

REGENERACE POJIVOVÝCH TKÁNÍ S VYUŽITÍM CHYTRÝCH NANOVLÁKEN

Evžen Amler, Matej Buzgo, Michala Rampichová, Karolina Vocetková, Eva Filová,
Eva Prosecká

Laboratoř pokročilých biomateriálů, UCEEB, ČVUT v Praze, Buštěhrad

ANOTACE

Příspěvek pojednává o využití chytrých nanovláken, neboli funkcionalizovaných nanovláken, která jsou využita v aplikaci v bezbuněčných implantátech.

SUMMARY

The aim of article is to introduce the function of smart nanofibres or functionalized nanofibres that are used in cell-free implantant application.

ÚVOD

Pojem chytrá nanovlákná je nepříliš dobrou českou alternativou vhodnějšího anglického výrazu „smart nanofibers“, kterýžto název vznikl ve výzkumné laboratoři. Jedná se o funkcionalizovaná nanovlákná, která mají kromě bazálních vlastností (neboli velký poměr mezi plochou a objemem, vysokou porozitou, atd.) ještě další vlastnosti, jako například přidanou hodnotu. Nejčastěji se mezi tyto přidané hodnoty řadí cílené či řízené dodávání látek. Tato chytrá nanovlákná, smart nanofibres, pak mohou být využita v biomedicině jako nosič v bezbuněčných implantátech, které budou dle názoru výzkumné skupiny, v blízké budoucnosti signifikantně ovlivňovat regenerativní medicínu.

Je zřejmé, že kvalitní a funkční nosič pro bezbuněčnou terapii musí (kromě splnění řady biologických i mechanických podmínek) obsahovat i kvalitní systém řízeného uvolňování. Konstrukci funkcionalizovaných kompozitních materiálu s řízeným uvolňováním pro bezbuněčný přístup při řešení tkáňových lézí lze pokládat za zásadní nejen v oblasti základního výzkumu, ale též z pohledu dohledné aplikace výsledků v klinické praxi. V rámci zkoumání funkcionalizovaných systémů na bázi nanovláken, jako je tomu systém řízeného dodávání a uvolňování látek, bylo dosaženo takového stupně poznání usměrněné migrace buněk a jejich adheze, že s následnou řízenou proliferací a diferenciací, je systém připraven pro uplatnění v praxi. Je zřejmé, že prvotním uplatněním pro tento funkční nosič bude vnější aplikace (dermatologie, stomatologie, možná gynekologie), ale potenciálním brzkým uživatelem je i ortopedie, zejména aplikace pro regeneraci chrupavek. Chrupavka je totiž bezcévnatou tkání, což snižuje pravděpodobnost odhojení implantátů.

REGENERACE OSTEOCHONDRÁLNÍCH LÉZÍ

U osteochondrálních defektů je důležitá léčba jak defektu chondrálního, tak i kostní hmoty pod defektem [1]. Je proto nutné se věnovat oběma druhům lézí a jejich regenerací.

Chondrální regenerace

Chrupavka je bezcévnatou tkání s omezenou regenerační schopností. Standartní operační techniky (debridement, drilling, microfracture, osteotomy, joint distraction, autograft transplantation) nejsou schopny plně obnovit funkci chrupavky [2]. Tkáňové inženýrství s

sebou přineslo aplikaci nových technik (autologous chondrocyte implantation [3], využití kolagenových membrán [4]), což má pozitivní efekt. Nicméně je tu celá řada omezení, což brání rozšíření a aplikaci v lékařské praxi. Kromě vysokých nákladů je to celá řada biologických omezení. Mezi nejdůležitější biologické omezení patří například příprava implantátu s optimálními viskoelastickými biomimetickými vlastnostmi. Buňky navíc musí mít možnost migrace, proliferace a přívodu a odvodu živin a odpadních produktů. Tyto požadavky nespĺňují 2D nosiče, ale pouze 3D systémy. Navíc je důležité udržovat rovnováhu mezi degradací dočasného nosiče s přirozenou obnovou extracelulární matrice, neboť nedegradabilní polymery indukují imunitní odpověď [5]. Buněčné matrice různého typu, které jsou osídleny chondrocyte jako implantáty na bázi autologních chondrocytů, byly již úspěšně použity v klinické praxi [6–10]. Žádný z těchto navržených implantátů však dosud není optimální, neboť umělé implantáty se obtížně inkorporují do extracelulární matrice a navíc mají slabou interakci se subchondrální kostí. Lepidla nejsou zatím dostatečným pojivem, a vede k častému odmítnutí implantátu. Řešením jsou nové kompozitní materiály [11], zejména ty, které obsahují systémy řízeného uvolňování bioaktivních látek. [12,13]. Tyto materiály jsou často bifunkční a řeší chrupavčitou i kostní lézi současně.

