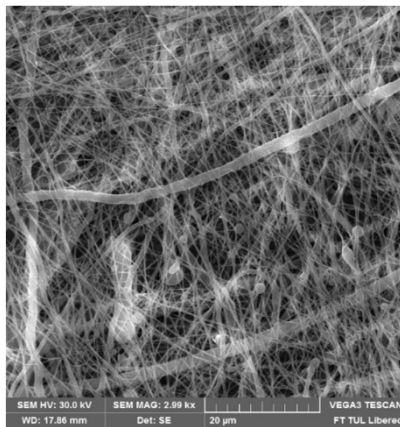
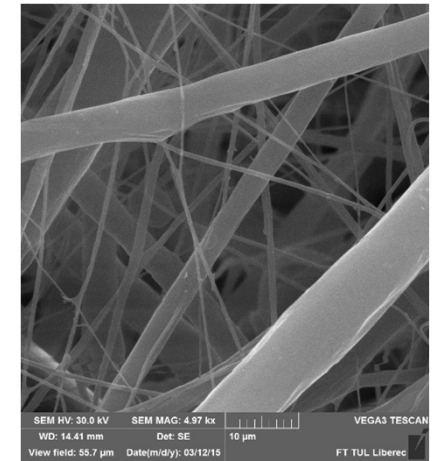
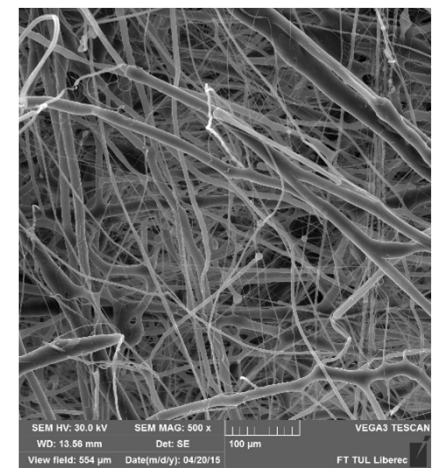
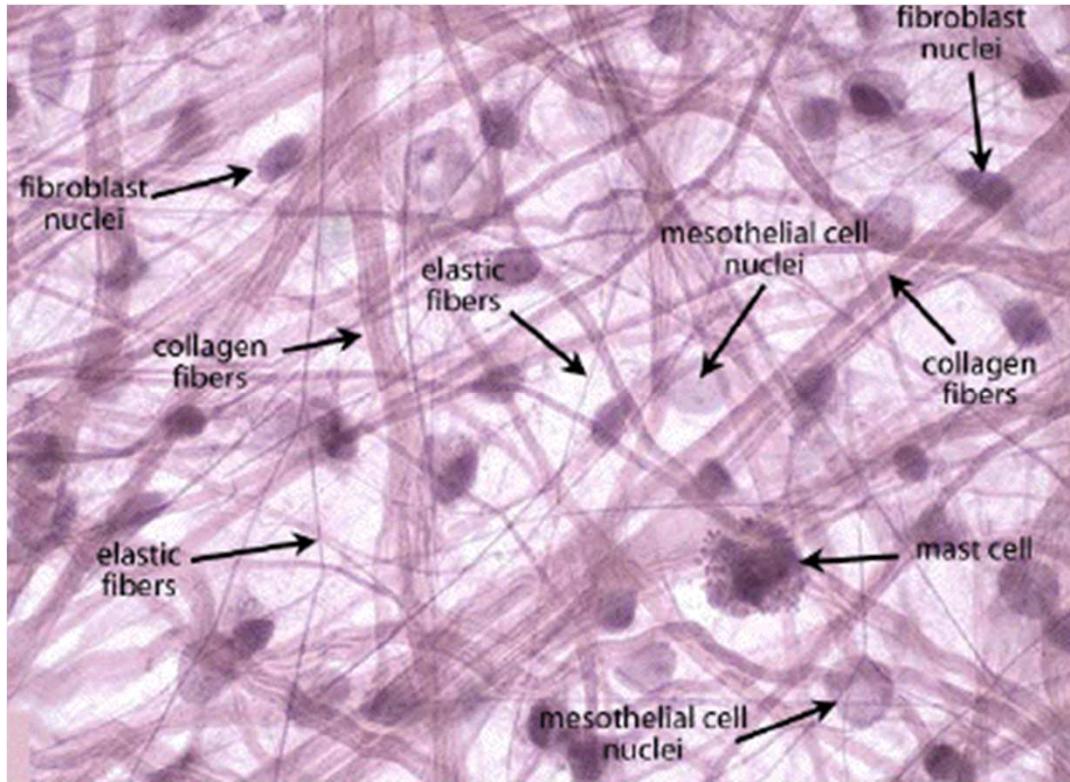


scaffolds pro tkáňové inženýrství

- **Struktura** („nativní“, povrch, porozita, mech. vlastnosti, 2D/3D....)
- **Materiál** (přírodní/syntetické, ne/biodegradabilní....)
- **Limitovaná bioaktivita scaffoldů** (biologicky aktivní látky, molekuly, coating, funkcionalizace, inkorporace....)



(nano) vláknenné scaffolds



Elektrostatické zvlákňování (DC)

