

Praca dyplomowa inżynierska

Wykorzystanie rusztowań wykonanych w technologii druku 3D do hodowli komórek zwierzęcych *in vitro*



Autor: Bartosz Dulski

Nr albumu: 306830

Promotor: dr hab. inż. Paweł Sobieszuk, prof. uczelni

Opiekun pomocniczy: mgr inż. Piotr Kowalczyk

Rok akademicki: 2022/2023

Wprowadzenie

W przypadku uszkodzeń tkanki niezdolnej do samodzielnej regeneracji, niezbędne jest zastosowanie sztucznego rusztowania (scaffoldu). Biokompatybilny, bioresorbowalny i szeroko wykorzystywany w druku 3D polilaktyd jest dobrym kandydatem dla tworzenia tanich i skutecznych w leczeniu rusztowań. Większość wysiłków w obecnie projektowanych rusztowaniach skupia się na zapewnianiu wysokiej porowatości oraz zapewnianiu możliwie korzystnego stosunku powierzchni do objętości, tworząc dużą liczbę mikroporów. W literaturze pojawiają się jednak doniesienia, że zastosowanie makroporów może korzystnie wpływać na proliferację komórek wzrastających na powierzchni rusztowania.

Cel i zakres pracy

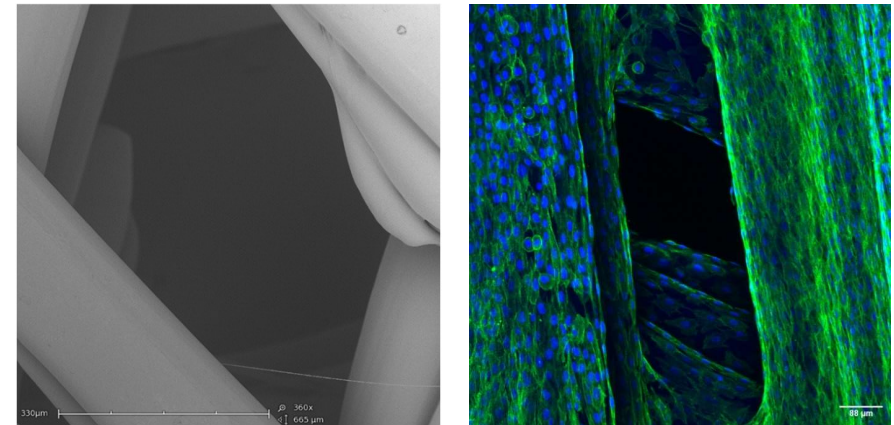
Celem pracy jest ocena właściwości i możliwości zastosowania rusztowań z polilaktydu otrzymanych technologią druku 3D do hodowli komórek zwierzęcych *in vitro*. Zakres pracy obejmował:

- Wydruk rusztowań o różnym rozmiarze porów i wysokości, zbadanie ich właściwości fizycznych i cytotoksyczności oraz obserwacja pod skaningowym mikroskopem elektronowym (SEM),
- Przeprowadzenie hodowli komórek MG-63 na scaffoldach, oznaczenie ilości białka i wizualizacja hodowli na skaningowym laserowym mikroskopie konfokalnym (CLSM).

Część doświadczalna

Wydrukowano dziewięć rodzajów modeli we wszystkich kombinacjach wielkości porów (400/600/800 μm) oraz wysokości (1,30/3,70/6,10 mm). Wyznaczono gęstość, masę, powierzchnię, objętość i porowatość wydrukowanych scaffoldów.

Zbadano cytotoksyczność materiału. Zbadano powierzchnię rusztowań za pomocą SEM. Założono hodowlę komórek MG-63, przeprowadzono pasaż, a następnie przeprowadzono 7-dniową hodowlę na wydrukowanych modelach. Przeprowadzono również oznaczenie ilości białka w scaffoldach, które miały 7-dniowy kontakt z pożywką, ale nie miały kontaktu z komórkami. Wybrane rusztowania po 7-dniowej hodowli komórek MG-63 zwizualizowano pod mikroskopem konfokalnym.



Rys. 1 Zdjęcia rusztowania o rozmiarze porów 400 μm po wydrukowaniu (po lewej, SEM) i po przeprowadzeniu hodowli na rusztowaniu (po prawej, CLSM)

Wnioski

Mimo początkowych trudności z wadliwymi otrzymanymi rusztowaniami, ustalono parametry, dla których możliwe było wydrukowanie modeli dobrej jakości. Udało się ustalić wybrane parametry fizyczne modeli. Masa wydruków okazała się o 3-10% niższa od oczekiwanej, a ich rzeczywista porowatość wynosiła 0,202-0,324. Względna żywotność komórek L929 po 24-godzinnej hodowli wyniosła 77%, więc materiał został uznany za biokompatybilny. Stwierdzono bardzo słabą chropowatość powierzchni scaffoldów i liczne niedoskonałości wydruku. Ilość białka w przeliczeniu na powierzchnię rusztowania rosła wraz ze wzrostem wysokości oraz wielkości porów. Niestety uzyskano wysokie wartości odchylenia standardowego, co sugeruje konieczność zebrania większej ilości danych doświadczalnych w przyszłości. Dowiedziono, że rusztowania adsorbują białka obecne w pożywce także bez udziału komórek. Stwierdzono obecność komórek we wszystkich widocznych warstwach rusztowań, a także w dołkach płytki hodowlanej.