Kostní regenerace

Kostní tkáň se významně liší od chrupavčité tkáně svojí strukturou, složením a vlastnostmi. V kostní tkáni můžeme nalézt řadu kostních a buněčných typů (osteoblasty, osteoclasty, osteocyty atd.) stejně jako dalších buněk, které jsou svým původem nekostní. Extracelulární prostor kosti je tvořen krystaly $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, hydroxyapatite (HAP; 69–80 hm%), kolagenu (17–20 hm%) a dalšími komponentami (voda, proteiny) [14]. Přestože má kostní tkáň relativně značnou regenerační kapacitu, obnova velkých kostních lézí je omezena a zůstává terapeutickou výzvou vědeckým týmům [15]. Tkáňové inženýrství se zdá být slibnou možností za předpokladu vhodného nosiče (scaffoldu). Takový nosič musí mít vhodné chemické složení a fyzikální strukturu pro migraci buněk a nutriční zásobení. K výrobě současných polymerních nosičů se používají hydrogely, porézní pěny nebo nanovlákná [16,17]. Velikost pórů a porozita nosiče jsou důležitými parametry pro formování kostní tkáně [18]. Optimální velikost pórů pro kostní regeneraci je mezi 100 μm a 300 μm [19].

Osteochondrální regenerace

Bioaktivní sklo jako biopolymer nabízí vhodný způsob modulace porozity nosiče nejen pro osteochondrální regeneraci [20,21]. Poly(D,L-lactide) (PDLLA)-pokryté bioaktivní sklo glass byly nedávno připraveny ve spolupracujících laboratořích (Yunos et al. [22]). Vrstva PDLLA vláken se prokázala jako vhodné prostředí pro kultivaci chondrocytů a dalších buněk, včetně těch kostních. Vhodný nosič by měl sloužit jako systém řízeného uvolňování léčiv a jako systém k evokaci orientované migrace buněk, jejich adhezi, proliferaci a diferenciaci, v nedávno použitém bifázovém uvolňování z fibrin–PRP–HAP nosiče [23] nebo biopolymer biokeramických konstruktů [24]. Chondrální či osteochondrální implantáty se obvykle osídľují buňkami před implantací. Pluripotentní mezenchymální kmenové buňky (MSCs) izolované z kostní dřene, tukové tkáně nebo endotelu mohou diferencovat do chondrocytů nebo různých typů buněk kostní tkáně. Diferenciace buněk je ovlivněna růstovými faktory, chemickým složením, fyzikálními vlastnostmi a biomechanickými vlastnostmi extracelulární matrice a stimulována mechanickým zatěžováním [25]. Kultivace buněk je zde opět limitována, jednak tím, že buňky dediferencují během 2D kultivace [26], a také proto, že kvalita buněk u starších pacientů a pacientů trpících osteoartritidou je zhoršená [27], kromě toho navíc, že *in vitro* kultivace je nákladná a náročná záležitost. Přijatelnou alternativou k *in*

in vitro kultivaci je imobilizace endogenních buněčných zdrojů a vývoj systémů, které nahradí buněčnou izolaci a *in vitro* kultivaci imobilizováním vnitřních zdrojů *in situ*. Tyto systémy se v dnešní době již vyvíjejí, např. polyuretan (PU)/poly(D,L-laktide-co-glykolide) (PLGA) porézní nosič obsahující PLGA mikročástice a obohacený morfogenním (BMP)-2 nebo TGF- β 1. Výsledkem je zlepšená osteochondrální regenerace [28].

