

Polisacharydowo-białkowe membrany do rekonstrukcji rogówki



Maria Grolík, Maciej Kopeć, Krzysztof Szczubiałka, Maria Nowakowska¹

Bogumił Wowra, Dariusz Dobrowolski, Edward Wylęgała²

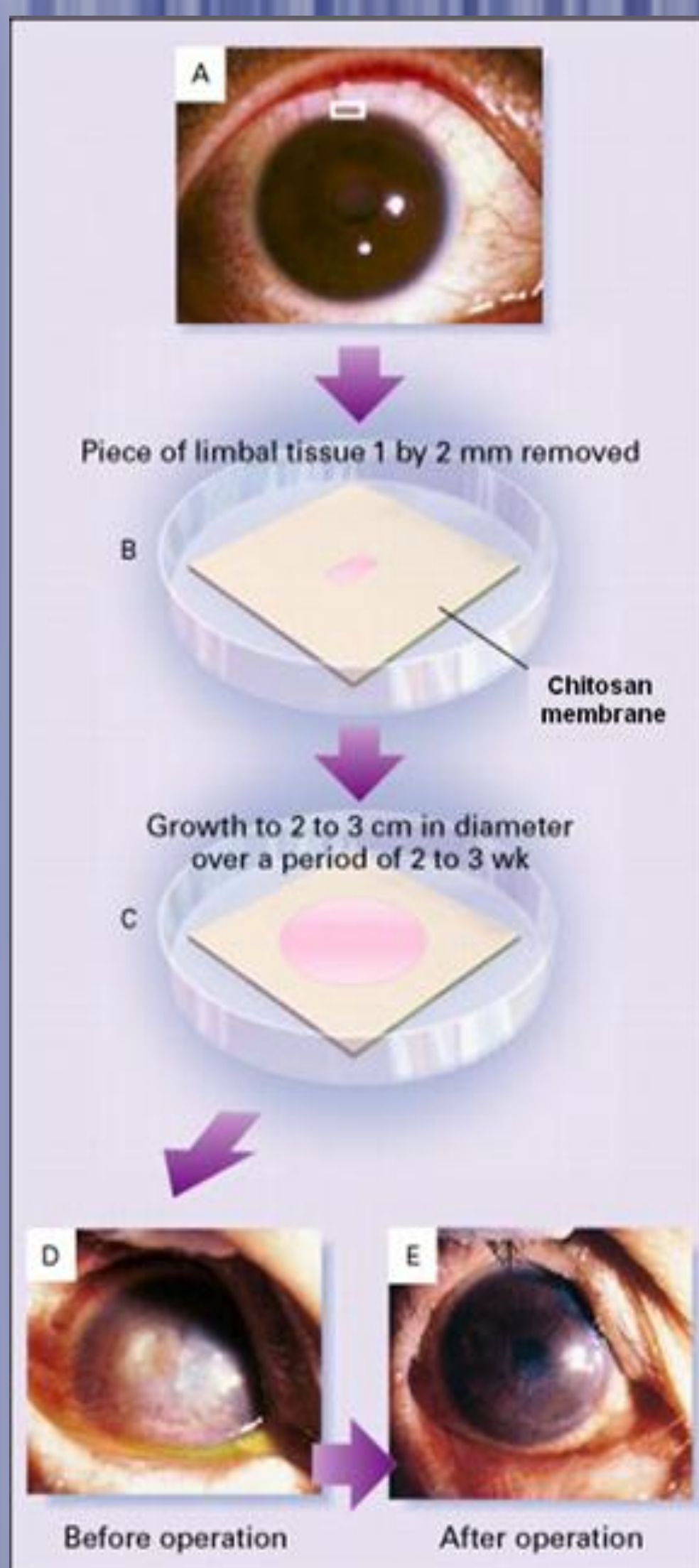
¹ Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński, ul. Ingardena 3, 30-060 Kraków

² Oddział Okulistyki Okręgowego Szpitala Kolejowego, ul. Panewnicka 65, 40-760 Katowice

1. Główne założenia pracy:

Celem badań było otrzymanie biodegradowalnych układów polimerowych w postaci membran służących jako podłoża do hodowli **komórek nabłonka rogówki gałki ocznej**. Głównym składnikiem układu jest **chitozan** - biozgodny, biodegradowalny, łatwo dostępny, oraz stosunkowo tani polisacharyd pochodzenia naturalnego, który został usieciowany za pomocą **genipiny** - naturalnego, pozyskiwanego z owoców gardenii jaśminowej związku sieciującego. Membrany winny spełniać szereg wymagań m. in. biokompatybilność, biodegradowalność, wysoka wytrzymałość mechaniczna i elastyczność. W celu uzyskania powyższych właściwości do układu wprowadzono dodatkowy białkowy składnik w postaci **keratyny**.

