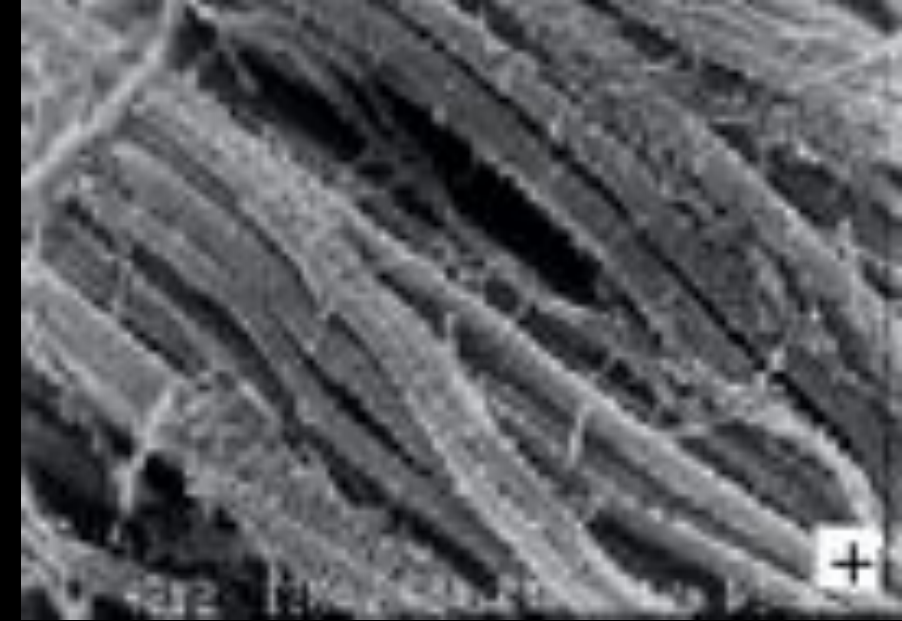
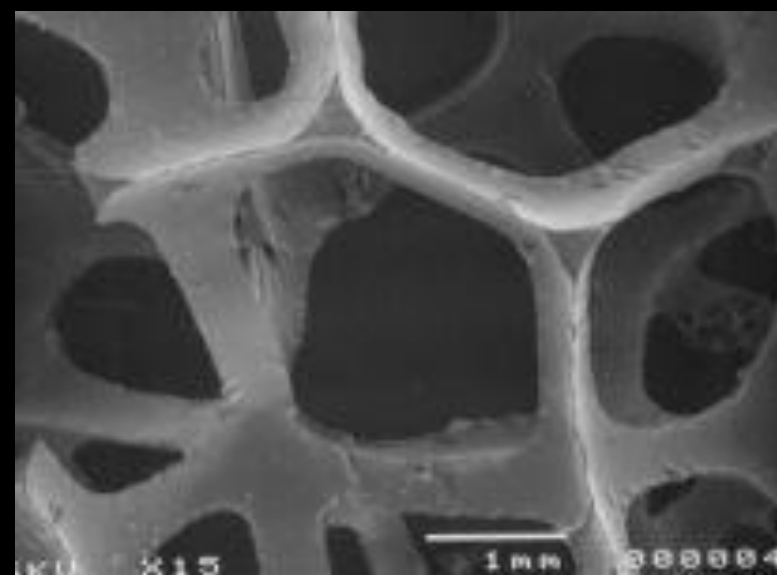
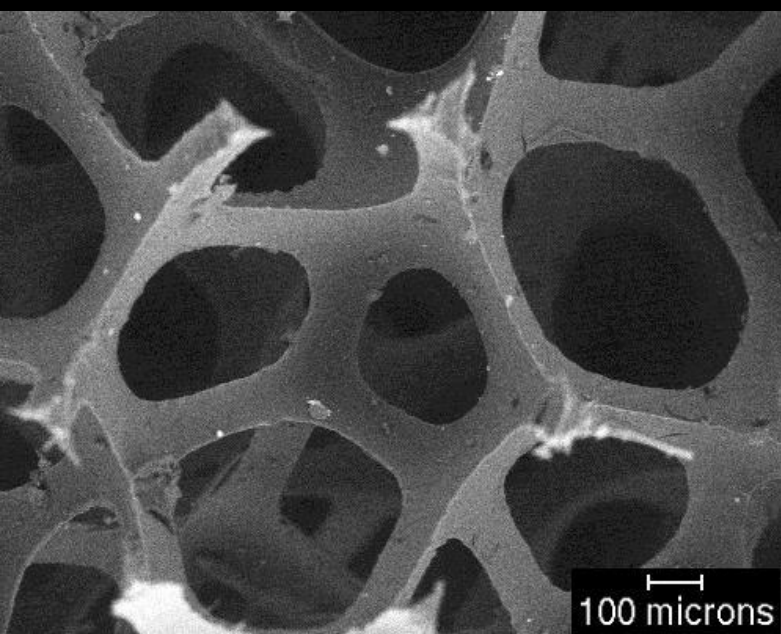
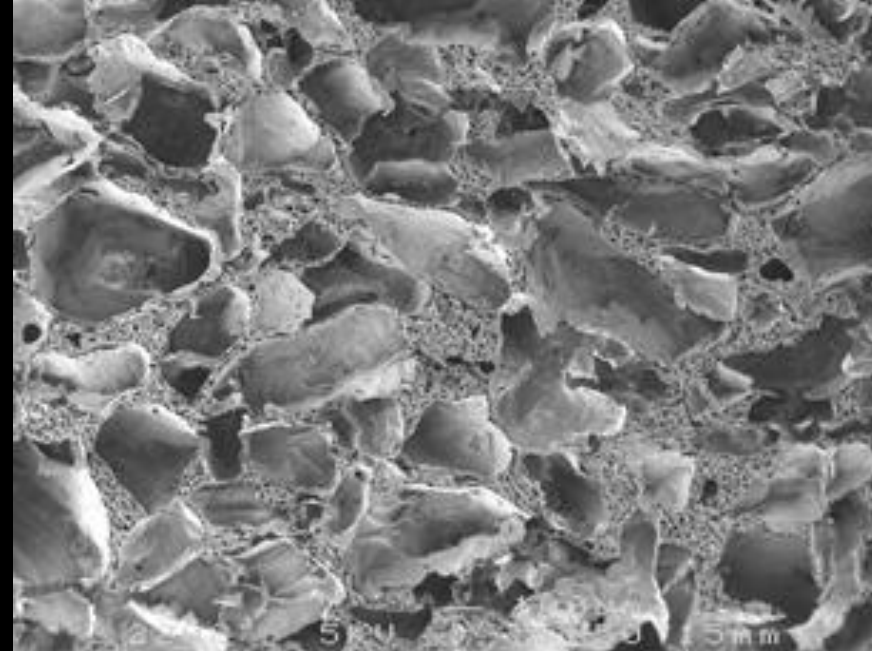
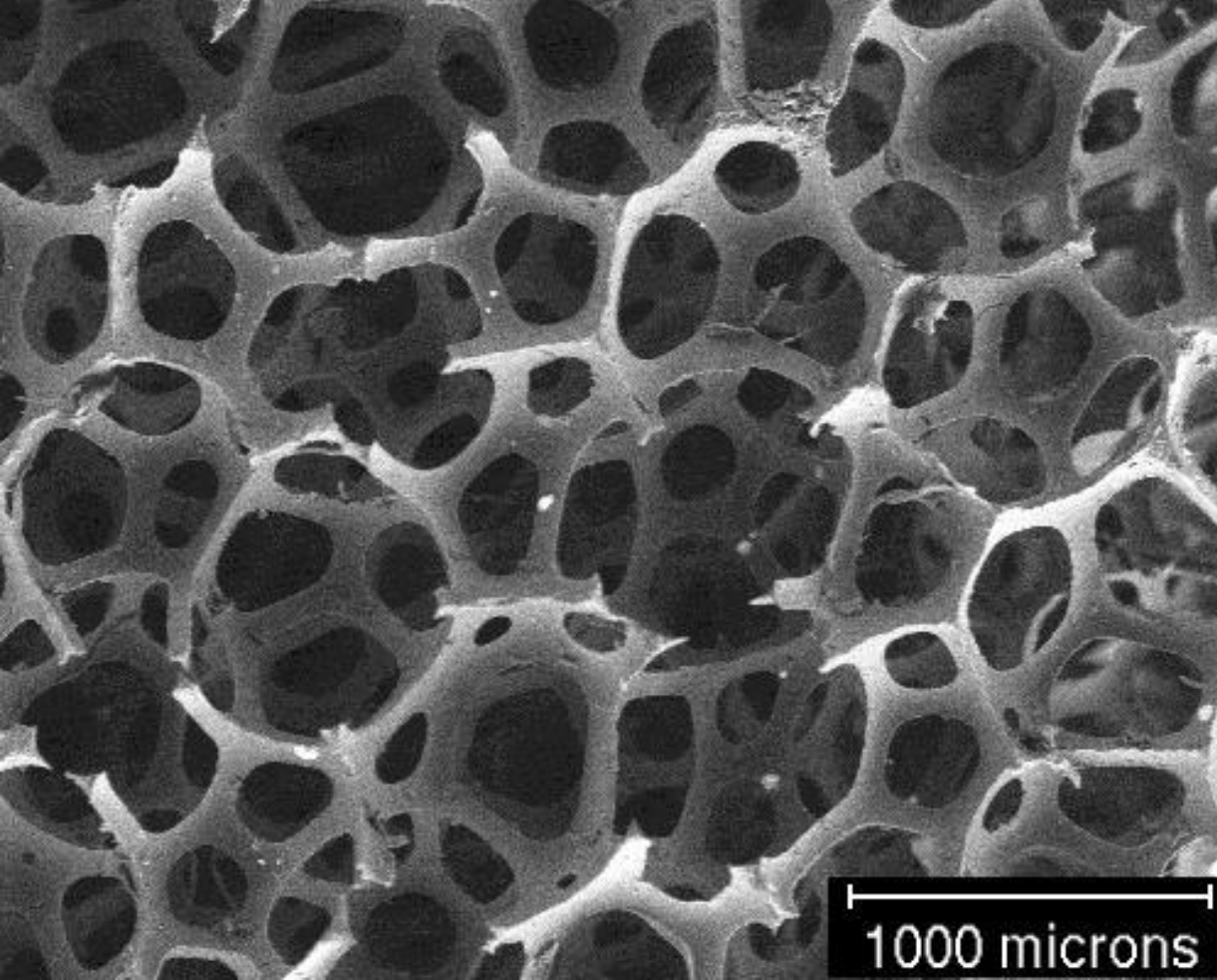


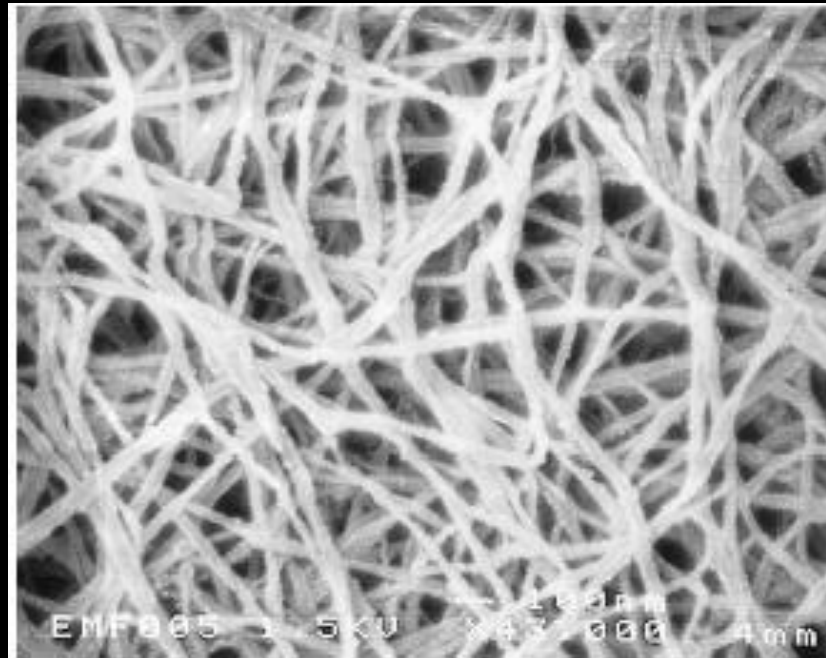
1. Metody badania oddziaływania komórek z polimerami
2. Oddziaływanie komórek z powierzchnią polimeru
3. Oddziaływanie komórek z polimerami w zawiesinie
4. Oddziaływanie komórek z trójwymiarową macierzą i żelami