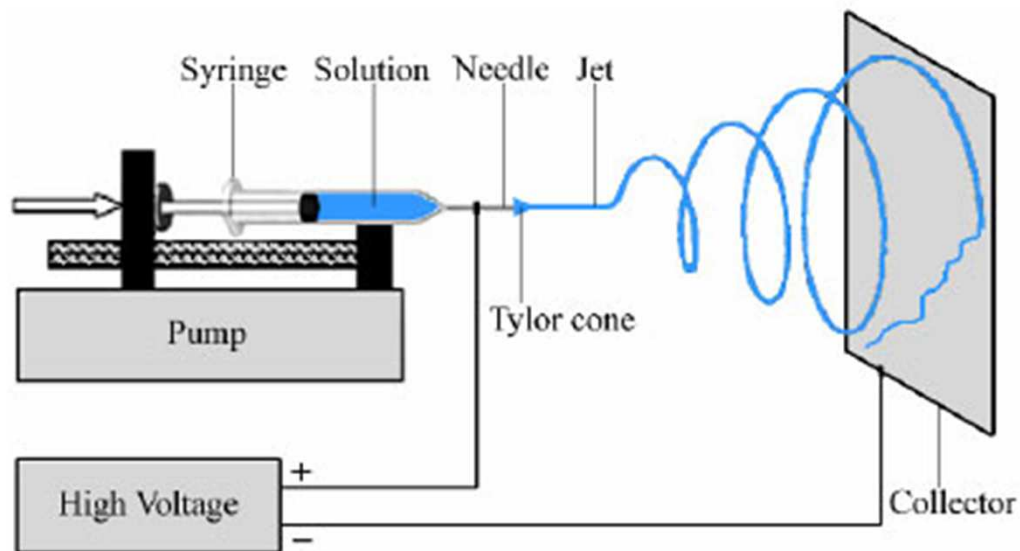


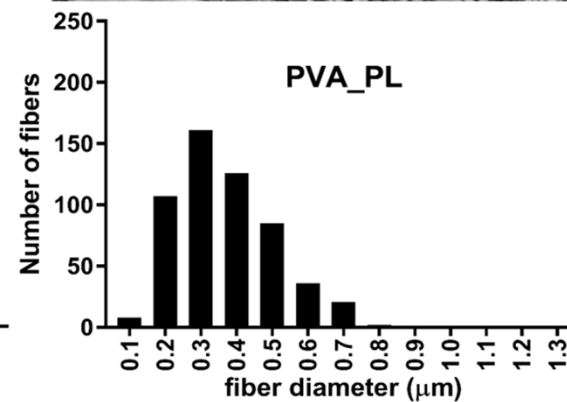
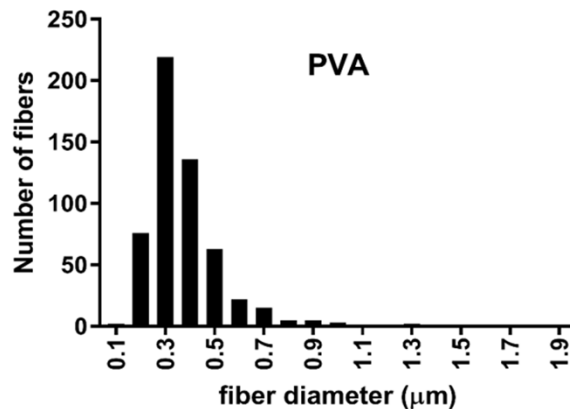
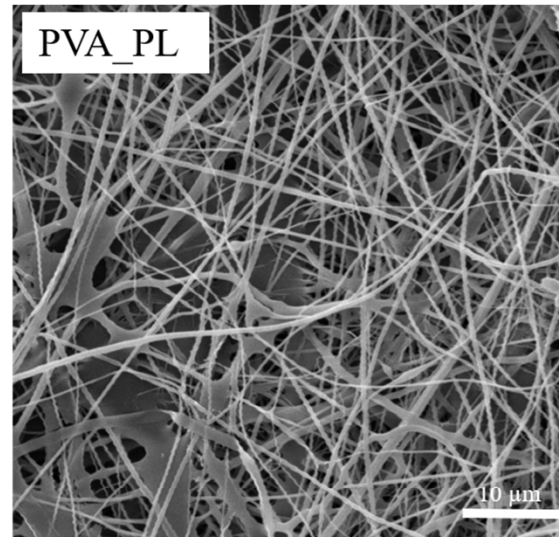
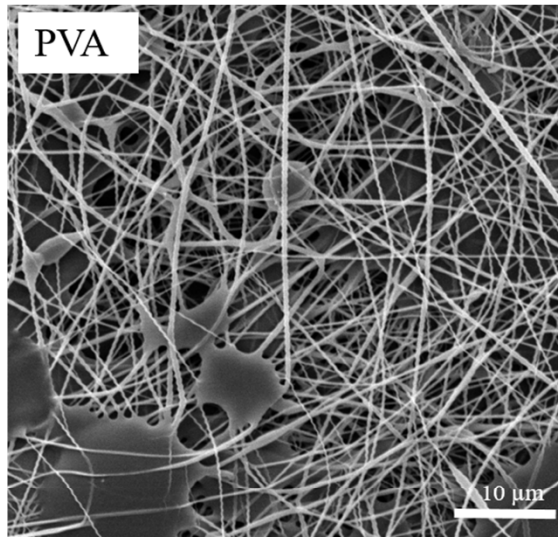
Figure 1: Electrospinning setup



Jirsák, O. Sanetrník, F. Lukáš, D. Kotek, V. Marinová, L. Chaloupek, J. (2005) WO2005024101 A Method of Nanofibres Production from A Polymer Solution Using Electrostatic Spinning and A Device for Carrying out The Method.

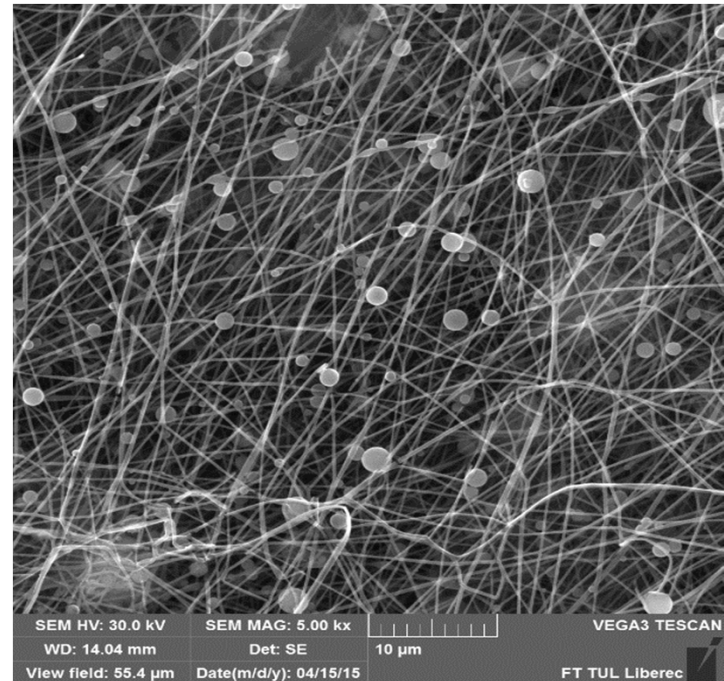
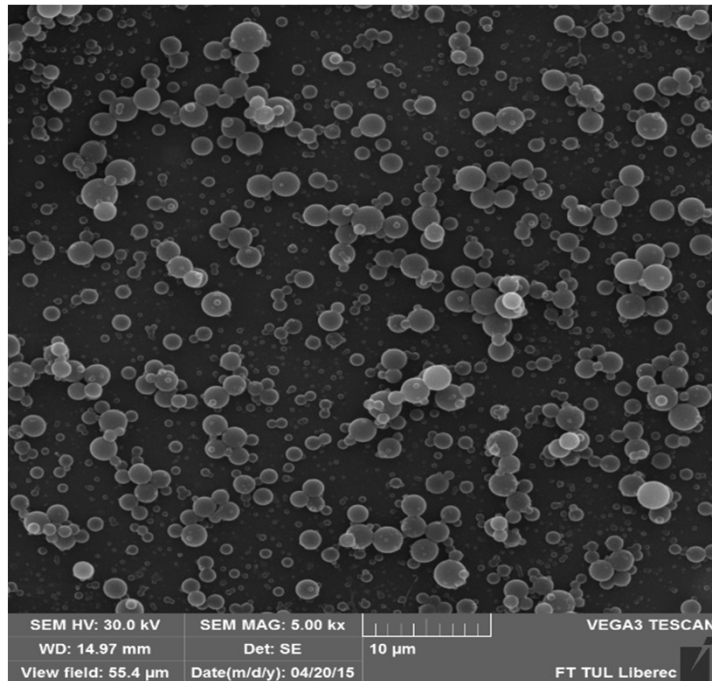
Nanovláknenná vrstva z PVA

