

Lotta Mäkinen

**SYNTEETTISTEN SUORAKETJUISTEN
BIOHAJOAVIEN POLYESTERIEN
KÄYTTÖ KUDOSTEKNOLOGIAN SKAF-
FOLDEISSA**

Tekniikan ja luonnontieteiden tiedekunta
Kandidaatintyö
Huhtikuu 2021

TIIVISTELMÄ

Lotta Mäkinen: Synteettisten suoraketjuisten biohajoavien polyesterien käyttö kudosteknologian skaffoldeissa
Kandidaatintyö
Tampereen yliopisto
Materiaalitekniikka
Huhtikuu 2021

Kudosteknologia on tieteenala, jossa vaurioitunut kudos pyritään korvaamaan synteettisesti kasvatetulla kudoksella. Synteettisen kudoksen kasvattamiseksi tarvitaan biomateriaaleja, eläviä soluja ja proteiineja, jotka edistävät solujen kasvua. Tässä työssä tutkittiin, miten polyestereitä käytetään kudosteknologian biomateriaaleina osana kudosten tukirakenteita eli skaffoldeja. Työn tavoitteena oli selvittää, millaisia kudostyyppisiä valittujen polyesterien avulla kasvatetaan ja millainen tekninen rakenne skaffoldeilla on.

Työssä tarkasteltiin kolmea synteettistä suoraketjuista biohajoavaa polyesteriä: polylaktidia (PLA), polyglykolidia (PGA) ja polykaprolaktonia (PCL). Ensin selvitettiin polyesterien kemiallinen rakenne ja tärkeimmät mekaaniset ominaisuudet. Tämän jälkeen käsiteltiin skaffoldeilta vaadittuja ominaisuuksia ja selvitettiin, millaisia kudoksia polyesterien avulla kasvatetaan sekä millainen rakenne polyesteriskaffoldeilla on. Tutkimus toteutettiin kirjallisuusselvityksenä keräämällä ja yhdistämällä aineistoa alan oppikirjoista ja tieteellisistä tutkimusartikkeleista.

Työssä havaittiin, että polyestereit soveltuvat hyvin skaffoldimateriaaleiksi, sillä ne ovat monipuolisia ja myrkyttömiä ja niiden mekaanisia ominaisuuksia pystytään hyödyntämään useiden erilaisten kudostyyppien kasvatuksessa. Polyesterien avulla kasvatettavat kudostyyppit kattavat suuren osan ihmiskehossa esiintyvistä kudostyypeistä. Tutkimuksessa havaittiin, että PLA- ja PGA-skaffoldeja käytetään yhtenevästi esimerkiksi luukudoksen, jännekudoksen ja verisuonikudoksen kasvattamiseen. PCL-skaffoldin avulla kasvatetaan esimerkiksi rusto- ja hermokudosta.

Tutkimuksessa PLA:n ja PCL:n välillä huomattiin yhteys skaffoldien rakenteessa, sillä vaahতোমাista rakennetta hyödynnetään kovien kudosten kasvatuksessa ja kuitumaista rakennetta pehmytkudosten kasvatuksessa. PGA:ta käytetään kaikissa tarkastelluissa sovelluskohteissa kuitumaisessa muodossa. Voidaan päätellä, että polyestereit täytyy usein yhdistää muihin materiaaleihin, jotta skaffoldi saadaan jäljittelemään paremmin kudoksen luonnollisia ominaisuuksia. Tutkimuksen perusteella polyestereit ovat hyvin potentiaalisia materiaaleja käytettäviksi skaffoldeissa. Kudosteknologia on kuitenkin vielä uusi tieteenala, joten lisätutkimusta tarvitaan ennen kuin polyestereistä tehdyt skaffoldit soveltuvat kliiniseen käyttöön. Kudosteknologia saattaa olla tulevaisuudessa potentiaalinen ratkaisu esimerkiksi elinsiirteiden saatavuusongelmaan.

Avainsanat: biomateriaali, kudosteknologia, PCL, PGA, PLA, polyesteri, polyglykolidi, polykaprolaktoni, polylaktidi, skaffoldi

ALKUSANAT

Tämä kandidaatintyö on tehty Tampereen yliopiston materiaalitekniikan tutkinto-ohjelmaan keväällä 2021. Työ on tehty Tampereen yliopiston opinnäytetyön mallipohjalle. Haluan esittää kiitokset ohjaajalleni Ilari Jönkkärille, jolta olen saanut hyviä neuvoja työni sisältöä koskien. Kiitos myös Linda Mäkiselle kieliopillisista neuvoista ja oikoluennasta.

Tampereella, 19.4.2021

Lotta Mäkinen

SISÄLLYSLUETTELO

1. JOHDANTO	1
2. SYNTEETTISET SUORAKETJUISET BIOHAJOAVAT POLYESTERIT	3
2.1 Polylaktidi.....	3
2.2 Polyglykolidi	5
2.3 Polykaprolaktoni.....	7
3. KÄYTTÖKOHTEET KUDOSTEKNOLOGIAN TUKIMATERIAALEINA.....	9
3.1 Skaffoldeilta yleisesti vaaditut ominaisuudet	9
3.2 Polylaktidi skaffoldimateriaalina	11
3.2.1 Luukudoksen kasvattaminen PLA-skaffoldilla.....	11
3.2.2 Verisuonten kasvattaminen PLA-skaffoldilla.....	13
3.2.3 Jännekudoksen kasvattaminen PLA-skaffoldilla	14
3.2.4 Ihon kasvattaminen PLA-skaffoldilla.....	16
3.3 Polyglykolidi skaffoldimateriaalina	17
3.3.1 Luukudoksen kasvattaminen PGA-skaffoldilla.....	17
3.3.2 Verisuonten kasvattaminen PGA-skaffoldilla	18
3.3.3 Jännekudoksen kasvattaminen PGA-skaffoldilla	20
3.4 Polykaprolaktoni skaffoldimateriaalina	21
3.4.1 Rustokudoksen kasvattaminen PCL-skaffoldilla	21
3.4.2 Jännekudoksen kasvattaminen PCL-skaffoldilla.....	23
3.4.3 Hermokudoksen kasvattaminen PCL-skaffoldilla.....	24
4. YHTEENVETO.....	26
LÄHTEET	28

KUVALUETTELO

Kuva 1.	<i>PLA:n kemiallinen rakenne.....</i>	4
Kuva 2.	<i>PGA:n kemiallinen rakenne.....</i>	5
Kuva 3.	<i>PCL:n kemiallinen rakenne</i>	7

LYHENTEET JA MERKINNÄT

PCL	polykaprolaktoni
PDLA	poly(D-laktidi)
PDLLA	poly(D,L-laktidi)
PGA	polyglykolidi
PLA	polylaktidi
PLC	poly-L-laktaatti- ϵ -kaprolaktoni
PLCL	poly(L-laktidi-ko- ϵ -kaprolaktoni)
PLDLLA	poly(L-laktidi-ko-D,L-laktidi)
PLLA	poly(L-laktidi)

1. JOHDANTO

Kudosteknologia on nopeasti kasvava tieteenala, joka tähtää jonkin ihmisen elimistölle välttämättömän toiminnallisuuden palauttamiseen synteettisesti kasvatetun uuden kudoksen avulla. Tällainen toiminnallisuus voi olla esimerkiksi jonkin elimen toiminta, joka on estynyt tai merkittävästi heikentynyt esimerkiksi sairauden tai vammautumisen seurauksena. [1] Lääketieteen kehittyessä ihmiset elävät keskimäärin yhä pidempään [1], mikä lisää elinten kuormittumista ja sen myötä tarvetta elinluovuttajille. Kudosteknologia saattaa tarjota tekniikoiden kehittyessä helpotusta elinsiirteiden saatavuusongelmaan [1], minkä takia se on sekä tärkeä että mielenkiintoinen tieteenala.

Kudosteknologian konstruktioissa (tissue engineering constructs), eli synteettisissä kudostekonstruktioiden rakennelmissa, hyödynnetään eläviä soluja ja biomateriaaleja. Elävinä soluina käytetään usein ihmiskehon kantasoluja, joilla on kyky erilaistua ja sen myötä muodostaa erilaisia kudostyyppisiä. Skaffoldina eli solujen tukimateriaalina käytetään monenlaisia bioyhteensopivia materiaaleja, kuten luonnollisia ja synteettisiä polymeerimateriaaleja. [1] Näiden lisäksi kudosteknologian konstruktioiden rakentamiseen tarvitaan solujen ja kudoksen kasvua tukevia proteiineja eli erilaisia solujen kasvutekijöitä (growth factors) [2].

Tässä tutkimuksessa käsitellään synteettisten suoraketjuisten biohajoavien polyesterien käyttöä kudosteknologian skaffoldeissa eli osana solujen tukimateriaalia. Tutkimuksessa selvitetään, mitä synteettisiä suoraketjuisia biohajoavia polyestereitä kudosteknologian skaffoldeissa käytetään, mitä ominaisuuksia materiaaleilta tällaisessa käyttökohteessa vaaditaan ja millainen tekninen rakenne näistä materiaaleista tehdyissä skaffoldeissa on. Lisäksi selvitetään, millaisia kudostyyppisiä kunkin synteettisen suoraketjuisen biohajoavan polyesterin avulla kasvatetaan. Tutkimuksessa käsitellään skaffoldien yhteydessä lyhyesti myös muita materiaaleja, joita yhdistetään polyestereihin optimaalisen skaffoldin rakentamiseksi. Tutkimus toteutetaan kirjallisuusselvityksenä kokoamalla ja yhdistelemällä tietoa alan kirjoista ja tutkimusartikkeleista.

Tutkimuksen aluksi selvitetään yleisimpien käytössä olevien synteettisten suoraketjuisten biohajoavien polyesterien rakennetta ja mekaanisia ominaisuuksia. Tutkimuksessa käsiteltävät suoraketjuiset biohajoavat polyestereit ovat polylaktidi (PLA), polyglykolidi (PGA) ja polykaprolaktoni (PCL). Mekaanisten ominaisuuksien käsittelyn jälkeen siirry-

tään tarkastelemaan sitä, millaisia ominaisuuksia kudosteknologian skaffoldeilta vaaditaan, ja millaisia vaadittuja ominaisuuksia kustakin polyesteristä rakennetulla skaffoldilla on. Erilaisia kasvatettavia kudostyyppejä listataan polyestereittäin, ja skaffoldien rakennetta selvitetään. Samalla tarkastellaan materiaaliyhdistelmiä, joissa polyestereitä esiintyy, ja luodaan niiden avulla saavutettaviin (käyttökohteeseen soveltuvampiin) ominaisuuksiin lyhyt katsaus. Lopuksi polyesterien käyttöä kudosteknologian skaffoldeissa vertaillaan ja tehdään niiden käytöstä johtopäätöksiä.

2. SYNTEETTISET SUORAKETJUISET BIOHAJOAVAT POLYESTERIT

Synteettiset suoraketjuiset biohajoavat polyesterit ovat yleisesti käytettyjä lääketieteen sovelluskohteiden materiaaleja, sillä niillä on hyvä bioyhteensopivuus ja niiden kemialliset, fysikaaliset ja biologiset ominaisuudet ovat hyvin vaihtelevia [3, s. 7]. Tässä luvussa keskitytään polyesterien teoreettiseen taustaan yleisesti sekä käsitellään muutamien valittujen polyesterien ominaisuuksia ja rakennetta tarkemmin.

Polyesterit ovat orgaanisia yhdisteitä, joiden kemiallinen rakenne voidaan esittää yleisesti muodossa $-(COOR)_x-$ [3, s. 5]. Niiden rakenteessa jokainen monomeeri eli rakenneyksikkö siis sisältää esterisidoksen. Toiminnalliset ryhmät (R-kirjain kemiallisessa rakenteessa) kuitenkin vaihtelevat polyestereittäin, mikä vaikuttaa polyesterien ominaisuuksiin [3, s. 5].