MODIFIKACE NANOVLÁKEN PRO BUNEČNÉ OSÍDLENÍ V TKÁŇOVÉM INŽENÝRSTVÍ

Nanovlákná mají průměr, který je podobný průměru přírodní extracelulární matrici a jsou v dalších ohledech biomimetická [29]. Mohou být připravena z biokompatibilních a biodegradabilních syntetických polymerů, např. poly(lactic acid) (PLA), poly- ϵ -caprolactone (PCL), PU nebo přírodních polymerů jako chitosan, fibroin, kolagen, hyaluronický kyselina či celulóza [30]. Buněčná adheze a proliferace je usnadněna u nanovláken vysokým poměrem povrchu a objemu, stejně jako vysokým počtem kontaktních bodů, což usnadňuje buněčnou adhezi [31]. Vhodný fibrózní nosič na bázi nanovláken pro osteochondrální implantáty může být zkonstruován jako směs nanovláken a mikrovláken, která jsou charakteristická zvětšenými póry [32]. Takový systém umožňuje migraci a vrůstání buněk do nosiče a takový způsob dovolí vrůstání buněk, jejich proliferaci a diferenciaci lidských MSC do osteoblastů, ale také chondrocytů [33].

Nanovlákná mohou být funkcionalizována na svém povrchu. Wimpenny et al. dokázali, že PDLLA nanovlákná potažená na PDLLA mikrovlákná poskytují buňkám značně lepší adhezní parametry než PDLLA film nebo PDLLA mikrovlákná [34]. Nanovlákná kromě toho navíc zlepšují mechanické vlastnosti nosičů [35,36].

Nevýhodou nanovláken je však jejich 2D struktura. Ta sice usnadňuje buněčné osídlení a planární buněčnou migraci, ale omezuje buňky v migraci do prostoru. Takový systém nepodporuje tvorbu 3D tkání, což je esenciální v regenerativní medicíně [37], [38]. Příprava 3D nanovláken je velmi složitý úkol a jednou z možností jak vyrobit strukturované vrstvy nanovláken s využitím 3D-strukturovaného kolektoru je během zvlákňování. Zvětšení pórů umožňuje infiltraci buněk do nosiče [39]. Bylo také prokázáno, že 3D nanovlákná zlepšují osteogenní diferenciaci preosteoblastů [40], [41]. Alternativní 3D systémy mohou být připraveny jako kompozitní nosiče z hydrogelů, které mohou být obohaceny nanovláknennými strukturami [42]. Nanočástice odvozené od nanovláken si udržují svou morfologii a slouží pro adhezi a proliferaci buněk.

OSTEOCHONDRÁLNÍ IMPLANTÁTY A ENDOGENNÍ MOBILIZACE BUNĚK

Několik přístupů ke kultivaci *in vitro* pro chondrální regeneraci bylo již popsáno a publikováno [69,70]. Některé navržené přístupy jsou již v klinické praxi [2,4,6]. Nicméně tyto techniky jsou vhodné pouze pro mladší pacienty (obvykle mladší 45 nebo 50 let), což ostře kontrastuje se společenskou potřebou operativy pro pacienty starších šedesáti let [2,4,6]. Důvodem je menší proliferace *in vitro* u starších pacientů a také obtížná fixace v kloubu. Řešení proliferace *in vitro* není jednoduché. Zajímavou variantou je mobilizace endogenní zásob kmenových buněk a jejich cílená migrace do místa léze. Nanovlákná z biokompatibilních a biodegradabilních syntetických polymerů, např. poly(lactic acid), PCL, nebo přírodních polymerů jako chitosan, fibroin, kolagen, kyselina hyaluronová či celulóza, jsou dobrými kandidáty pro optimální chondrální, kostní či osteochondrální implantáty [11–13,16,43]. Dokonce i hydrofilní polymery jako poly(vinyl alcohol) (PVA), na které buňky

špatně adorují, může být perspektivní, pokud se povrch vhodně opracuje [44,49,50]. Taková modifikace zachová částečně vlastnosti hydrofilního polymeru, ale mnoho funkcí je změněno pro klinické aplikace [44,48,49,50,51,52].