- Materiál – vodorozpustný polyvinylalkohol (PVA)
- Struktúra – planárni vrstva
- Biologicky aktivní látka – trombocytové růstové faktory (PL)



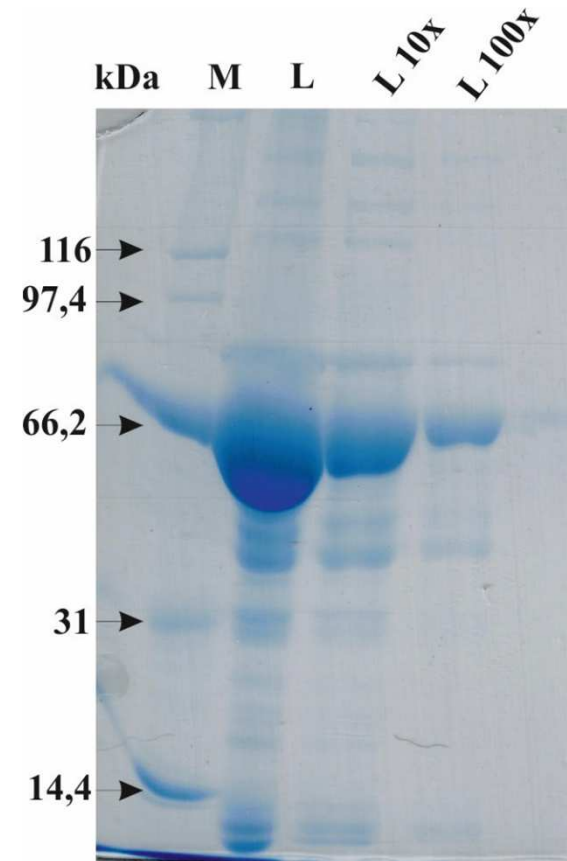
Vláknenný scaffold s inkorporovanými trombocytovými růstovými faktory

- ? GFs (forma)
- ? systém-nosič (polymer)
- ? Technologie, Loading, Nativní podmínky
- ? Analýza (kvantitativní, kvalitativní)



Biologicky aktivní látka – trombocytové růstové faktory

- PRP (TRS) – $600-900 \times 10^6$ PLT/ml
- Trombocytový lyzát: „freeze-thaw“ ($-80^{\circ}\text{C}/4^{\circ}\text{C}$, Dr. Lysák)
- Fyzilogické zastoupení, množství



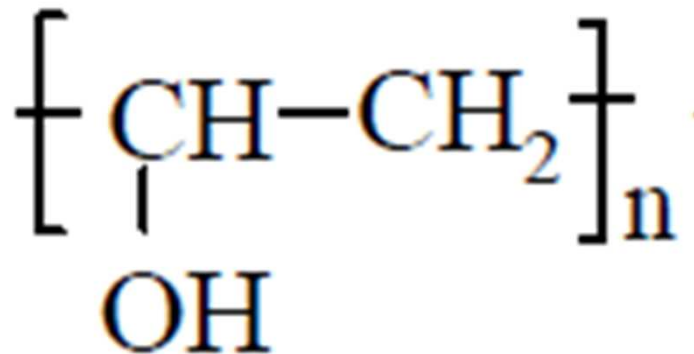
system-nosič (polymer)

požadavky

- Nativní proteiny
- Postupné uvolňování inkorporovaných proteinů

možnosti

- Biodegradabilní polymery – polyestery (PCL, PLA, PLCL..)
- H₂O rozpustné polymery - želatina, PVA....



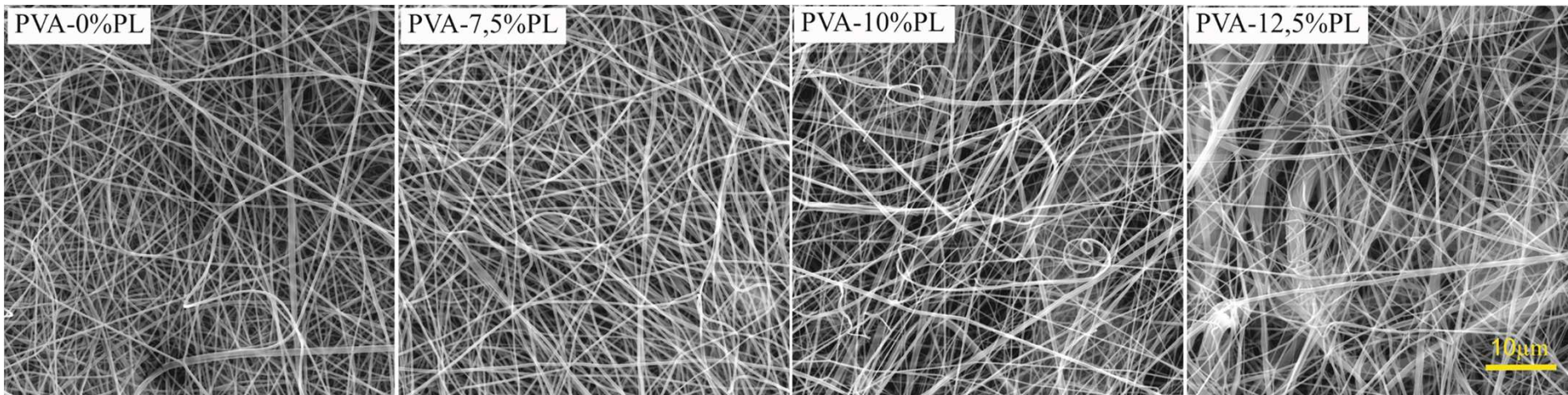
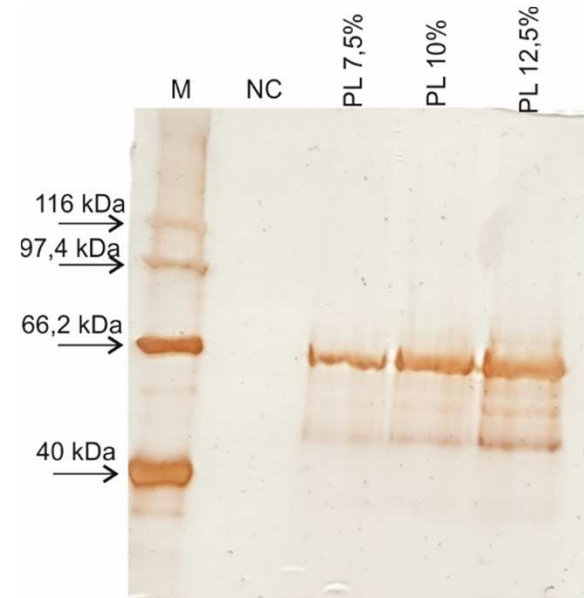
Technologie, Nativní podmínky

