

Katarzyna Węgrzynowska-Drzymalska¹, Joanna Skopińska-Wiśniewska², Anna Bajek³, Małgorzata Maj³, Halina Kaczmarek¹, Alina Sionkowska²

¹ Katedra Chemii i Fotochemii Polimerów, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, ul. Gagarina 7, kasiawd@doktorant.umk.pl

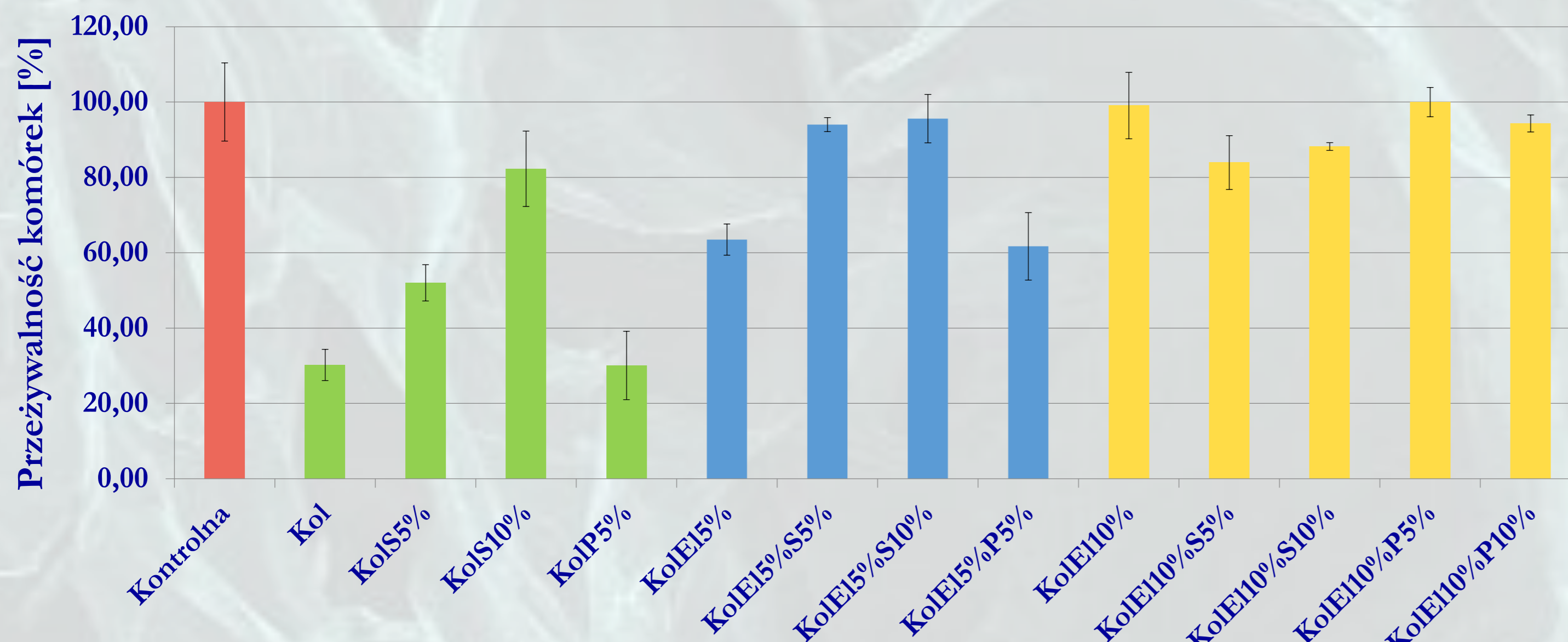
² Katedra Chemii Biomateriałów i Kosmetyków, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, ul. Gagarina 7

³ Katedra Medycyny Regeneracyjnej, Collegium Medicum UMK im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, ul. Karłowicza 24