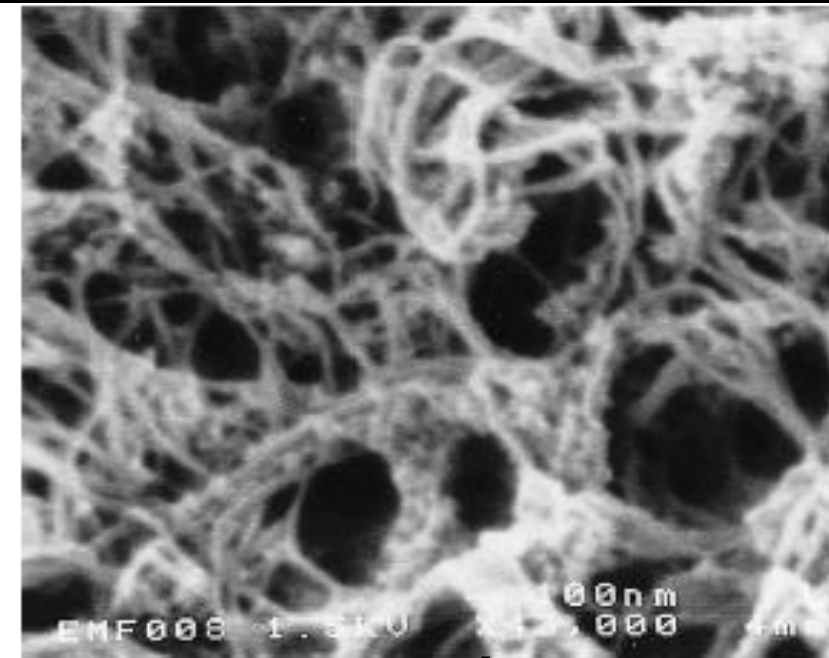


Nanostruktury kolagenowe z chitosanem

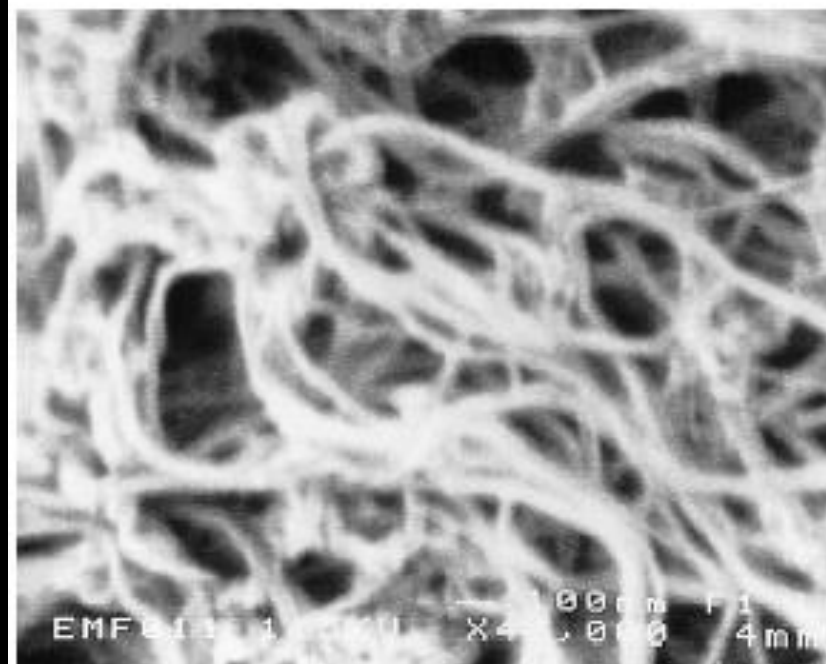
1:0



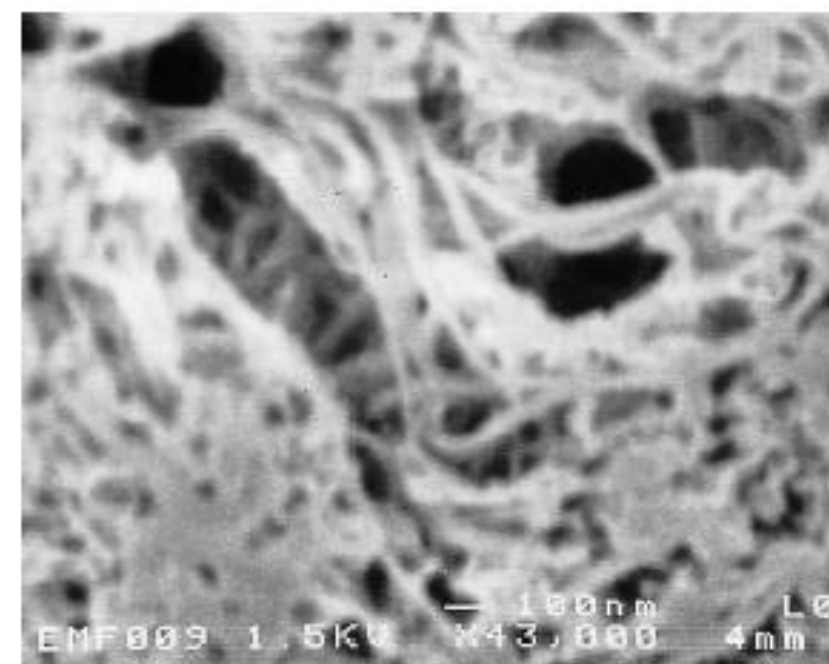
1:1



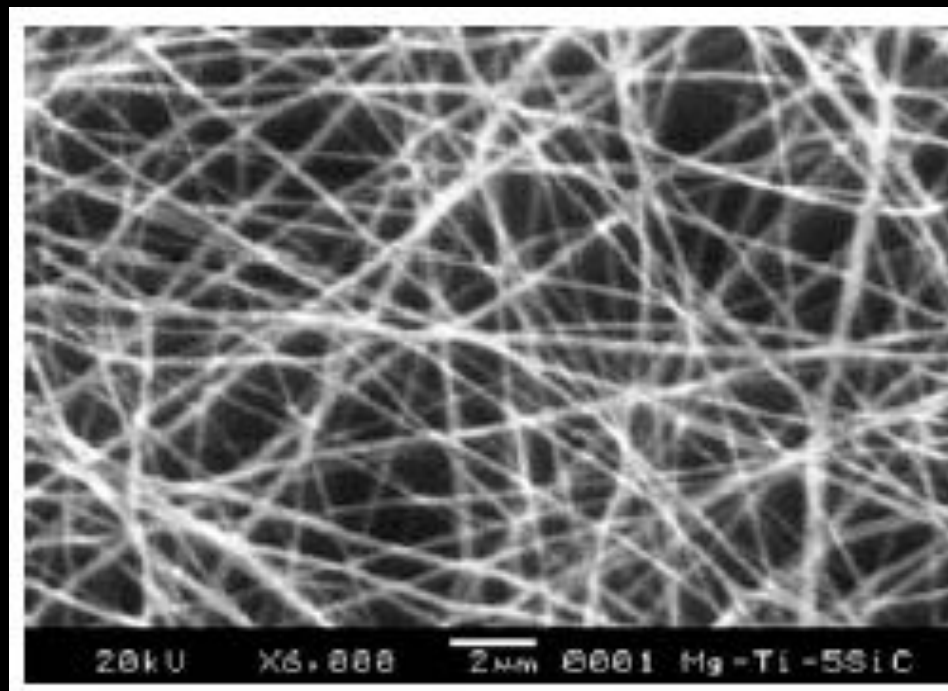
1:3



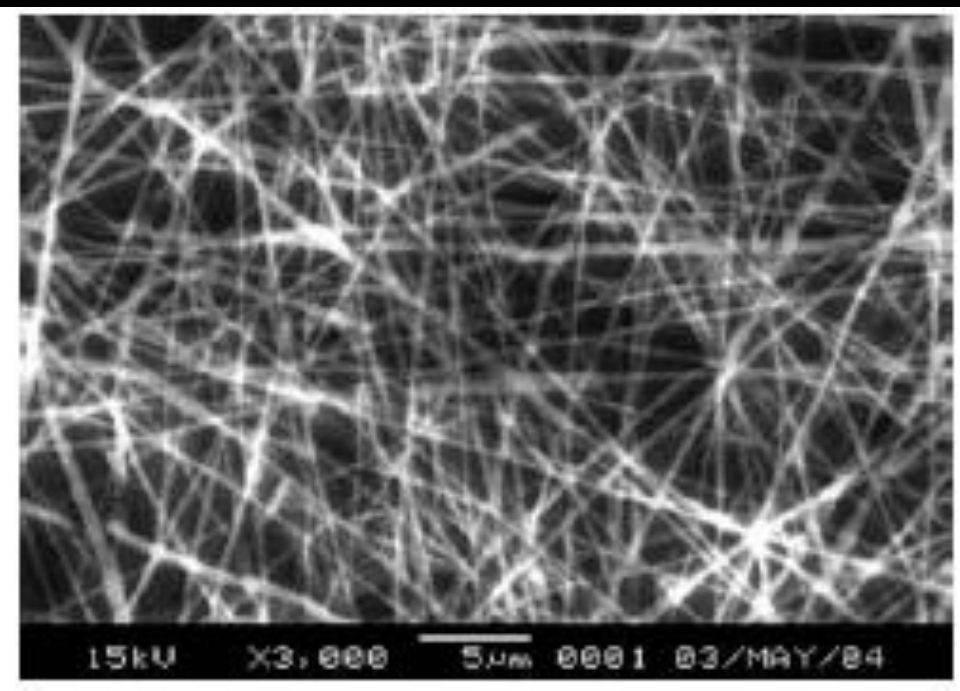
1:3 z komórkami



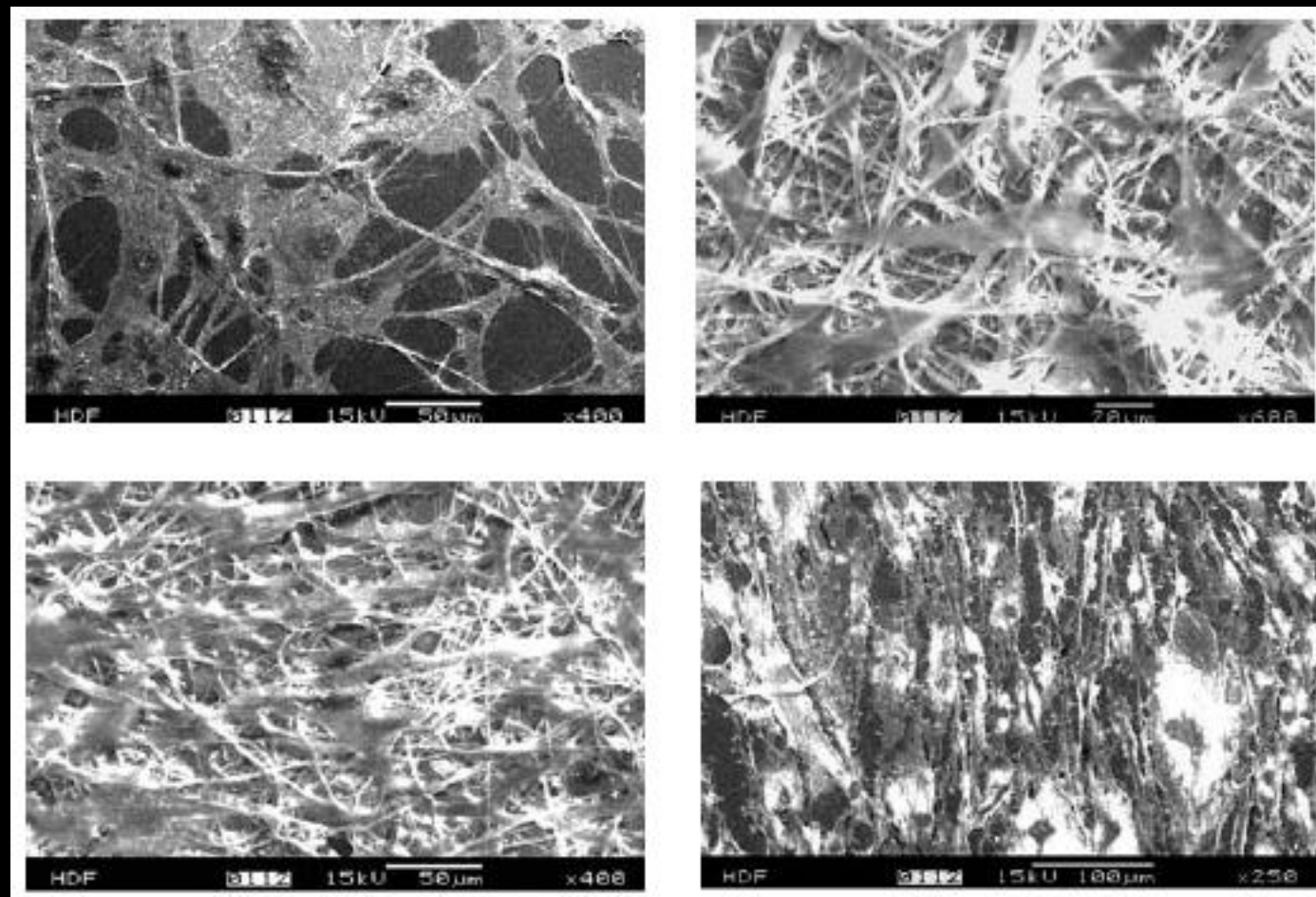
kolagen



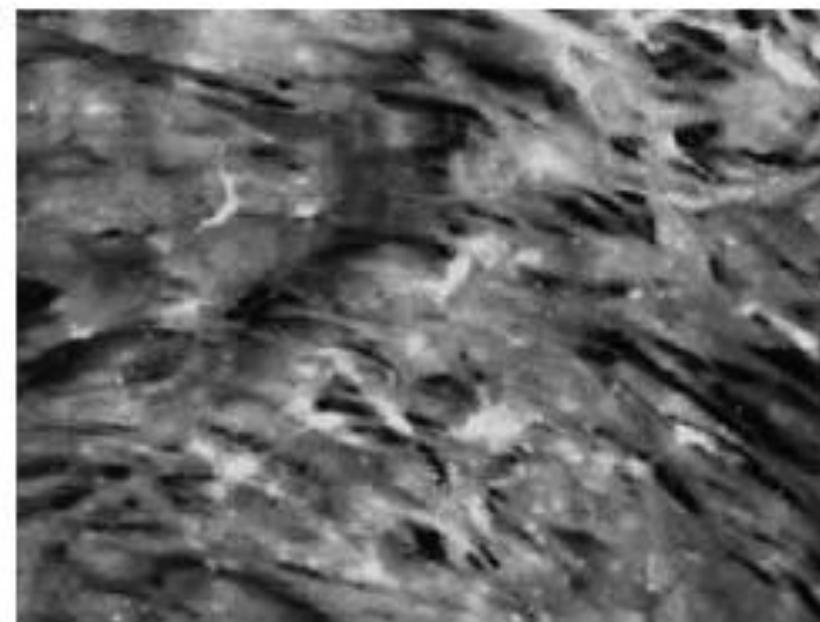
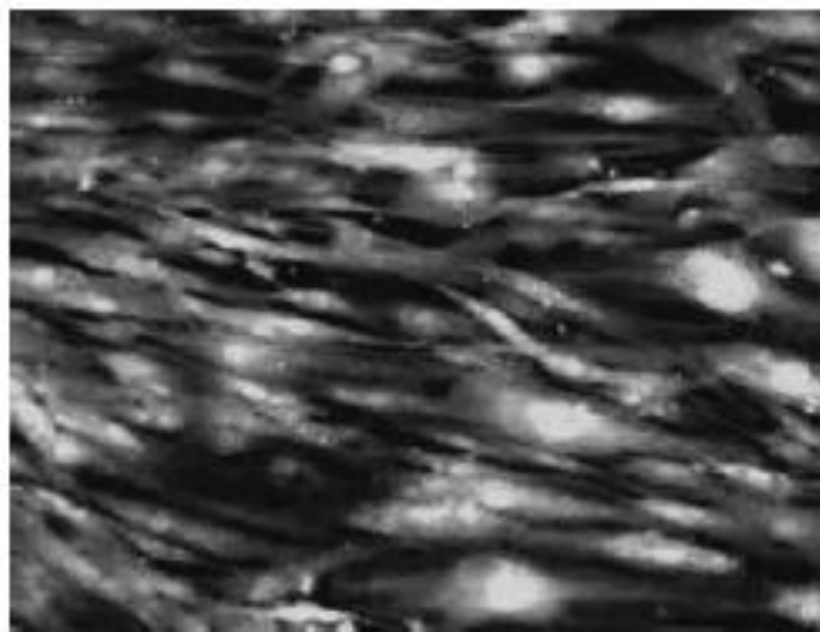
polikaprolakton



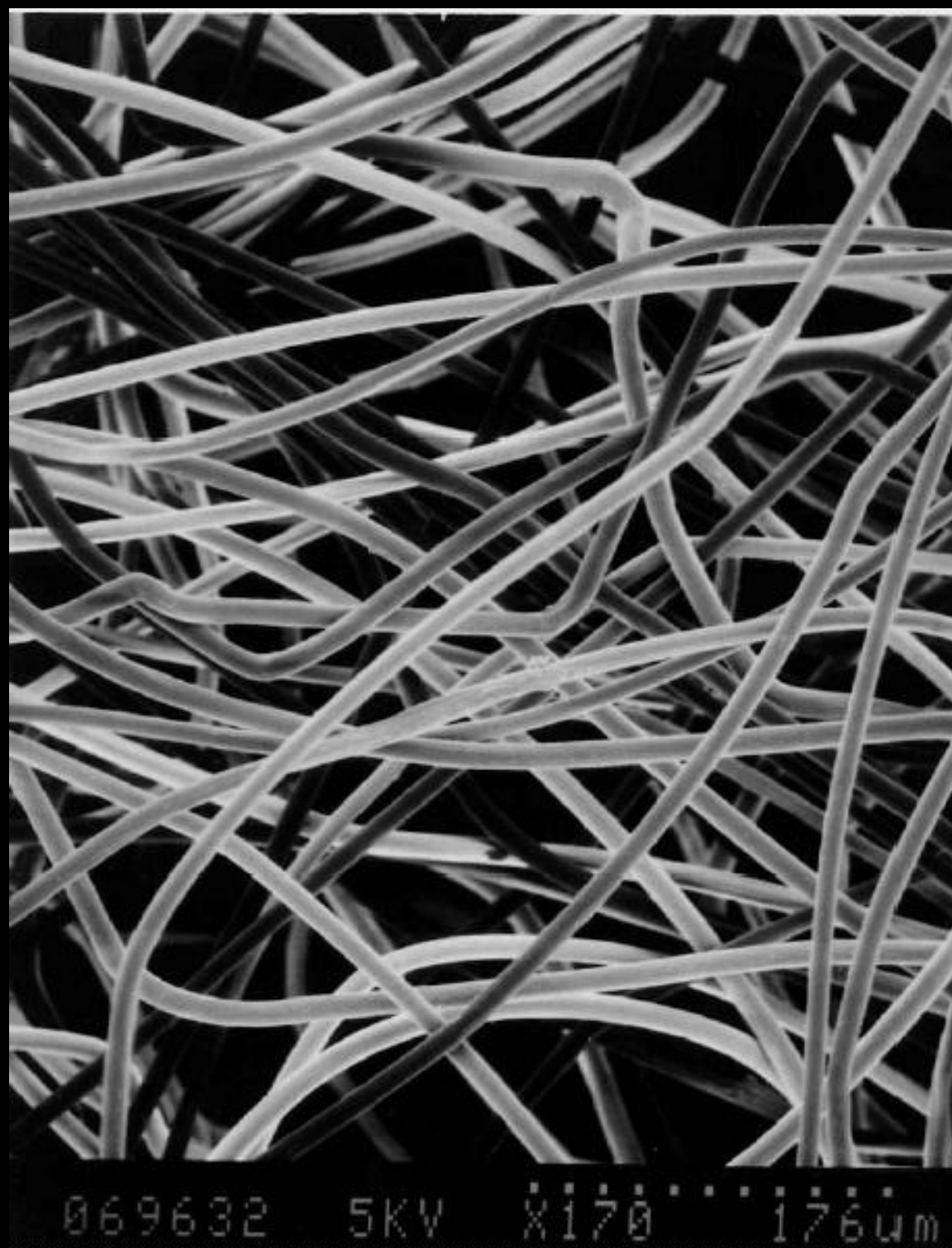
Polikaprolakton



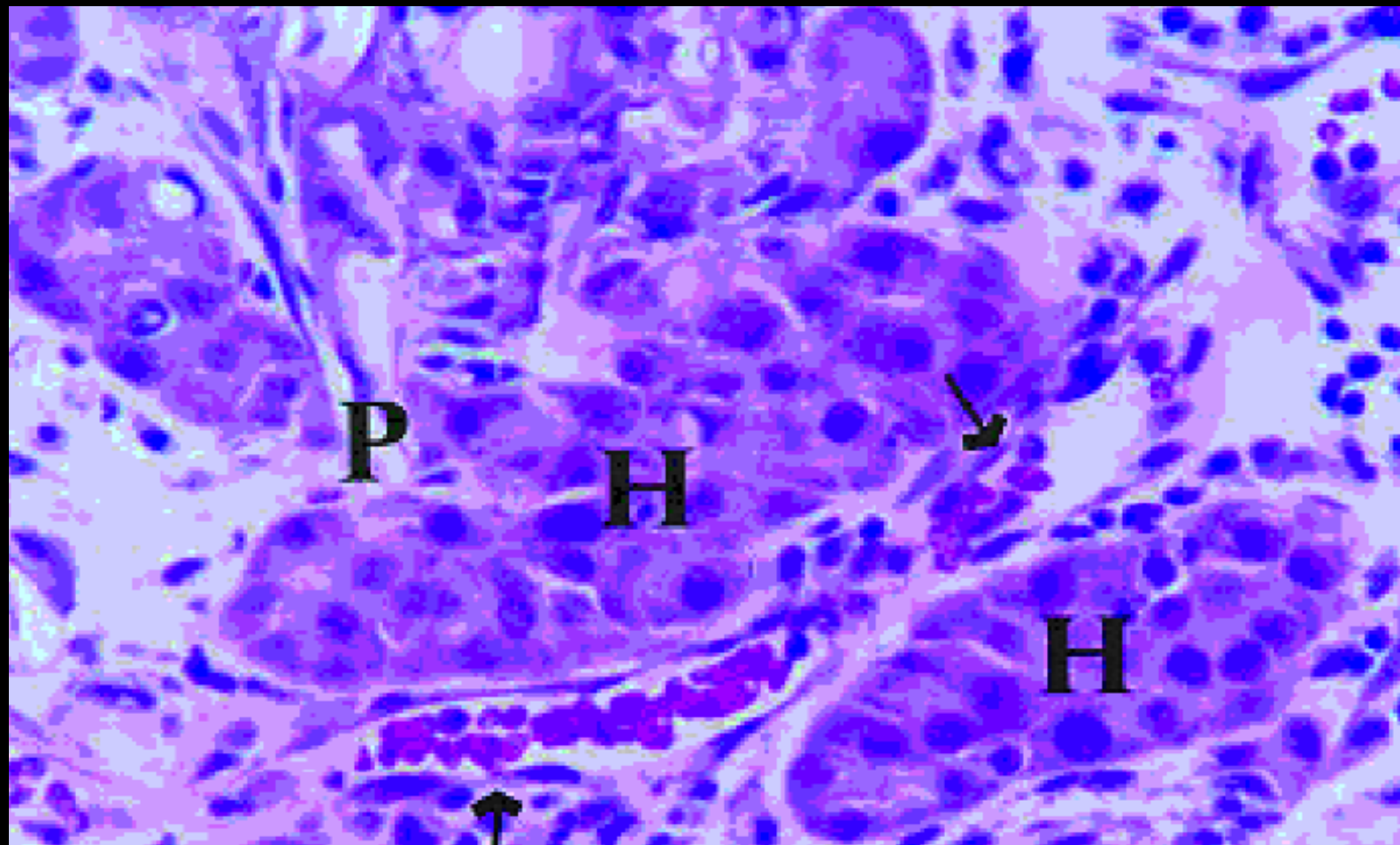
Barwienie fluorescencyjne fibroblastów na macierzy PCL