- **PVA** – Mw 130000, 88% OH
- **Elektrospinning** (DC, AC), centrifugální zvlákňování.....
- **Rozpouštědlový systém** H₂O – **EtOH**



Loading

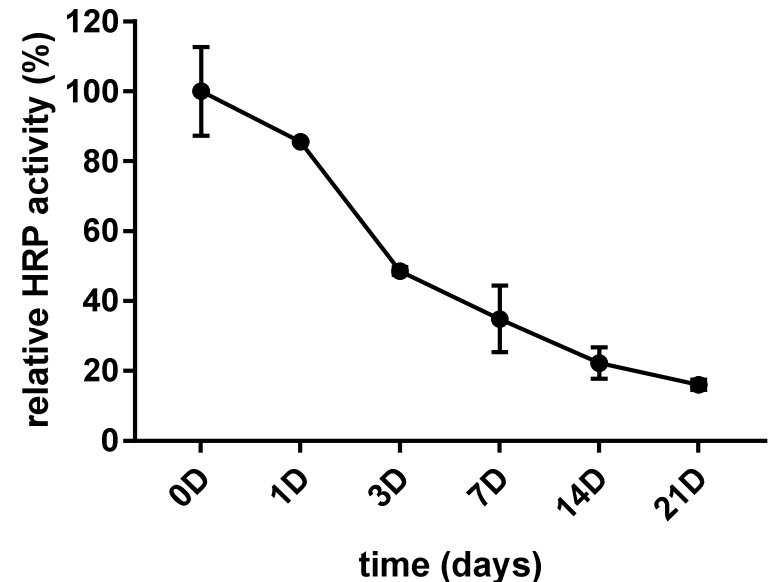
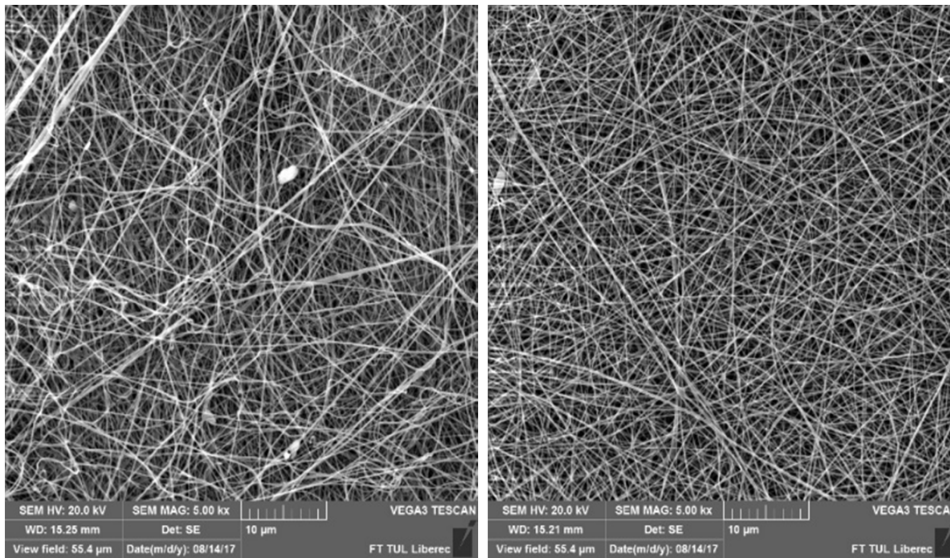
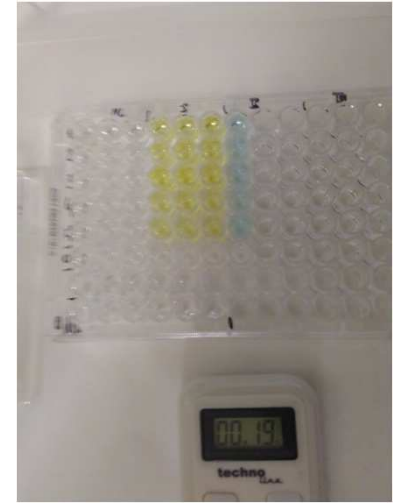
- trombocytový lyzát – množství
- výroba scaffoldu/“účinnost“ scaffoldu



Analýza **aktivity** inkorporovaných proteinů

Modelový protein –HRP (kvalitativní analýza – nativita)

- **Electrospinning neovlivňuje aktivitu proteinu (HRP)**
- **Aktivita sledována 3 týdny – pokles aktivity o 80%**
- **Aktivita klesá podobně jako u nezvlákněného enzymu**