2. Zasada transplantacji:



Pobranie fragmentu rogówki (~2 mm²) za pomocą biopsji ze zdrowego oka (pacjenta bądź dawcy)

Pozyskana zawiesina komórek rogówki wysiewana jest na membranie chitozanowo-keratynowej zanurzonej w medium hodowlanym

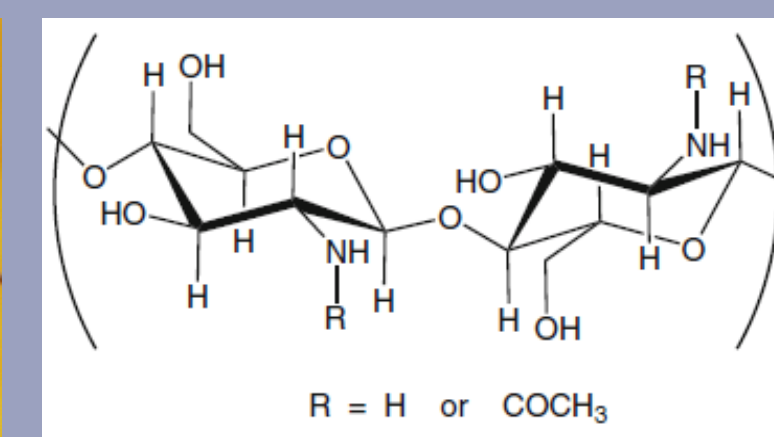
Po 14 dniach na hodowanej na membranie komórki nabłonka rogówki gotowe są do przeszczepu

Wyhodowane komórki nabłonkowe wraz z chitozanowo-keratynową membraną przenoszone są powierzchnię chorego oka

Membrana ulega biodegradacji

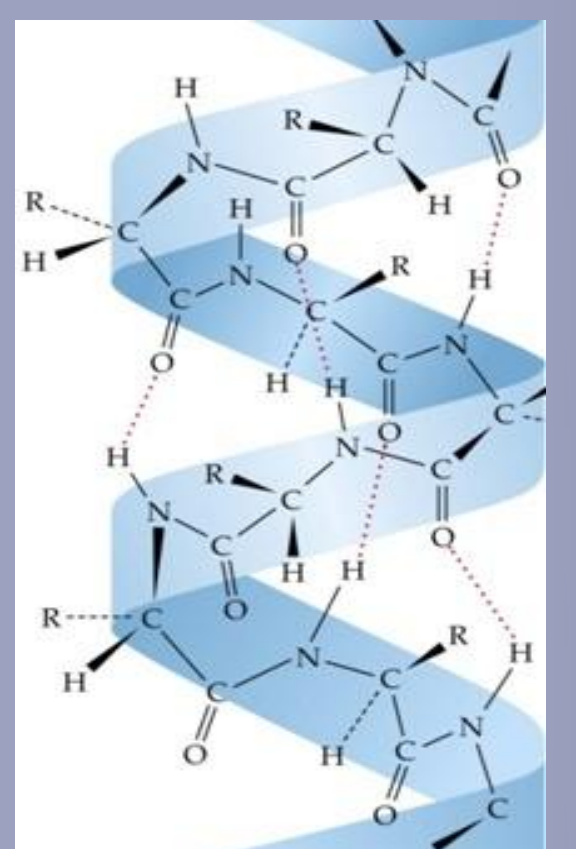
3. Materiały:

CHITOZAN:



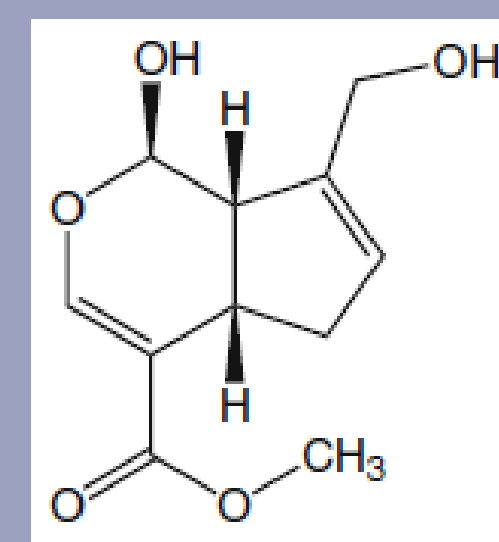
Rys. 3.1 Źródła oraz struktura chitozanu