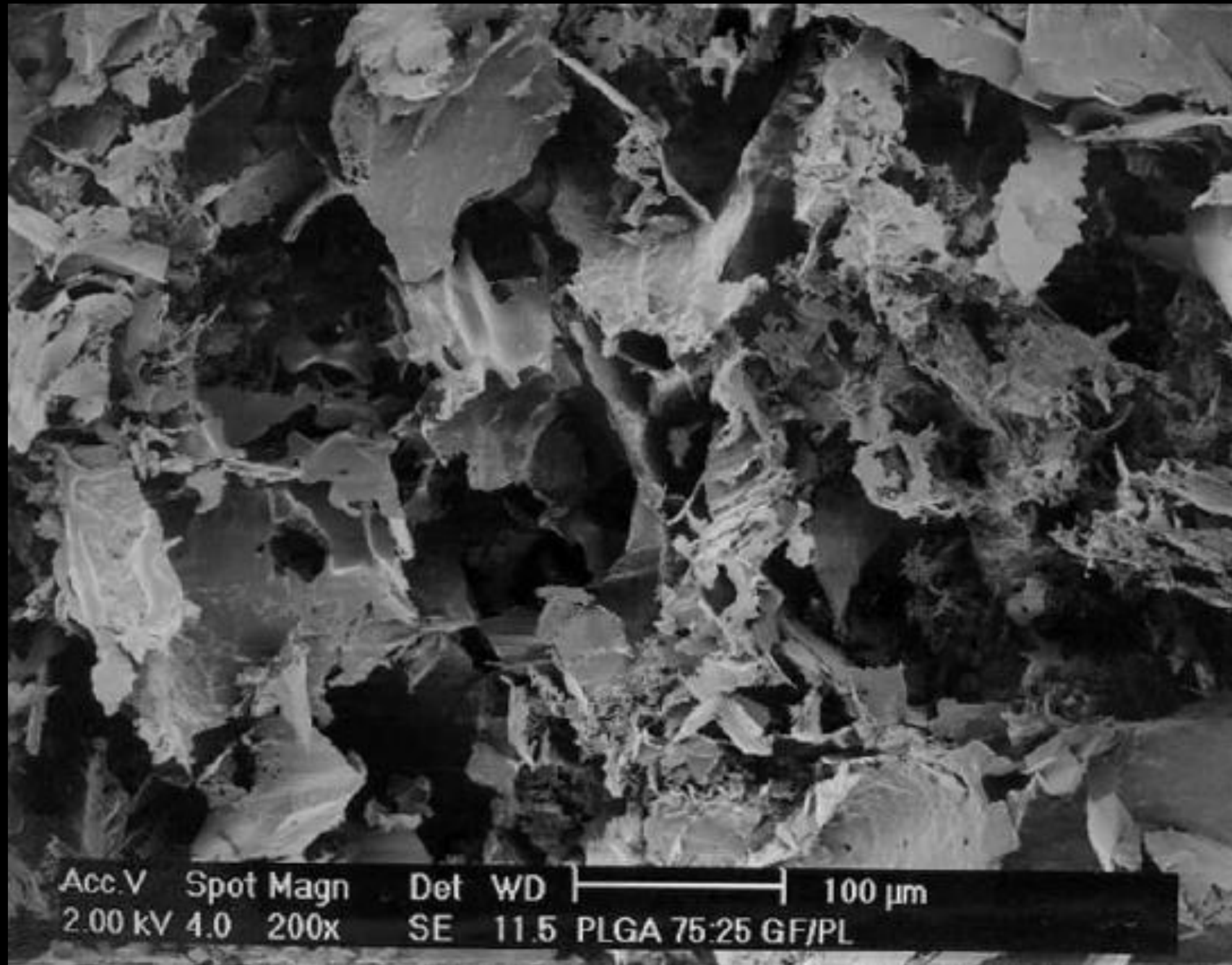
fibrylarna sieć kwasu poliglikolowego



Hepatocyty na gąbczastym nośniku z kwasu poli-L-mlekowego 7 dni po przeszczepie

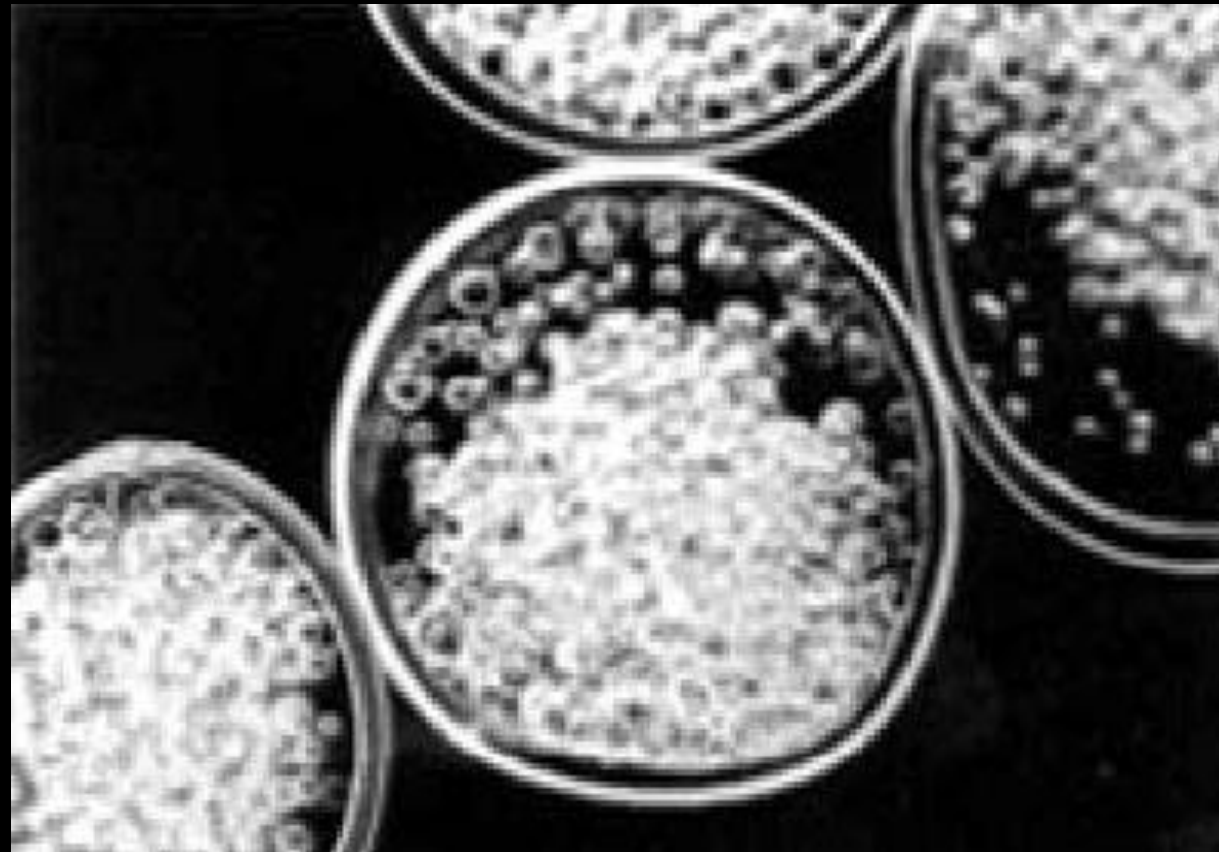


PLGA - nośnik gąbczasty

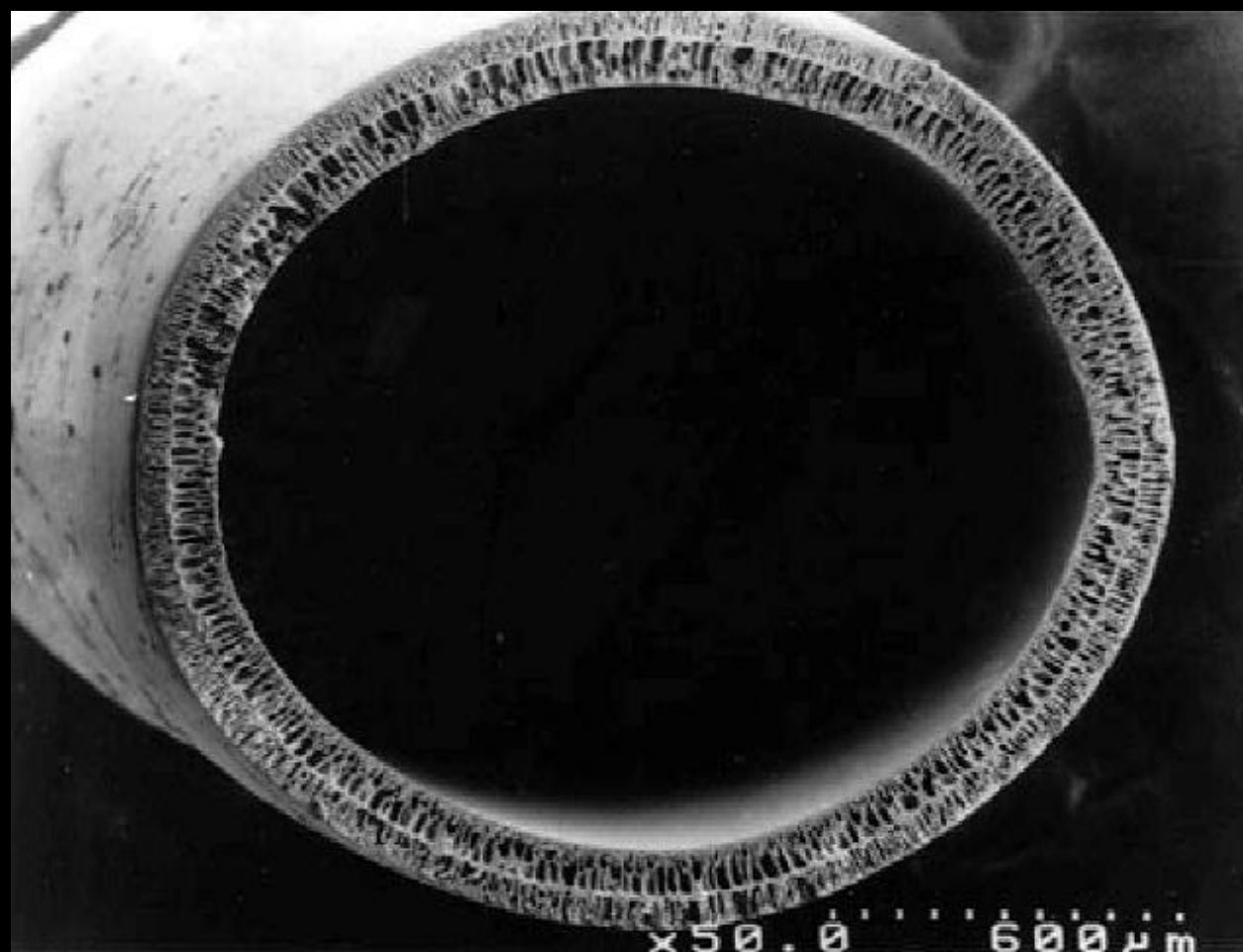


Smith & Mooney 2000

Mikrokapsułki z alginianu wapnia z hepatocytami



Polichlorek akrylonitrylowinylowy



Sztuczna wątroba

Collagen/chitosan/heparin matrix for a bioartificial liver

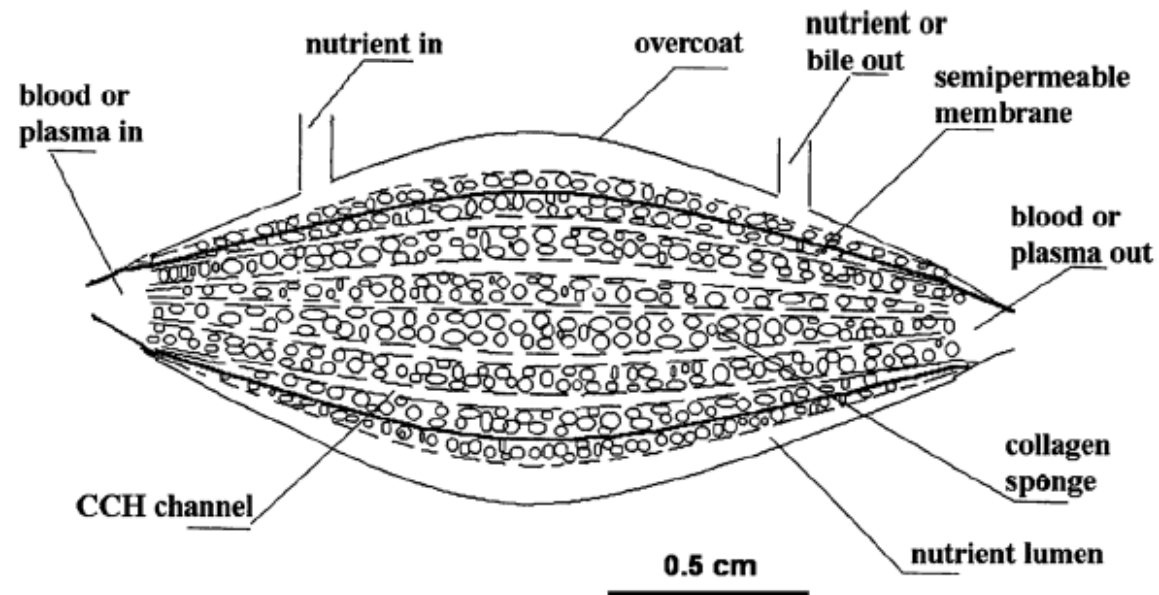
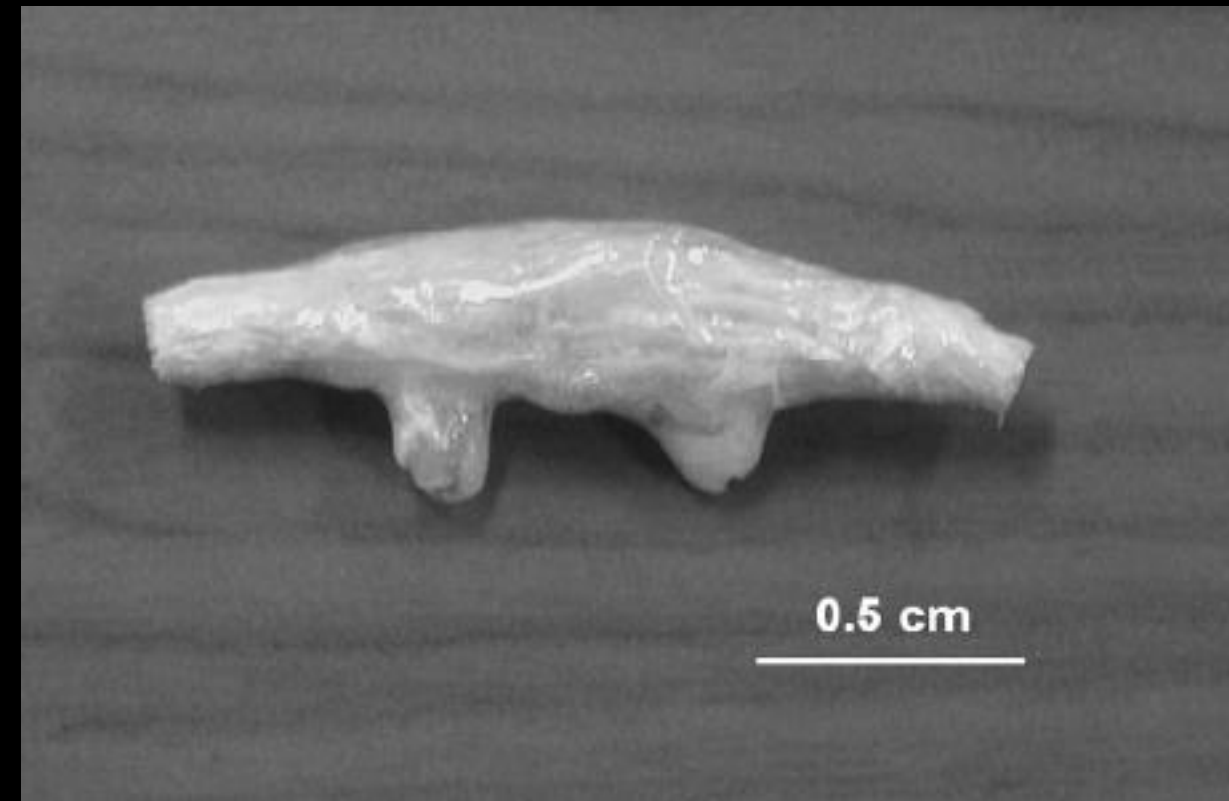
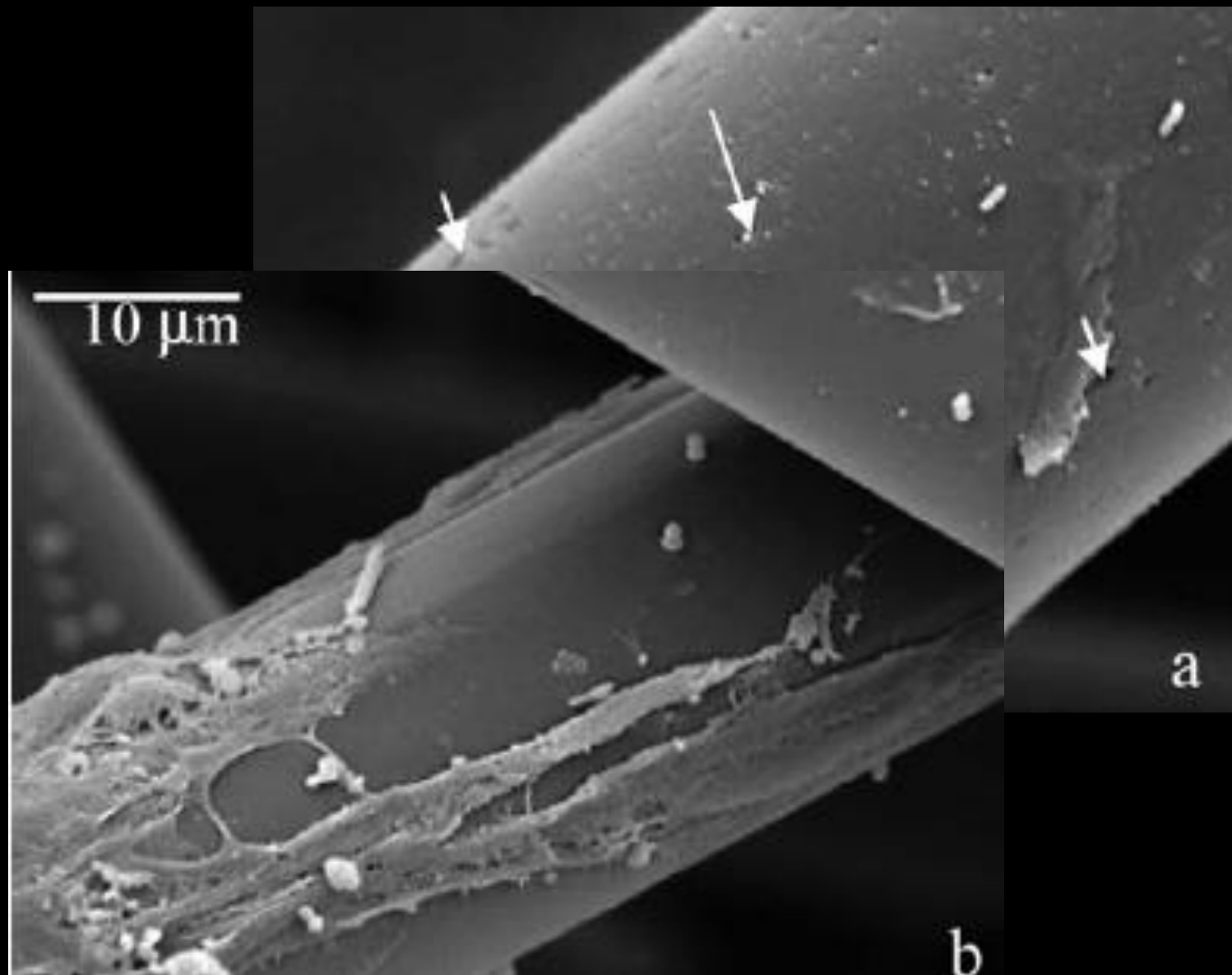


Figure 1. A sketch of the implantable bioartificial liver.

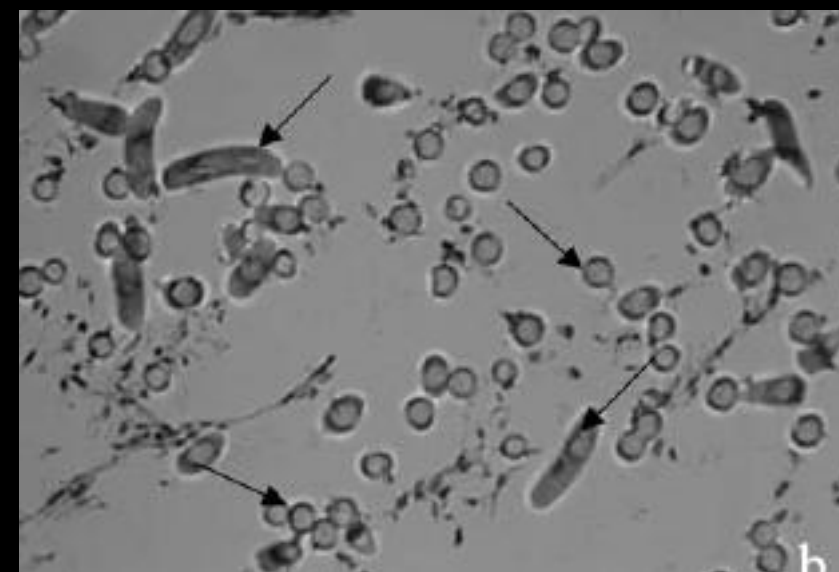
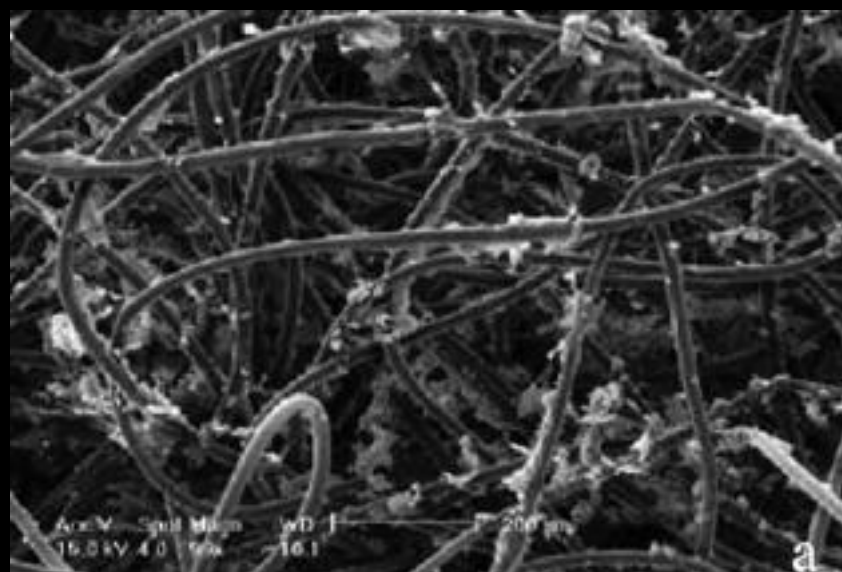


Wang et al. 2005

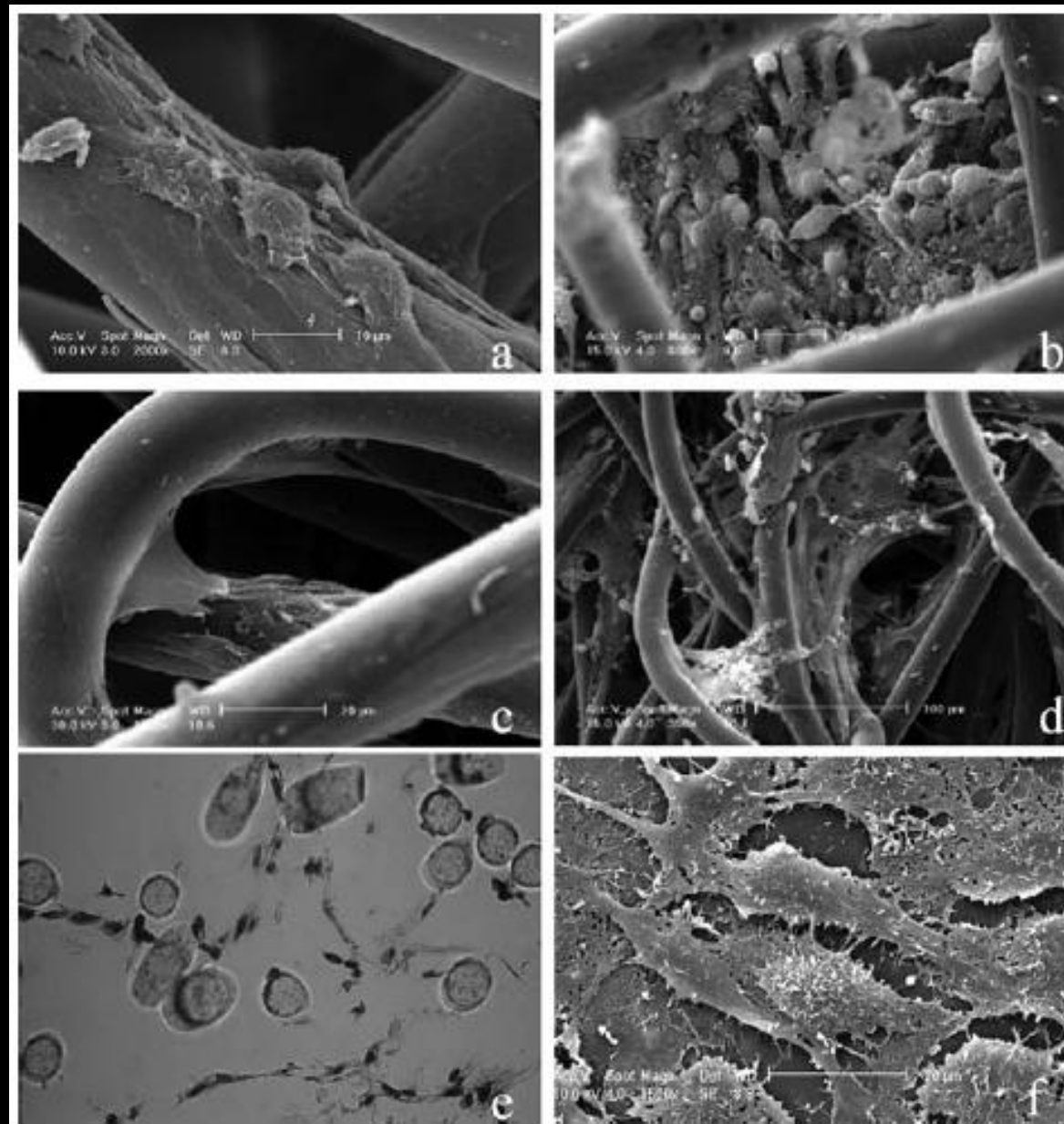
Tereftalan polietylenowy (PET)