WPROWADZENIE

Kolagen odgrywa kluczową rolę w utrzymaniu biologicznej i strukturalnej integralności struktury macierzy zewnątrzkomórkowej i występuje w odmiennych strukturach morfologicznych w różnych tkankach. Skład aminokwasowy kolagenu jest niezwykły dla białek, głównie ze względu na wysoką zawartość hydroksyproliny [1]. Elastyna jest wysoce usieciowanym, nierozpuszczalnym biopolimerem, składającym się z kowalencyjnie związanych cząsteczek tropoelastyny. Posiada ona niezwykły skład aminokwasowy, bo aż 75% jej zawartości stanowią aminokwasy hydrofobowe: glicyna, walina i alanina [2]. Materiały białkowe sieciuje się, w celu poprawienia ich właściwości fizycznych, chemicznych oraz mechanicznych [3]. Skrobia dialdehydowa stanowi polimeryczny dialdehyd wytwarzany na skutek selektywnego utleniania skrobi nadjodanem, który rozszczepia wiązanie C2-C3 łańcucha polisacharydowego skrobi z wytworzeniem dwóch grup aldehydowych [4]. Pektyna jest polisacharydem składającym się głównie z reszt kwasu D-galakturonowego, zestyfikowanych grupami metylowymi [5]. Celem pracy było określenie efektywności sieciowania materiałów kolagenowych oraz kolagenowo-elastynowych przy użyciu skrobi dialdehydowej i pektyny oraz uzyskanie materiałów dla zastosowań w inżynierii tkankowej.

BADANIE ODPOWIEDZI KOMÓRKOWEJ



Wykres 1. Wartości przeżywalności fibroblastów mysich 3T3 dla badanych materiałów.

Badanie odpowiedzi komórkowej dla hydrożeli kolagenowo-elastynowych dowodzi, iż materiał ten jest atrakcyjny dla fibroblastów mysich 3T3. W przypadku serii próbek z 5% i 10% dodatkiem hydrolizatów elastyny, sieciowanie tego materiału skrobią dialdehydową korzystnie wpływa na wzrost przeżywalności komórek 3T3. Mimo, iż proces sieciowania nie zawsze wpływa na polepszenie właściwości biologicznych materiału, wyniki są dość dobre i oscylują w okolicy wartości przeżywalności fibroblastów mysich 3T3 dla próbek kontrolnych każdej serii pomiarowej lub są od nich wyższe, co świadczy o tym, że zastosowane czynniki sieciujące są bezpieczne.

WŁAŚCIWOŚCI MECHANICZNE

Próbka	E [kPa]
Kol	3,90±0,45
Kol-S5%	3,63±0,31
Kol-S10%	2,76±0,36
Kol-P5%	2,57±0,17
Kol-P10%	-

Tab. 1. Wartości modułu sprężystości dla serii próbek kolagenowych

Próbka	E [kPa]
Kol-EI5%	3,77±0,46
Kol-EI5%-S5%	3,56±0,70
Kol-EI5%-S10%	4,63±0,38
Kol-EI5%-P5%	3,77±0,52
Kol-EI5%-P10%	1,86±0,21

Tab. 2. Wartości modułu sprężystości dla serii próbek kolagenowych z 5% dodatkiem hydrolizatów elastyny

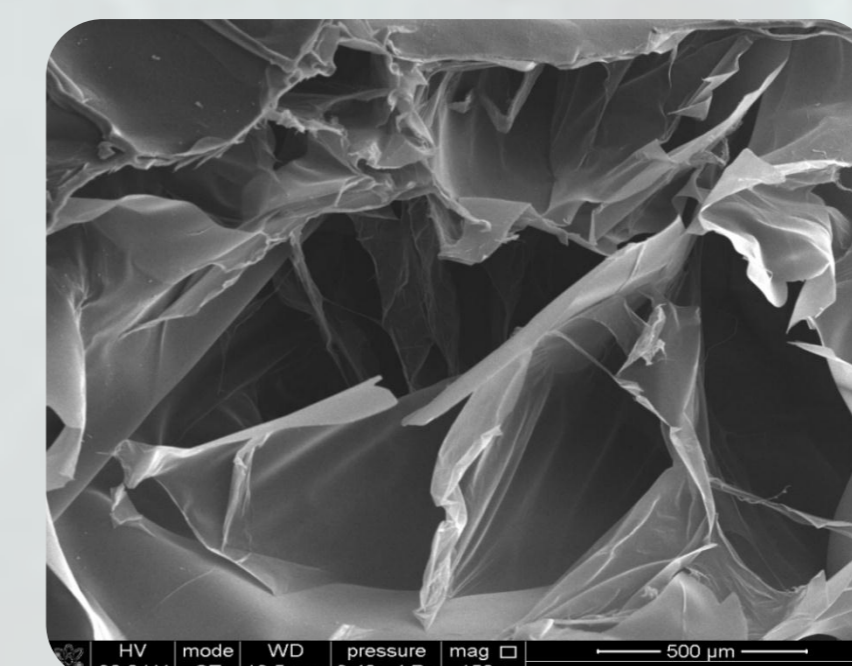
Próbka	E [kPa]
Kol-EI10%	3,59±0,82
Kol-EI10%-S5%	4,85±0,81
Kol-EI10%-S10%	5,06±0,58
Kol-EI10%-P5%	3,76±0,38
Kol-EI10%-P10%	2,01±0,41

