

Abstrakt

Kůže je nejrozsáhlejší orgán lidského těla, který hraje významnou roli v udržování homeostázy, a proto rozsáhlá kožní poranění mohou způsobit vážné zdravotní komplikace. Užití auto-, alo- i xeno-transplantátů doprovázejí komplikace v podobě nedostatku náhradní tkáně a jejího odhojování. Proto se vytvoření umělé kožní náhrady v laboratorních podmínkách zdá být jedním ze slibných způsobů hojení rozsáhlých ran. Tato práce je v první části zaměřena na zhotovení dvouvrstvé prevaskularizované kožní náhrady sestávající z kolagenového hydrogelu podloženého biodegradabilní nanovláknou membránou. Druhá část této práce se pak zabývá odlišnou strategií, tedy vývojem dočasných krytí ran na bázi celulózy. Pro výzkum byly využity lidské kožní fibroblasty a keratinocyty, kmenové buňky tukové tkáně a endotelové buňky.

Pro zlepšení adheze a růstu buněk byl povrch syntetických nanovlákných membrán potažen vrstvami adhezních proteinů. Bylo zjištěno, že lidské fibroblasty a tukové kmenové buňky upřednostňují fibrinové nanovrstvy, zejména homogenní síť z fibrinu na povrchu podkladové membrány. Keratinocyty pak lépe adherují a také stratifikují na kolagenových podkladech. Tyto poznatky motivovaly další vývoj dvouvrstevných konstruktů, kde dermální fibroblasty migrovaly z nanovlákných membrán potažených fibrinem do kolagenového gelu a na povrchu gelu pak byly kultivovány epidermální keratinocyty. Na rozdíl od zalévání buněk do gelu zde docházelo k postupné degradaci a následné syntéze kolagenu během migrace buněk. Buňky tak byly schopné kolonizovat gel v celém jeho objemu bez jeho znatelné kontrakce. Tento nový přístup byl rovněž využit pro prevaskularizaci dvouvrstvého konstruktů, ve kterém migrující kmenové buňky tukové tkáně podporovaly formování tubulárních struktur z endotelových buněk zalitých v gelu.

Druhá část této práce byla zaměřena na celulózové materiály jakožto slibné přírodní krytí kožních ran. Za účelem zlepšení adheze a proliferace buněk byly celulózové textilie pokryty dvěma typy fibrinových nanovrstev nebo vrstvou z kladně nebo záporně nabitých celulózových nanovláken. Výsledky ukázaly, že negativně nabitá celulózová nanovláknna na rozdíl od pozitivně nabitých nanovláken zlepšovala růst fibroblastů a kmenových buněk tukové tkáně. Tento výsledek však závisel na typu buněk a na složení vrstvy proteinů ze séra kultivačního média, ovlivňujících adhezi buněk na materiál. Dále bylo zjištěno, že síť z fibrinu, která se vytvořila na povrchu celulózové textilie, lépe podporovala adhezi a růst fibroblastů než fibrin obalující jen jednotlivá vlákna textilie.