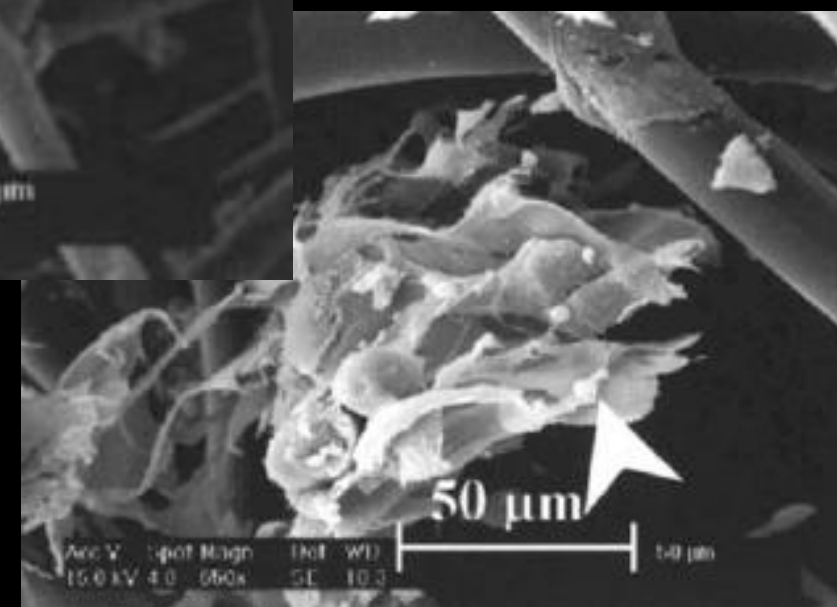
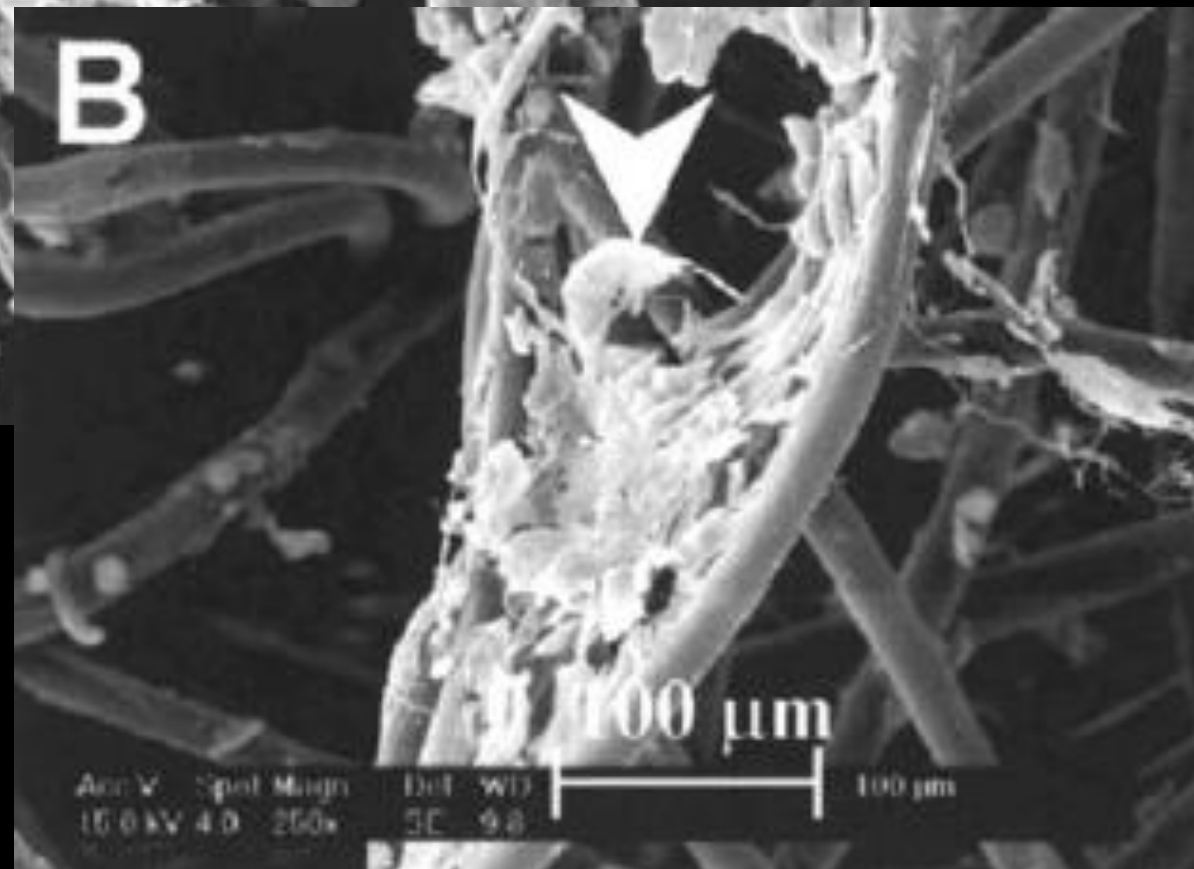
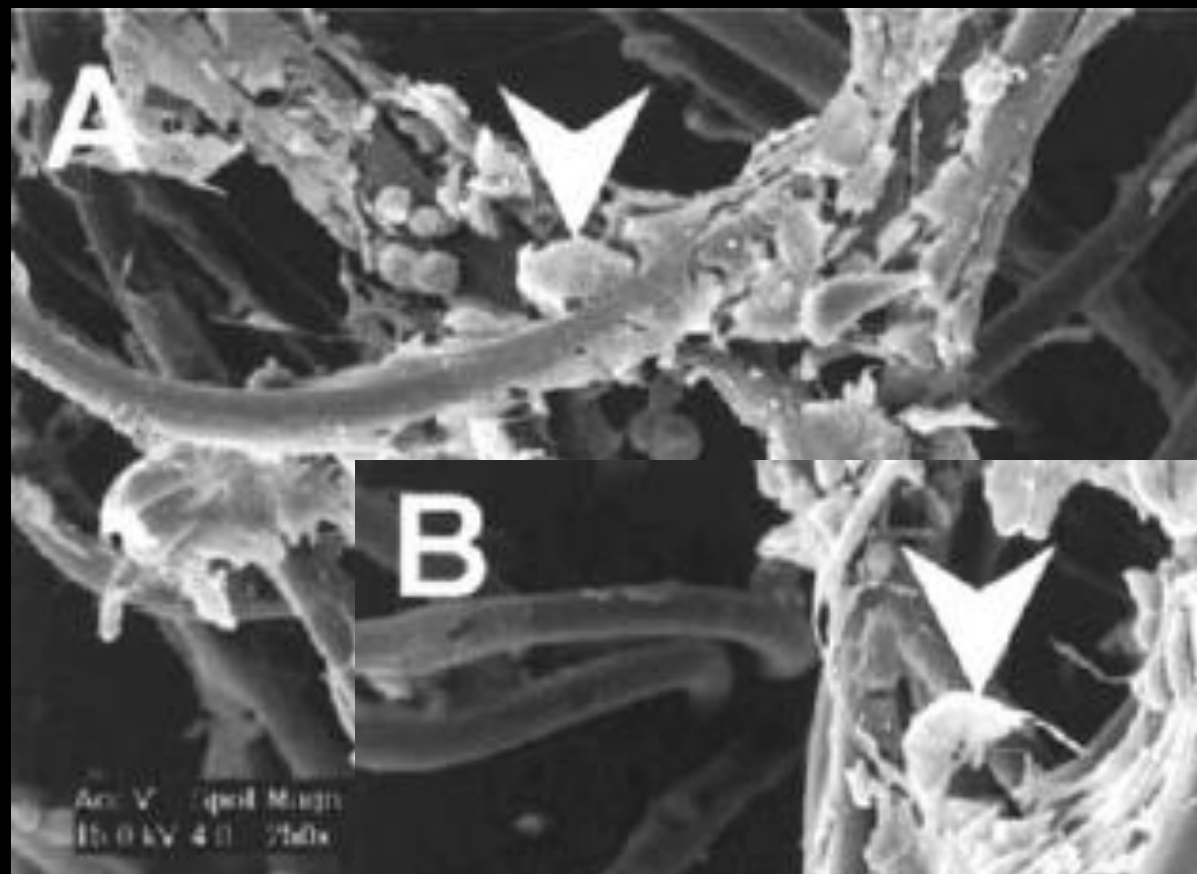
Tereftalan polietylenowy



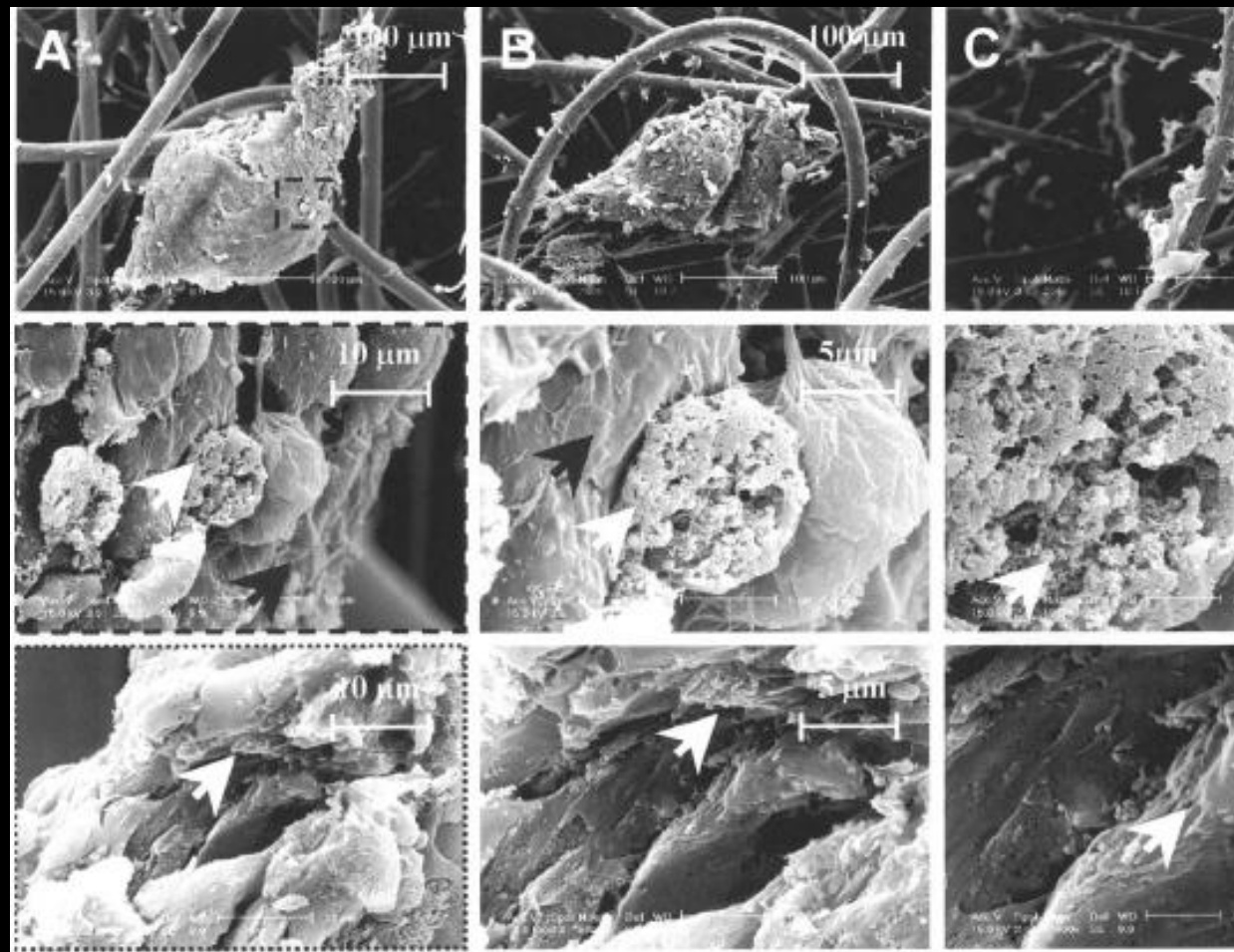
Średnica porów 65 μm



Włókna tereftalanu polietylenowego (PET) z preadipocytami



Agregaty adipocytów w sieci PET

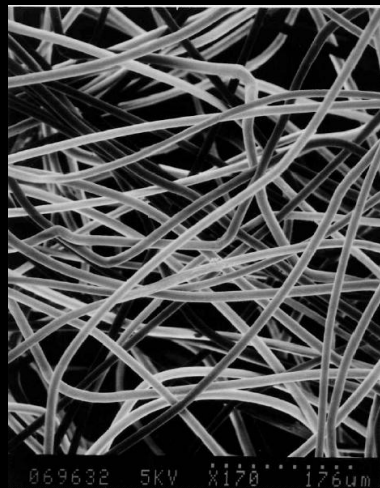


CECHY NOŚNIKÓW

- wysoka porowatość
- duża powierzchnia adhezji
- wytrzymałość strukturalna
- specyficzny kształt
- biokompatybilność

Metody syntezy polimerowych nośników

- Wiązanie włókien
- Odlew roztworu i wytlukiwanie
- Uwarstwianie
- Wytłaczanie
- Piana gazowa
- Zamrażanie-suszenie
- Rozdział faz
- Polimeryzacja in situ



Wiązanie (spajanie) włókien

- PLLA rozpuszczony w chlorku metylenu i wylany na sieć PGA
- Odparowanie rozpuszczalnika
- Podgrzewanie mieszaniny do temp. topnienia PGA - krzyżowe wiązanie włókien
- Hartowanie kompozytu
- Suszenie w próżni

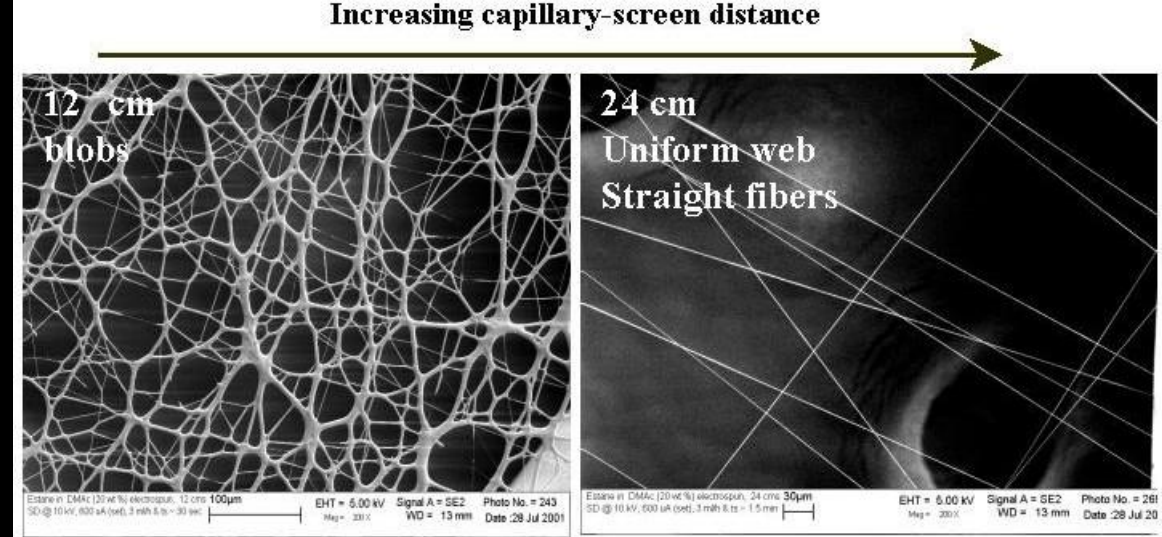
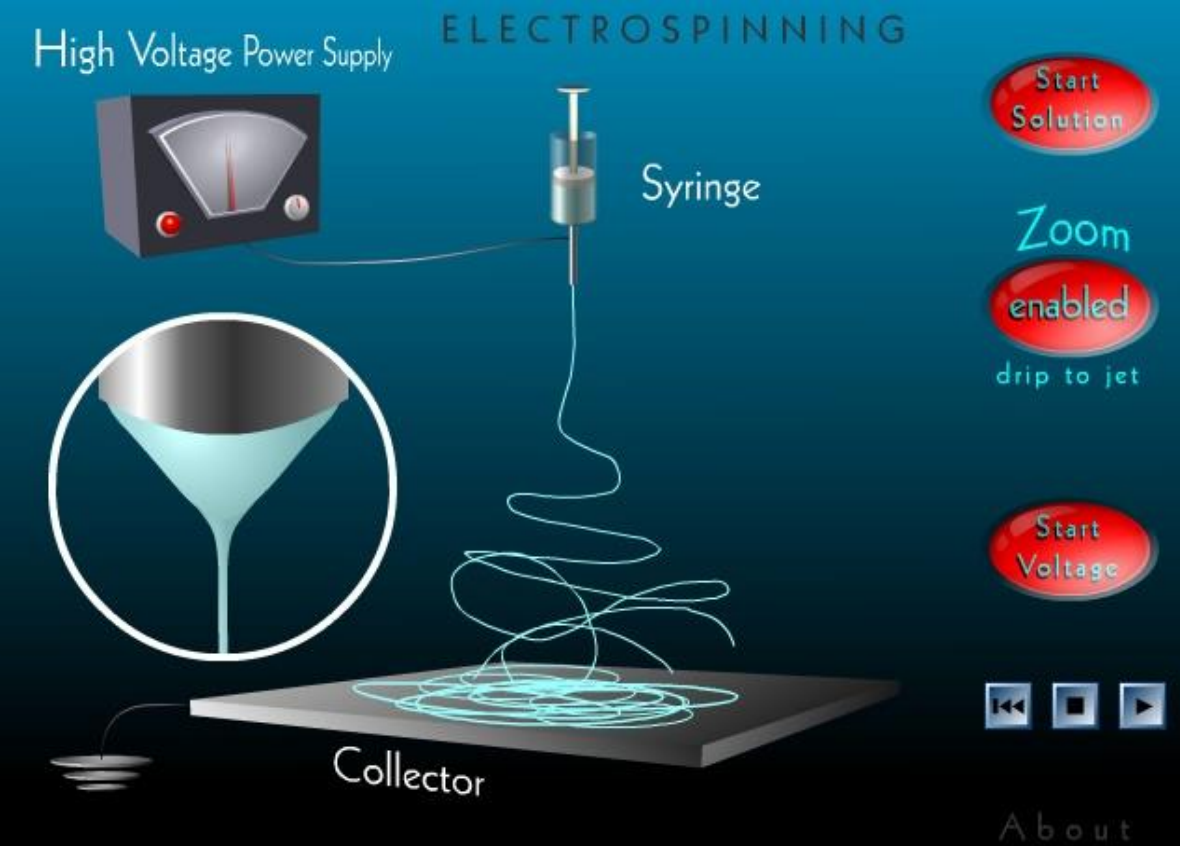
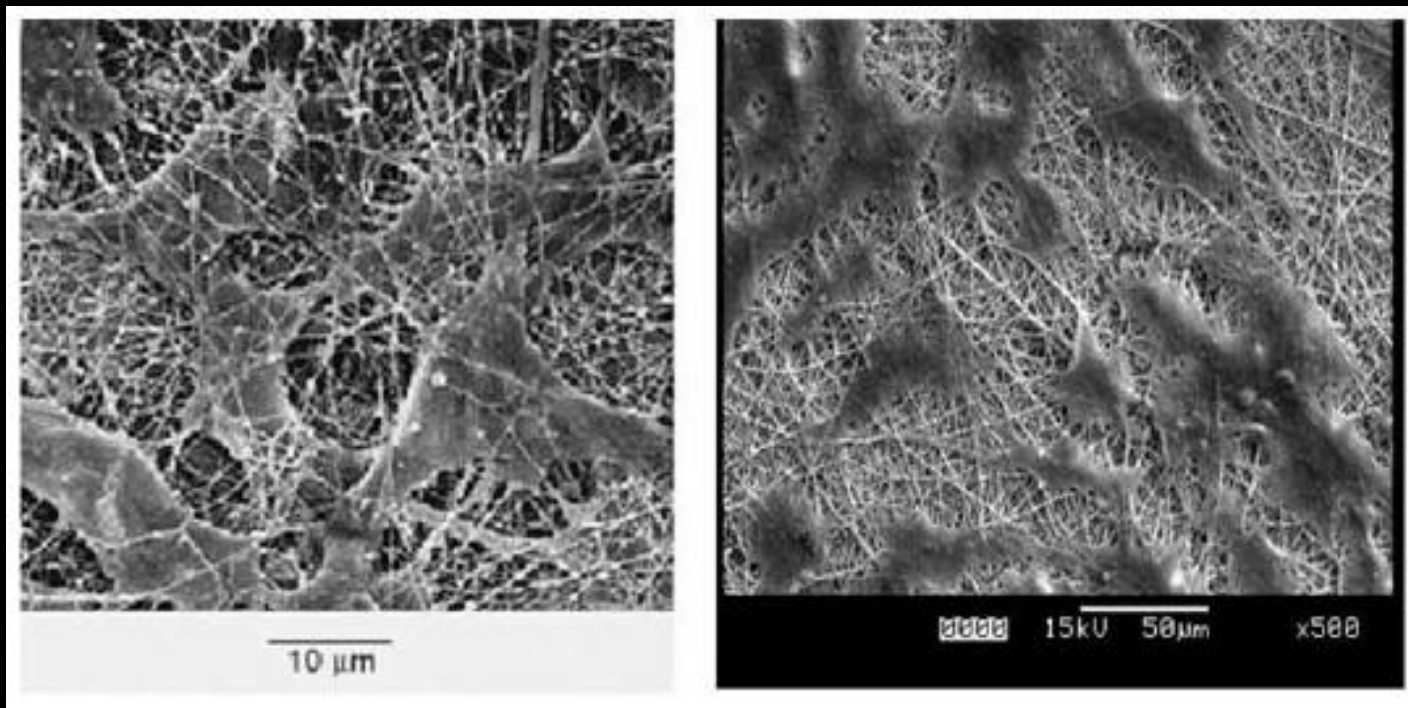
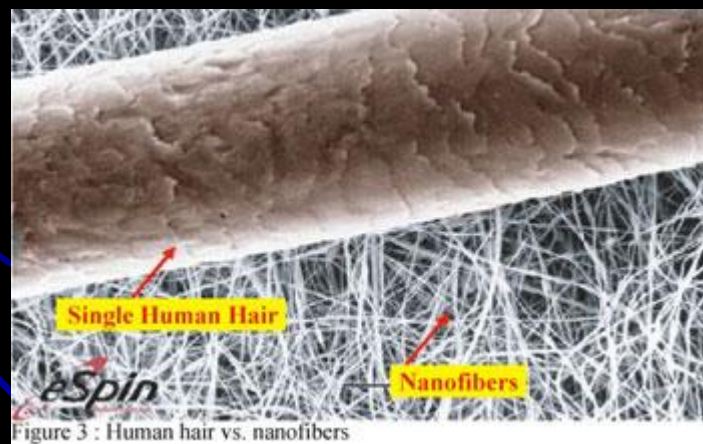


Figure 3. Effect of increasing capillary-screen distance on 20 wt % Estane® 5750 electrospun at 10 kV & 3ml/h. Average diameter range 5 μm – 333 nm. The average diameter of fibers decreases with increasing capillary-screen distance.