Monet polyesterit hajoavat luonnostaan ympäristössä ajan kuluessa, koska niillä on tietynlaisia hydrofiilisiä ominaisuuksia, jotka mahdollistavat niiden hajoamisen hydrolyytisesti takaisin lähtöaineikseen, kun ne reagoivat veden kanssa. Myös niiden polymeeriketjun rakenne ja kiteisyysaste vaikuttavat niiden hajoavuuteen. [3, s. 7] Polyesterit, joilla on kyky hajota ympäristössä tai ihmisen elimistössä, luokitellaan biohajoaviksi polyestereiksi.

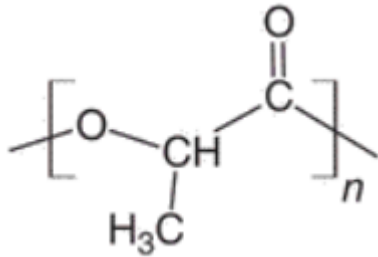
Synteettisiin suoraketjuisiin biohajoaviin polyestereihin kuuluvat esimerkiksi PLA, PGA sekä PCL. Näitä kaikkia voidaan valmistaa renkaanavautumispolymeroinnilla (ring-opening polymerization) ja niitä käytetään monenlaisissa lääketieteellisissä sovelluksissa [3, s. 7–18], kuten biohajoavissa haavan ompeleissa [4] tai kudosteknologian skaffoldeissa.

2.1 Polylaktidi

Maitohappoon (lactic acid) perustuvalla polymerisaatiolla tuotetulla polyesterillä eli PLA:lla on pitkä historia lääketieteen materiaalina. PLA:n tuotanto renkaanavautumispolymerointimenetelmällä on patentoitu vuonna 1954, mistä lähtien PLA:ta on hyödynnetty erilaisissa lääketieteen sovelluksissa, kuten biohajoavissa haavan ompeleissa [4]. Jo aikaisemmin tiedettiin, että PLA ei ole stabiili yhdiste kosteassa ympäristössä, mutta 1960-luvulla PLA:n biohajoavuus ja bioyhteensopivuus ihmiskehon kanssa huomattiin, ja näitä ominaisuuksia alettiin pitää merkittävinä lääketieteen sovelluskohteissa. 1960-luvulta

lähtien PLA:n tutkimus onkin merkittävästi lisääntynyt. Tutkimuksen lähtökohtana on ollut pääasiassa PLA:n sopivuus lääketieteelliseen käyttöön. [3, s. 9]

PLA on rakenteeltaan suoraketjuinen maitohapon polymeerimuoto. Kuvassa 1 on esitetty PLA:n kemiallinen rakenne.



Kuva 1. PLA:n kemiallinen rakenne [3, s. 8].

PLA on kestopuovi [3, s. 9][5], mikä tarkoittaa, että sitä voidaan muokata kuumentamalla ilman, että se hajoaa merkittävästi prosessointilämpötilan vaikutuksesta. PLA:n rakenteesta voidaan löytää kiraliakeskus [3, s. 10] eli hiiliatomi, johon on kiinnittyneenä neljä erilaista funktionaalista ryhmää. Tämän kiraalisuuden vuoksi PLA on optisesti aktiivinen yhdiste, jolla on erilaisia optisia isomeereja. Erilaisia PLA:n muotoja ovat PLLA, PDLA, PDLLA JA PLDLLA [3, s. 10], joista PLLA ja PDLA ovat optisia isomeereja ja PDLLA sekä PLDLLA ovat PLA:n kopolymeereja.

PLA ja sen kopolymeerit ovat ihmiskehölle myrkyttömiä ja biohajoavia yhdisteitä [3, s. 10]. Niiden mekaaniset ominaisuudet vaihtelevat PLA:n muodon mukaan. PLA:n ominaisuuksia voidaankin muokata alun perin hauraasta rakenteesta lujaksi ja jäykäksi tai vaihtoehtoisesti elastiseksi materiaaliksi. [6, s. 177] PLA:n eri muotojen kimmomoduulit sijoittuvat välille 1,5–16 GPa [3, s. 10], mutta puhtaan PLA:n kimmomoduuliksi voidaan arvioida 2,9–3,5 GPa [6, s. 178]. Murtovenymä puolestaan on 5–40 % PLA:n muodon mukaan [3, s. 10] ja puhtaalle PLA:lle se on noin 2,5–8,1 % [6, s. 178].

Yleensä PLA tai sen kopolymeerit eivät liukene veteen [6, s. 163], sillä PLA:n rakenne koostuu pitkistä hiiliketjuista, jotka ovat poolittomia. Liukenevuuteen kuitenkin vaikuttaa PLA:n kiteisyysaste [6, s. 163]. Liukenevuus pienenee korkean kiteisyyden vaikutuksesta siksi, että kiteisyysasteen kasvaessa polymeeriketjut pakkautuvat rakenteessa tiiviimmin toisiinsa nähden, mikä johtaa voimakkaampiin sekundäärisiin sähköisiin voimiin polymeeriketjujen välillä. Näiden voimien vuoksi liuottimen on haastavampaa päästä rikkomään polymeeriketjujen välisiä sidoksia. PLLA:n kiteisyysaste on noin 37 % [3, s. 11],

mutta kiteisyysastetta pystytään nostamaan eri muotoja sekoittamalla (blending) [3, s. 11]. Yleensä PLA:lla on siis korkeahko kiteisyysaste [5]. Vaikka PLA ei liukene veteen, veden kanssa reagoidessaan PLA hajoaa lähtöaineikseen, eli hajoaminen tapahtuu hydrolyyttisesti [7, s. 116].

Taulukko 1 kokoaa yhteen PLA:n mainitut mekaaniset ominaisuudet. Taulukko 1 on koottu lähdekirjallisuudesta löytyvien mekaanisten ominaisuuksien arvojen perusteella. PLA:n muiden muotojen, kuten kopolymeerimuotojen ja optisten isomeerien, ominaisuudet on ilmoitettu yhtenä sarakkeena.

Taulukko 1. PLA:n ja PLA:n optisten isomeerien ja kopolymeerien mekaanisten ominaisuuksien vaihteluvälit.

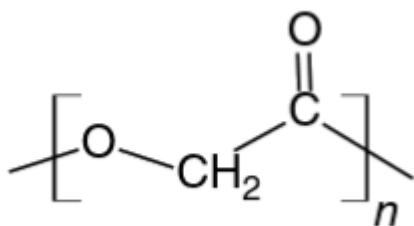
Ominaisuus	PLA	PLA:n muut muodot
Kimmomoduuli [GPa]	2,9–3,5	1,5–16
Murtovenymä [%]	2,5–8,1	5–40

Seuraavassa alaluvussa siirrytään tarkastelemaan PGA:ta, joka on rakenteeltaan ja ominaisuuksiltaan samankaltainen materiaali kuin PLA.

2.2 Polyglykolidi

PGA, kuten myös aiemmin mainittu PLA, on materiaali, jota on käytetty jo pitkään erilaisiin teollisiin tarkoituksiin. Jo vuonna 1949 julkaistiin synteesimenetelmä PGA:lle, ja sen ominaisuuksia oli jo aikaisemminkin tutkittu. Vuonna 1954 hydroksietaanihappo eli glykolihappo patentoitiin tiettyjen ohuiden kalvojen ja kuitujen valmistusta varten. Nykyään PGA:ta ja sen kopolymeereja arvostetaan biolääketieteellisissä sovelluksissa. [3, s. 12]

PGA koostuu glykolihapon muodostamista monomeereista [5]. Kuvassa 2 on esitetty PGA:n kemiallinen rakenne.



Kuva 2. PGA:n kemiallinen rakenne [3, s. 8].

PGA kuuluu siis PLA:n lisäksi suoraketjuisiin biohajoaviin polyestereihin [3, s. 12]. PGA on termoplastinen materiaali [3, s. 12] eli kestumuovi, kuten PLA:kin. Sitä voidaan siis muokata lämmön avulla. PGA on rakenteeltaan yksinkertaisin suoraketjuinen polyesteri. PGA:lla on myös kopolymeerimuotoja, joita ovat esimerkiksi yhdistelmämuodot PLA:n ja PCL:n kanssa. [3, s. 12] Kuten PLA:lla, myös PGA:lla on usein korkeahko kiteisyysaste [5].

PGA on helposti prosessoitavissa lämmön avulla, mutta se on myös hydrolyyttinen materiaali korkeissa pH-arvoissa [3, s. 12], mikä tarkoittaa, että se hajoaa veden avulla takaisin lähtöaineikseen hydrolyysireaktiolla. Tämä ominaisuus saattaa olla prosessointia hankaloittava tekijä, sillä useimmat termoplastiset polymeerit tulee kuivata hyvin ennen prosessointia, jotta voidaan estää prosessoinnin aikana tapahtuva polymeerin hajoaminen, vaahoutuminen tai pintavirheet [8]. Toisaalta hydrolyyttisestä hajoamisesta saattaa olla hyötyä kudosteknologian sovelluksissa, koska elimistössä skaffoldin hajoaminen on toivottavaa, jotta uusi kudokseksi korvaa skaffoldin. PGA:n hydrolyyttisyys kuitenkin vähentyy merkittävästi, jos ympäristön pH-arvo on lähellä neutraalia [3, s. 12], kuten monissa lääketieteellisissä sovelluksissa.

PGA on mekaanisilta ominaisuuksiltaan suhteellisen elastinen materiaali ja se venyykin hyvin kuormituksen alaisena. PGA:n kimmomoduuli voi olla 4–14 GPa, ja PGA:n murtovenymä on noin 30–40 % [3, s. 14]. Kimmomoduulista voidaan päätellä, että verrattuna PLA:han PGA on jäykempi materiaali, eli se vastustaa muodonmuutosta kuormituksen alaisena paremmin kuin PLA. Myös murtovenymän arvo on PGA:lla paljon suurempi kuin PLA:lla, joten PGA kokee suuremman suhteellisen venymän ennen katkeamistaan kuin PLA. Taulukkoon 2 on koottu PGA:n mekaaniset ominaisuudet ja vertailun vuoksi taulukossa on esitetty myös puhtaan PLA:n vastaavat ominaisuudet. Taulukko 2 on koottu lähdekirjallisuudesta löytyvien mekaanisten ominaisuuksien arvojen perusteella.

Taulukko 2. PGA:n ja PLA:n mekaanisten ominaisuuksien vaihteluvälit.

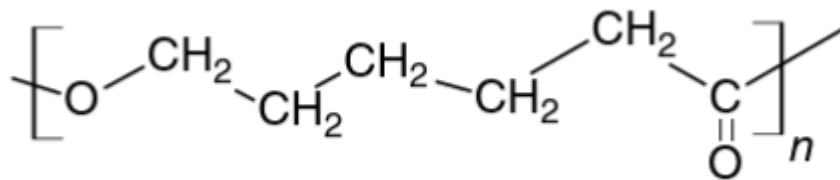
Ominaisuus	PGA	PLA
Kimmomoduuli [GPa]	4–14	2,9–3,5
Murtovenymä [%]	30–40	2,5–8,1

PLA:n ja PGA:n lisäksi työssä tarkastellaan hieman mainituista polyestereistä ominaisuuksiltaan ja rakenteeltaan poikkeavaa PCL:ää. PCL:n rakenne ja ominaisuudet esitellään seuraavassa alaluvussa.