Léčba kmenovými buňkami je již v klinické praxi hojně využívána [53]. Nicméně získávání buněk z kostní dřene je bolestivá invazivní metoda. Aplikace biomimetických nosičů pro endogenní získávání kmenových buněk a jejich cílenou migraci je velmi slibná [54]. Technika je vhodná pro starší pacienty, a kromě toho je navíc výrazně levnější. Tato technika vyžaduje aplikaci enkapsulovaných růstových faktorů nebo krevních derivátů a jejich kontrolované uvolňování *in situ*. Bezbuňčný nosič optimálních stereologických, mechanických a chemických vlastností se systémem pro cílenou migraci buněk je jednoduše aplikovatelný v regenerativní medicíně [28,44]. Ekenseair et al. vyvinuli systém s gradientem růstových faktorů [55]. Koncentrační gradient je dobrou strategií pro cílenou migraci buněk.

NANOVLÁKNA, RŮSTOVÉ FAKTORY A KREVNÍ DERIVÁTY

Mnoho růstových faktorů a bioaktivních molekul bylo popsáno pro regeneraci chrupavek a kostí, např. bFGF, BMP, IGF-I, askorbová kyselina, dexametazon, hydrocortison, α -glycerol fosfát [43,56]. Nicméně k humánní aplikaci chybí souhlas zdravotnických autorit. Doposud bylo použito pro kliniku jen velmi málo růstových faktorů, např. bFGF, BMP-4 a BMP-7 [57]. Možnou alternativou je aplikace krevních derivátů jako nativního zdroje růstových faktorů [43,56]. Interakce nanovláken s krevními deriváty se jeví jako dobrá technika a proliferace chondrocytů byla již prokázána [58]. Vývoj systémů řízeného dodávání bioaktivních látek v kombinaci s krevními deriváty je nejslibnějším přístupem pro realizaci v klinické praxi. Funkcionalizovaná nanovláčna krevními deriváty stabilizují adhezi buněk a stimulují jejich proliferaci. Navíc mohou sloužit i spouštění diferenciaci kmenových buněk do jednotlivých fenotypů, pokud jsou zabudována do 3D nosiče. Potenciál tohoto přístupu se již začíná prokazovat [44].

Další výzkum se bude soustřeďovat na optimalizaci a charakterizaci vlastností kompozitních systémů k cílené migraci MSC do místa léze. Je třeba optimalizovat operační techniky a přístupy a jako slibný přístup se jeví mikrofrakturizace v kombinaci s aplikací chytrých nanovláken společně s krevními deriváty [59, 60]. Cílená migrace MSC je vyvolána gradientem růstových faktorů uvolněných cíleně z chytrých nanovláken. Nový přístup se zaměřuje především na autologní i allogenní PRP a jejich deriváty, zejména α -granule [51]. Autologní i alogenní PRP byly již užity v klinických aplikacích [61]. V kombinaci s chytrými nanovláknami pak dostává celý produkt novou dimenzi.

LITERATURA

- [1] Radin EL, Rose RM. Role of subchondral bone in the initiation and progression of cartilage damage. Clin. Orthop. Relat. Res. 213, 34–40 (1986).
- [2] Vaquero J, Forriol F. Knee chondral injuries: clinical treatment strategies and experimental models. Injury 43(6), 694–705 (2012).
- [3] Breinan HA, Minas T, Hsu HP, Nehrer S, Shortkroff S, Spector M. Autologous chondrocyte implantation in a canine model: change in composition of reparative tissue with time. J. Orthop. Res. 19(3), 482–492 (2001).
- [4] Marlovits S, Zeller P, Singer P, Resinger C, Vecsei V. Cartilage repair: generations of autologous chondrocyte transplantation. Eur. J. Radiol. 57(1), 24–31 (2006).