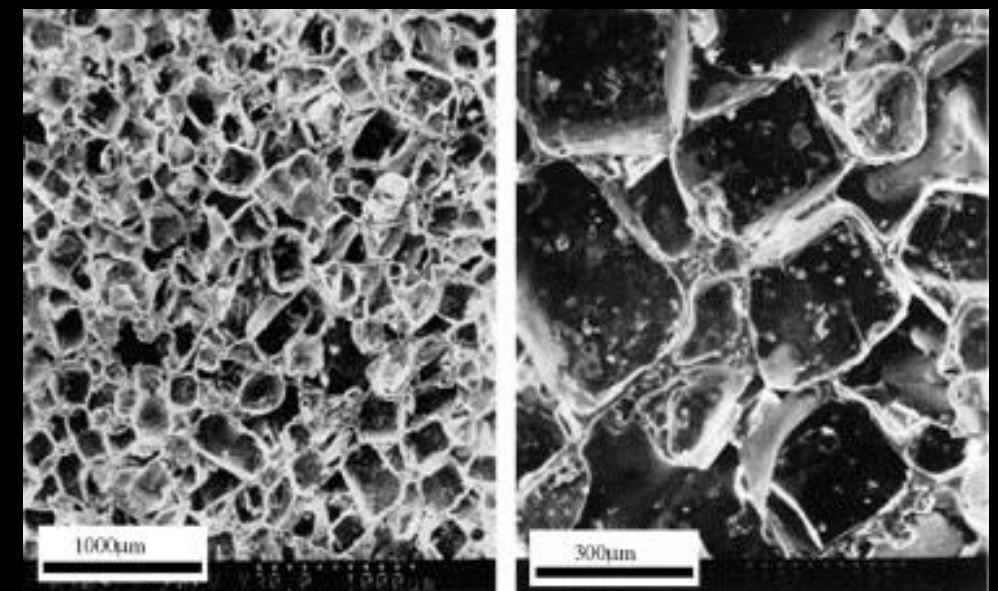
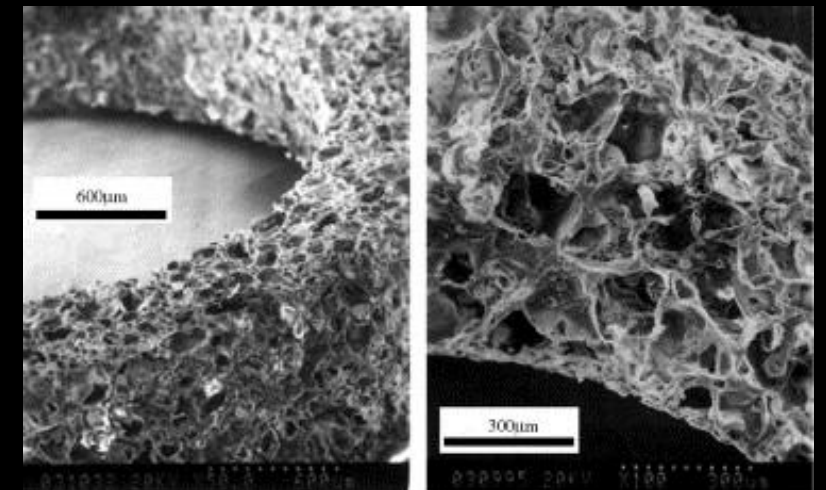
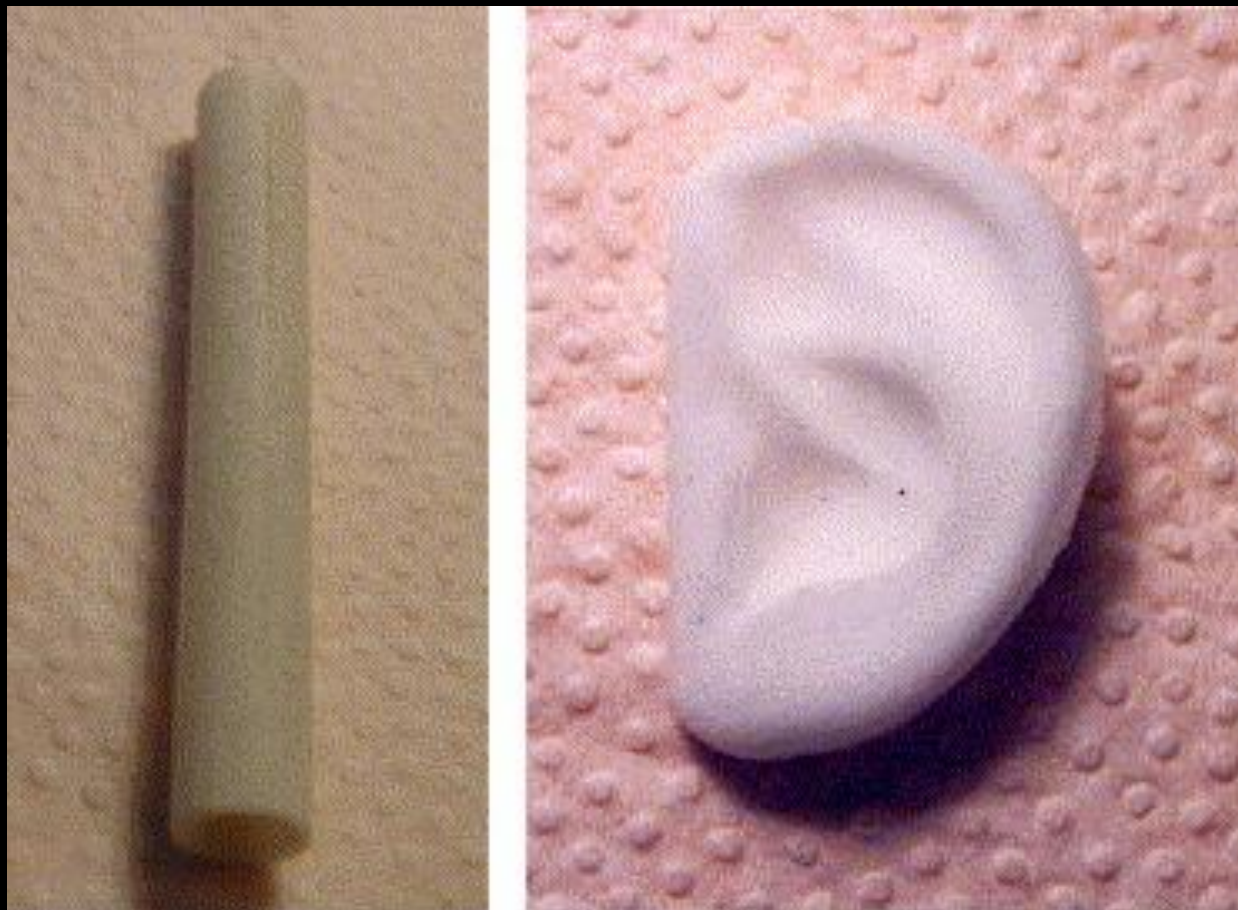
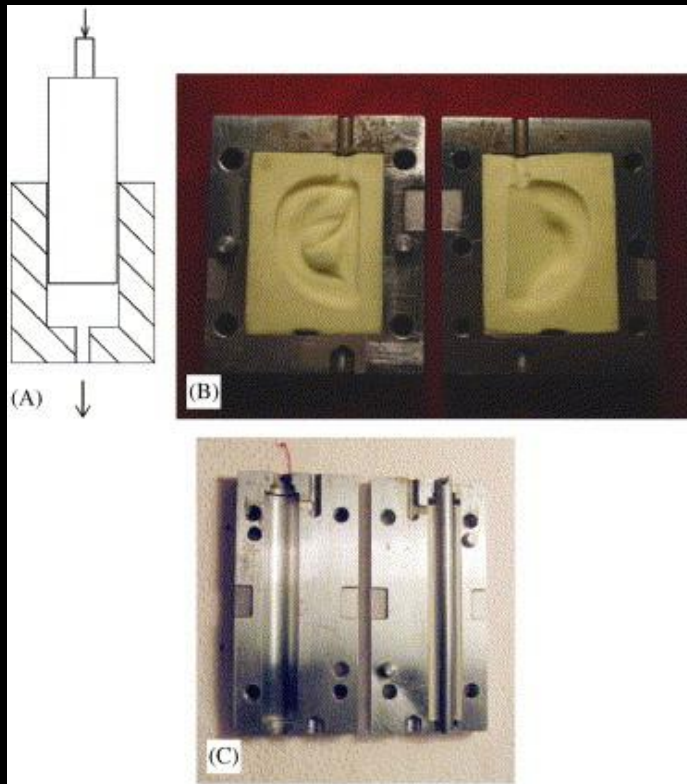
Odlew rozpuszczonego polimeru z cząsteczkami soli

- Polimer rozpuszczony w chloroformie
- Kryształy soli nierozpuszczalne w chloroformie
- Mieszanina - odparowanie rozpuszczalnika
- Suszenie polimeru w próżni

Uwarstwianie nośnika

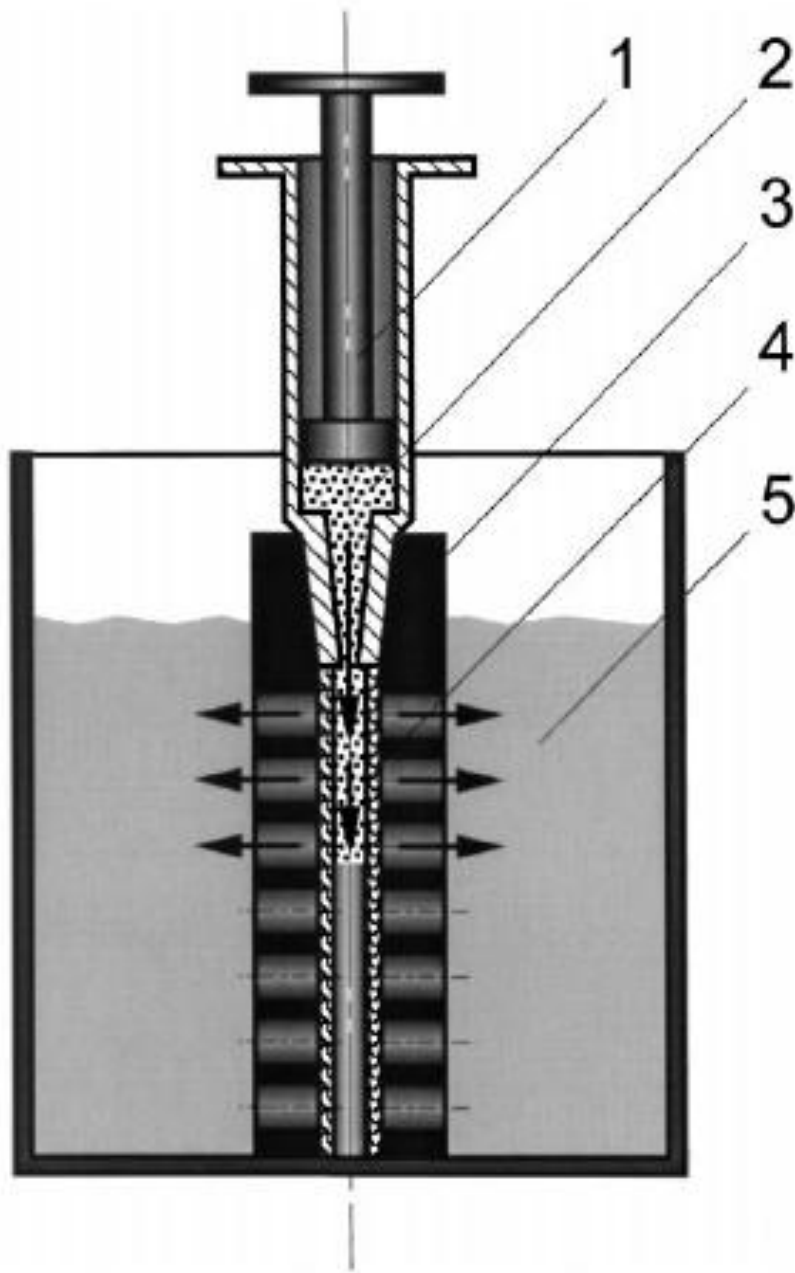
- Nośniki 3-wymiarowe o kształtach anatomicznych
- Metoda odlewu rozpuszczonego polimeru z cząsteczkami soli
 - cienkie warstwy „sklejane” poprzez zwilżanie chloroformem

Odlew rozpuszczonego polimeru

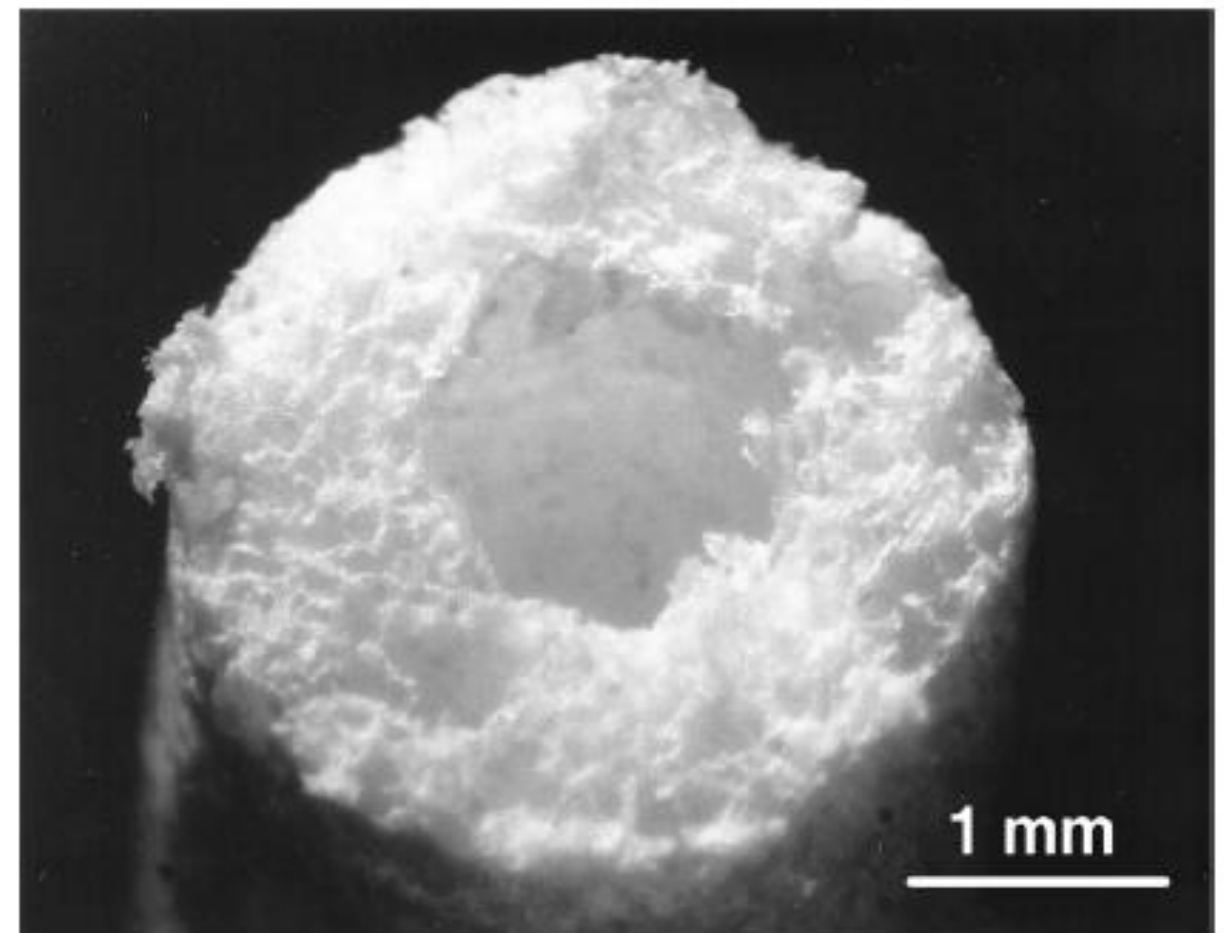


Wua et al 2006

wytłaczanie



Injecting microsphere suspension into conduits: (1) Syringe, (2) Microsphere suspension, (3) Support structure, (4) Conduit, (5) PBS solution. The arrows indicate the flow of the microsphere suspension.



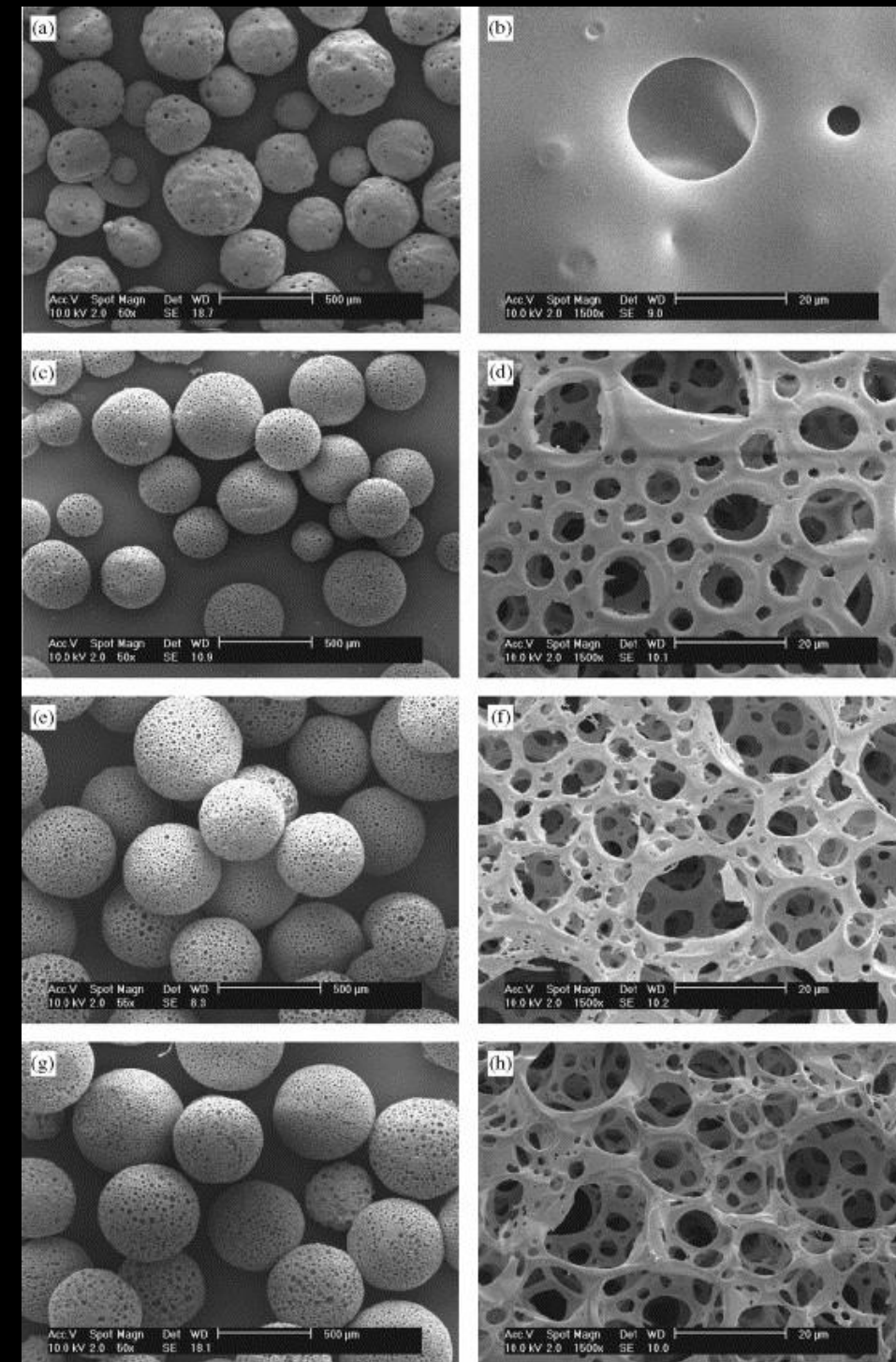
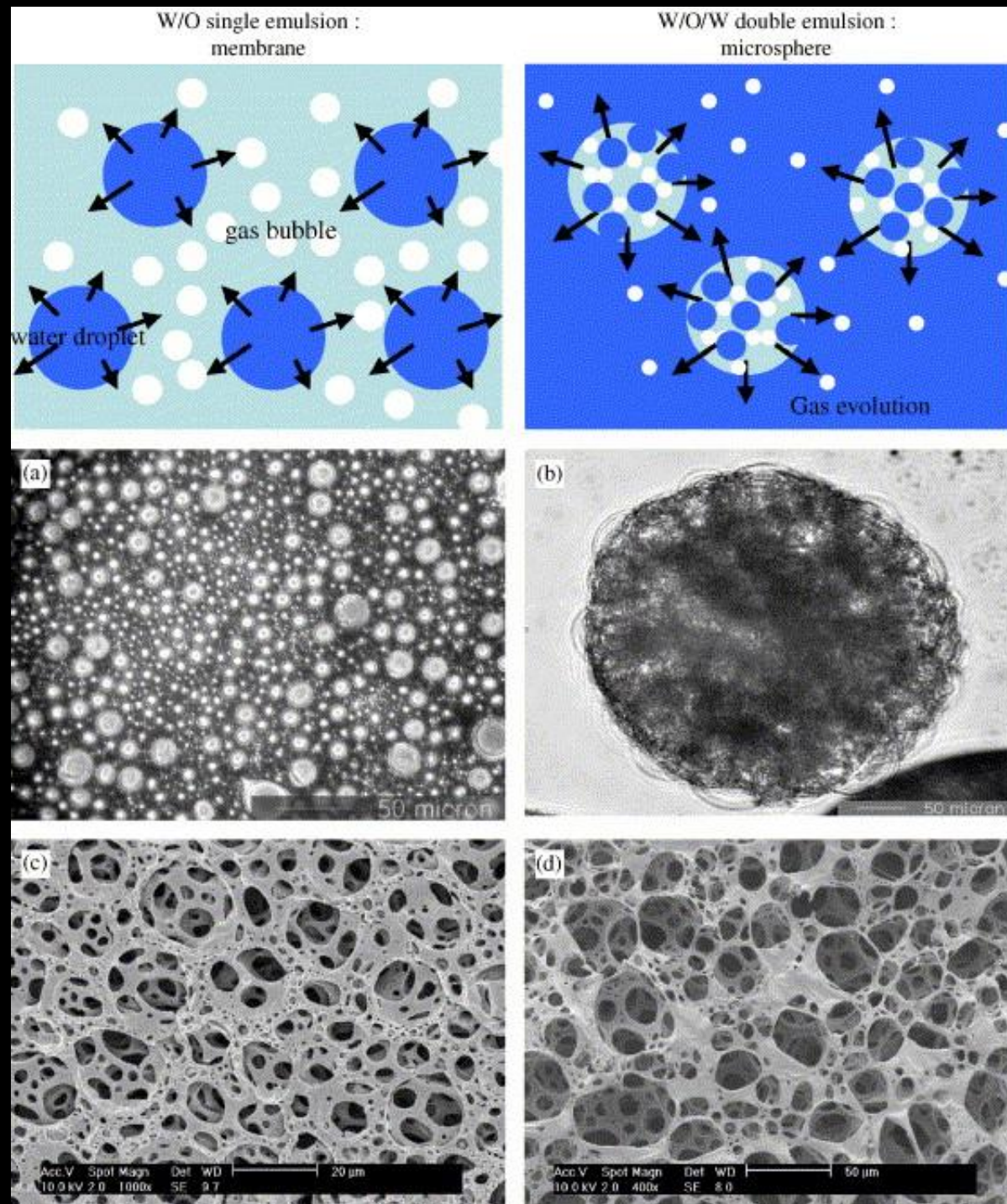
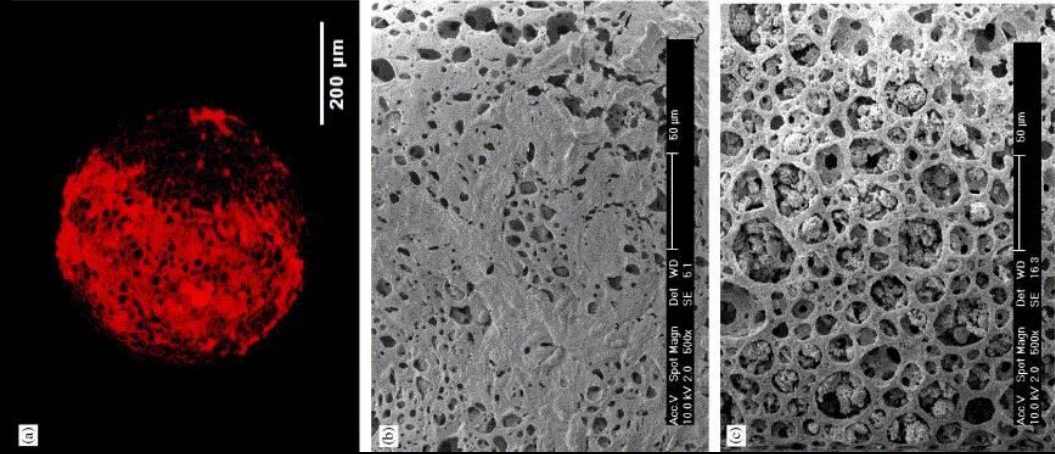
Optical micrograph of a conduit fabricated from PLGA and salt crystals of a diameter range from 150 to 300 μm , a salt weight fraction of 90%, and an extrusion temperature of 250°C. Bar is 1 mm.