KERATYNA:



Rys. 3.2 Źródła oraz struktura keratyny

GENIPINA:

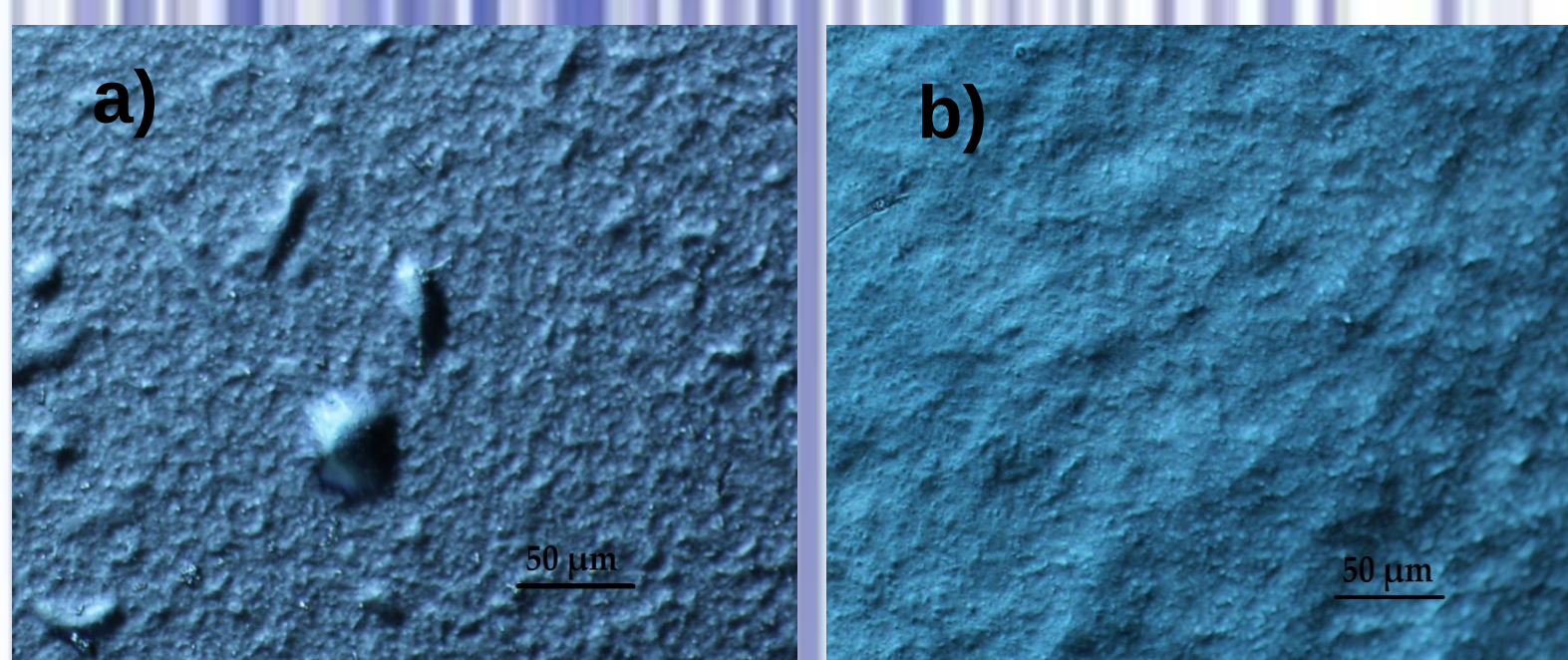


Rys. 3.3 Struktura oraz źródła genipiny

4. Uzyskane rezultaty:

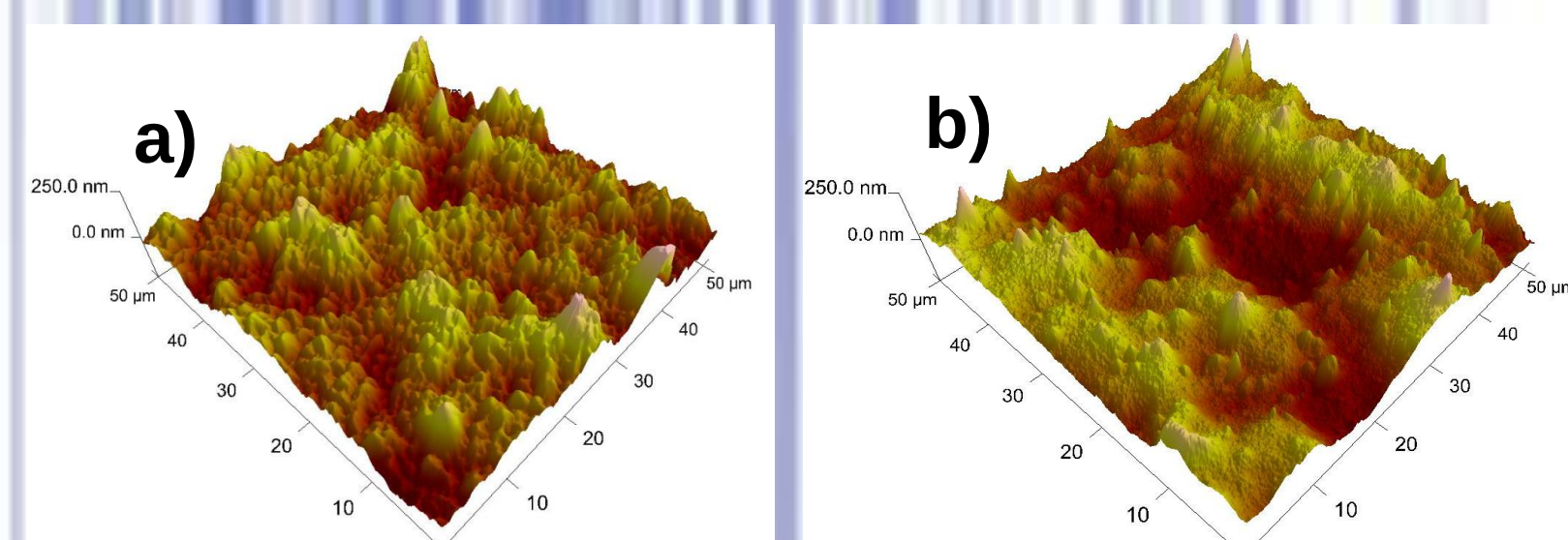
Na bazie **chitozanu** usieciowanego **genipiną** otrzymano membrany mające stanowić nośnik komórek nabłonkowych rogówki utworzone. W celu