2.3 Polykaprolaktoni

PCL:ää on tutkittu jo noin 100 vuoden ajan, joten sillä on vielä pidempi historia kuin PLA:lla ja PGA:lla. Jo vuonna 1921 keksittiin, että kolesterolin johdannaisista saadaan tuotettua hopeasuolan avulla kaprolaktonia. Vuonna 1934 puolestaan ensimmäinen tutkimus ϵ -kaprolaktonin ja sen polymeerimuodon synteesistä valmistui. Tutkimuksessa huomattiin, että ϵ -kaprolaktoni voidaan muokata lämmön avulla polymeeriksi, jolla on suuri molekyylipaino. Nykyään PCL:ää käytetään polyuretaanien valmistuksessa, sillä PCL:n avulla valmistettu polyuretaani vastustaa hyvin vettä ja muita liuottimia. [3, s. 15]

Kuten aiemmin mainitut PLA ja PGA, myös PCL kuuluu biohajoaviin synteettisiin suora-
ketjuisiin polyestereihin [3, s. 15]. PCL koostuu heksanoaatti-monomeereista (hexanoate repeat units) [3, s. 15][9] ja sitä voidaan valmistaa renkaanavautumispolymeeroinnilla laktonirenkaista [5][9]. PCL:n kemiallinen rakenne on esitetty kuvassa 3.



Kuva 3. PCL:n kemiallinen rakenne [3, s. 8].

PCL on osittain kiteinen materiaali, jonka kiteisyysaste on suunnilleen 70 % [3, s. 15][9]. Korkea kiteisyysaste, suuri molekyylipaino ja ympäristötekijät vaikuttavat PCL:n hajoamisominaisuuksiin. PCL hajoaa ketjun pilkkoutumisen kautta, jota autokatalysoi hydrolyysireaktion seurauksena vapautuva karboksyylihappo. [9]

PCL:llä on hyvä sekoituvuus muihin polymeereihin [3, s. 17] ja se on myös mekaanisilta ominaisuuksiltaan yhteensopiva monien polymeerien kanssa [9]. Tämän lisäksi PCL on bioyhteensopiva materiaali ja sen hajoamista pystytään tarvittaessa kontrolloimaan. PCL:n valmistuksessa voidaan hyödyntää uusiutuvista lähteistä saatavia monomeereja. [9]

Mekaanisilta ominaisuuksiltaan PCL on PLA:sta ja PGA:sta poiketen hyvin sitkeä materiaali, joten se kokee hyvin suuren muodonmuutoksen ennen rikkoutumistaan. PCL:n kimmomoduuli on 0,21–0,44 GPa, ja sen murtovenymä on jopa 20–1 000 % [3, s. 17]. PCL:n mekaaniset ominaisuudet on koottu taulukkoon 3. Taulukossa 3 on lisäksi esitetty vertailun vuoksi PLA:n ja PGA:n vastaavat ominaisuudet. Taulukko 3 on koottu lähdekirjallisuudesta löytyvien mekaanisten ominaisuuksien arvojen perusteella.

Taulukko 3. PCL:n, PLA:n ja PGA:n mekaanisten ominaisuuksien vaihteluvälit.

Ominaisuus	PCL	PLA	PGA
Kimmomoduuli [GPa]	0,21–0,44	2,9–3,5	4–14
Murtovenymä [%]	20–1 000	2,5–8,1	30–40

Mainittujen kolmen polyesterin tarkastelusta voidaan huomata, että PLA ja PGA muistuttavat toisiaan ominaisuuksiltaan ja kemialliselta rakenteeltaan, vaikkakin PGA on PLA:ta jäykempi materiaali ja sillä on suurempi murtovenymä. PCL puolestaan poikkeaa PLA:sta ja PGA:sta olemalla hyvin sitkeä ja suureen suhteelliseen venymään kykenevä materiaali. Näiden materiaalien ja niiden ominaisuuksien soveltuvuutta kudosteknologian skaffoidimateriaaliksi selvitetään seuraavassa luvussa. Myöhemmin listataan eri materiaalien avulla kasvatettavia kudostyyppejä ja niistä tehtyjen skaffoldien rakennetta.

3. KÄYTTÖKOHTEET KUDOSTEKNOLOGIAN TUKIMATERIAALEINA

Tähän asti työssä on käsitelty kolmen yleisesti tutkitun synteettisen suoraketjuisen biohajoavan polyesterin, eli PLA:n, PGA:n ja PCL:n, perustavanlaatuaista rakennetta, hajoamismekanismia ja mekaanisia ominaisuuksia. Tässä luvussa tarkastellaan toivottuja skaffoldien ominaisuuksia yleisesti ja paneudutaan mainittujen kolmen polyesterin käyttöön kudosteknologian skaffoldeissa. Erilaisia kasvatettavia kudostyyppejä ja niiden vaikutusta skaffoldin tekniseen rakenteeseen tarkastellaan.

3.1 Skaffoldeilta yleisesti vaaditut ominaisuudet

Kudosteknologian konstruktiot, eli synteettiset kudostekennelmat, ovat hyvin monimutkaisia rakenteita, jotka yhdistävät elävää kudosta, synteettisiä tai luonnollisia materiaaleja ja erilaisia biomolekyylejä, kuten kasvutekijöitä [10, s. 311]. Tällaiseen monimutkaiseen rakenteeseen vaikuttavat niin skaffoldin eli tukimateriaalin ominaisuudet kuin elävien solujen tarpeetkin, ja konstruktion onkin tarkoitus tukea solujen kasvua ja erikoistumista ja sen myötä kudoksen oikeanlaista kasvua [10, s. 311]. Konstruktion tulee jäljitellä ihmiskehon luonnollista toimintaa ja olosuhteita, jotta sen toimivuus sille tarkoitettuun tehtävään voidaan varmistaa.

Tässä työssä keskitytään konstruktion skaffoldiosaan eli biomateriaaliin, jota konstruktiossa käytetään. Tietynlaista, jokaiseen sovellukseen sopivaa skaffoldia ei ole olemassa, sillä kudosten ominaisuudet ja sen myötä niiden jäljittelemiseen tarvittavat ominaisuudet vaihtelevat hyvin paljon. Jopa vain yhtä kudostyyppiä tarkasteltaessa ihanteellisia skaffoldiratkaisuja voi olla monia, sillä yksittäiselläkin kudoksella on monia erilaisia toiminnallisuksia. [10, s. 314]

On kuitenkin mahdollista listata tiettyjä välttämättömiä ominaisuuksia, joita skaffoldeilta vaaditaan. Skaffoldilla tulee olla hyvä bioyhteensopivuus [11, s. 1]. Bioyhteensopivuudella tarkoitetaan sitä, että materiaali itsessään ja sen hajoamistuotteet ovat myrkyttö-

miä, materiaali ei tuota antigeeneja, jotka voivat aiheuttaa allergiaa, eikä se ole karsinogeeninen [10, s. 314]. Materiaali ei saa myöskään aiheuttaa kehossa negatiivista immuunivastetta [10, s. 314], jonka aikana keho pyrkii implantoidusta konstruktiosta eroon.

Bioyhteensopivuuden lisäksi skaffoldeille on muitakin ehtoja. Mekaanisilta ominaisuuksiltaan skaffoldin on oltava siinä mielessä hyvä [11, s. 1], että se pystyy mekaanisten ominaisuuksiensa avulla kompensoimaan sairasta tai vahingoittunutta kudosta [10, s. 314]. Täydellistä terveeseen kudoksen ominaisuuksien vastaavuutta ei välttämättä kuitenkaan tarvita, sillä kudosten rakenne jopa saman kudostyyppin sisällä vaihtelee niin paljon, että yhden skaffoldin on mahdotonta kattaa kaikkia kudoksen ominaisuuksia ja tehtäviä [10, s. 314]. Mekaanisista ominaisuuksista tärkeitä ovat lujuus ja jäykkyys, jotta skaffoldi kestää kehon aiheuttamaa kuormitusta kudoksiin [10, s. 312].

Skaffoldin pinnan ominaisuudet ja mikrorakenne ovat tärkeitä, jotta solut pystyvät kiinnittymään skaffoldiin. Skaffoldin rakenteen tulee säilyä yhtenäisenä sekä laboratoriossa tehtävän että kehon sisällä tapahtuvan kudoksen kasvamisen aikana. Rakenteen tulee sallia ravinteiden ja aineenvaihdunnan tuotteiden tehokas liikkuminen skaffoldin sisällä, ja solujen tulee pystyä siirtymään kiinnittymisen jälkeen myös skaffoldin sisäosiin. Skaffoldissa tulee lisäksi olla riittävästi tilaa kudoksen kasvamiselle. Myös skaffoldin ulkoinen rakenne on merkittävä, jotta solut pystyvät kiinnittymään skaffoldiin ja siirtymään sen sisälle, ja ulkoinen rakenne pitääkin optimoida kohteena olevan kudostyyppin mukaisesti. [10, s. 312] Yleensä halutut rakenteelliset ja topografiset ominaisuudet saadaan aikaan tekemällä rakenteesta huokoinen [12], jolloin solujen kiinnittymispinta-ala kasvaa ja huokokset välittävät ravinteita skaffoldin joka osaan.

Joskus skaffoldeilta vaaditaan muitakin ominaisuuksia solujen kasvualustana ja mekaanisena tukena toimimisen lisäksi. Skaffoldi voi tukea solujen kasvua myös vapauttamalla hajotessaan bioaktiivisia aineita, kuten kasvutekijöitä. Kasvutekijöiden vaikutusta kudosten kehittymiseen on tutkittu, ja on huomattu, että kasvutekijöiden suora lisääminen vahingoittuneelle alueelle ei ole tehokasta, sillä monet kasvutekijät poistuvat alueelta diffuusion kautta. Sen sijaan kasvutekijöitä kannattaa vapauttaa kohdealueelle hallitusti pidemmällä aikavälillä. Tämän mahdollistavat skaffoldit, joiden rakenteeseen on lisätty kasvutekijöitä. [11, s. 6] Tällöin skaffoldi myös suojaa kasvutekijöitä proteolyysiltä [11, s. 6] eli kasvutekijöiden tuhoutumiselta valkuaisaineiden hajoamisreaktion kautta. Seuraavissa alaluvuissa käsitellään aiemmin tarkasteltuja polyestereitä kudosteknologian skaffoldimateriaaleina, sekä tutkitaan, miksi ne soveltuvat omiin käyttökohteisiinsa.

3.2 Polylaktidi skaffoldimateriaalina

Kuten aiemmin todettiin, PLA on hyvin monipuolinen materiaali johtuen sen erilaisista kopolymeeri- ja optisista muodoista. PLA:n monipuolisuus onkin helposti nähtävissä tutkimalla sen käyttökohteita kudosteknologian skaffoldina. PLA-skaffoldien tekninen rakenne vaihtelee vaahtomaisesta nanokuituihin, ja erilaisia kudostyyppejä pehmytkudoksesta luukudokseen voidaan kasvattaa PLA-skaffoldien avulla. PLA ei kuitenkaan yleensä yksinään kata kaikkia skaffoldilta vaadittuja ominaisuuksia, joten PLA-skaffoldien yhteydessä on myös tärkeää tarkastella sitä, mitä materiaaleja PLA:han skaffoldeissa yhdistetään ja mitä näillä yhdistelmillä saavutetaan. Tässä luvussa tutkitaan sitä, millaisia PLA:ta sisältäviä skaffoldeja kudosteknologiassa käytetään ja minkälaisia kudoksia niiden avulla kasvatetaan.