Spienianie gazem

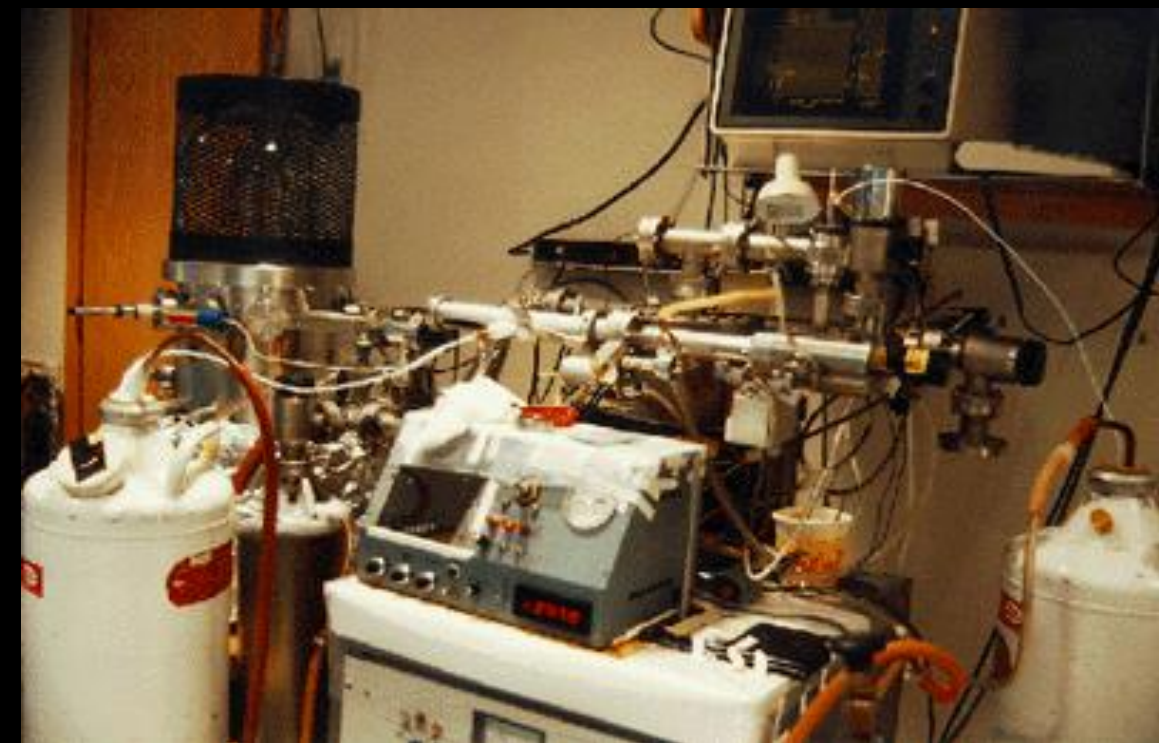
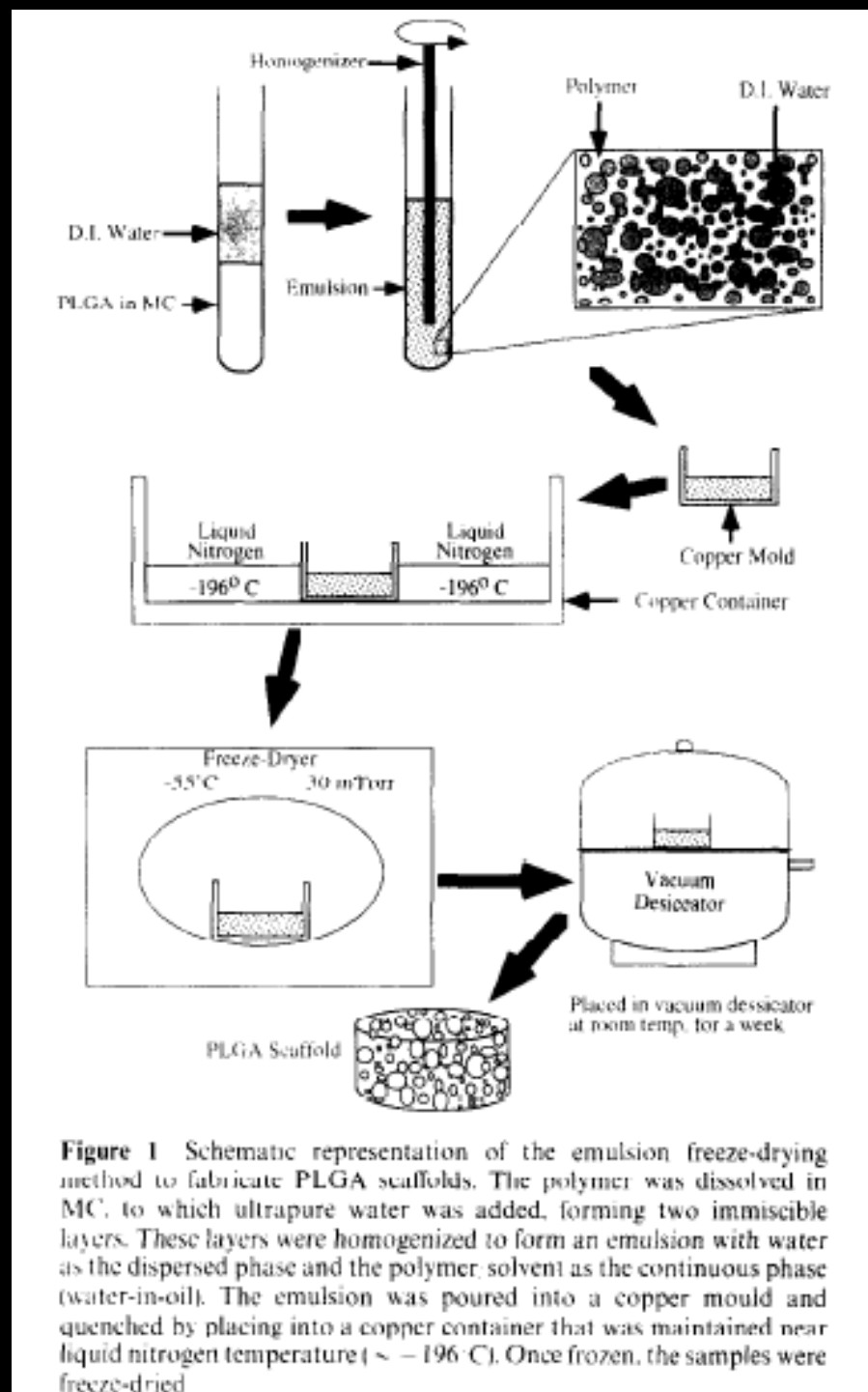
- Kompresja polimeru - skondensowana tabletkowa polimerowa
- Nasycenie polimeru CO_2 - wysokie ciśnienie
- Redukcja ciśnienia - nukleacja i formowanie porów w macierzy polimerowej (pory zamknięte)

Stosowanie kryształków soli przed kompresją PLGA, po dekompresji wypłukiwanie soli---- otwarte pory

Polimerowe mikrosfery



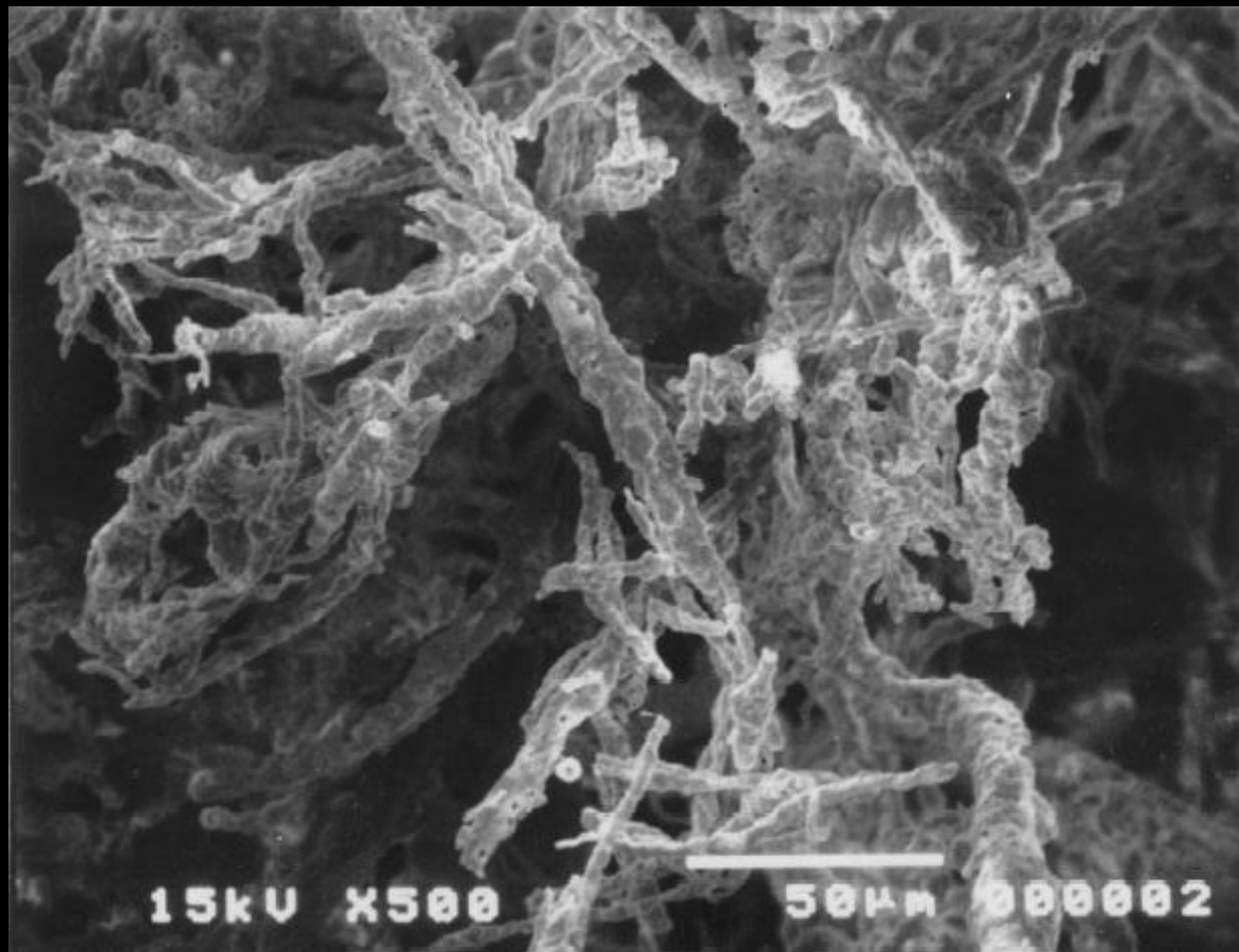
Zamrażanie-suszenie



Rodział faz

- Metoda wytwarzania nośników aktywnych cząsteczek
- Inkorporacja aktywnych molekuł z zachowaniem ich aktywności podczas produkcji nośnika
 - ◆ Rozpuszczenie polimeru - w rozpuszczalniku (fenol/naftalen) temp. 55°C
 - ◆ Wprowadzenie biomolekuł
 - ◆ Kontrolowane chłodzenie do pojawienia się separacji 2 faz-
 - 1) polimer modyfikowany biomolekuła
 - 2) Rozpuszczalnik
 - ◆ Hartowanie - utworzenie dwufazowego bloczka
 - ◆ Sublimacja

Formowanie gąbek polimerowo-ceramicznych



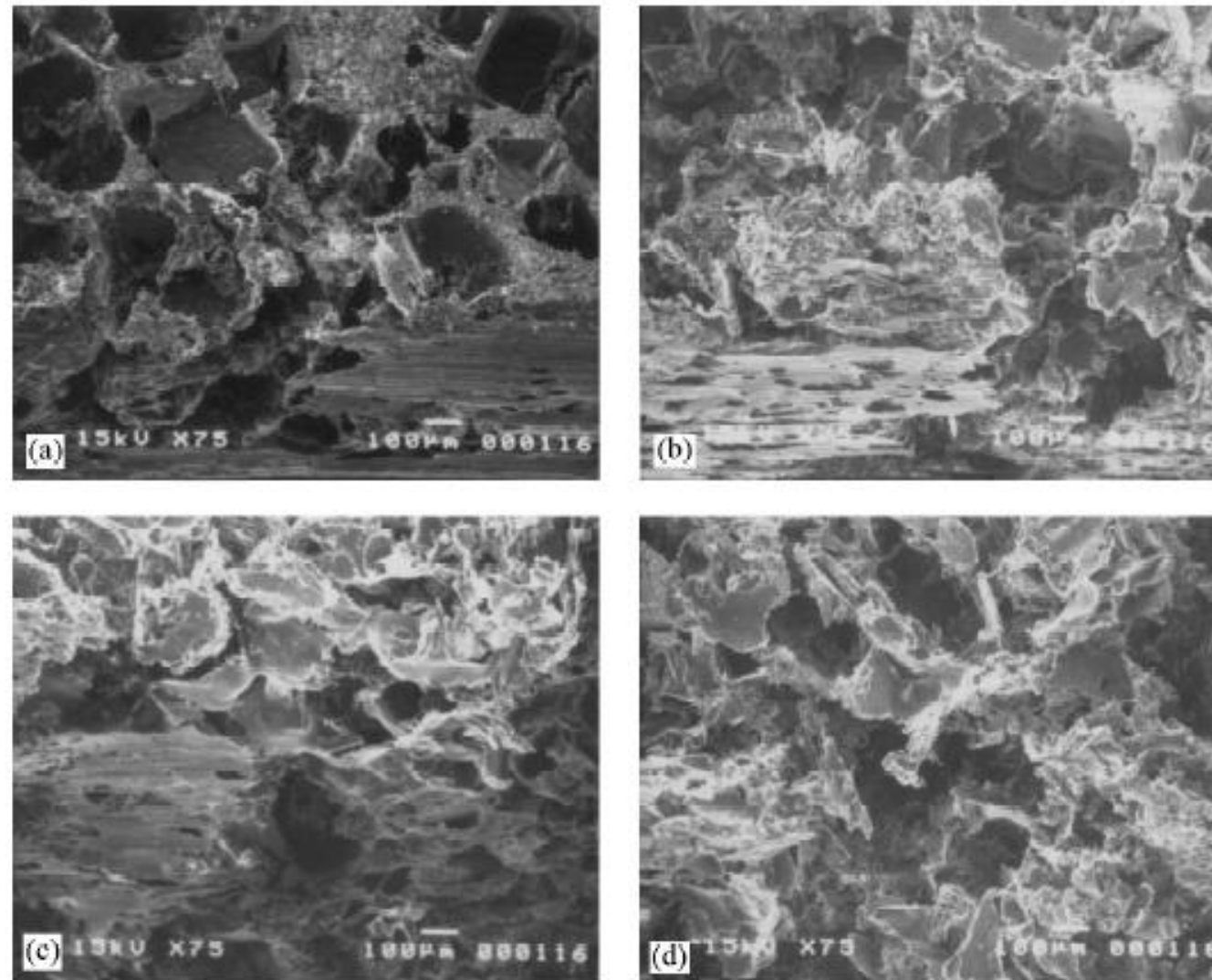


Fig. 6. SEM photomicrographs of PLGA 85:15/hydroxyapatite fiber composite foams after leaching of salt porogen. Foam cylinders were manufactured using salt as a porogen with the following initial weight fractions: (a) 60%, (b) 70%, (c) 80%, (d) 90%. The cylinders were then cleaved along their longitudinal planes to form the half-cylinders shown. Foams were fabricated using a polymer: fiber weight ratio of 7:6 and salt particles with diameters in the range 300–500 μm .

Polimeryzacja *in situ*

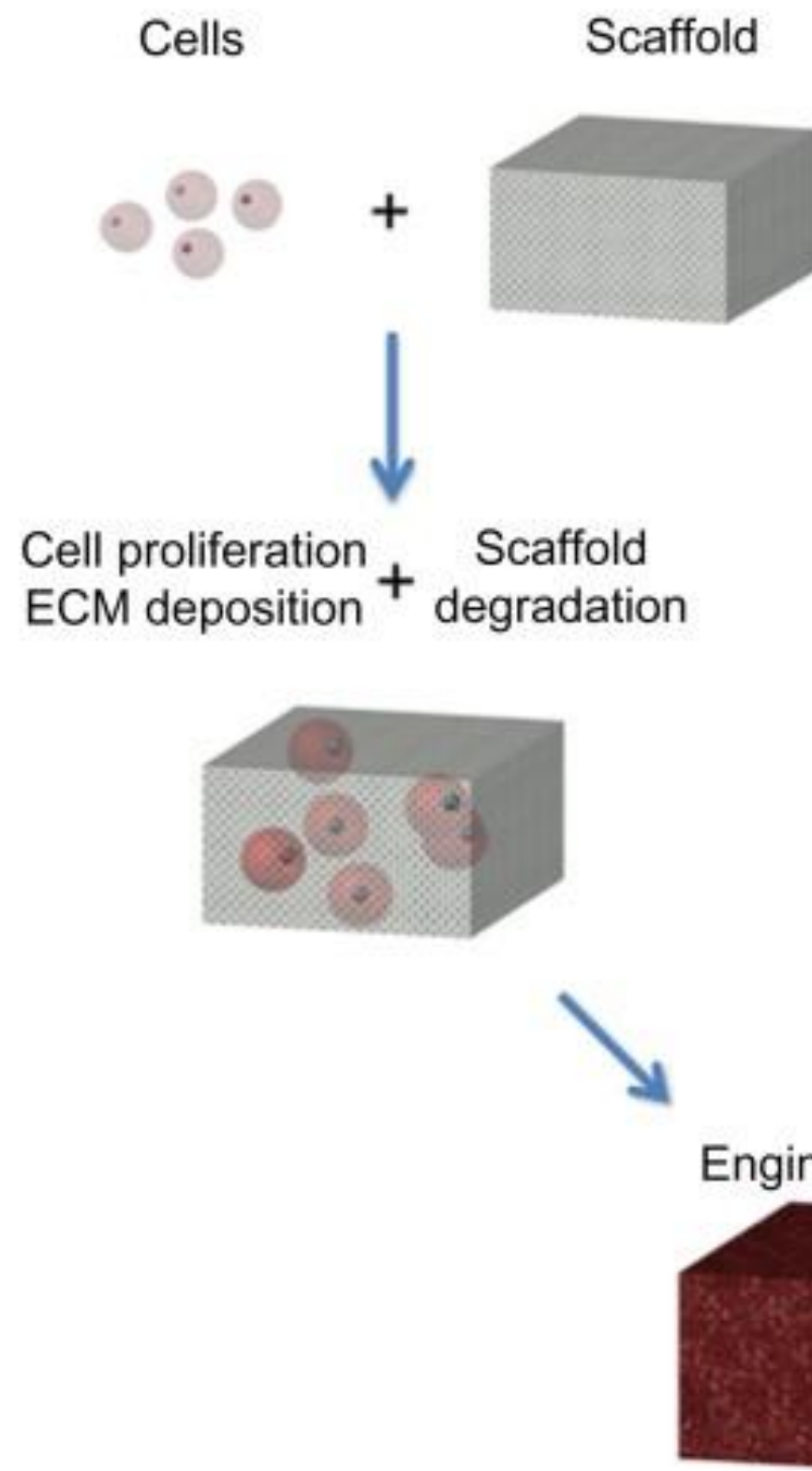
- PMMA- polimetylometakrylan - cement kostny
- PPF- fumaran polipropylenowy

technika	opis	zalety	wady
wiązanie włókien	włókna polimerowe są podgrzewane i łączone w punktach przecięcia	łatwa procedura, wysoki stosunek pola powierzchni do objętości nośnika	wysokie temperatury przetwarzania, ograniczona kontrola porowatości
elektroprzędzenie	otrzymywania włókien ze stopionych polimerów lub ich roztworów z zastosowaniem wysokiego napięcia	kontrolowana grubość włókien	ograniczona kontrola porowatości, słaba wytrzymałość mechaniczna
odlew stopu	polimer i porogen podgrzewany w matrycy, zestalanie, wypłukiwanie porogenu	kontrola kształtu w matrycy, umożliwia inkorporację materiałów kompozytowych	pory niepołączone wysoka temperatura procesu
Odlew rozpuszczonego polimeru z odpłukaniem cząsteczek soli	porogen przyłączony do polimeru , zestalony; progen następnie odpłukany	małe zużycie materiału, wysoka porowatość, możliwość inkorporacji materiałów kompozytowych	pory nie połączone, możliwość pozostania resztkowych porogenów i rozpuszczalnika
laminowanie membran	cienkie warstwy porowatego polimeru łączone chemicznie	ściśle określona geometria, nie widoczne połączenia między warstwami	długotrwała procedura, toksyczne rozpuszczalniki, konieczność definiowania kształtu każdej warstwy
wytłaczanie	Podgrzany polimer przeciskany przez tłok, formowany jest 3-wymiarowy profil o średnicy tłoka	Możliwość tworzenia struktur tubularnych	Wysokie temperatura i ciśnienie konieczne do przeprowadzenia procesu
zamrażanie i suszenie	emulgowany roztwór polimeru, emulsja umieszczona w matrycy, zamrożona	połączenia między porami	mała porowatość, ograniczenia w rozmiarach i porowatości rusztowania