- [5] Schoen I, Rahne T, Markwart A, Neumann K, Berghaus A, Roepke E. Cartilage replacement by use of hybrid systems of autologous cells and polyethylene: an experimental study. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 20(10), 2145–2154 (2009).
- [6] Ventura A, Memeo A, Borgo E, Terzaghi C, Legnani C, Albisetti W. Repair of osteochondral lesions in the knee by chondrocyte implantation using the MACI(R) technique. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* 20(1), 121–126 (2012).
- [7] Petri M, Broese M, Simon A et al. CaReS (MACT) versus microfracture in treating symptomatic patellofemoral cartilage defects: a retrospective matched-pair analysis. *J. Orthop. Sci.* 18(1), 38–44 (2013).
- [8] Nehrer S, Dorotka R, Domayer S, Stelzeneder D, Kotz R. Treatment of full-thickness chondral defects with hyalograft C in the knee: a prospective clinical case series with 2 to 7 years' follow-up. *Am. J. Sports Med.* 37(Suppl. 1), 81S–87S (2009).
- [9] Eshed I, Trattng S, Sharon M et al. Assessment of cartilage repair after chondrocyte transplantation with a fibrinhyaluronan matrix–correlation of morphological MRI, biochemical T2 mapping and clinical outcome. *Eur. J. Radiol.* 81(6), 1216–1223 (2012).
- [10] Chiang H, Liao CJ, Hsieh CH, Shen CY, Huang YY, Jiang CC. Clinical feasibility of a novel biphasic osteochondral composite for matrix-associated autologous chondrocyte implantation. *Osteoarthritis Cartilage* 21(4), 589–598 (2013).
- [11] Reyes R, Delgado A, Solis R et al. Cartilage repair by local delivery of transforming growth factor-beta1 or bone morphogenetic protein-2 from a novel, segmented polyurethane/poly(lactic-co-glycolic) bilayered scaffold. *J. Biomed. Mater. Res. A* 102(4), 1110–1120 (2014).
- [12] Moutos FT, Freed LE, Guilak F. A biomimetic threedimensional woven composite scaffold for functional tissue engineering of cartilage. *Nat. Mater.* 6(2), 162–167 (2007).
- [13] Marijnissen WJ, Van Osch GJ, Aigner J et al. Alginate as a chondrocyte-delivery substance in combination with a non-woven scaffold for cartilage tissue engineering. *Biomaterials* 23(6), 1511–1517 (2002).
- [14] Ferreira AM, Gentile P, Chiono V, Ciardelli G. Collagen for bone tissue regeneration. *Acta Biomater.* 8(9), 3191–3200 (2012).
- [15] Zhang Z, Hu J, Ma PX. Nanofiber-based delivery of bioactive agents and stem cells to bone sites. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 64(12), 1129–1141 (2012).
- [16] Hutmacher DW. Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials* 21(24), 2529–2543 (2000).
- [17] Karageorgiou V, Kaplan D. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials* 26(27), 5474–5491 (2005).
- [18] Tsuruga E, Takita H, Itoh H, Wakisaka Y, Kuboki Y. Pore size of porous hydroxyapatite as the cell-substratum controls BMP-induced osteogenesis. *J. Biochem.* 121(2), 317–324 (1997).
- [19] Kuboki Y, Jin Q, Takita H. Geometry of carriers controlling phenotypic expression in BMP-induced osteogenesis and chondrogenesis. *J. Bone Joint Surg. Am.* 1(Pt 2), S105 – S115 (2001).
- [20] Noeaid P, Salih V, Beier JP, Boccaccini AR. Osteochondral tissue engineering: scaffolds, stem cells and applications. *J. Cell. Mol. Med.* 16(10), 2247–2270 (2012).
- [21] Liverani L, Roether JA, Noeaid P, Trombetta M, Schubert DW, Boccaccini AR. Simple fabrication technique for multilayered stratified composite scaffolds suitable for interface tissue engineering. *Mat. Sci. Eng. A Struct.* 557(0), 54–58 (2012).