3.2.1 Luukudoksen kasvattaminen PLA-skaffoldilla

Luukudoksen kasvattamista PLA-pohjaisen skaffoldin avulla ovat tutkineet Blaker et al. ja Xie et al. [12][13]. Blakerin et al. tutkimuksessa käsiteltiin PLA:n ja Bioglass®-lasin yhdistämistä komposiittimateriaaliksi, jota voidaan käyttää skaffoldina luukudoksen kasvattamiseksi. Jotta luukudoksen luonnollisia ominaisuuksia voidaan tehokkaasti jäljitellä skaffoldin avulla, on PLA yleensä yhdistettävä johonkin toiseen, mekaanisia ominaisuuksia parantavaan materiaaliin, sillä PLA on mekaanisilta ominaisuuksiltaan liian heikko materiaali käytettäväksi yksinään ortopedisissa käyttökohteissa [12]. Biolasi, eli tässä tapauksessa Bioglass®, parantaa PLA:han yhdistettynä komposiittirakenteen mekaanista lujuutta ja rakenteellista yhtenäisyyttä, vaikka se onkin ominaisuuksiltaan suhteellisen hauras ja jäykkä materiaali, eikä sen muokkaaminen erilaisiin muotoihin ole helppoa [12]. PLA puolestaan lisää komposiittimateriaalin muokattavuutta [12] ja se kompensoi joustavammalla käyttäytymisellään biolasin haurautta. Näiden biolasia täydentävien ominaisuuksiensa ansiosta PLA soveltuu skaffoldimateriaaliksi luukudoksen kasvatukseen.

PLA hajoaa hydrolyysin avulla takaisin lähtöaineikseen eli maitohapoksi. Nämä happamat hajoamistuotteet saattavat laskea ympäröivän kudoksen pH-arvoa. Tämä voidaan estää Blakerin et al. mukaan biolasin avulla, koska bioaktiivinen lasi muodostaa PLA:n pinnalle protonien vaihtoa, ja sen myötä pH-arvoa puskuroivan ilmiön [12]. Tämä hillitsee happamista hajoamistuotteista johtuvaa PLA:n kiihtyvää hajoamisreaktiota [12].

Blakerin et al. tutkimuksen PLA-Bioglass® -skaffoldin tekninen rakenne toteutettiin siten, että vaahtomainen PLA-skaffoldi täytettiin biolasi-partikkeleilla [12]. Rakenne oli huokoinen [12], mikä mahdollisti osteoblastien, eli luuta muodostavien solujen, liikkumisen rakenteessa läpikotaisin. Blaker et al. huomasiivat, että 40 painoprosenttia biolasia sisältävä PLA-skaffoldi toimi hyvänä alustana luukudoksen muodostumiselle, sillä kun skaffoldi upotettiin simuloituun kudostilanteeseen, sen pintaan muodostui yhtenäinen hydroksiapatiittikerros [12], mikä kertoo luukudoksen kasvattamiselle tärkeiden solujen kasvun ja lisääntymiskyvystä. Tutkimuksessa käsiteltiin komposiittimateriaalin verrokkina myös puhdasta PLA-skaffoldia. Oli nähtävissä, että hydroksiapatiitin muodostuminen PLA-skaffoldin pinnoille oli rajoitettua verrattuna komposiittiskaffoldiin [12]. Tästä voidaan päätellä, että komposiittirakenteet ovat enemmän kuin osiensa summa, ja yleensä tarvittavien skaffoldiominaisuuksien saavuttamiseksi ei riitä yhden tietyn materiaalin käyttö, vaan on tarpeellista yhdistellä eri materiaaleja.

Blakerin et al. [12] lisäksi luukudoksen kasvattamista PLA-pohjaisen skaffoldin avulla ovat tutkineet Xie et al. [13]. He tutkivat PLA:n ja aniliinitrimeerin yhdistelmää elektroaktiivisena muotonsa muistavana polymeerinä (shape memory polymer) ja sen käyttöä luukudoksen kasvatuksessa. Muotonsa muistavilla polymeereilla on pysyvän muotonsa lisäksi myös väliaikainen muoto, josta ne pystyvät palautumaan pysyvään muotoonsa stimulaation avulla [13]. PLA:n kohdalla stimulointi tarkoittaa sitä, että sen muodonmuutos takaisin alkuperäiseksi voidaan saada aikaan lämmön avulla. PLA hajoaa kehossa hyvin ja sillä on myös hyvä bioyhteensopivuus, minkä takia se soveltuu skaffoldimateriaaliksi. Kuitenkin sen tarvitsema pitkä palautumisaika ja matala pysyvyysaste (fixity ratio) aiheuttavat ongelmia luukudoksen kasvatuksessa. [13] Xien et al. tutkimuksessa PLA:n puutteita on pyritty paikkaamaan ihmiselle turvallisella inositolilla, jonka avulla skaffoldin rakenteesta saadaan muokattua verkkomainen. Inositoli kuuluu hiilihydraatteihin ja se säätelee kehossa kudosten kasvua, joten se soveltuu käytettäväksi skaffoldeissa. [13]

Sähköiset signaalit ovat tärkeitä solujen toiminnan säätelyn kannalta, ja niillä on vaikutusta muun muassa solujen lisääntymiseen, siirtymiseen eri kasvupaikoille ja DNA-synteesiin [13]. Sähköisten signaalien merkittävyyden vuoksi kudosteknologian tutkimuksessa on alettu kiinnittää enemmän huomiota sähköä johtaviin materiaaleihin [13], sillä ne parantavat kudosten kasvua turvaamalla elintärkeää solujen ja materiaalin välistä sähköistä viestintää. Xien et al. tutkimuksessa sähköä johtavana materiaalina PLA-skaffoldissa toimi aniliinitrimeeri [13]. Aniliinitrimeeri on monista muista sähköä johtavista ma-

teriaaleista poiketen biohajoava ja sitä on helppo prosessoida. Xien et al. mukaan yhdistämällä PLA ja aniliinitrimeeri saadaan aikaan muotonsa muistava, elektroaktiivinen ja biohajoava polymeerimateriaali, jolla on paljon sovelluksia biolääketieteessä. [13]

Xie et al. käyttivät tutkimuksessaan rakenteeltaan tähden muotoista ristosilloitettua polymeeriverkkoa. Verkon pohjana toimi inositoli. Tähden muotoiseksi renkaanavautumispolymeeroinnilla muovattu PLA muodosti lopullisen verkkorakenteen yhdessä inositolin kanssa. Tämän rakenteen ja materiaaliyhdistelmän avulla Xie et al. saivat luotua skaffoldille hyvät mekaaniset ja elektroaktiiviset ominaisuudet sekä lyhyen palautumisajan. Lisäksi huomattiin, että verrattuna lineaarisen PLA:n käyttöön solujen kiinnittyminen rakenteeseen parani käytettäessä verkkomaista rakennetta. [13]

3.2.2 Verisuonten kasvattaminen PLA-skaffoldilla

PLA:ta sisältävän skaffoldin avulla on mahdollista kasvattaa luukudoksen lisäksi myös verisuonia, jotka muodostuvat hyvin erilaisesta kudoksesta verrattuna luuhun. Verisuoniskaffoldeja ovat tutkineet Wang et al. [14]. He tutkivat komposiittiskaffolia, jossa PLA yhdistettiin silkkifibroiniin ja gelatiiniin, jotta saavutettaisiin optimaaliset ominaisuudet pienen halkaisijan verisuonten skaffoldimateriaaliksi.

Wangin et al. tutkimuksessa skaffoldi oli rakenteeltaan putkimainen, kuten verisuonetkin, ja se koostui kahdesta kerroksesta: PLA-ulkopinnasta ja silkkifibroini-gelatiini-sisäpinnasta. Sekä PLA- että silkkifibroini-gelatiinikerrokset koostuivat kuitumaisista rakenteista. [14] Rakenne oli myös huokoinen [14], jotta solut pääsivät kasvamaan skaffoldin joka osassa. Verrokeiksi tutkimuksessa valmistettiin myös pelkästään PLA:sta koostuva skaffoldi ja pelkästään silkkifibroinista ja gelatiinista koostuva skaffoldi [14].

PLA soveltuu verisuoniskaffoldimateriaaliksi, koska se on taipuisa materiaali, joka venyy suhteellisen paljon ennen rikkoutumistaan [14]. Nämä ominaisuudet eivät kuitenkaan yksinään riitä saavuttamaan kestäväää skaffoldia verisuonten kasvatukseen. Siksi PLA on Wangin et al. tutkimuksessa yhdistetty silkkifibroiniin ja gelatiiniin, joilla puolestaan on yhdistelmäperiaalena korkeampi murtolujuus ja jäykempi käyttäytyminen kuormituksen alaisena kuin PLA:lla. Tutkimuksessa huomattiin, että yhdistämällä PLA ja silkkifibroini-gelatiinirakenne kerrosmaiseksi skaffoldiksi voidaan saavuttaa jopa korkeampia murtolujuuden arvoja kuin kummankaan yksittäisen rakenteen murtolujuus. Lisäksi PLA:n

elastisuuden ansiosta komposiittirakenteen murtovenymä saatiin vastaamaan läheisesti verisuonten luonnollista murtovenymää. [14]

Murtolujuuden ja murtovenymän lisäksi verisuoniskaffoldille tärkeisiin ominaisuuksiin kuuluu lääketieteellisten ompeleiden vastustamiskyky (suture retention strength). Puh- taalla PLA:lla on elastisen käyttäytymisensä ansiosta korkea vastustuskyky ompeleiden aiheuttamalle kuormitukselle, kun taas jäykällä silkkifibroini-gelatiini-rakenteella kyky on huonompi. PLA:n ansiosta Wang et al. saivat kehitettyä vastustusominaisuudet tarvitta- valle tasolle, jotta kriittinen skaffoldin implantointivaihe onnistuisi. [14] Tämänkin vuoksi PLA soveltuu hyvin käytettäväksi verisuoniskaffoldeissa.

Skaffoldin on kestettävä ihmiskehossa ollessaan erilaisia fysiologisia voimia, kuten veri- suonten verenpainetta. Tämän vuoksi Wangin et al. tutkimuksessa skaffoldimateriaalille tehtiin puhkaisupainetesti (burst pressure test). Tutkimuksessa huomattiin, että kompo- siittirakenteen puhkaisupainelujuus (burst pressure strength) oli välimuoto PLA-skaffol- din ja silkkifibroini-gelatiiniskaffoldin puhkaisupainelujuuksista. Tämä selittyy skaffoldien erilaisilla huokoisuuksilla. PLA-skaffoldi oli muita skaffoldeja huokoisempi, joten sen puh- kaisupainelujuus oli alhaisempi kuin muilla skaffoldeilla. Silkkifibroini-gelatiiniskaffoldi puolestaan oli vähemmän huokoinen eli sen rakenteessa oli vähemmän tyhjää tilaa kuin muilla skaffoldeilla. Siksi sen puhkaisupainelujuus oli korkeampi kuin muilla skaffoldeilla. Komposiittiskaffoldin huokoisuus oli yhdistelmä PLA:n ja silkkifibroini-gelatiinin huokoi- suudesta, joten sen puhkaisupainelujuus oli näiden välimuoto. Komposiittiskaffoldi siis soveltuu hyvin kestämään normaalin verenpaineen kehossa. [14]

3.2.3 Jännekudoksen kasvattaminen PLA-skaffoldilla

Ihmiskehossa jänteet ovat merkittäviä, koska niihin kohdistuu kehon liikkuessa suuria voimia, joita ne välittävät lihaksistosta luustoon. Jännevammoja on haastavaa korjata siirteillä, sillä usein siirteiden ottaminen ihmisestä itsestään ei ole mahdollista useita ker- toja, mikäli kertaalleen korjattu jänne vammautuu uudestaan. [15] Jännekudoksen kas- vattamista PLA-skaffoldin avulla ovat tutkineet Vuornos et al. [15].

Vuornos et al. vertailivat tutkimuksessaan PLA:sta tehtyä, kuitumaisista rakenteista pu- nottua skaffoldia ja poly(L-laktidi-ko-ε-kaprolaktoni):sta (PLCL) tehtyä, rakenteeltaan vaahtomaista skaffoldia jännekudoksen kasvatuksessa [15]. Jänteiden ominaisuuksia on

haastavaa jäljitellä biomateriaaleilla, koska jänteet kestävät suuria voimia ja ovat samalla myös elastisia rakenteita. PLA on potentiaalinen biomateriaali jännekudoksen skaffoldiksi, sillä sen mekaaniset ominaisuudet ovat sen erilaisista muodoista ja monipuolisuudesta johtuen hyvin muokattavissa ja sen lujuus vastaa luonnollisen jänteen lujuutta riittävän tarkasti [15].