uzyskania odpowiednich właściwości fizykochemicznych oraz mechanicznych wzbogacono je o fibrylarne białko - **keratynę**. Badaniom poddano membrany zawierające **7% i 17% w/w keratyny**.

4.1. Mikroskopia optyczna



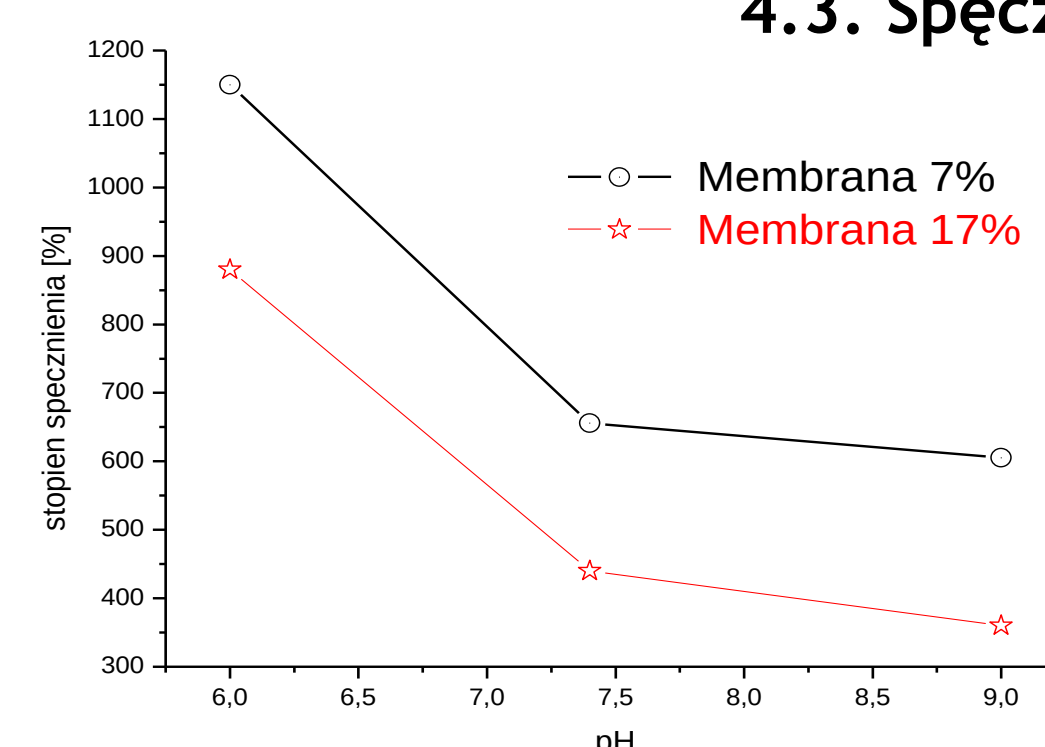
Rys. 4.1 Membrana chitozanowa usieciowana genipiną zawierająca a) 7%, b) 17% w/w keratyny