Tab. 3. Wartości modułu sprężystości dla serii próbek kolagenowych z 10% dodatkiem hydrolizatów elastyny

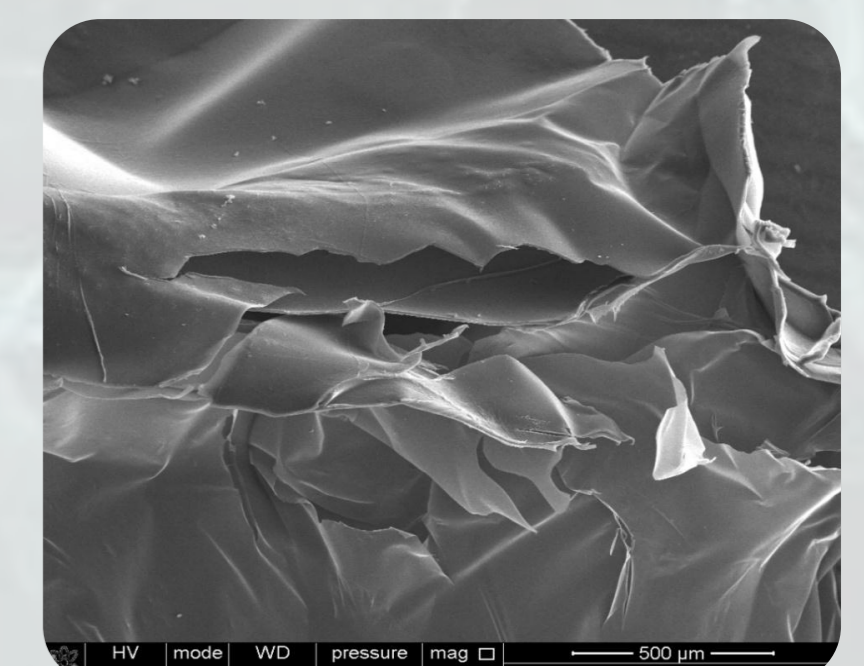
Badanie właściwości mechanicznych uzyskanych materiałów przeprowadzono używając maszyny Zwick&Roell 0,5. Plastry otrzymanego żelu (d=16 mm, H=10 mm) umieszczono na talerzu maszyny i poddawano wciskaniu metalowego pręta.

Wyższa zawartość hydrolizatów elastyny powoduje spadek wartości modułu sprężystości otrzymanych żeli. Sieciowanie przy użyciu skrobi dialdehydowej prowadzi do zwiększenia sztywności żeli, podczas gdy próbki zawierające pektynę, są mniej odporne na ściskanie.