PLA:n vaahtomaista rakennetta hyödynnettiin luukudoksen kasvatuksessa [12]. Koska vaahtomainen PLA soveltuu biolasin kanssa yhdistettäessä hyvin luukudoksen kasvatukseen, sen ominaisuudet ovat lähellä luukudoksen ominaisuuksia. Ominaisuuksia vain täydennetään biolasin avulla ja ne saadaan vastaamaan luukudoksen ominaisuuksia paremmin biolasin lisäämisen ansiosta. Vuornos et al. toteavat, että vaahtomainen PLA on ominaisuuksiltaan suhteellisen kova ja hauras materiaali, eikä siksi sovellu pehmytkudosten, kuten jänteiden, skaffoldimateriaaliksi [15]. Tämän vuoksi jänneskaffolditutkimuksessa käytettiin skaffoldin päämateriaalina kuitumaista PLA:ta [15], kuten pehmytkudoksiin kuuluvien verisuonten skaffoldeissakin [14].

Kuiduista punotun PLA-skaffoldin huokoisuutta ei voitu tutkimuksessa mitata näytteen kaksiulotteisen luonteen vuoksi. Verrokkina toiminut vaahtomainen PLCL-skaffoldi puolestaan oli rakenteeltaan huokoinen. [15] Vaikka PLA-skaffoldin huokoisuutta ei voitu määrittää, voidaan arvioida skaffoldin olleen huokoinen solujen kiinnittymisestä ja lisääntymisestä päätellen, ja myös siksi, että huokoinen rakenne on erittäin merkittävä kudosteknologian konstruktion toimivuuden kannalta.

Vuornos et al. huomasivat, että käytetyt kantasolut muodostivat jatkuvan ja yhtenäisen kerroksen skaffoldin kuitumaisten rakenteiden päälle, ja lisäksi solujen kollageenituotanto loi yhtenäisen kollageenikerroksen skaffoldin pinnalle [15], mikä kertoo potentiaalisesta kudoksen kasvusta. Verrattuna PLCL-skaffoldiin sekä solujen kiinnittyminen ja kasvu että kollageenituotanto oli merkittävästi parempaa PLA-skaffoldia käytettäessä. Lisäksi PLA:n kimmomoduuli vastasi merkittävästi paremmin akillesjänteen kimmomoduulia kuin PLCL:n kimmomoduuli. PLA on siis potentiaalinen skaffoldimateriaali kompensoimaan vaurioituneen jännekudoksen ominaisuuksia, kun taas PLCL ei korkean elastisuutensa vuoksi pysty juurikaan tuottamaan mekaanista tukea jänteelle. [15]

3.2.4 Ihon kasvattaminen PLA-skaffoldilla

Tässä työssä viimeisenä kudostyyppinä, joita PLA-skaffoldeilla kasvatetaan, käsitellään ihokudosta, jonka kasvattamista skaffoldin avulla ovat tutkineet Bacakova et al. [16]. Ihokudos on pehmytkudosta, kuten jänteet ja verisuonetkin, ja myös Bacakovan et al. tutkimuksessa onkin havaittavissa rakenteeltaan kuitumaisen PLA:n käyttö pehmytkudosten skaffoldimateriaalina. Bacakova et al. tutkivat PLA:sta valmistetuista nanokuiduista koostuvaa fibriinillä pinnoitettua kalvomaista skaffoldia. Fibriini on elimistössä erittäin tärkeä aine, joka vaikuttaa muun muassa haavojen parantumiseen ja ihokudoksen uusiutumiseen [16]. Käyttämällään skaffoldirakenteella Bacakova et al. pyrkivät jäljittelemään ihon luonnollisia mekaanisia ominaisuuksia [16]. Ihon luonnollisten ominaisuuksien jäljitelykyvyn vuoksi PLA soveltuu mekaanisilta ominaisuuksiltaan käytettäväksi myös ihokudoksen kasvatuksessa.

PLA ja muut synteettiset, biohajoavat polymeerit, joita ihokudoksen kasvattamisessa käytetään, eivät yleensä yksinään tarjoa tarpeeksi tehokasta kasvualustaa soluille ilman erillistä käsittelyä [16]. Siksi fibriinipinnoitus PLA:lle oli tärkeää. Tutkimuksessa huomattiin, että fibriinillä pinnoitettuun PLA-skaffoldiin solut levittyivät paremmin kuin puhtaaseen PLA-skaffoldiin, ja fibriinin hajoaminen skaffoldin pinnalla tapahtui samaa vauhtia, kuin solujen lisääntyminen [16], mikä on biohajoaville skaffoldeille tärkeää. Lisäksi verrattuna puhtaaseen PLA-skaffoldiin pinnoitetussa skaffoldissa havaittiin enemmän kollageenituotantoa, joka kertoo solujen oikeanlaisesta kasvusta ja kehityksestä skaffoldissa [16].

Yhteenvetona PLA-skaffoldien avulla kasvatetuista kudoksista voidaan todeta, että rakenteeltaan kuitumainen PLA soveltuu pehmytkudosten kasvatukseen, kun taas vaahdomainen rakenne on optimaalinen luun kasvatuksessa. PLA:lla on monipuolisia ja helposti muokattavia ominaisuuksia, joihin skaffoldin rakenne vaikuttaa merkittävästi. Usein PLA yhdistetään muihin materiaaleihin tai biologiseen ainekseen ominaisuuksien optimoimiseksi. PLA on paljon tutkittu ja hyvin skaffoldimateriaaliksi soveltuva polyesteri.

3.3 Polyglykolidi skaffoldimateriaalina

PGA on materiaalina ominaisuuksiltaan samankaltainen kuin PLA, kuten työssä aiemmin havaittiin. PGA:lla onkin hyvin yhteneviä käyttökohteita PLA:n kanssa kudosteknologisissa sovelluksissa. PGA:han pohjautuvan skaffoldin avulla voidaan kasvattaa hyvin monenlaisia kudostyyppejä, kuten jännekudosta ja verisuonikudosta. PGA-skaffoldien rakenne vaihtelee verkkomaisesta lamellirakenteeseen, ja skaffoldien rakenne vaikuttaa merkittävästi siihen, millaisen kudostyyppin kasvattamiseen skaffoldi soveltuu, kuten PLA:nkin tapauksessa. Tässä kappaleessa perehdytään siihen, minkälaisia kudostyyppejä PGA-pohjaisen skaffoldin avulla kasvatetaan ja millaisia skaffoldit ovat rakenteeltaan. Kappaleessa myös vertaillaan PGA- ja PLA-pohjaisten skaffoldien käyttöä samantapaisten kudostyyppien kasvatuksessa.

3.3.1 Luukudoksen kasvattaminen PGA-skaffoldilla

PGA-pohjaisella skaffoldilla on mahdollista kasvattaa luukudosta, kuten PLA:nkin tapauksessa. Luukudoksen vaurioiden parantamista PGA:ta sisältävän skaffoldin avulla ovat tutkineet Toosi et al. [17]. He valmistivat luukudoksen kasvatusta varten komposiittiskaffoldin, jonka matriisina toimi sienimäinen kollageenirakenne. Kollageenimatriisiin lisättiin PGA-kuituja, jotka oli irrotettu kuitukankaan muodossa olleesta PGA:sta. [17] Jos skaffoldissa käytetyn PGA:n muotoa verrataan Blakerin et al. luukudostutkimuksessa [12] käytettyyn PLA:n muotoon, huomataan, että PGA:ta on käytetty kuitumaisessa muodossa, mutta PLA:ta vaahtomaisena rakenteena luukudoksen kasvattamiseksi. Tämä kertoo eroavaisuudesta PGA:n ja PLA:n ominaisuuksissa, sillä kuitumaista PLA:ta käytettiin vain pehmytkudosten kasvatukseen, eikä se soveltunut jäljittelemään luukudoksen luonnollisia ominaisuuksia liian heikkojen mekaanisten ominaisuuksiensa vuoksi. PGA:n kuitumaisella muodolla puolestaan on mahdollista saada aikaan luukudoksen korjaantumista. Ero johtuu todennäköisesti siitä, että PGA:lla on suurempi kimmomoduuli kuin PLA:lla, mikä tarkoittaa sitä, että PGA on jäykempi materiaali ja vastaa siten paremmin luukudoksen luonnollisia ominaisuuksia kuin PLA.

Kuten PLA:nkin tapauksessa, PGA vaatii usein yhdistämisen muihin biomateriaaleihin kudosteknologian skaffoldeissa, koska se ei ainoana skaffoldimateriaalina toimiessaan edistä kovin tehokkaasti solujen kasvua ja lisääntymistä vaurioalueella. Tämän vuoksi Toosi et al. käyttivät skaffoldin matriisimateriaalina kollageenia, joka soveltuu skaffoldimateriaaliksi hyvän bioyhteensopivuutensa ansiosta [17]. Kollageeni nimittäin on yksi luonnollisen soluväliaineen pääkomponenteista ja se toimii luonnollisena kiinnittymis- ja

kasvualustana osteoblasteille [17] eli soluille, jotka tuottavat luukudosta. Kuten usein kudosteknologian tutkimuksissa, myös Toosin et al. skaffoldi oli huokoinen rakenteeltaan, jotta ravinteet ja happi kulkevat tehokkaasti skaffoldin sisäosissakin. Kuitenkin sekä kollageeni materiaalina että skaffoldin huokoisuus vaikuttivat siihen, että kollageeni itsessään on mekaanisilta ominaisuuksiltaan liian heikko materiaali kovien kudosten skaffoldimateriaaliksi. Toosi et al. pyrkivät parantamaan skaffoldin mekaanisia ominaisuuksia lisäämällä skaffoldiin kuitumaista PGA:ta. [17] Näin skaffoldin ominaisuudet saatiin vastaamaan riittävästi luun luonnollisia mekaanisia ominaisuuksia.

Sen lisäksi, että PGA:lla oli mekaanisia ominaisuuksia parantava vaikutus, PGA soveltuu hyvin skaffoldimateriaaliksi erityisesti hydrolyyttisen hajoamisensa vuoksi. PGA hajoaa glykolihapoksi, joka on luonnollinen aineenvaihduntatuote kehossa, eikä se siis aiheuta merkittävää kehon hylkimisreaktiota, vaikka skaffoldi vähitellen hajoaa ja korvautuu uudella kudoksella. Lisäksi PGA on mekaanisilta ominaisuuksiltaan riittävä käytännön kudosteknologisiin sovelluksiin sen vuoksi, että se kestää riittävän hyvin puristusvoimia johtuen sen jäykkyydestä. Toosi et al. huomasivat, että kollageeni-PGA-skaffoldi edisti kantasolujen kiinnittymistä, lisääntymistä ja erilaistumista luukudokseksi. Skaffoldin jäänteitä oli yhä nähtävissä luun vaurioalueilla 12 viikon kuluttua implantoimisesta, mutta uutta luukudosta oli muodostunut vaurioalueelle jo hyvin. [17] Merkittävänä erona PGA-skaffoldin ja PLA-skaffoldin välillä käytetyn polyesterin rakenteen lisäksi voidaan huomata, että PGA:ta käytettiin yhdistettynä mekaanisesti heikompaan materiaaliin, jotta PGA parantaisi mekaanisia ominaisuuksia, mutta PLA:ta puolestaan käytettiin yhdistettynä mekaanisilta ominaisuuksiltaan vahvempaan materiaaliin, ja PLA toi rakenteeseen lisää joustavuutta ja sen myötä myös kestävyyttä. Vaikka nämä polyesterit ovatkin ominaisuuksiltaan samankaltaisia, niiden käytössä voi olla merkittäviäkin eroja ja käyttö saattaa olla hyvinkin monipuolista.