SEM: 12% PVA A-bez HRP B-s HRP, zvětšení 5000x

Postupné uvolňování inkorporovaných proteinů – nutno snížit rozpustnost polymeru

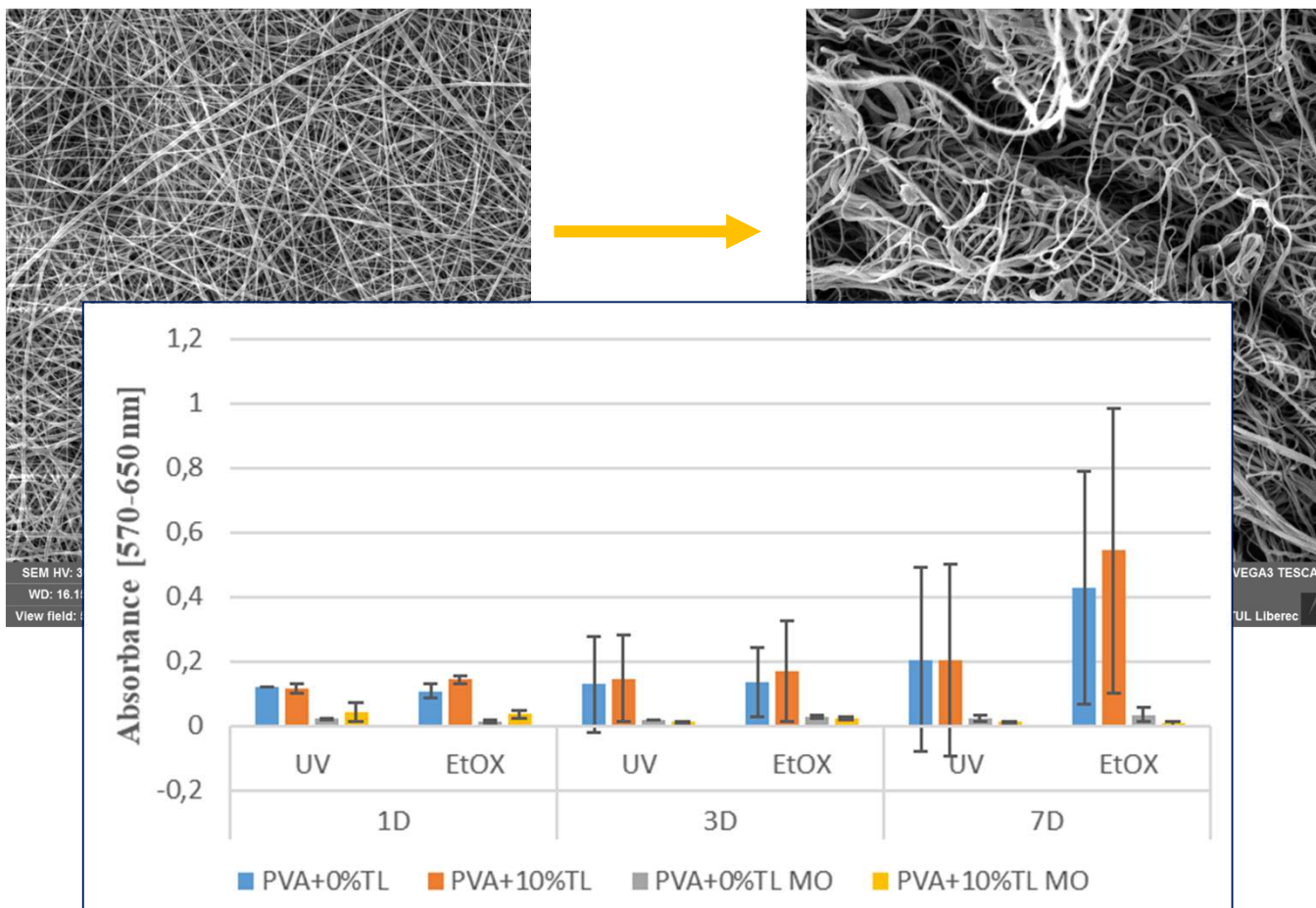
- modifikace postranních skupin
- SÍŤOVÁNÍ



modifikace postranních skupin

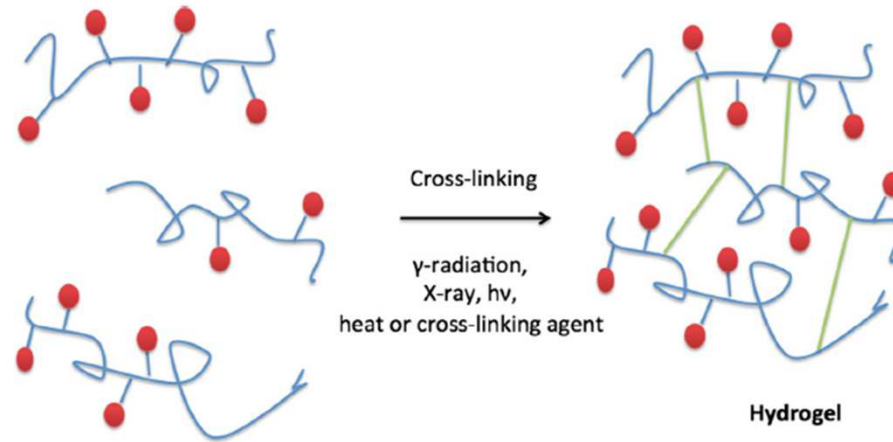
acylace povrchu

- pomocí kyseliny [2- [2- (Fmoc-amino) ethoxy] ethoxy] octové (FAEEAA)



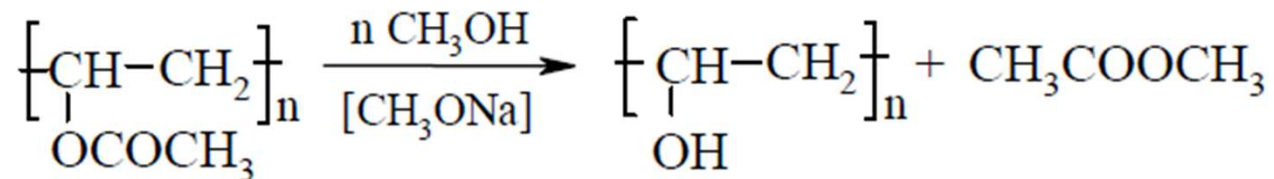
SÍŤOVÁNÍ

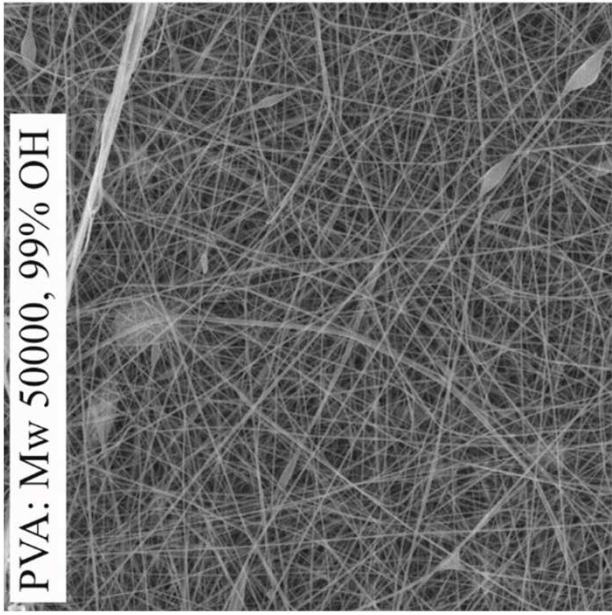
?CH / (F)