- [22] Yunos DM, Ahmad Z, Salih V, Boccaccini AR. Stratified scaffolds for osteochondral tissue engineering applications: electrospun PDLLA nanofibre coated Bioglass®-derived foams. *J. Biomater. Appl.* 27(5), 537–551 (2013).
- [23] Jang KM, Lee JH, Park CM, Song HR, Wang JH. Xenotransplantation of human mesenchymal stem cells for repair of osteochondral defects in rabbits using osteochondral biphasic composite constructs. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* (2013)
- [24] Nooeaid P, Salih V, Beier JP, Boccaccini AR. Osteochondral tissue engineering: scaffolds, stem cells and applications. *J. Cell. Mol. Med.* 16(10), 2247–2270 (2012).
- [25] Chang NJ, Lam CF, Lin CC et al. Transplantation of autologous endothelial progenitor cells in porous PLGA scaffolds create a microenvironment for the regeneration of hyaline cartilage in rabbits. *Osteoarthritis Cartilage* 21(10),1613–1622 (2013).
- [26] Darling EM, Athanasiou KA. Rapid phenotypic changes in passaged articular chondrocyte subpopulations. *J. Orthop. Res.* 23(2), 425–432 (2005).
- [27] Murphy JM, Dixon K, Beck S, Fabian D, Feldman A, Barry F. Reduced chondrogenic and adipogenic activity of mesenchymal stem cells from patients with advanced osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 46(3), 704–713 (2002).
- [28] Reyes R, Pec MK, Sanchez E, Del Rosario C, Delgado A, Evora C. Comparative, osteochondral defect repair: stem cells versus chondrocytes versus bone morphogenetic protein-2, solely or in combination. *Eur. Cell. Mater.* 25, 351–365 (2013).
- [29] Li M, Mondrinos MJ, Gandhi MR, Ko FK, Weiss AS, Lelkes PI. Electrospun protein fibers as matrices for tissue engineering. *Biomaterials* 26(30), 5999–6008 (2005).
- [30] Sill TJ, Von Recum HA. Electrospinning: applications in drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials* 29(13), 1989–2006 (2008).
- [31] Liang D, Hsiao BS, Chu B. Functional electrospun nanofibrous scaffolds for biomedical applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 59(14), 1392–1412 (2007).
- [32] Blakeney BA, Tambralli A, Anderson JM et al. Cell infiltration and growth in a low density, uncompressed three-dimensional electrospun nanofibrous scaffold. *Biomaterials* 32(6), 1583–1590 (2011).
- [33] Schofer MD, Fuchs-Winkelmann S, Grabedunkel C et al. Influence of poly(l-lactic acid) nanofibers and BMP-2-containing poly(l-lactic acid) nanofibers on growth and osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *ScientificWorldJournal* 8, 1269–1279 (2008).
- [34] Wimpenny I, Ashammakhi N, Yang Y. Chondrogenic potential of electrospun nanofibres for cartilage tissue engineering. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 6(7), 536–549 (2012).
- [35] Albanna MZ, Bou-Akl TH, Walters HL 3rd, Matthew HW. Improving the mechanical properties of chitosan-based heart valve scaffolds using chitosan fibers. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 5(1), 171–180 (2012).
- [36] Li X, Feng Q, Liu X, Dong W, Cui F. Collagen-based implants reinforced by chitin fibres in a goat shank bone defect model. *Biomaterials* 27(9), 1917–1923 (2006).
- [37] Riboldi SA, Sadr N, Pignini L et al. Skeletal myogenesis on highly orientated microfibrillar polyesterurethane scaffolds. *J. Biomed. Mater. Res. A* 84(4), 1094–1101 (2008).
- [38] Norris SC, Humpolickova J, Amler E et al. Raster image correlation spectroscopy as a novel tool to study interactions of macromolecules with nanofiber scaffolds. *Acta Biomater.* 7(12), 4195–4203 (2011).