3.3.2 Verisuonten kasvattaminen PGA-skaffoldilla

Luukudoksen kasvatuksen lisäksi PGA-skaffoldin avulla on mahdollista kasvattaa verisuonikudosta. Halkaisijaltaan pienen verisuonen elastista seinämää ovat kasvattaneet tutkimuskäyttöön Wang et al. [18]. He käyttivät PGA-skaffoldia, joka oli rakenteeltaan kuiduista valmistettu verkko [18]. Huomattavaa on, että sekä kovaa luukudosta [17] että pehmeää verisuonen seinämäkudosta [18] on valmistettu käyttämällä raaka-aineena rakenteeltaan kuitumaista PGA:ta, vaikka kasvatettavat kudostyypit eroavat merkittävästi toisistaan ominaisuuksiltaan. Todennäköisesti komposiittirakenteessa käytetyt PGA-kui-

dut tekevät suuntautumisensa vuoksi skaffoldista mekaanisilta ominaisuuksiltaan tarpeeksi vahvan, jotta sillä voidaan jäljitellä luukudosta. Kun skaffoldin rakenne on verkko-mainen, PGA-kuitujen järjestäytyminen rakenteessa johtaa siihen, että skaffoldi on ominaisuuksiltaan heikompi, ja soveltuu siksi jäljittelemään pehmeän verisuoniseinämän ominaisuuksia. Kun luukudoksen tapauksessa PGA:n ja PLA:n rakenteet erosivat toisistaan, niin verisuonten tapauksessa voidaan havaita, että sekä PGA- että PLA-skaffoldeissa on käytetty kuitumaista polyesteriä pehmytkudoksen kasvattamiseksi. Tämä puoltaa PGA:n ja PLA:n toisiaan muistuttavia mekaanisia ominaisuuksia. Merkittävää on myös se, että verisuonikudosta kasvatettaessa PGA toimii skaffoldimateriaalina ilman, että se yhdistettäisiin muihin biomateriaaleihin optimaalisten ominaisuuksien saavuttamiseksi. PLA:n tapauksessa mekaaniset ominaisuudet jouduttiin muokkaamaan verisuonen ominaisuuksia jäljitteleviksi gelatiinin ja silkkifibroinin avulla [14]. Tämä johtuu todennäköisesti siitä, että PGA on mekaanisilta ominaisuuksiltaan vahvempi materiaali kuin PLA ja sen vuoksi se soveltuu jo yksinään käytettäväksi verisuoniskaffoldina ominaisuuksiensa puolesta.

Wang et al. huomasivat tutkimuksessaan, että kun PGA-skaffoldi, johon oli istutettu siileiksi lihassoluiksi erilaistuneita kantasoluja ja kasvutekijöitä, jätettiin normaaliin väliaineliuokseen seitsemäksi päiväksi, skaffoldi ja solut muodostivat yhtenäisen lamellin. Solut kasvoivat ja levittäytyivät PGA-kuitujen suuntaisesti ja erittivät soluväliainetta huokoisien skaffoldin aukkoihin. [18] Tämä kertoo siitä, että PGA:lla on onnistuttu jäljittelemään solujen luontaista kasvuympäristöä hyvin ja PGA soveltuu todennäköisesti hyvin skaffoldimateriaaliksi verisuonten kasvattamiseen. Myös solujen luontainen kollageenituotanto käynnistyi kudusrakennelmassa, ja kollageenin määrä vastasikin mittauksen mukaan jopa 60 prosenttia normaalista verisuonen kollageenimäärästä [18].

PLA:n yhteydessä työssä tarkasteltiin sitä, että verisuonten on kestävä muun muassa verenpainetta ja muita fysiologisia voimia kehossa. Kuten PLA-skaffoldin tapauksessa [14], myös PGA-skaffoldille toteutettiin puhkaisupainetesti ja lääketieteellisten ompeleiden vastustuskyvyn testi. Testeistä saatujen tulosten perusteella PGA-skaffoldilla kasvatetulla verisuonella ylletään biomekaanisesti noin 55-prosenttisesti normaalin verisuonen tasolle [18], mikä myös kertoo PGA:n potentiaalista verisuoniskaffoldimateriaalina.

3.3.3 Jännekudoksen kasvattaminen PGA-skaffoldilla

Tässä työssä viimeinen kudostyyppi, jota PGA-skaffoldin avulla kasvatettavista kudoksista tarkastellaan, on jännekudos. Myös jännekudoksen kasvatus on mahdollista sekä PGA- että PLA-skaffoldeilla. Yokoya et al. [19] tutkivat jännekudoksen kasvatusta PGA-skaffoldin avulla ja vertasivat tuloksia poly-L-laktaatti- ϵ -kaprolaktonista (PLC) valmistetun skaffoldin avulla kasvatettuun jännekudokseen.

Yokoyan et al. tutkimuksessa keskityttiin jänneitä ja luita yhdistävän kiertäjäkalvosimen synteettiseen kasvatukseen eli luun ja jänneen rajapinnan vaurioiden korjaamiseen. Tarkoitukseen käytetty PGA-skaffoldi oli rakenteeltaan ohut lamelli, joka koostui PGA-kuiduista. Vertailuun käytetty PLC-skaffoldi puolestaan oli huokoinen ja vaahtomainen rakenteeltaan. [19] Huomattavaa on jälleen se, että PGA-kuidut soveltuvat sekä kovan kudoksen että pehmytkudosten, kuten verisuonten tai jänneen kiertäjäkalvosimen, kasvatukseen. PGA vaikuttaa siis olevan hyvin monipuolinen materiaali, jota voidaan helposti hyödyntää useissa eri kudosteknologian sovelluksissa, eikä se todennäköisesti ole kovin paljon haastavammin muunneltavissa kuin PLA:kaan.

Yokoya et al. huomasivat, että PGA:sta valmistettu skaffoldi oli 24 viikon testiajanjakson jälkeen kokonaan hajonnut elimistössä ja sen oli korvannut runsas sidekudoksellinen kudos [19]. PGA on yleensä suhteellisen nopeasti elimistössä hajoava biomateriaali [19], mikä selittää skaffoldin täydellisen hajoamisen ja poistumisen elimistöstä aineenvaihdunnan kautta. PGA:n sopivuutta skaffoldimateriaaliksi puoltaa se, että PGA-skaffoldi ei aiheuttanut juuri ollenkaan kehon hylkimisreaktiota koko 24 viikon koejakson aikana [19]. Tämä havainto vahvistaa käsitystä PGA:n bioyhteensopivuudesta. Vertailukohteena käytetty, huonosti biohajoava PLC-skaffoldi puolestaan oli kokonaisuudessaan löydettävissä koejakson jälkeen, ja se aiheutti myös hylkimisreaktiota tutkimuksessa käytettyjen kaniin kehoissa [19].

Tutkimus osoitti, että PGA-skaffoldia käytettäessä luu-jänne-kiinnityskohta parani paremmin ja arpikudoksesta oli havaittavissa enemmän jännemäisiä piirteitä kuin PLC-skaffoldia käytettäessä. Myös kollageenituotanto PGA-skaffoldilla oli yhdensuuntaisempaa kuin PLC-skaffoldilla, eli kollageenia muodostui skaffoldin kuitujen suuntaisesti. Tutkimus ei ollut erityisen onnistunut siinä mielessä, että molemmilla skaffoldeilla kasvatetut jänneet tai niihin kiinnitetyt luut lopulta katkesivat tutkimusajanjakson aikana. PGA-skaffoldilla päästiin kuitenkin mekaanisilta ominaisuuksilta lähemmäs jänneen luonnollisia

ominaisuuksia kuin PLC-skaffoldilla. [19] Monet kudosteknologian tutkimuskohteet vaativat vielä paljon lisätutkimusta, että niitä voitaisiin tulevaisuudessa soveltaa ihmisiin lääketieteellisessä hoidossa.

Yhteenvedona PGA:n käytöstä kudosteknologian skaffoldina voidaan mainita, että PGA:ta käytetään usein kuitumaisessa muodossa, ja PGA-kuituja voidaan hyödyntää toisistaan hyvin poikkeavien kudostyyppien kasvatuksessa. PGA-skaffoldin kolmiulotteinen rakenne määrittää skaffoldin ominaisuuksia ja sitä, minkä kudostyyppin kasvatukseen skaffoldi soveltuu. PGA on monipuolinen ja paljon tutkittu biomateriaali, jolla pystytään kasvattamaan hyvin yhteneväisiä kudoksia esimerkiksi PLA:n kanssa.

Työn viimeisessä kappaleessa käsitellään PLA:sta ja PGA:sta ominaisuuksiltaan poikkeavan PCL:n käyttöä kudosteknologian skaffoldeissa. Kuten PLA:ta ja PGA:takin, myös PCL:ää käsitellään sen avulla kasvatettavien kudostyyppien ja skaffoldien rakenteen näkökulmasta.

3.4 Polykaprolaktoni skaffoldimateriaalina

Kuten työssä aiemmin huomattiin, PCL poikkeaa hyvin sitkeällä käyttäytymisellään ja suurella murtovenymällä PLA:sta ja PGA:sta. Sen avulla pystytään kuitenkin kasvattamaan kudoksia todennäköisesti yhtä monipuolisesti kuin PLA:lla ja PGA:llakin, ja näiden polyesterien käyttökohteet ovat kudosteknologiassa osittain yhteneviäkin. Rustokudoksen ja jännekudoksen lisäksi PCL-skaffoldia on mahdollista hyödyntää esimerkiksi hermokudosvaurioiden hoidossa. PCL-pohjaisissa skaffoldeissa hyödynnetään usein kuitumaista PCL:ää, kuten PLA- ja PGA-skaffoldeissakin. Tässä kappaleessa käsitellään PCL-pohjaisten skaffoldien ominaisuuksia ja niiden avulla kasvatettavia kudostyyppisiä, ja PCL:n käyttöä eri kudostyyppien kasvattamiseksi vertaillaan PLA- ja PGA-skaffoldeihin.

3.4.1 Rustokudoksen kasvattaminen PCL-skaffoldilla

PCL:ää sisältävää komposiittiskaffoldia luun ja ruston kiinnittymiseen (osteocondral tissue) liittyvissä kudosteknologian käyttökohteissa ovat tutkineet Yao et al. [20]. He keskittyivät tutkimuksessaan skaffoldiin, jonka avulla olisi mahdollista tukea ruston ja rusto-

kudoksen alla olevan luun kasvua rustovaurion jälkeen, sillä rustokudos verisuonettomana kudoksena ei parane itsestään kehossa. Yao et al. käyttivät kaksikerroksista komposiittiskaffoldia, jonka kerrokset koostuivat Bioglass®-biolasista (kuten PLA:n tapauksessa Blakerin et al. tutkimuksessa [12]) ja PCL-kitosaanisekoituksesta. Kaksikerroksisen rakenteen tarkoituksena oli biolasikerroksen avulla jäljitellä luukudoksen ominaisuuksia ja PCL-kitosaanikerroksen avulla rustokudoksen ominaisuuksia. [20]

Komposiittiskaffoldin rakenne oli toteutettu siten, että luukudosta jäljittelevä biolasipohjainen skaffoldi päällystettiin PCL-kitosaaniblendillä mekaanisten ominaisuuksien parantamiseksi käyttökohteeseen sopiviksi, ja rustokudosta jäljittelevä kerros valmistettiin vaahtomaisesta PCL-kitosaaniblendistä. PCL on ominaisuuksiltaan mekaanisesti suhteellisen stabiili materiaali, joka hajoaa elimistössä asteittain. Lisäksi PCL on bioyhteensopiva materiaali myrkyttömyytensä vuoksi. [20] Kuten työssä aiemmin todettiin, PCL on myös hyvin taipuisa ja sitkeä materiaali, ja se sopii senkin vuoksi rustokudoksen jäljittelemiseen. Kitosaanilla pyrittiin tuomaan rakenteeseen parempaa bioyhteensopivuutta ja biohajoavuutta PCL:n soveltuvien mekaanisten ominaisuuksien rinnalle [20]. PCL-kitosaanipinnoitteen avulla biolasikerroksen haurautta saatiin tutkimuksessa hyvin kompensoitua ja skaffoldista tuli kestävämpi [20]. Tässä on nähtävissä yhteys polyesterien käytämisessä luukudoksen kasvatukseen: PLA:n ja PCL:n tapauksissa polyesteriä käytettiin lisäämään hauraan skaffoldin sitkeyttä ja joustavuutta, jotta skaffoldi vastustaisi paremmin katastrofaalista murtumista. PGA:n käytössä huomataan ero PLA:han ja PCL:ään siinä mielessä, että PGA ainoana polyesterinä oli käytössä kuitumaisessa muodossa, kun taas PLA:ta ja PCL:ää hyödynnettiin oletettavasti näiden polyesterien kohdalla mekaanisesti vahvemmassa muodossa eli vaahtomaisena. On kuitenkin mahdollista, että pelkän luukudoksen kasvatuksessa PCL:ää käytettäisiin jossakin eri muodossa kuin pääasiassa rustokudosta jäljiteltäessä.