4.2. Mikroskopia sił atomowych

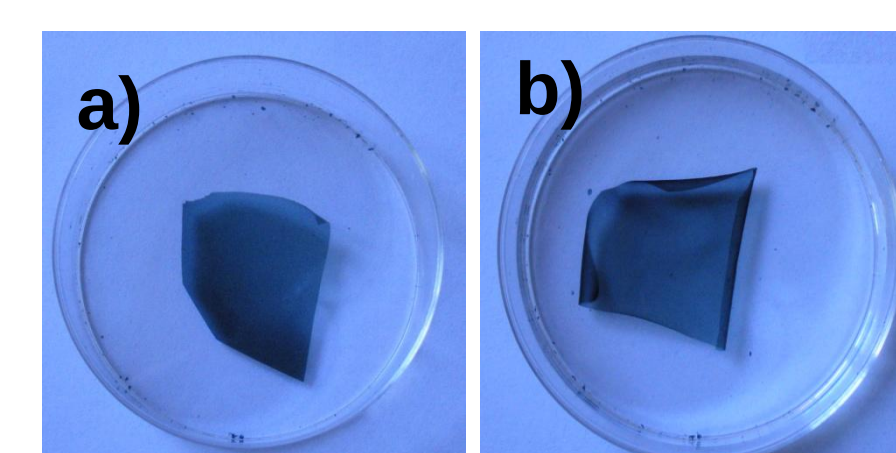


Rys. 4.2 Topologia powierzchni membran zawierających a) 7%, b) 17% w/w keratyny

4.3. Spęcznie

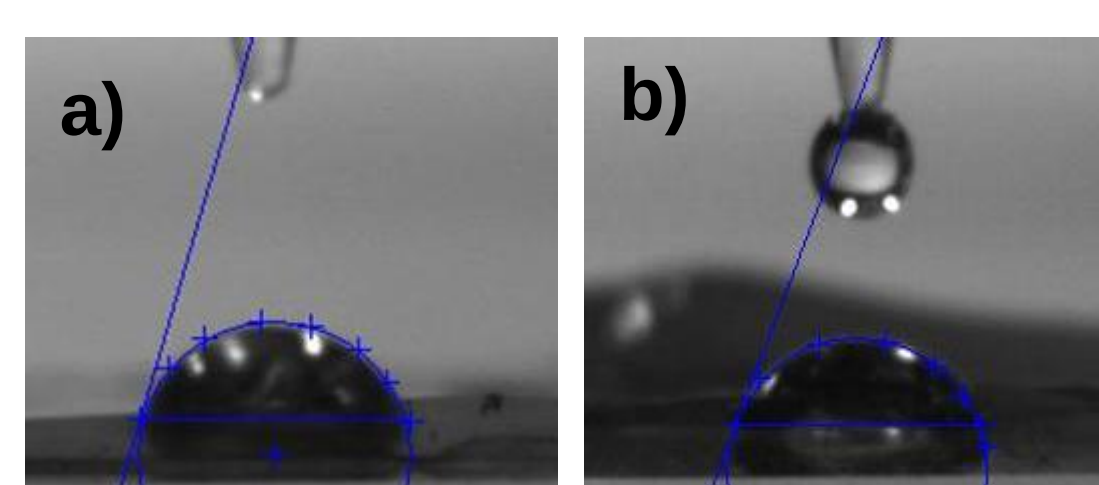


Rys. 4.3 Wykres zmian pęcznienia membran w różnych pH



Membrana a) sucha oraz b) po pomiarze spęczenia

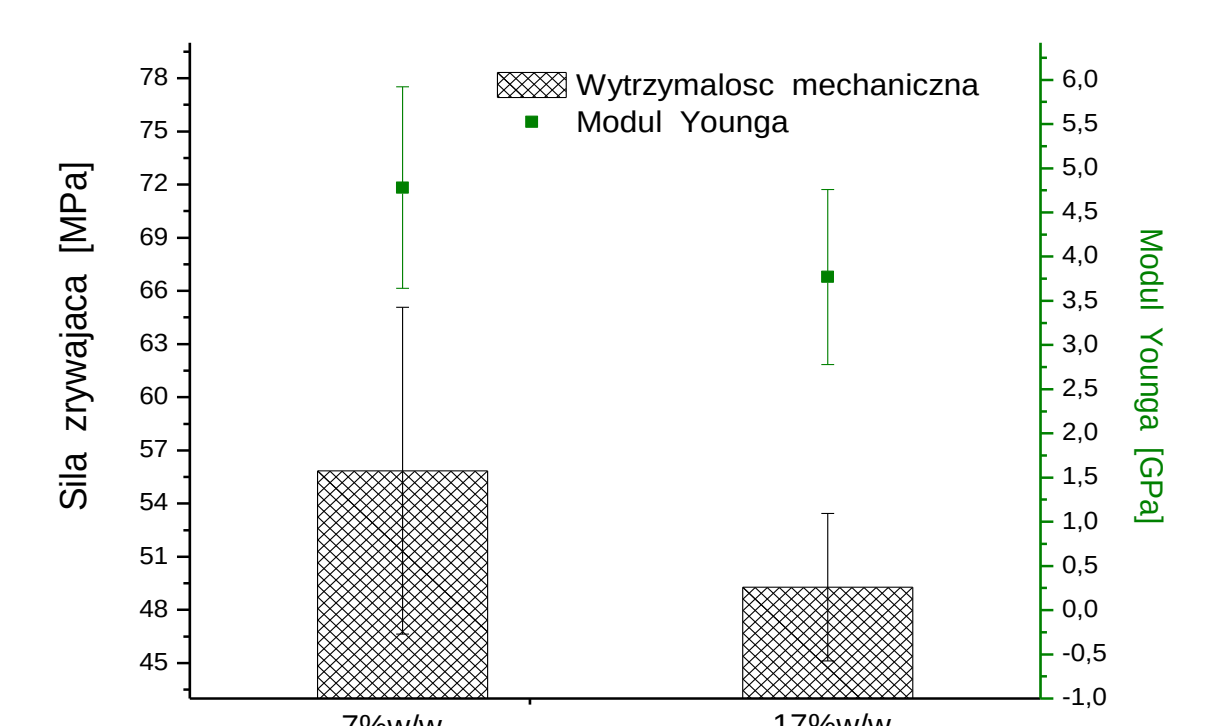
4.4. Kąt zwilżania



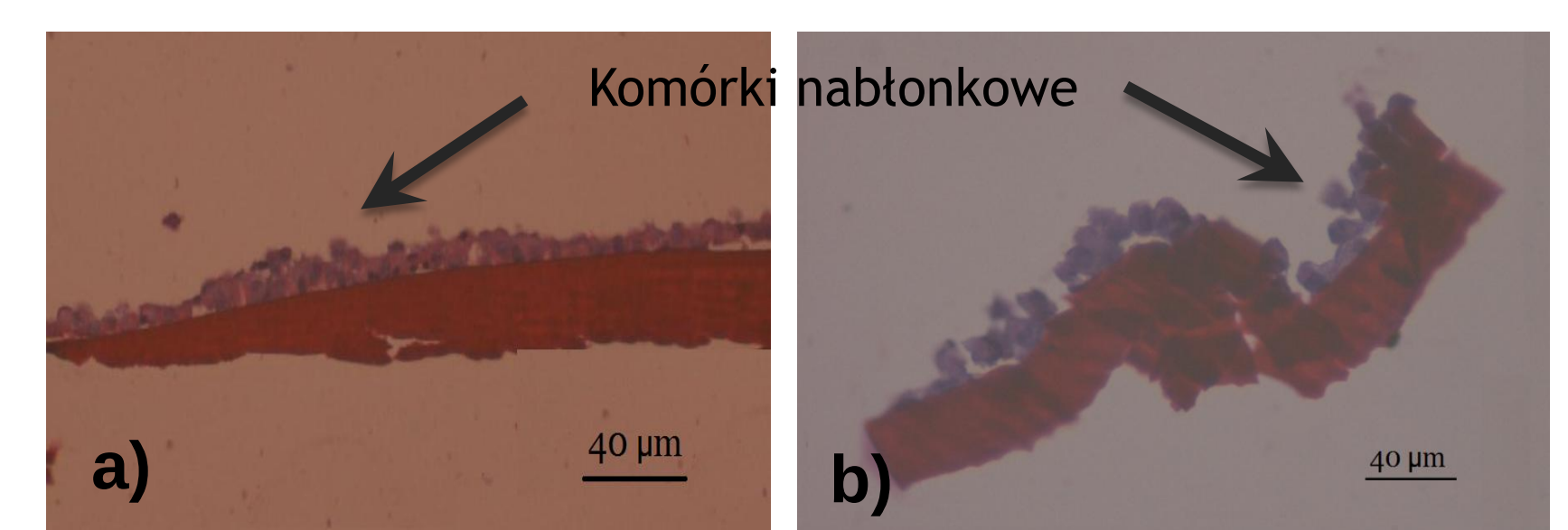
7% w/w keratyny	65±9°
17% w/w keratyny	64±5°

Rys. 4.4 Pomiar kąta zwilżania suchych membran zawierających a) 7%, b) 17% w/w keratyny

4.5. Wytrzymałość



4.6. Badania biologiczne



Rys. 4.6 Wielowarstwowa hodowla nabłonka na membranie zawierającej a) 7%, b) 17% w/w keratyny
Mikroskop optyczny

5. Podsumowanie:

Stwierdzono, iż usieciowanie naturalnego polimeru, jakim jest **chitozan**, za pomocą **genipiny** oraz wzmocnienie go białkiem fibrylarnym pozwala na otrzymywanie materiałów potencjalnie przydatnych jako podłoża do hodowli nabłonka rogówki gałki ocznej. Przeprowadzone badania fizykochemiczne i mechaniczne oraz test w środowisku *in vitro* wykazały, że membrany posiadają bardzo korzystne właściwości fizykochemiczne, mechaniczne i biologiczne.

6. Literatura:

1. M. Grolík, K. Szczubiałka, B. Wowra, D. Dobrowolski, B. Orzechowska-Wylęgała, E. Wylęgała, M. Nowakowska; Journal of Materials Science: Materials in Medicine 2012, 2. R.A.A. Muzzarelli; Carbohydrate Polymers 2009, (77)1-9, 3. Ray Jui-Fang Tsai, M.D., Lien-Min Li, The New England Journal of Medicine, 2000, (343)88-93, [Zdjęcia chitozanu](http://kopalniawiedzy.pl/media/lib/108/nchitynowyoskorek.jpg): kopalniawiedzy.pl/media/lib/108/nchitynowyoskorek.jpg, vitacost.com/images/vcv2/chitosan.jpg, [Zdjęcia keratyny](http://ygallerysalon.com/uploads/keratin-protein.jpg): ygallerysalon.com/uploads/keratin-protein.jpg, fmdinfo.org/CMIImages/FMDInfo/Cow%20Hoof.jpg, efendyourskin.com/blog/images/sheep.jpg, [Zdjęcia genipiny](http://stuartxchange.org/RosalInsert.jpg): stuartxchange.org/RosalInsert.jpg, stuartxchange.org/Rosal.jpg

Badania przeprowadzono w ramach:
Programu Fundacji na rzecz Nauki Polskiej "Team" współfinansowanego przez Europejski Fundusz Rozwoju Regionalnego, PolyMed-TEAM/2008-2/6 oraz w ramach Projektu Badawczego Narodowego Centrum Nauki numer 2011/01/N/ST5/05544