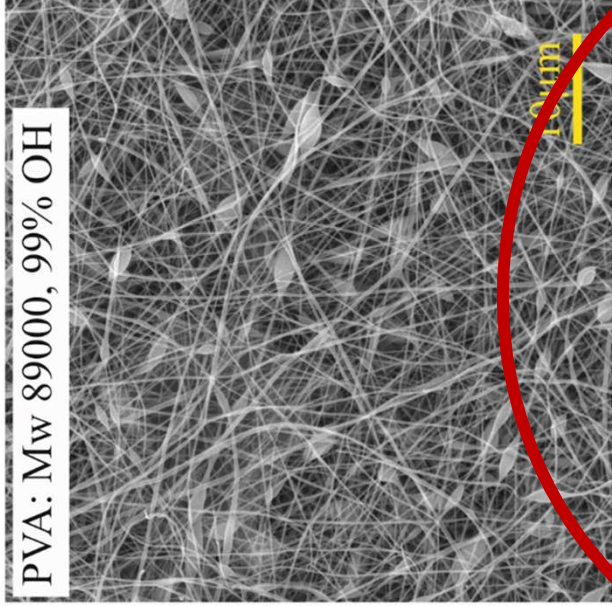
? PVA

stupeň hydrolýzy , molekulová hmotnost

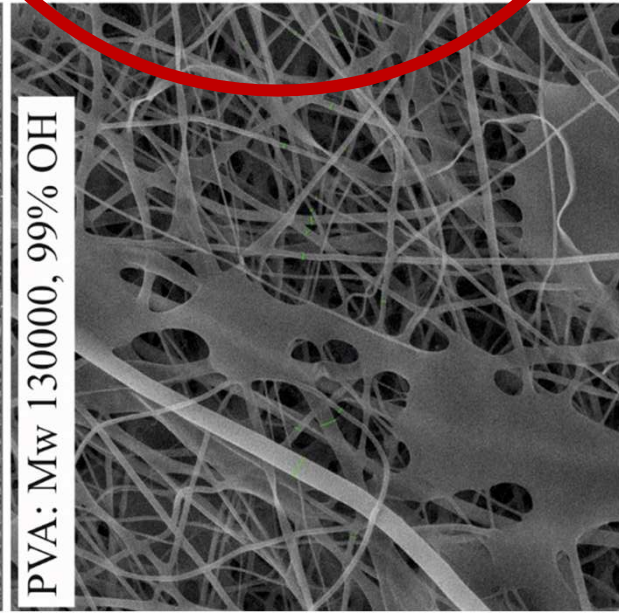




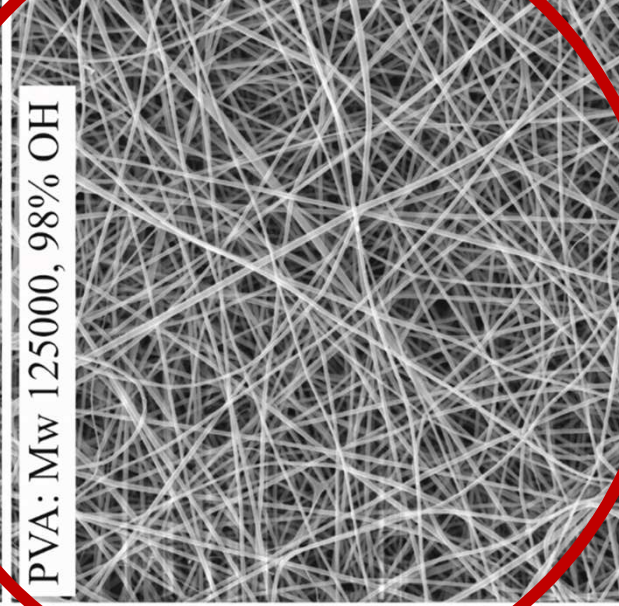
PVA: Mw 50000, 99% OH



PVA: Mw 89000, 99% OH



PVA: Mw 130000, 99% OH



PVA: Mw 125000, 98% OH

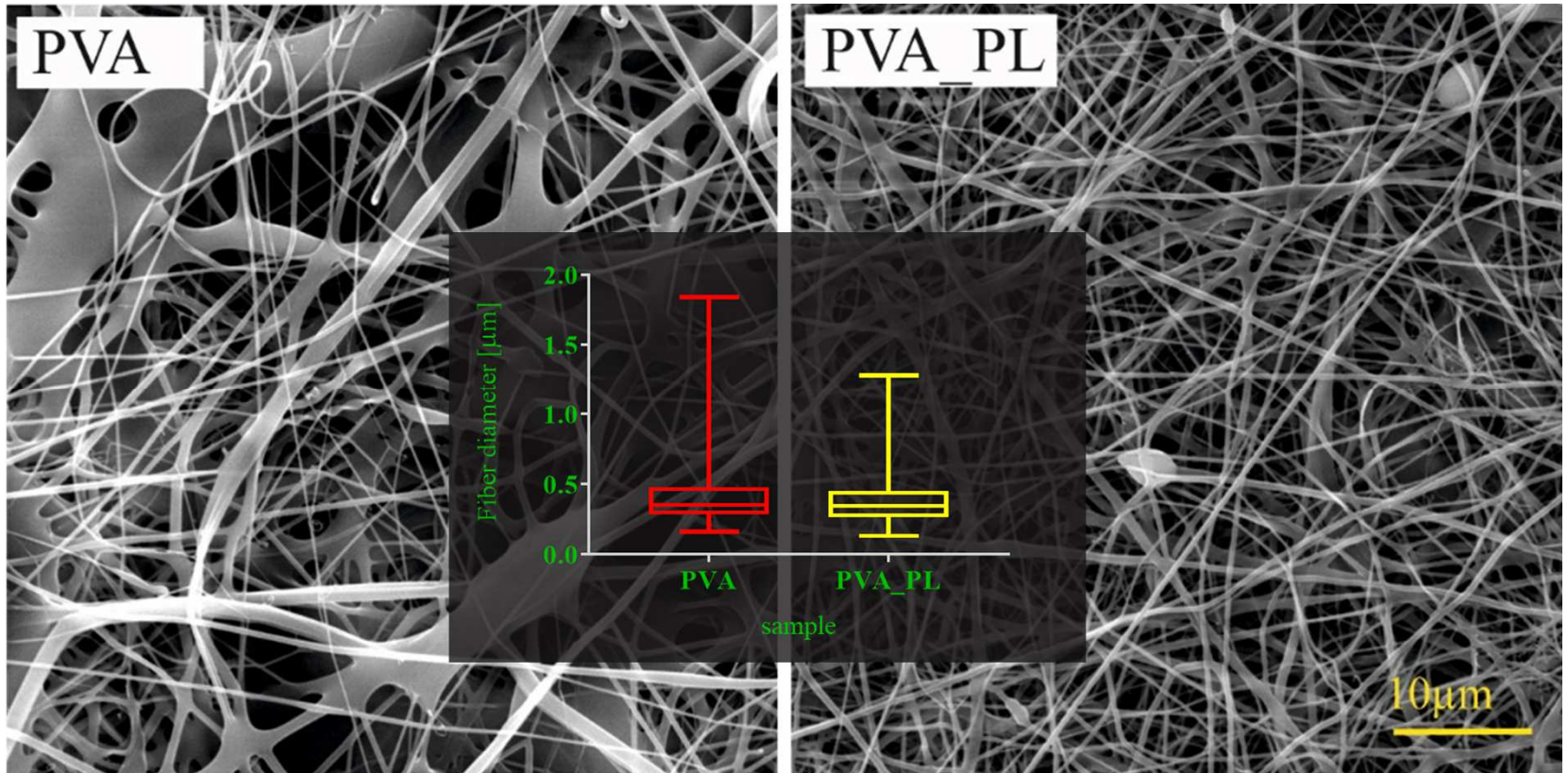
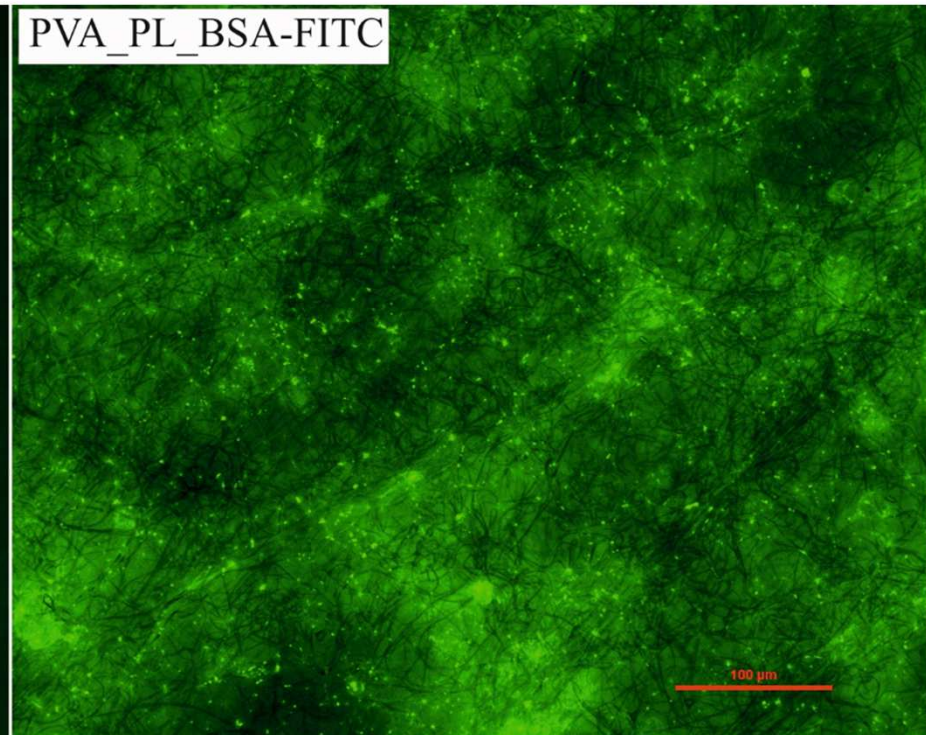
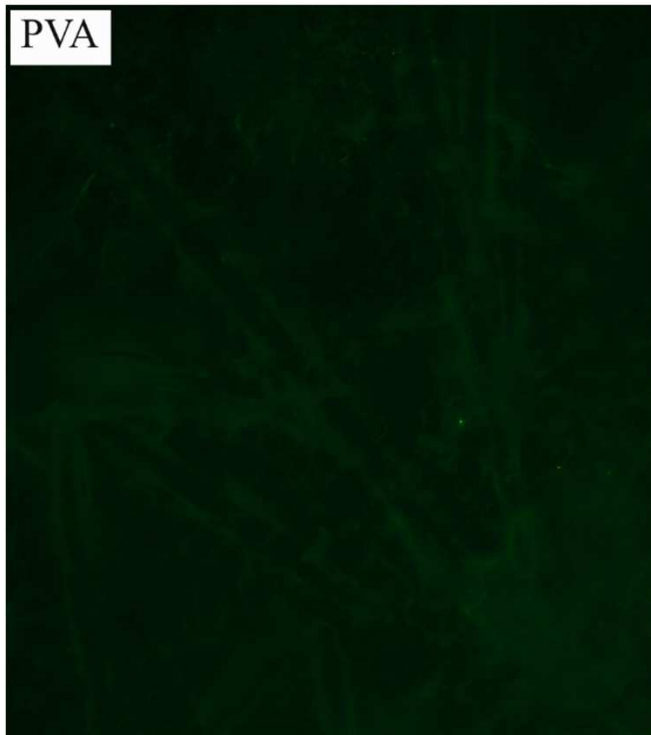