Yao et al. huomasivat tutkimuksessaan, että komposiittiskaffoldin pintaan alkoi simuloitua kudostenesteessä muodostua hydroksiapatiittikerros, joka kertoo luukudoksen potentiaalisesta kasvusta. Kun biohajoava PCL-kitosaanipinnoite skaffoldissa hajosi vähitellen, yhä suurempi alue biolasikerroksesta pääsi kosketuksiin kudostenesteen kanssa ja yhä enemmän hydroksiapatiittia muodostui. Solut kiinnittyivät skaffoldiin hyvin ja niiden lisääntyminen tapahtui toivotusti, mikä kertoo PCL:n sopivuudesta skaffoldiksi rustokudoksen kasvatukseen. Myös skaffoldin kerrosten välinen liitos oli mekaanisesti tarpeeksi vahva käyttökohteeseensa. [20]

3.4.2 Jännekudoksen kasvattaminen PCL-skaffoldilla

Jännekudos on kaikille työssä tarkastelluille polyestereille yhtenevä kasvatuskohde kudosteknologian sovelluksissa. Jännekudoksen kasvatusta PCL-pohjaisen skaffoldin avulla ovat tutkineet Yang et al. [21]. Heidän skaffoldinsa oli komposiittiskaffoldi, joka koostui, kuten luonnollinen jännekudoskin, hydrogeelimatrisista ja sitä vahvistavista kuitumaisista rakenteista. Yang et al. rakensivat skaffoldin, jossa gelatiinihydrogeeliin yhdistettiin PCL-kuitua. Gelatiini on yksi luonnollisen soluväliaineen pääkomponenteista, joten se tarjoaa soluille luonnollisen kasvualustan, kuten PGA:n avulla kasvatetussa luukudoksessa käytetty kollageenikin [17]. Hydrogeeli takaa luonnollisen kostean ympäristön soluille, ja sitä käytettäessä solut jakautuvat skaffoldiin tasaisesti. Se kuitenkin ei yksinään pysty jäljittelemään jännekudoksen luontaisia ominaisuuksia ja siksi mekaanisia ominaisuuksia parantavat PCL-kuidut ovat tarpeellisia skaffoldissa. [21] Kuten työssä aiemmin todettiin, PCL on hyvin kiteinen materiaali ja sillä on suuri molekyylipaino, mikä aiheuttaa sen rakenteeseen sekundäärisiä voimia. Siksi PCL hajoaa elimistössä hitaammin kuin esimerkiksi PGA, ja se soveltuu tämän vuoksi hitaasti paranevan jännekudoksen kasvattamiseen. PCL:n joustavuus ja sitkeys jäljittelee hyvin jänteen mekaanisia ominaisuuksia, minkä vuoksi sitä on tutkittu paljon jännekudoksen skaffoldina [21].

Yang et al. huomasivat, että solut erilaistuiivat jännekudoksen soluiksi ja alkoivat kasvaa PCL-kuitujen suuntaisesti hydrogeeliskaffoldia käytettäessä. Lisäksi ne jakautuivat tasaisesti skaffoldiin. Tämä kertoo PCL:n potentiaalista jännekudoksen skaffoldimateriaalina. Skaffoldirakenteen ristikkoitus paransi huomattavasti solujen kasvua ja skaffoldin mekaanisia ominaisuuksia verrattuna skaffoldiin, jota ei ollut ristikkoitettu. Tulevaisuudessa tarvitaan jännekudoksen kasvatuksen osalta vielä lisää tutkimusta, sillä PCL-pohjaisella skaffoldilla ei saavutettu vielä riittävällä tavalla jännekudosta vastaavia ominaisuuksia, jotta skaffoldia voitaisiin hyödyntää kliinisessä hoidossa. [21]

Kaikille työssä tarkastelluille polyestereille yhteistä on se, että niitä käytettiin kuitumaisessa muodossa jännekudoksen kasvatukseen käytetyissä skaffoldeissa. Tämä johtuu sekä jänteen luontaisesta rakenteesta, että siitä, että kaikkien käsiteltyjen polyesterien mekaaniset ominaisuudet vaikuttavat olevan kuitumaisessa muodossa joustavimmillaan ja sitkeimmillään. Mielenkiintoista on se, että vaikka polyesterit eroavat mekaanisilta ominaisuuksiltaan toisistaan paljonkin, niistä rakennetut skaffoldit on mahdollista muokata samankaltaiseen käyttökohteeseen sopiviksi lisäämällä muita biomateriaaleja ja optimoimalla polyesterien rakenne.

3.4.3 Hermokudoksen kasvattaminen PCL-skaffoldilla

Ihmiskehon ääreishermoston vauriot ovat hyvin vaikeasti parannettavissa, sillä vain hyvin pienet vauriot paranevat itsestään. Suuremmat vauriot joudutaan nykyään hoitamaan käyttämällä potilaasta itsestään otettua hermosiirrettä, mikä puolestaan aiheuttaa vaurion alueelle, josta siirre otetaan. Kuten monen muunkin kudostyyppin tapauksessa, kudosteknologia saattaa tulevaisuudessa mahdollistaa ääreishermoston vaurioiden korjaamisen synteettisesti kasvatetulla kudoksella siirteen sijaan. [22]

PCL on yksi potentiaalisista polymeerimateriaaleista, joita on mahdollista hyödyntää hermokudoksen skaffoldeissa. Tätä ovat tutkineet Hu et al. [22]. Tutkimuksessaan he hyödynsivät onttoa kuitumaista PCL:ää, jonka sisälle oli asetettu hermosolujen kasvutekijöitä [22]. Kuten yleisiä skaffoldeilta vaadittuja ominaisuuksia tarkasteltaessa havaittiin, skaffoldi voidaan rakentaa yhdistettynä kasvutekijöihin siten, että skaffoldi vapauttaa kasvutekijöitä hajotessaan elimistössä, jolloin kasvutekijöiden tasainen vapautuminen vaurioalueelle on mahdollista ja todennäköisyys niiden siirtymiselle pois alueelta diffuusion kautta pienenee. Tällä pyritään turvaamaan soluille parempi kasvuympäristö. PCL-kuidut oli saatava järjestyseen skaffoldin rakenteessa mahdollisimman yhdensuuntaisesti, sillä hermosolujen luonnollisessa ympäristössä yhdensuuntainen järjestäytyminen on hyvin vahvasti havaittavissa [22]. Yhdensuuntaisuus oli mahdollista toteuttaa sähkökehruuvalmistusmenetelmällä (electrospinning) [22].

Hu et al. huomasivat tutkimuksessaan, että PCL-skaffoldilla mahdollistettiin noin neljän viikon mittainen ajanjakso, jonka aikana kasvutekijöitä vapautui vaurioalueelle tasaisesti. Normaalilla hermosolun aksonilla kestää suunnilleen tämä aika, jotta se alkaa kasvaa solusta ja kuroo umpeen noin 1 cm mittaisen välin rotan iskiashermon vauriossa [22]. Tämä on merkittävä ominaisuus skaffoldissa, ja mahdollisesti PCL juuri hitaamman hajoamisensa vuoksi soveltuu hermokudoksen skaffoldiksi. Hajoamisajan kanssa saattaisi olla haasteita nopeasti hajoavien PLA:n ja PGA:n toimiessa skaffoldimateriaalina. Kuitenkaan myöskään PCL-skaffoldilla täysin odotettua kasvutekijöiden vapauttamismäärää ei tutkimuksessa havaittu [22]. Tähän voi olla syynä esimerkiksi se, että kasvutekijät ovat usein epästabiileja fysiologisissa olosuhteissa ja osa kasvutekijöistä on saattanut denaturoitua eli menettää toimintakykynsä skaffoldin valmistuksen yhteydessä. Kuitenkin kasvutekijöitä vapautui riittävästi, jotta kantasolujen erilaistuminen hermosoluiksi oli mahdollista. [22]

Merkittävää on se, että kuitumainen PCL mahdollistaa muiden pehmytkudosten kasvatuksen ohella myös potentiaalisen kasvuympäristön hermosoluille. Todennäköisesti myös muita työssä käsiteltyjä polyestereitä voidaan hyödyntää ääreishermoston kasvusta varten käytettävissä skaffoldeissa, koska niiden kuitumainen muoto on yhtä lailla mahdollista toteuttaa ja järjestää yhdensuuntaisesti siten, että hermosolujen on mahdollista kiinnittyä skaffoldiin ja kasvaa kuitujen suuntaisesti. Koska ihmisen hermosto on hyvin monimutkainen järjestelmä, lisää tutkimusta vaaditaan myös tämän kudostyyppin osalta, jotta kudosteknologian konstruktioiden kliininen käyttö mahdollistuu tulevaisuudessa. PCL-skaffoldi osoitti Hun et al. tutkimuksessa myös hyvän bioyhteensopivuutensa, eikä sivuvaikutuksia hermosolujen kasvukyvyssä huomattu [22]. Tämäkin kertoo PCL:n potentiaalista hermokudosskaffoldina.

Yhteenvetona PCL:n käytöstä kudosteknologian skaffoldina voidaan mainita, että PCL:ää on mahdollista käyttää hieman samankaltaisissa kudosteknologian tutkimuskohdeissa kuin esimerkiksi PLA:ta ja PGA:ta. Tämän lisäksi PCL:ää on tutkittu hermokudoksen kasvatuksen yhteydessä. PCL-skaffoldeissa käytetyn PCL:n rakenne noudattelee samaa kaavaa kuin PLA-skaffoldeissa, eli kovien kudosten kasvatuksessa on mahdollista käyttää vaah tomaista PCL:ää ja pehmytkudosten kasvatuksessa kuitumaista rakennetta. PCL osoittaa tutkimuksissa merkittävää potentiaalia moniin kudosteknologian sovelluksiin, mutta sen, kuten muidenkin polyesterien, kliininen käyttöönotto vaatii vielä merkittävästi lisätutkimusta. Työn yhteenveto-osiossa kootaan vielä tarkemmin yhteen tutkittujen polyesterien kudosteknologisia käyttökohteita ja ominaisuuksia. Polyestereitä vertaillaan keskenään ja niiden käyttämisestä kudosteknologiassa tehdään kokoavia päätelmiä.