- [39] Vaquette C, Cooper-White JJ. Increasing electrospun scaffold pore size with tailored collectors for improved cell penetration. *Acta Biomater.* 7(6), 2544–2557 (2011).
- [40] Chen X, Fu X, Shi JG, Wang H. Regulation of the osteogenesis of pre-osteoblasts by spatial arrangement of electrospun nanofibers in two- and three-dimensional environments. *Nanomedicine* 9(8), 1283–1292 (2013).
- [41] Rampichova M, Chvojka J, Buzgo M et al. Elastic threedimensional poly (epsilon-caprolactone) nanofibre scaffold enhances migration, proliferation and osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Cell. Prolif.* 46(1), 23–37 (2013).
- [42] Knotek P, Pouzar M, Buzgo M et al. Cryogenic grinding of electrospun poly-ε-caprolactone mesh submerged in liquid media. *Mat. Sci. Eng. C* 32(6), 1366–1374 (2012).
- [43] Santo VE, Gomes ME, Mano JF, Reis RL. Controlled release strategies for bone, cartilage, and osteochondral engineering – part II: challenges on the evolution from single to multiple bioactive factor delivery. *Tissue Eng. Part B Rev.* 19(4), 327–352 (2013).
- [44] Filova E, Rampichova M, Litvinec A et al. A cell-free nanofiber composite scaffold regenerated osteochondral defects in miniature pigs. *Int. J. Pharm.* 447(1–2), 139–149 (2013).
- [48] Jang JH, Castano O, Kim HW. Electrospun materials as potential platforms for bone tissue engineering. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 61(12), 1065–1083 (2009).
- [49] Datta P, Chatterjee J, Dhara S. Electrospun nanofibers of a phosphorylated polymer – a bioinspired approach for bone graft applications. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 94, 177–183 (2012).
- [50] Prosecka E, Buzgo M, Rampichova M et al. Thin-layer hydroxyapatite deposition on a nanofiber surface stimulates mesenchymal stem cell proliferation and their differentiation.
- [51] Buzgo M, Jakubova R, Mickova A et al. Time-regulated drug delivery system based on coaxially incorporated platelet alpha-granules for biomedical use. *Nanomedicine (Lond.)* 8(7), 1137–1154 (2013).
- [52] Briggs T, Arinze TL. Examining the formulation of emulsion electrospinning for improving the release of bioactive proteins from electrospun fibers. *J. Biomed. Mater. Res. A* 102(3), 674–684 (2014).
- [53] Haleem AM, Singergy AA, Sabry D et al. The clinical use of human culture-expanded autologous bone marrow mesenchymal stem cells transplanted on platelet-rich fibrin glue in the treatment of articular cartilage defects: a pilot study and preliminary results. *Cartilage* 1(4), 253–261 (2010).
- [54] Sun HH, Qu TJ, Zhang XH, Yu Q, Chen FM. Designing biomaterials for in situ periodontal tissue regeneration. *Biotechnol. Prog.* 28(1), 3–20 (2012).
- [55] Ekenseair AK, Kasper FK, Mikos AG. Perspectives on the interface of drug delivery and tissue engineering. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 65(1), 89–92 (2013).
- [56] Wasterlain AS, Braun HJ, Dragoo JL. Contents and formulations of platelet-rich plasma. *Oper. Tech. Orthop.* 22(1), 33–42 (2012).
- [57] Lee K, Silva EA, Mooney DJ. Growth factor delivery-based tissue engineering: general approaches and a review of recent developments. *JR Soc. Interface* 8(55), 153–170 (2011).
- [58] Jakubova R, Mickova A, Buzgo M et al. Immobilization of thrombocytes on PCL nanofibres enhances chondrocyte proliferation in vitro. *Cell. Prolif.* 44(2), 183–191 (2011).

- [59] Steadman JR, Rodkey WG, Rodrigo JJ. Microfracture: surgical technique and rehabilitation to treat chondral defects. Clin. Orthop. Relat. Res. 391(9), S362–S369 (2001).
- [60] Caplan AI, Correa D. The MSC: an injury drugstore. Cell Stem Cell 9(1), 11–15 (2011).
- [61] Kon E, Filardo G, Di Matteo B, Perdisa F, Marcacci M. PRP-augmented scaffolds for cartilage regeneration: a systematic review. Oper. Tech. Sports Med. 21(2), 108–115 (2013).

Tento příspěvek vznikl za podpory Evropské unie, projektu OP VaVpI č. CZ.1.05/2.1.00/03.0091 – Univerzitní centrum energeticky efektivních budov.



EVROPSKÁ UNIE
EVROPSKÝ FOND PRO REGIONÁLNÍ ROZVOJ
INVESTICE DO VAŠÍ BUDOUCNOSTI