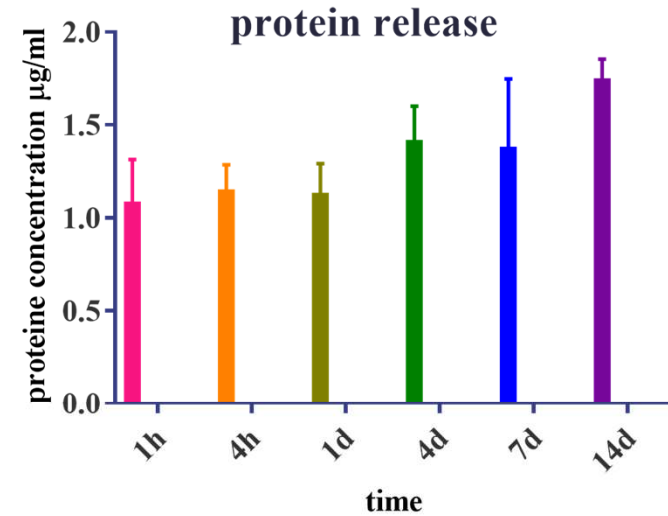


Fig.: SEM of materials prepared from 10% PVA (MW 125 000, 98% hydrolysis) with/without platelet lyzate; magnification 5000x, scale bar 10μm

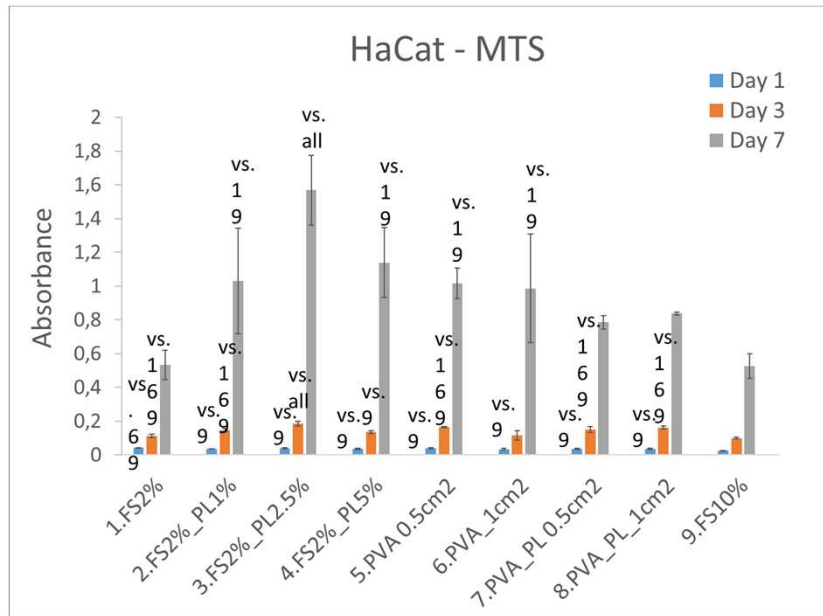
Analýza pomalu rozpustných PVA vrstev

- ?? homogenita – inkorporované proteiny
- ?? uvolňování proteinů
- ?? rozpustnost PVA
- ?? nativita/aktivita GFs