4. YHTEENVETO

Tässä työssä käsiteltiin kolmea erilaista synteettistä suoraketjuista biohajoavaa polyesteriä: PLA:ta, PGA:ta ja PCL:ää. Tarkoitus oli selvittää, millaisia kudostyyppisiä niiden avulla kasvatetaan kudosteknologian sovelluksissa ja millainen tekninen rakenne käytetyillä skaffoldeilla on kussakin käyttökohteessa. Tässä osiossa kootaan yhteen työssä selvitettyjä asioita ja tehdään päätelmiä liittyen polyesterien käyttöön kudosteknologiassa.

Työssä huomattiin, että polyesterit ovat hyvin monipuolisia materiaaleja, joilla on useita käyttökohteita kudosteknologiassa ja joiden käyttökohteet ovat osittain myös keskenään yhtenäisiä. Tarkastellut polyesterit sopivat kudosteknologian skaffoldeiksi myrkyttömyytensä, muokattavuutensa ja hydrolyyttisen hajoavuutensa vuoksi. Mielenkiintoista on se, että jo pelkästään kolmea polyesteriä tutkimalla havaitaan kasvatettavia kudostyyppisiä, jotka kattavat suurimman osan ihmiskehon kudostyypeistä. Työssä tarkasteltujen polyesterien avulla kasvatettavia kudostyyppisiä olivat luu-, rusto-, jänne-, lihas- (verisuonet), iho- ja hermokudos. Oli huomattavaa, että eniten toisiaan muistuttavia käyttökohteita oli PLA:lla ja PGA:lla, sillä niillä molemmilla kasvatettiin luuta, jännekudosta ja verisuonia. Tämä oli odotettavissa, sillä PLA ja PGA ovat kemialliselta rakenteeltaan ja mekaanisilta ominaisuuksiltaan toisiaan muistuttavia materiaaleja, joten niiden ominaisuudet todennäköisesti soveltuvat samankaltaisiin sovelluskohteisiin. PCL erosi PLA:sta ja PGA:sta siten, että sen avulla kasvatettiin ennemminkin rustoa kuin luuta, ja sitä oli tutkittu myös hermokudoksen skaffoldimateriaalina. Myös PCL:ää käytettiin jännekudoksen kasvatukseen, joten jännekudos oli kaikille tarkastelluille polyesterille yhtenevä käyttökohde. Tämä todennäköisesti johtuu siitä, että polyesterit ovat mekaanisilta ominaisuuksiltaan suhteellisen taipuisia ja sitkeitä, mikä jäljittelee jännekudoksen luontaisia ominaisuuksia.

Polyesterien käyttöä tarkasteltaessa oli huomattavaa, että yleensä polyestereitä käytetään yhdistettynä erilaisiin materiaaleihin, kuten luonnollisiin polymeereihin (kollageeni, gelatiini, kitosaani) tai biolasiin. Tästä voidaan päätellä, että kudosteknologian konstruktiot ovat niin monimutkaisia rakenteeltaan, että pelkästään yhdellä materiaalilla on hyvin vaikeaa saavuttaa riittävästi kudosta jäljitteleviä ominaisuuksia. Erilaisilla komposiittiratkaisuilla, blendeillä ja pinnoitteilla oli mahdollista päästä tarpeeksi lähelle kudoksen mekaanisia ominaisuuksia. Poikkeuksena materiaaliyhdistelmiin oli huomattavissa, että PGA:ta käytettiin yksinään sekä verisuonten että jännekudoksen kasvattamisessa,

PLA:ta jännekudoksen kasvattamisessa ja PCL:ää hermokudoksen kasvattamisessa. Jännekudoksen kasvatuksessa huomattiin, että PGA ja PLA muistuttavat toisiaan ominaisuuksiltaan, sillä niillä molemmilla on potentiaalia jännekudosskaffoldiksi ilman, että niitä yhdistetään muihin materiaaleihin.

Hyvin mielenkiintoisia yhteyksiä huomattiin käytettyjen polyesterien muodossa ja skaffoldien rakenteessa. PLA:lla ja PCL:llä on alemmat kimmomoduulin arvot kuin PGA:lla, mikä tarkoittaa, että PGA on luontaisesti jäykempi materiaali kuin PLA ja PCL. Koska PLA ja PCL muistuttavat toisiaan sitkeydeltään ja taipuisammalta käyttäytymiseltään, niiden käyttömuodossa oli havaittavissa yhteys: vaahtomaista muotoa käytettiin kovempien kudosten, kuten luu- ja rustokudosten, kasvatuksessa, kun taas kuitumaista muotoa hyödynnettiin pehmeiden kudosten, kuten hermo-, lihas-, iho- ja jännekudosten, kasvatuksessa. Tästä voidaan päätellä, että käytetyn skaffoldin rakenne vaikuttaa polyesterien mekaanisiin ominaisuuksiin siten, että vaahtomaisena rakenteena skaffoldin käyttäytyminen on jäykempää ja hauraampaa, ja kuitumaisena taipuisampaa ja sitkeämpää. PGA:n kohdalla havaittiin ero verrattuna PLA:han ja PCL:ään siinä mielessä, että PGA:ta hyödynnettiin kaikissa tarkastelluissa käyttökohteissa kuitumaisessa muodossa. Tämä saattaa johtua siitä, että PGA on alun perinkin jäykempi materiaali kuin kaksi muuta polyesteriä, ja sitä ei tarvitse tai voi muuttaa vaahtomaiseksi, jotta ominaisuuksilla pystytään jäljittelemään kovempien kudosten ominaisuuksia. Pehmeämpien kudostyyppien kohdalla oli havaittavissa, että PGA:ta käytettiin yhdensuuntaisten kuitujen sijasta verkkomaisena rakenteena, mikä saattaa tuoda esiin PGA:n taipuisia ja sitkeitä ominaisuuksia paremmin.

Yhteenvetona työstä voidaan sanoa, että polyesterit ovat hyvin potentiaalisia materiaaleja kudosteknologian skaffoldeiksi ja niillä on keskenään paljon yhteistä, kuten niiden mekaaniset ominaisuudet ja soveltuvuus tiettyihin käyttökohteisiin, mutta myös eroavaisuuksia, kuten niistä tehtyjen skaffoldien rakenne. Kudosteknologia on suhteellisen uusi ja nopeasti kasvava tieteenala, joka vaatii vielä paljon tutkimusta synteettisten kudosteknologien osalta ennen kuin sitä voidaan hyödyntää kliinisesti suuressa mittakaavassa. Kudosteknologia kuitenkin osoittaa merkittävää potentiaalia esimerkiksi elinsiirteiden saatavuusongelman ratkaisemiseksi tulevaisuudessa.

LÄHTEET

- [1] S. Totey & K. D. Deb, Stem Cell Technologies: Basics and Applications. CELL THERAPY AND TISSUE ENGINEERING STRATEGIES IN REGENERATIVE MEDICINE, Chapter, McGraw-Hill, 2010.
- [2] F. Chen, M. Zhang, Z. Wu, Toward Delivery of Multiple Growth Factors in Tissue Engineering, Biomaterials, vol. 31, issue 24, 2010: pp. 6279–6308.
- [3] S. Fakirov, Biodegradable Polyesters. John Wiley & Sons, 2015.
- [4] C. A. Harper, Handbook of Plastics Technologies: The Complete Guide to Properties and Performance. PLASTICS RECYCLING AND BIODEGRADABLE PLASTICS, Chapter, McGraw-Hill, 2006.
- [5] C. A. Harper, Handbook of Plastics Technologies: The Complete Guide to Properties and Performance. THERMOPLASTICS, Chapter, McGraw-Hill, 2006.
- [6] L. T. Sin, A. R. Rahmat, W. A. W. A. Rahman, Polylactic Acid: PLA Biopolymer Technology and Applications, Elsevier, 2012.
- [7] S. G. Kumbar, C. T. Laurencin, M. Deng, Natural and Synthetic Biomedical Polymers, 1st edition. Burlington, Massachusetts, Elsevier, 2014.
- [8] C. A. Harper, Modern Plastics Handbook. Processing of Thermoplastics, Chapter, McGraw-Hill, 2000.
- [9] M. Labet & W. Thielemans, Synthesis of polycaprolactone: a review, Chemical Society Reviews, vol. 38, issue 12, 2009: pp. 3484–3504.
- [10] C. A. van Blitterswijk & J. de Boer, Tissue Engineering. 2nd edition. Elsevier, 2015.
- [11] T. Ideka, K. Ideka, K. Yamamoto et al. Research article: Fabrication and characteristics of chitosan sponge as a tissue engineering scaffold, BioMed Research International, vol. 2014, 2014.
- [12] J. J. Blaker, J. E. Gough, V. Maquet, I. Notingher, A. R. Boccaccini, In vitro evaluation of novel bioactive composites based on Bioglass-filled polylactide foams for bone tissue engineering scaffolds, Journal of biomedical materials research, vol. 67A, 2003: pp. 1401–1411.
- [13] M. Xie, L. Wang, J. Ge, B. Guo, P. X. Ma, Strong Electroactive Biodegradable Shape Memory Polymer Networks Based on Star-Shaped Polylactide and Aniline Trimer for Bone Tissue Engineering, American Chemical Society Journals, vol. 7, 2015: pp. 6772–6781.
- [14] S. Wang, Y. Zhang, G. Yin, H. Wang, Z. Dong, Electrospun Polylactide/silk Fibroin–gelatin Composite Tubular Scaffolds for Small-diameter Tissue Engineering Blood Vessels, Journal of applied polymer science, vol. 113, 2009: pp. 2675–2682.

- [15] K. Vuornos, M. Björninen, E. Talvitie et al. Human Adipose Stem Cells Differentiated on Braided Polylactide Scaffolds Is a Potential Approach for Tendon Tissue Engineering, *Tissue engineering. Part A* vol. 22, issue 5-6, 2016: pp. 513–523.
- [16] M. Bacakova, J. Musilkova, T. Riedel et al. The Potential Applications of Fibrin-Coated Electrospun Polylactide Nanofibers in Skin Tissue Engineering, *International journal of nanomedicine*, vol. 11, 2016: pp. 771–789.
- [17] S. Toosi, H. Naderi-Meshkin, F. Kalalinia et al. Bone defect healing is induced by collagen sponge/polyglycolic acid, *Journal of materials science. Materials in medicine*, vol. 30, issue 3, 2019: pp. 1–10.
- [18] C. Wang, L. Cen, S. Yin et al. A small diameter elastic blood vessel wall prepared under pulsatile conditions from polyglycolic acid mesh and smooth muscle cells differentiated from adipose-derived stem cells, *Biomaterials*, vol. 31, issue 4, 2009: pp. 621–630.
- [19] S. Yokoya, Y. Mochizuki, Y. Nagata, M. Deie, M. Ochi, Tendon-Bone Insertion Repair and Regeneration Using Polyglycolic acid sheet in the Rabbit Rotator Cuff Injury Model, *The American journal of sports medicine*, vol. 36, issue 7, 2008: pp. 1298–1309.
- [20] Q. Yao, P. Nooeaid, R. Detsch et al. Bioglass®/chitosan-polycaprolactone bilayered composite scaffolds intended for osteochondral tissue engineering, *Journal of biomedical materials research, part A*, vol. 102, issue 12, 2014: pp. 4510–4518.
- [21] G. Yang, H. Lin, B. B. Rothrauff, S. Yu, R. S. Tuan, Multilayered Polycaprolactone/Gelatin Fiber-Hydrogel Composite for Tendon Tissue Engineering, *Acta Biomaterialia*, vol. 35, 2016: pp. 68–76.
- [22] J. Hu, L. Tian, M. P. Prabhakaran, X. Ding, S. Ramakrishna, Fabrication of Nerve Growth Factor Encapsulated Aligned Poly(ϵ -Caprolactone) Nanofibers and Their Assessment as a Potential Neural Tissue Engineering Scaffold, *Polymers*, vol. 8, issue 2, 2016: pp. 54.