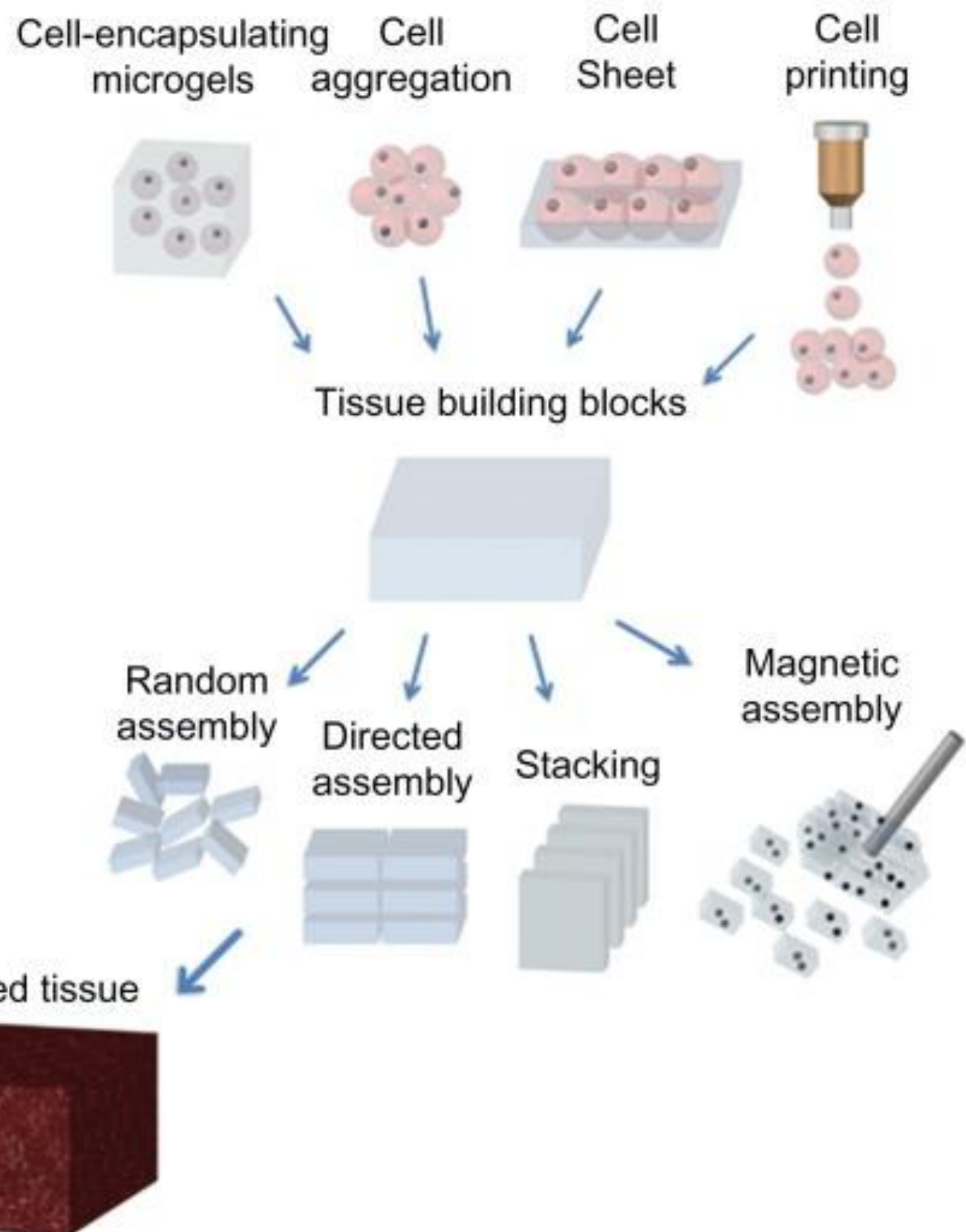
technika	opis	zalety	wady
rozdział faz	polimer rozpuszczony w rozpuszczalniku, dodane bioaktywne molekuły – homogenna mieszanina; schładzanie i mrożenie powoduje rozdział faz – rozpuszczalnik odparowany	potencjalne nośniki leków, bioaktywne molekuły chronione przed rozpuszczalnikiem	resztkowy rozpuszczalnik, ograniczony rozmiar porów
emulsja o wysokiej zawartości fazy wewnętrznej	emulsja woda w oleju, monomery fazy organicznej biorą udział w syntezie i krzyżowym wiązaniu polimerowych skafoldów z porami	Możliwość iniekcji, dobre rozmiary porów, możliwość użycia polimerów biodegradowalnych	wysoka temperatura procesu
spienianie gazem	polimer uprzednio poddany kompresji poddany działaniu gazu pod wysokim ciśnieniem – pory formują się wraz ze spadkiem ciśnienia	brak rozpuszczalnika, poprawa adhezywności komórek	ograniczony rozmiar porów i brak połączeń między nimi
samoformujące się peptydy	zaprojektowane peptydy formują kompleksy (sfery, włókna, arkusze) poprzez oddziaływania hydrofilowe/hydrofobowe	mogą być zaprojektowane dla promowania wybranych funkcji komórek	kosztowne materiały
polimeryzacja <i>in situ</i>	polimer jest wstrzykiwany do miejsca przeznaczenia i polimeryzuje lub wiąże krzyżowo po implantacji	możliwa natychmiastowa implantacja	ograniczone własności mechaniczne, porowatość, szkodliwa polimeryzacja

A

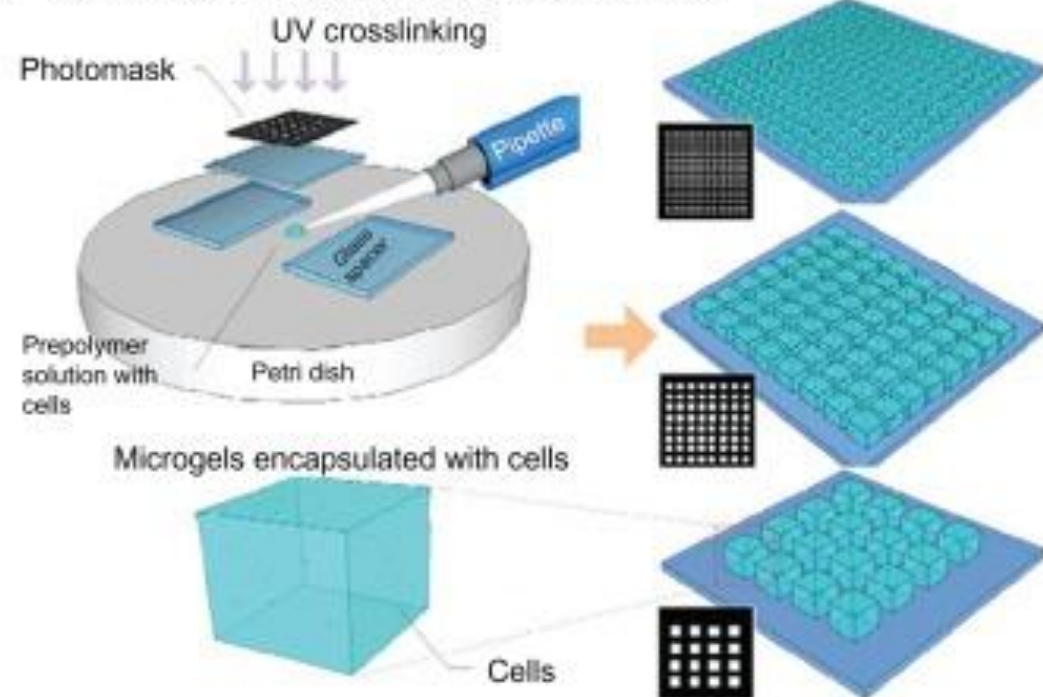
"Top-down" approach

**B**

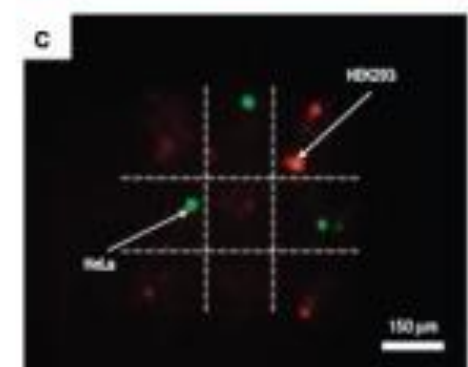
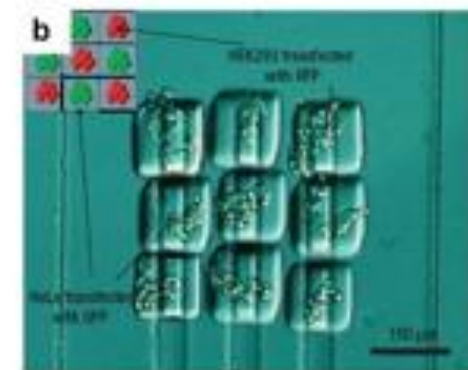
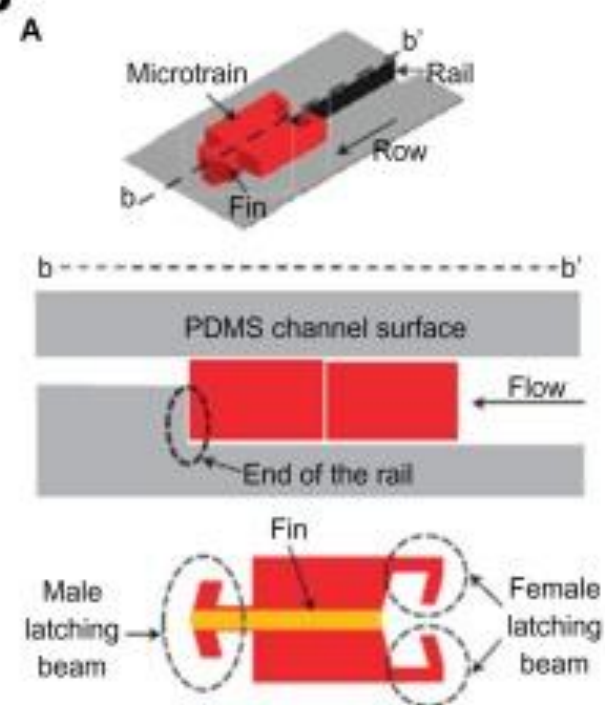
"Bottom-up" approach



A Fabrication of microgels encapsulated with cells

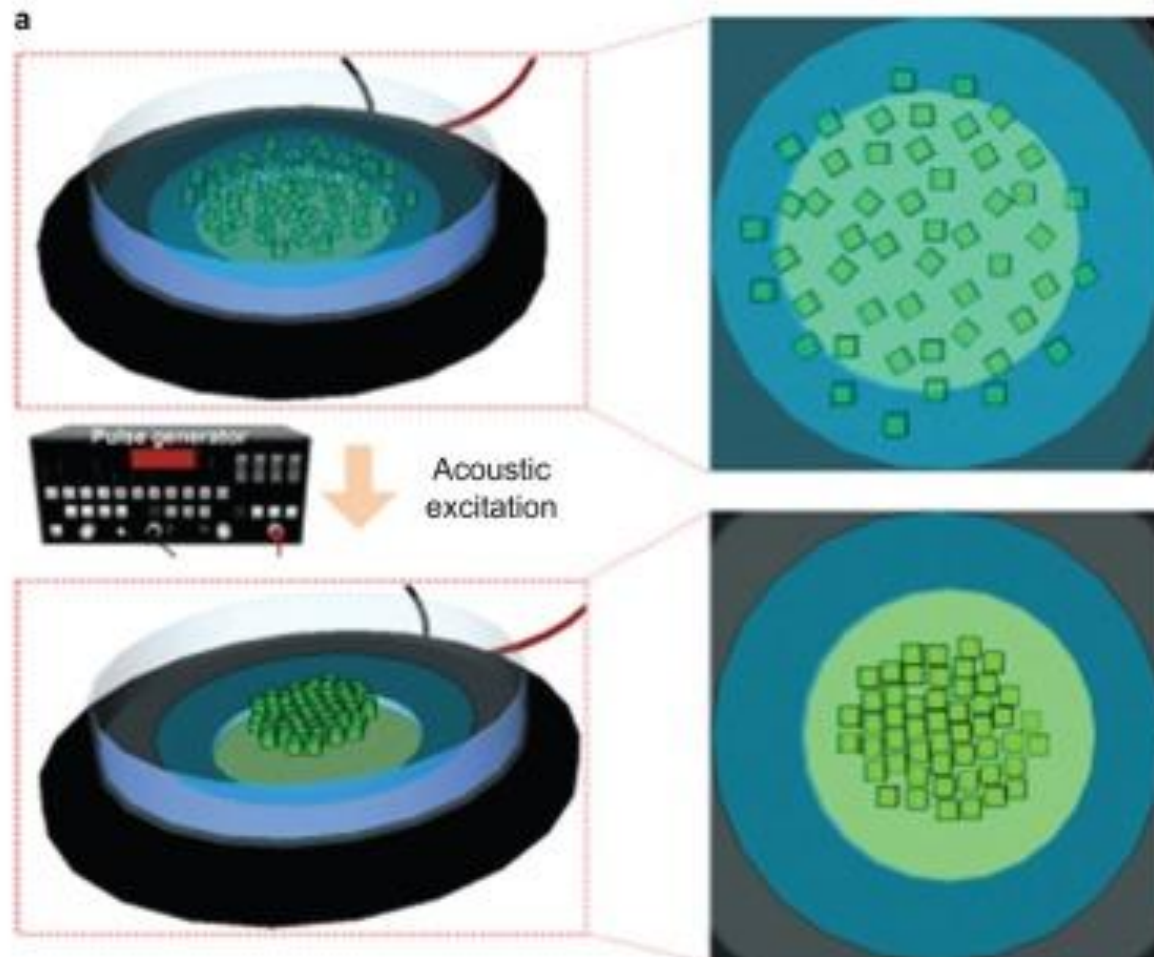


B

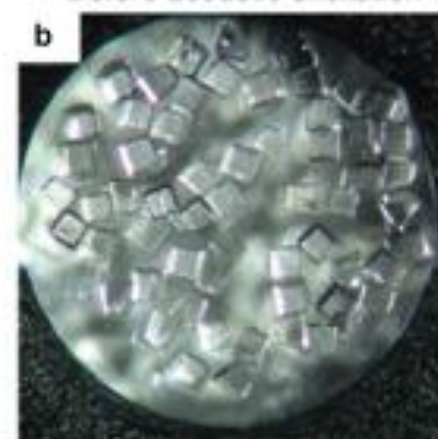


Scale bar: 150 μm

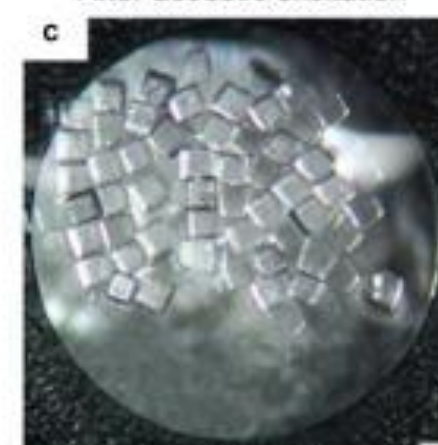
C



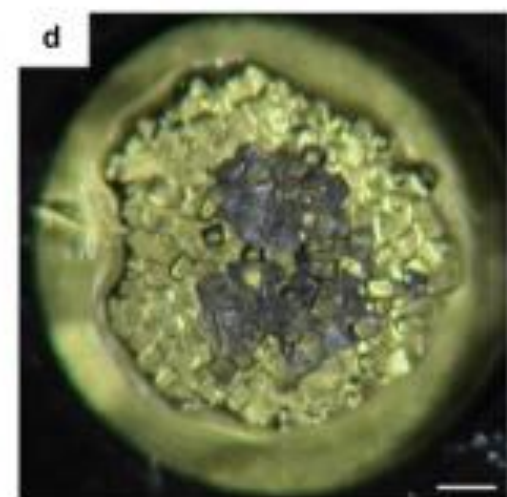
Before acoustic excitation



After acoustic excitation



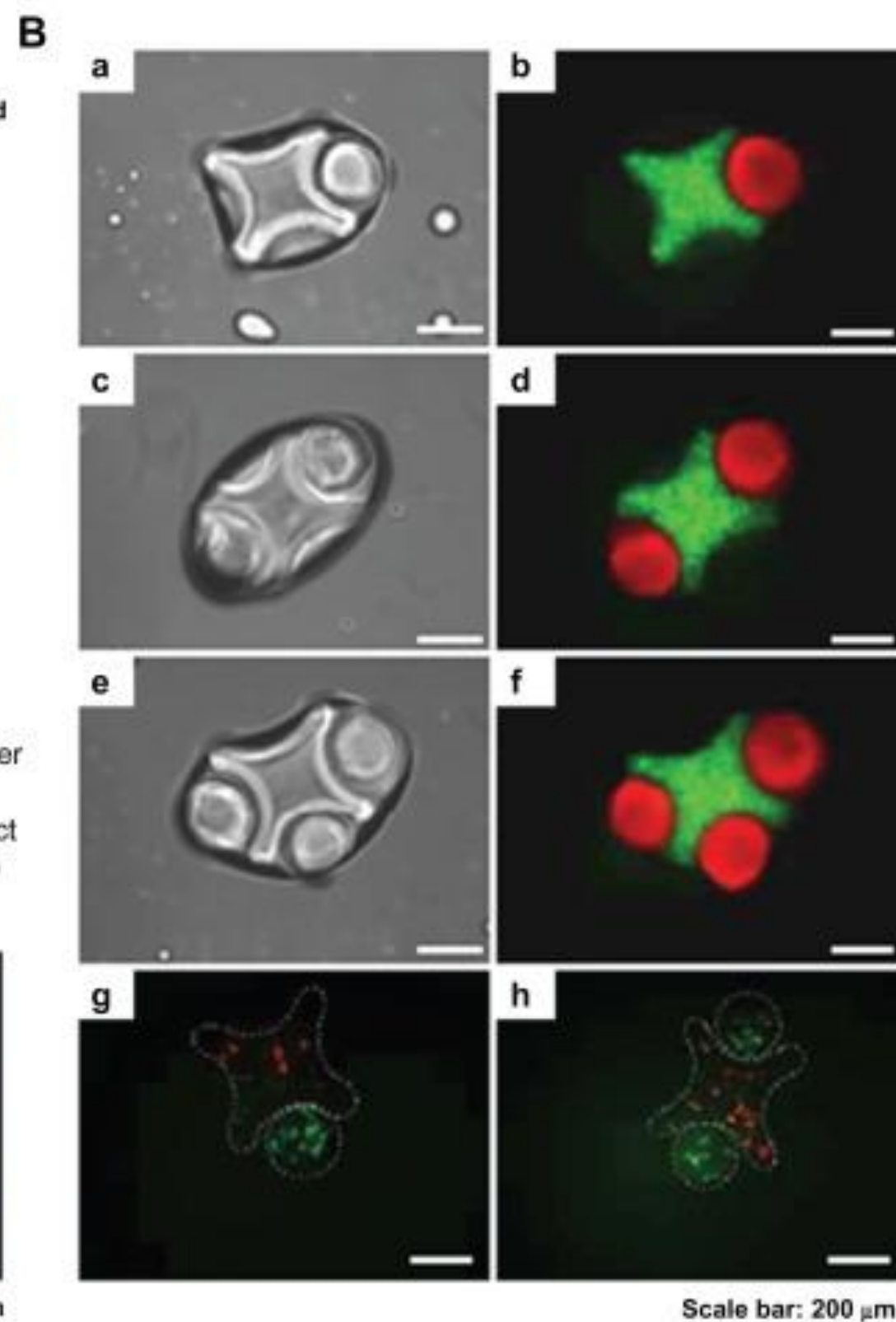
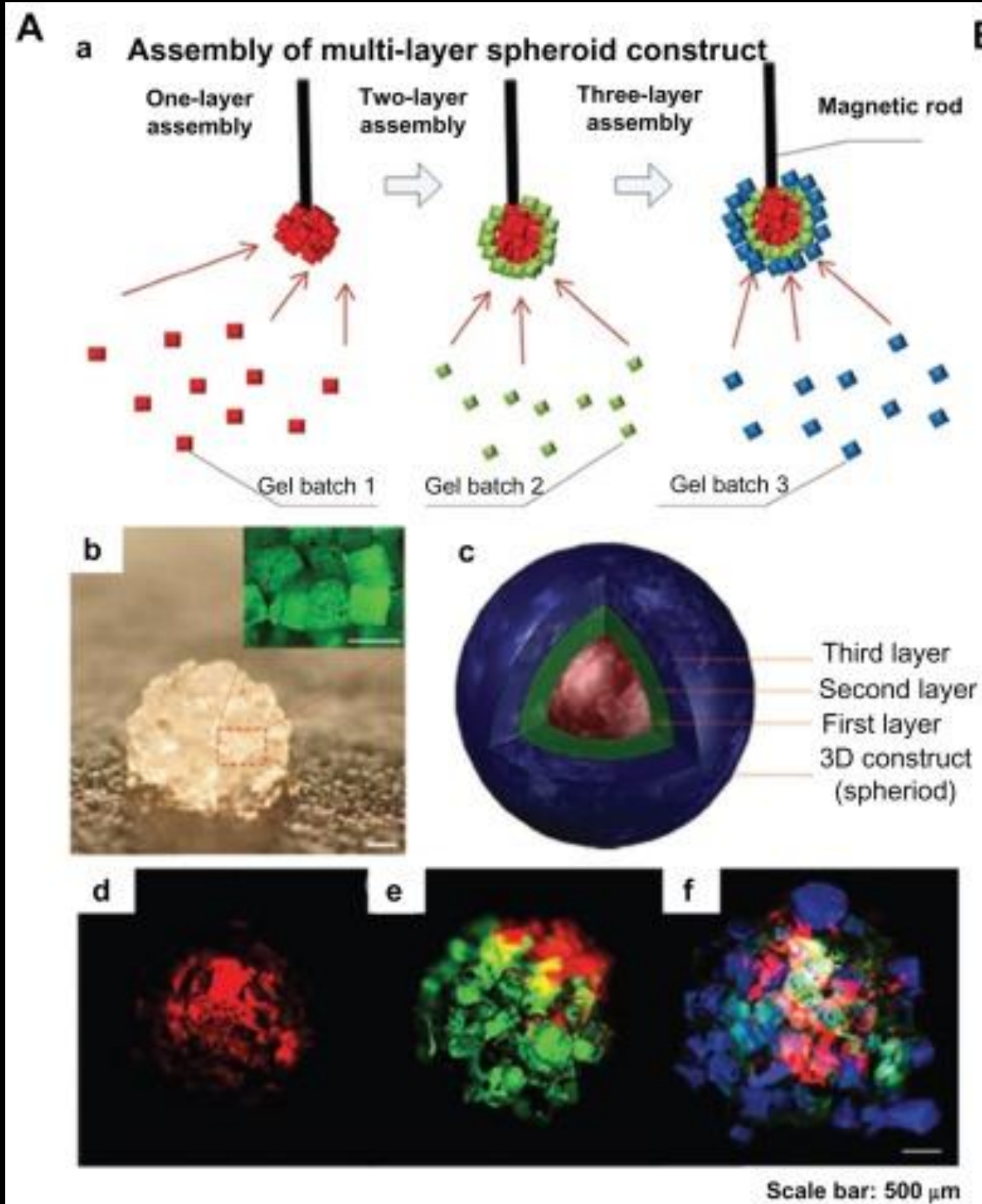
Scale bar: 200 μm