Aktivita inkorporovaných trombocytárních růstových faktorů

- in-vitro testování
- Použité buněčné linie: 3T3 myší fibroblasty, HaCat keratinocyty, HSVECs
- Inkorporované GFs podporují buněčnou proliferaci



Human keratinocytes cell line HaCat MTS assay

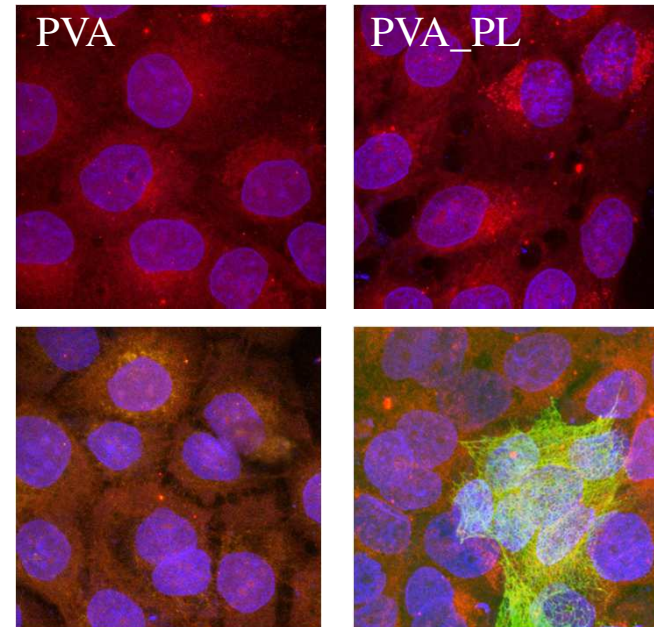


Fig.: HaCat keratinocytes formed a confluent layer on day 14 the cells started to create the second layer of cells. Staining: cytokeratin 14 (red).

In vivo – v průběhu



TO KNL



BIOING TUL



NV18-01-00332



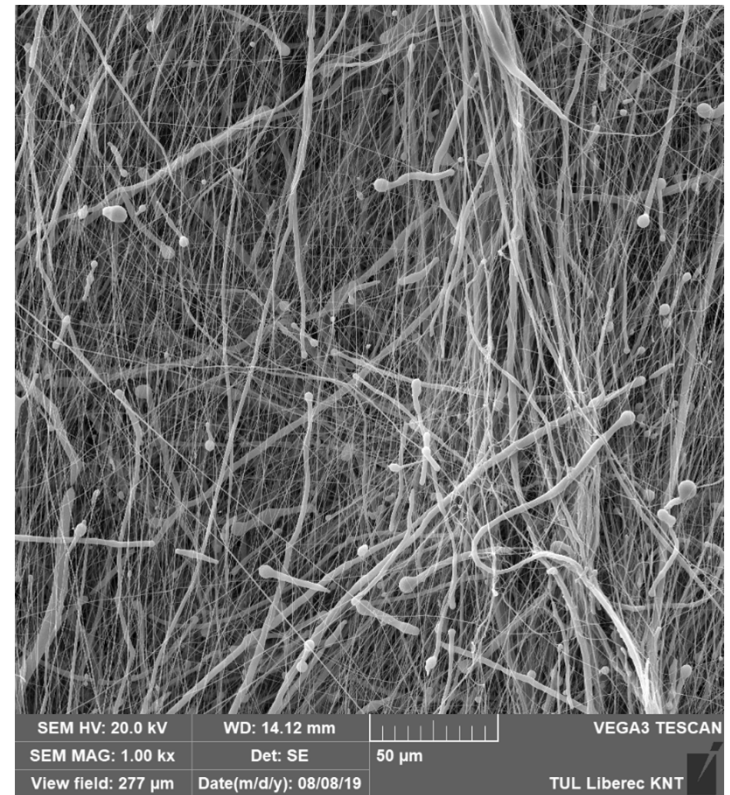
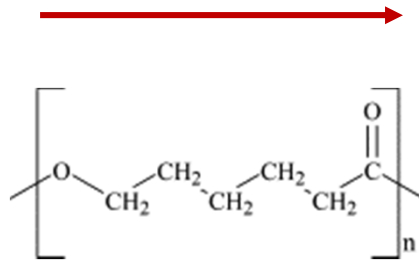
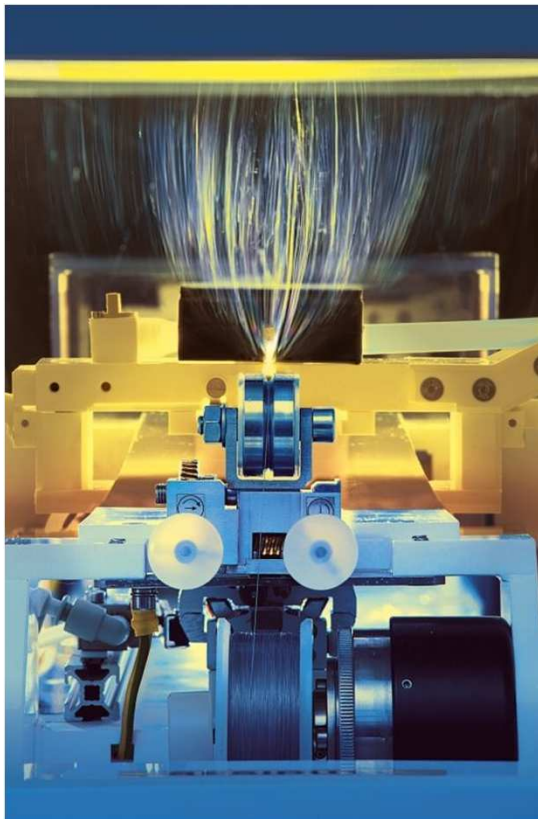
Děkuji za pozornost :o)



Tato práce byla provedena díky finanční podpoře MZ ČR, projekt číslo NV18-01-00332

Nanovláknenná vrstva z PCL

- Materiál – degradabilní polyester (polykaprolakton)
- Struktura – planární vrstva



Elektrostatické zvlákňování : bezjehlové,
NANOSPIDER, DC

Nanovláknenná vrstva:
Průměr vláken: 381 ± 89 nm
Plošná hmotnost 25g/m^2

Nanovláknenná vrstva z PCL

- Klinická zkouška – v průběhu
- akutní a chronické rány



Další výzkum - Možnost funkcionalizace biologicky aktivními látkami