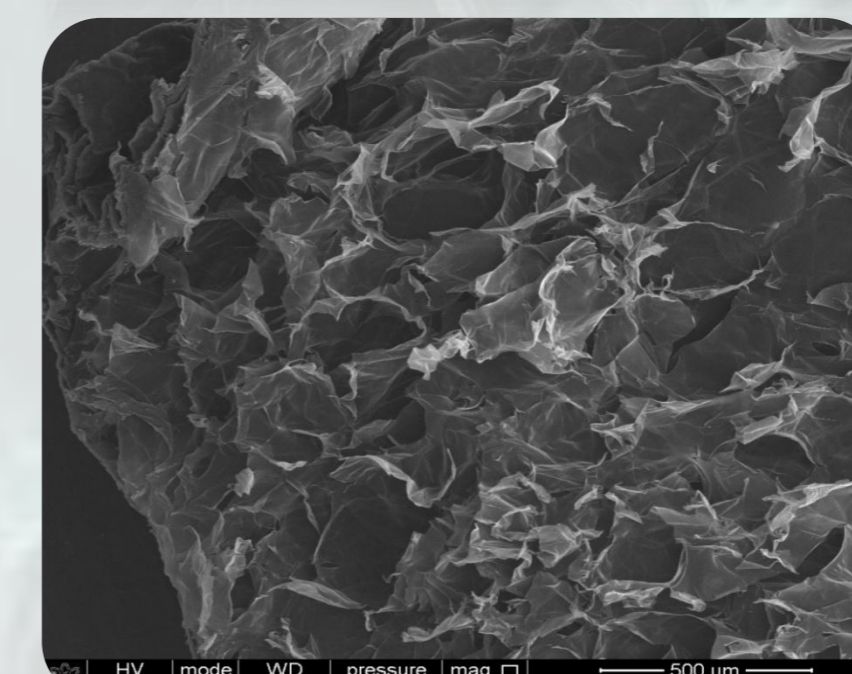
SKANINGOWA MIKROSKOPIA ELEKTRONOWA



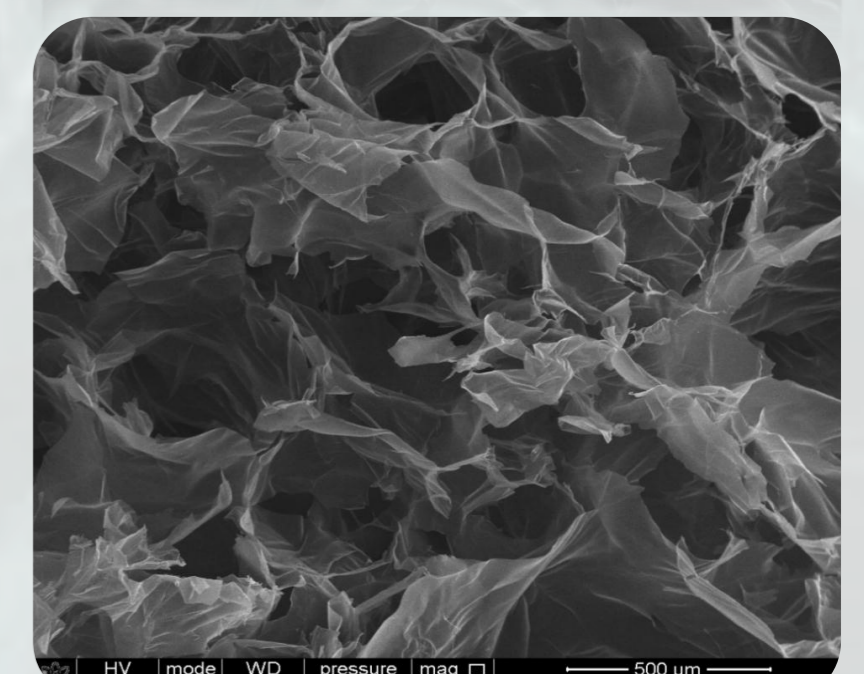
Rys. 1. Kol-S5%



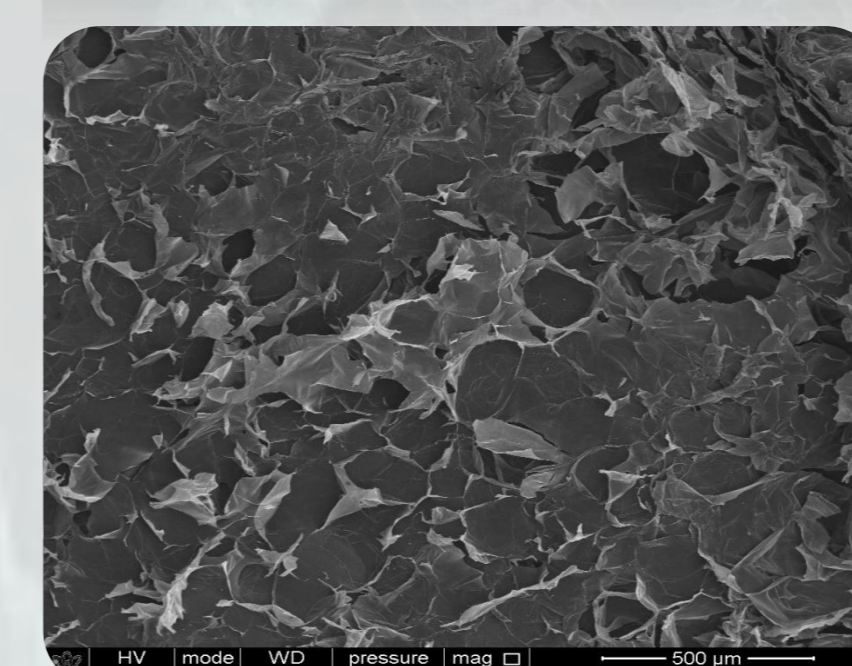
Rys. 2. Kol-P5%



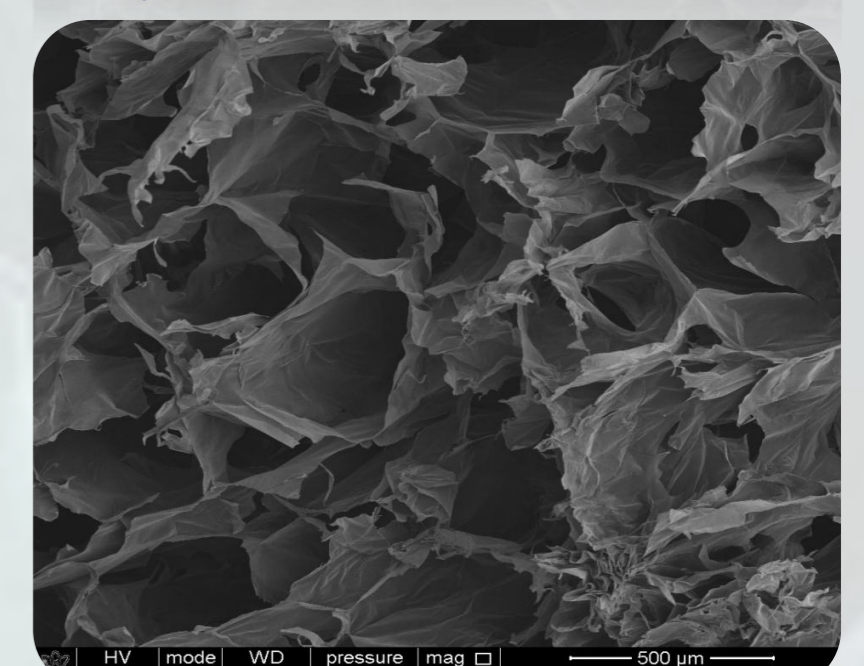
Rys. 3. Kol-EI5%-S5%



Rys. 4. Kol-EI5%-P5%



Rys. 5. Kol-EI10%-S5%



Rys. 6. Kol-EI10%-P5%

Zliofilizowane hydrożele wykazują porowatą oraz niejednorodną strukturę. Analiza obrazów SEM dowodzi, że rozmiar porów jest zróżnicowany i zależy zarówno od dodatku hydrolizatów elastyny, jak i ilości i rodzaju czynnika sieciującego.

PODSUMOWANIE

Dodatek skrobi dialdehydowej i pektyny powoduje tworzenie się wiązań sieciujących w otrzymanym materiale. Jednakże żele zawierające skrobię dialdehydową są znacznie bardziej sztywne niż materiały sieciowane pektyną. Wyniki te ukazują, że skrobia dialdehydowa jest lepszym środkiem sieciującym niż pektyna. Skrobia dialdehydowa może znaleźć zastosowanie, jako środek sieciujący dla materiałów białkowych stosowanych w medycynie i inżynierii tkankowej.

LITERATURA:

- [1] K. A. Czubak, H. M. Zbikowska (2014) *Structure, function and biomedical significance of collagens*, *Annales Academiae Medicae Silesiensis* 68(4):246-253,
- [2] W. F. Daamen, J. H. Veerkamp, J. C. M. van Hest, T. H. van Kuppevelt (2007) *Elastin as a biomaterial for tissue engineering*, *Biomaterials* 28(30):4379-4386,
- [3] W. Dzierża, T. Czerniawski (2000) *Właściwości mechaniczne i termiczne polimerów. Skrypt dla studentów chemii*, wyd. Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Toruń,
- [4] L. Song, C. Cruz, S. R. Farrah, R. H. Baney (2009) *Novel antiviral activity of dialdehyde starch*, *Electronic Journal of Biotechnology* 12(2):1-2,
- [5] A. G. J. Voragen, G.-J. Coenen, R. P. Verhoef, H. A. Schols (2009) *Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls*, *Structural Chemistry* 20(2):263, 264, 267.

PODZIĘKOWANIA

Autorzy pragną podziękować Narodowemu Centrum Nauki (NCN), Polska, Grant nr: UMO-2011/03/D/ST8/04600) za zapewnienie wsparcia finansowego na realizację tego projektu.