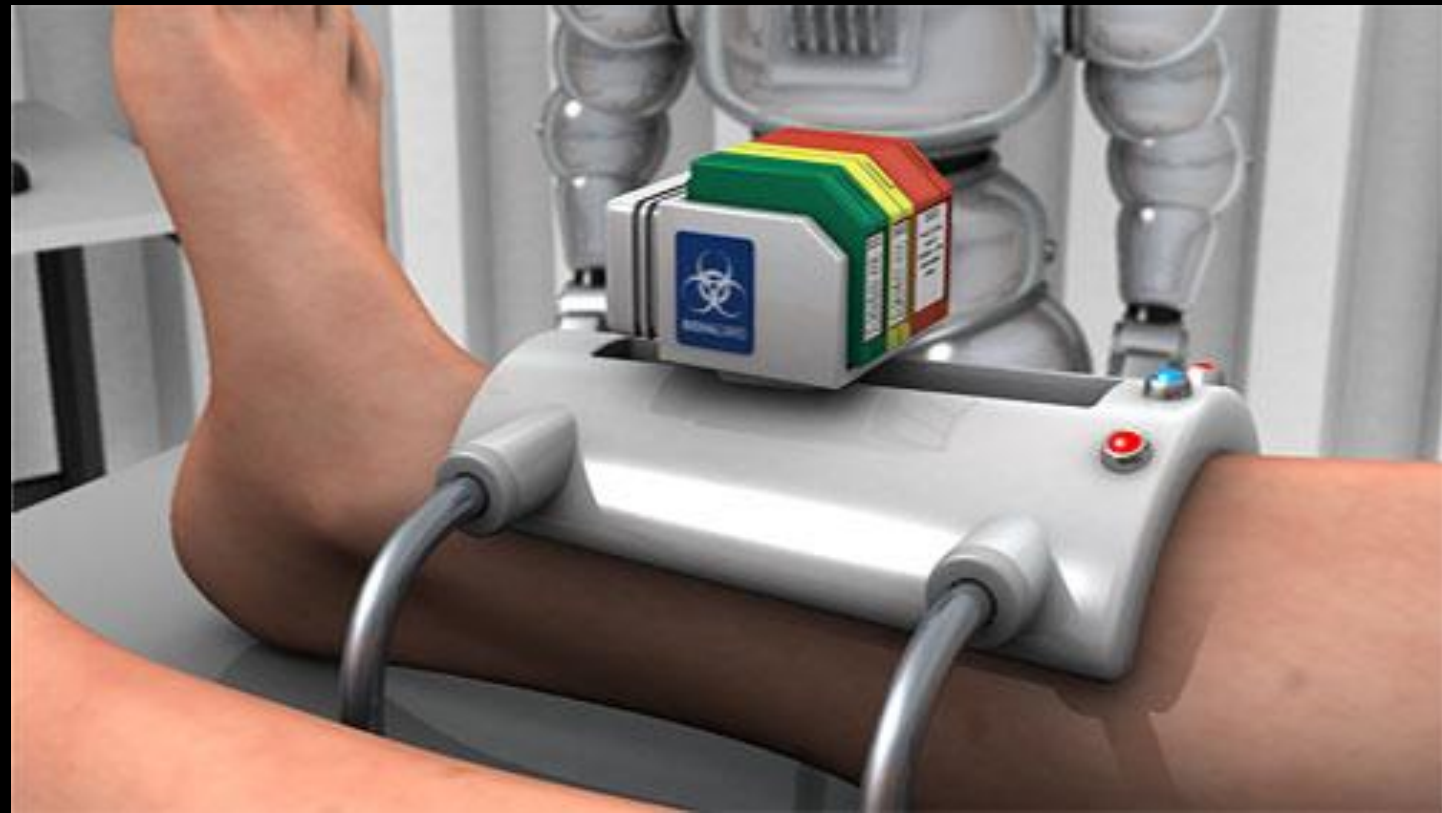
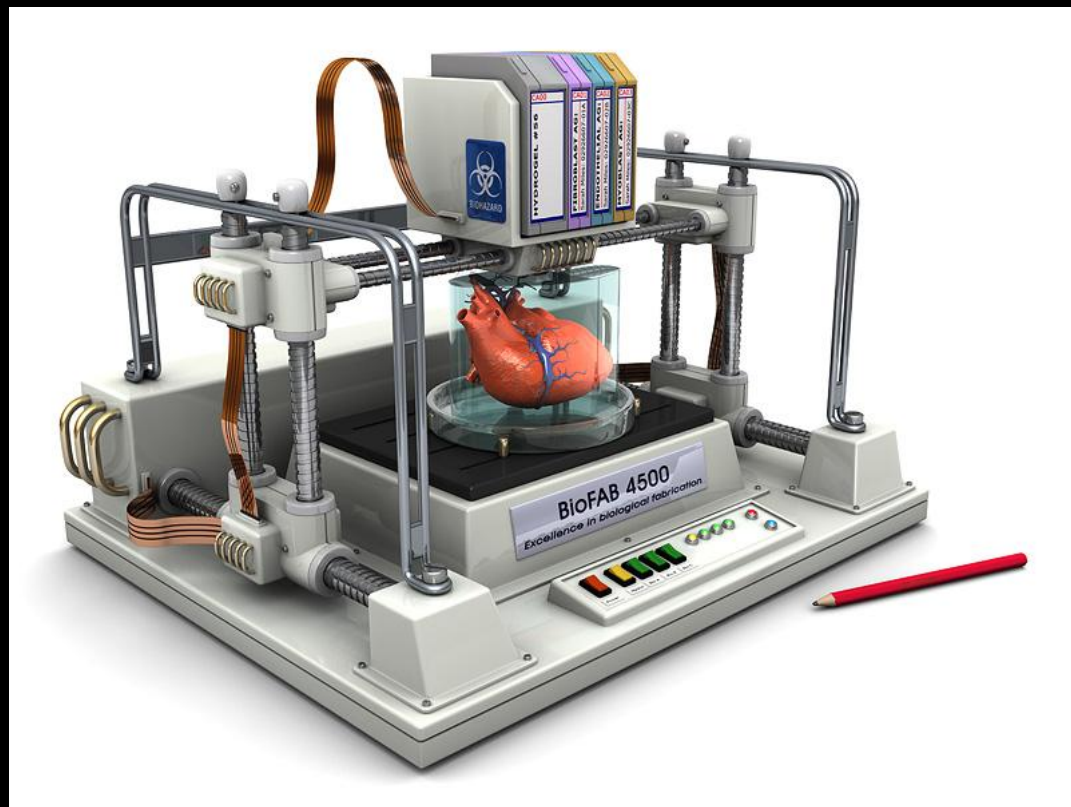
Scale bar: 800 μm



Scale bar: 800 μm



TRÓJWYMIAROWE BIODRUKOWANIE

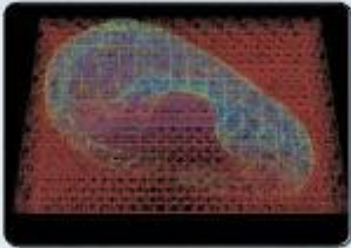
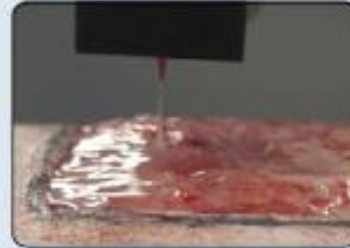
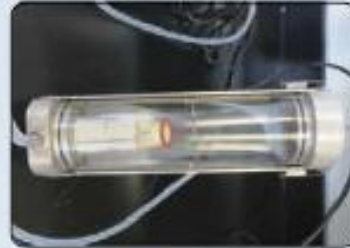
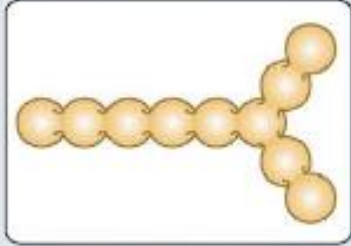
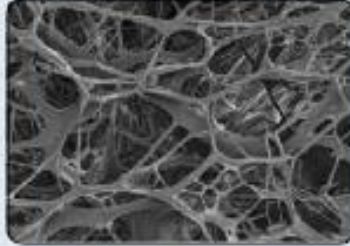
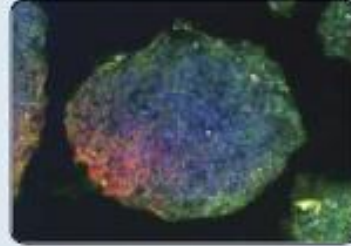
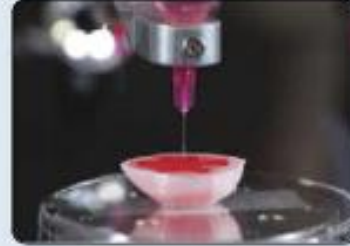
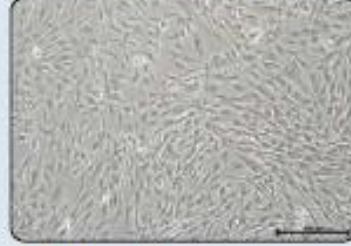


TKANKI BIOMIMETYCZNE

Nadrzędne cele biodrukowania

- Drukowanie pojedynczymi komórkami lub agregatami
- Odkładanie materiału warstwa po warstwie
- Zachowanie właściwej integralności strukturalnej (fuzja warstw)
- Wytwarzanie struktur naczyniowych

Etapy biodrukowania

1.	2.	3.	4.	5.	6.
obrazowanie uszkodzonej tkanki	projektowanie tkanki	wybór materiału	wybór komórek	biodrukowanie	aplikacja
 X-ray	 Biomimicry	 Synthetic polymers	 Differentiated cells	 Inkjet	 Maturation
 CT	 Self-assembly	 Natural polymers	 Pluripotent stem cells	 Microextrusion	 Implantation
 MRI	 Mini-tissues	 ECM	 Multipotent stem cells	 Laser-assisted	 In vitro testing

Rodzaje biodrukowania

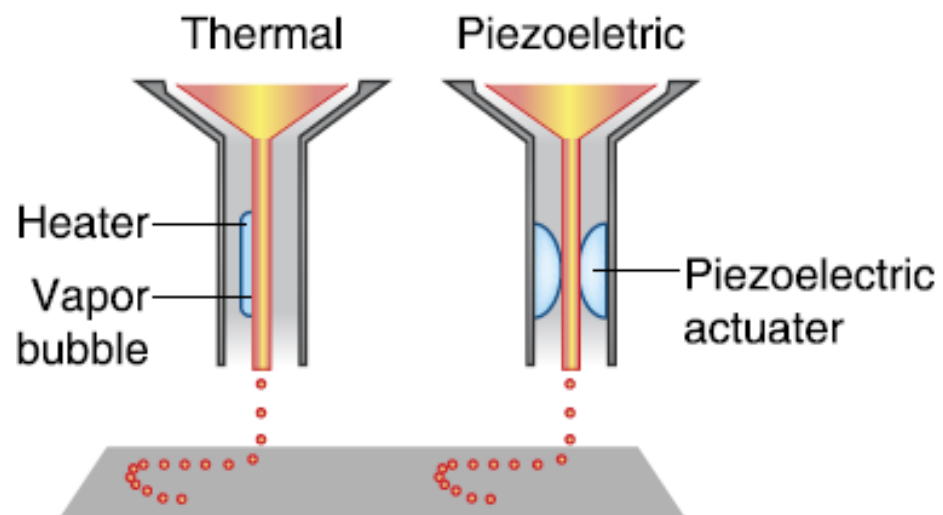
„atrament”

mikrowytłaczanie

biodrukowanie laserowe

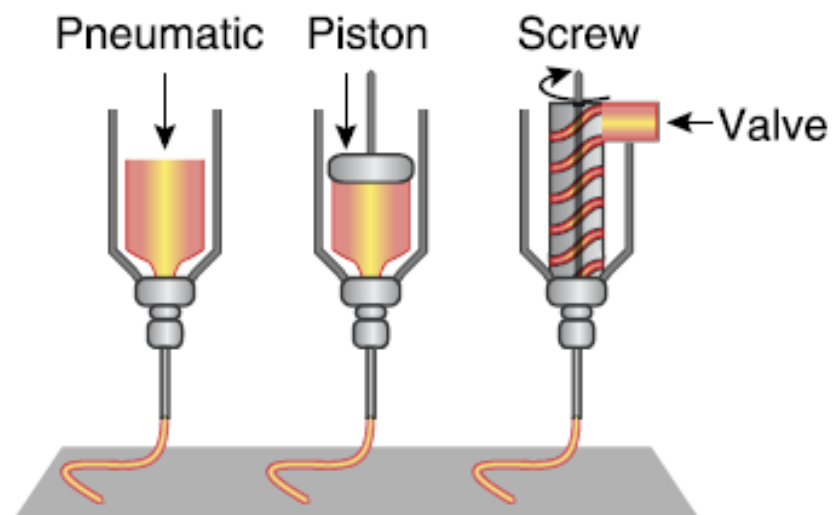
a

Inkjet bioprinter



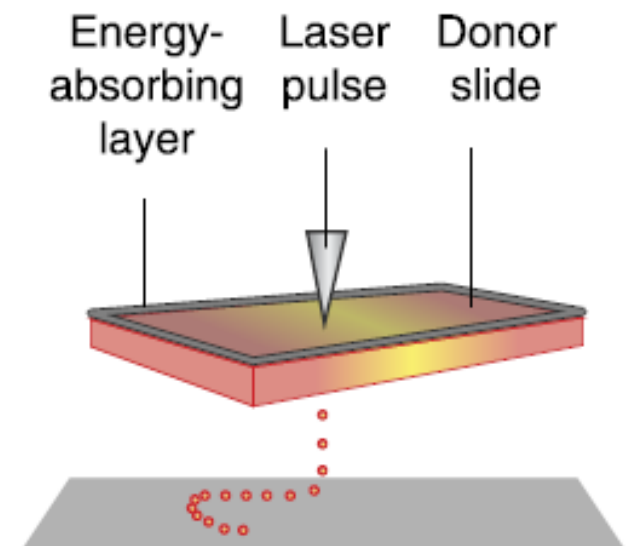
b

Microextrusion bioprinter

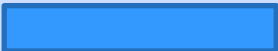
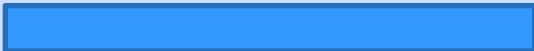
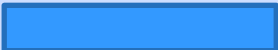
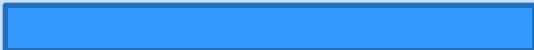


c

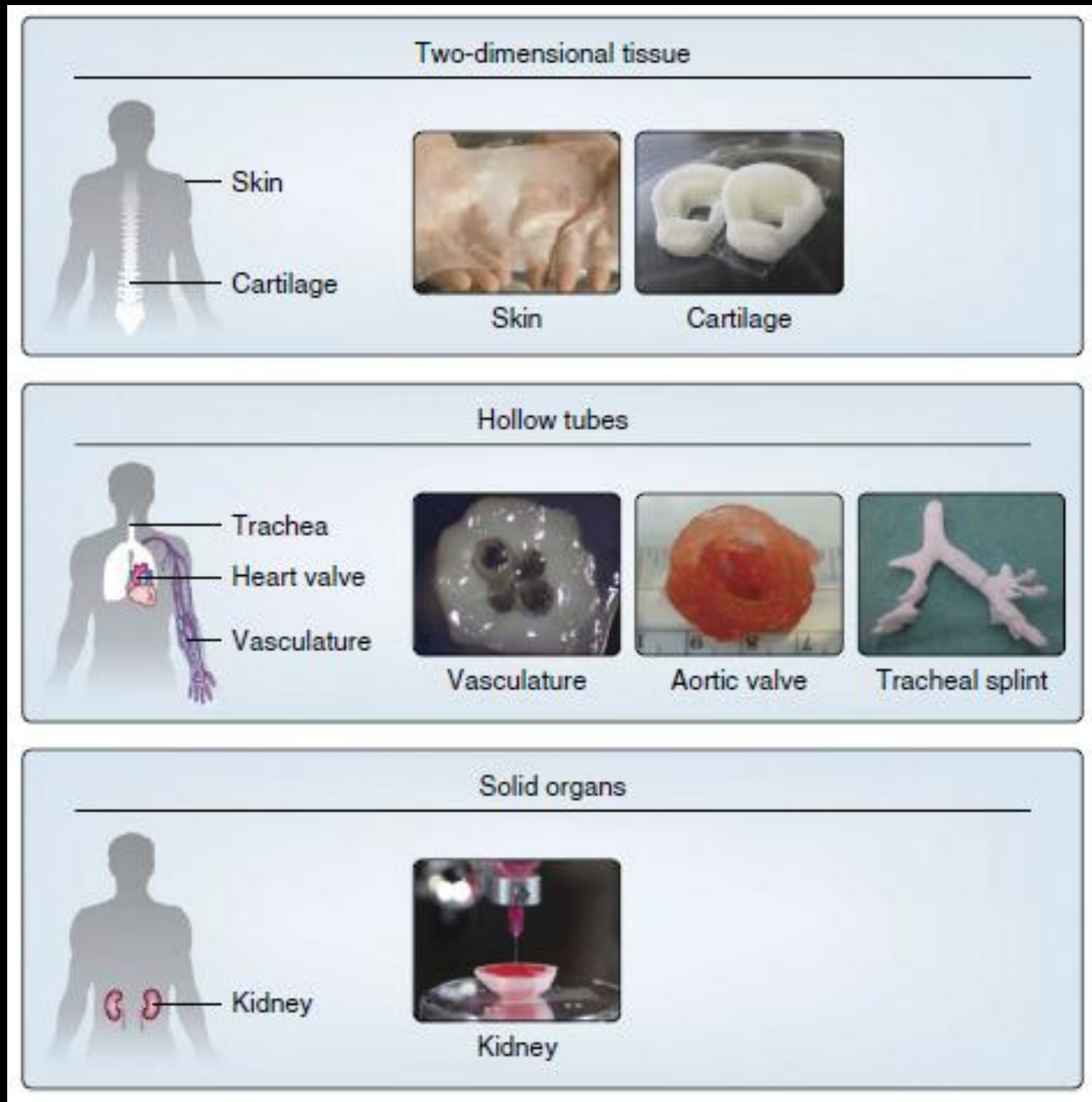
Laser-assisted bioprinter



Porównanie wybranych parametrów biodrukowania

	„atrament”	mikrowytłaczanie	biodruk laserowy
Lepkość materiału	3,5 – 12 mPa/s	30mPa/s do $>6 \times 10^7$ mPa/s	1– 300 mPa/s
Metoda żelowania	chemiczna, fotosieciowanie	chemiczna, fotosieciowanie , termiczna	chemiczna, fotosieciowanie
Czas przygotowania			
Szybkość drukowania	szybko (1 – 10 000 kropel/s)	wolno (10 – 50 $\mu\text{m/s}$)	średnia (200 – 1 600 mm/s)
Rozdzielczość lub rozmiar kropel	<1 pl do >300 pl , szerokość 50 μm	Szerokość od 5 μm do mm	Mikro
Żywotność komórek	>85%	40-80%	95%
Gęstość komórek	Niska, < 1mln komórek/ml	Wysoka, sferoidy komórkowe	Średnia, 100 mln komórek/ml
Koszt drukarki			

Przykłady biodrukowanych tkanek ludzkich



- 1) Podpora (rusztowanie) dla wzrostu nowej tkanki - maksymalna dostępność substancji odżywczych, aktywnych czynników farmaceutycznych do komórek, ułatwiony kontakt międzykomórkowy
- 2) Hamowanie aktywności proliferacyjnej komórek - kiedy jest niepożądana
- 3) Sterowanie odpowiedzią komórkową w tkance - wzmacnianie jednych - hamowanie innych
- 4) Wzmacnianie adhezji komórkowej i następnie aktywację komórek (adhezja, proliferacja i produkcja składników macierzy przez fibroblasty w trakcie gojenia skóry)
- 5) Hamowanie adhezji komórkowej - płytki - przeszczep naczyniowy
- 6) zapobieganie odpowiedzi biologicznej (przeciwciała blokujące przeciwko komórkom wykorzystanym w przeszczepie)

Pożądane cechy materiałów biodegradowalnych:

- Możliwość masowej produkcji
- Zdolność polimeryzacji w spodziewanym kształcie
- Własności mechaniczne adekwatne do krótkotrwałego spełniania funkcji tkanki, nie kolidujące z długotrwałą funkcją
- Niska lub pomijalna toksyczność produktów degradacji w lokalnym otoczeniu i ogólnoustrojowa
- Kompatybilność w aplikacjach, które wymagają uwalniania lub adhezji aktywnych składników (drug delivery system)