

STRESZCZENIE

Cytoszkieleł komórki to dynamiczna struktura składająca się z trzech głównych sieci włókien, spośród których najlepiej zbadane są mikrofilamenty (filamenty aktynowe, AFs – actin filaments) i mikrotubule (MTs – microtubules). Trzecim rodzajem sieci współpracującej z AFs i MTs są filamenty pośrednie (IFs – intermediate filaments), obejmujące różne białka w zależności od typu komórki. Filamentem pośrednim obecnym w komórkach fibroblastów embrionalnych myszy (MEF – mouse embryonic fibroblasts) jest wimentyna. Komórki MEF są cennym materiałem w wielu badaniach skupiających się na: różnicowaniu komórek, celowaniu genowym, toksykologii i badaniach leków, procesie gojenia ran, czy też na badaniach nad cyklem komórkowym.

Filamenty pośrednie wimentyny (VIFs – vimentin intermediate filaments) są znane przede wszystkim z utrzymywania integralności komórki i jej ochrony przed zewnętrznym stresem mechanicznym. Niemniej jednak VIFs są strukturami o wysokiej dynamice, które zgodnie z doniesieniami zmieniają swoją architekturę w określonych warunkach (na przykład w różnych etapach adhezji). Zaangażowanie wimentyny w przekazywanie różnych sygnałów z zewnątrz komórki do obszarów otoczki jądrowej jest obecnie oczywiste, ale niewiele wiadomo na temat dokładnych mechanizmów tych szlaków sygnalizacyjnych i konsekwencji występujących w pojedynczej komórce, tkance lub ostatecznie całym organizmie.

Zważywszy, że rola wimentyny w przekazywaniu sygnałów z zewnątrz do wnętrza komórki może zależeć od mikrośrodowiska, w pierwszych etapach badań uwzględniono bodźce mechaniczne, tj. zastosowanie różnych podłoży do hodowli komórkowej. Substraty różniły się pod względem materiału pochodzenia, mikrostruktury i cech fizykochemicznych, co pozwoliło na obserwację zarówno zachowania komórki jako całości, jak i jej wewnętrznych elementów cytoszkieletu.

Wybór podłoży został również dokładnie przeanalizowany i skierowany ku materiałom zrównoważonym, bezpiecznym dla pacjenta, a jednocześnie nie szkodzącym środowisku. Komórki MEF były zatem hodowane na matrycach wykonanych z materiałów o wysokim potencjale zastosowania w inżynierii tkankowej, a mianowicie: polihydroksyoktanie (P(3HO)), polilaktydzie (PLA). Podłoże szklane zostało użyte dla referencji. Obydwa te polimery mają doskonałą biokompatybilność, a ich komponenty mogą być pozyskiwane ze źródeł pochodzenia naturalnego. Metody ich produkcji są dość zróżnicowane. PLA, który można uzyskać z organicznych źródeł, takich jak serwatka, odtłuszczone mleko, skrobia kukurydziana czy celuloza trzciny cukrowej, jest ostatecznie syntetyzowany w procesie polikondensacji lub otwarcia pierścienia polimeryzacji (ROP). Z kolei P(3HO) jest produkowany przez bakterie jako ich materiał zapasowy w postaci granulek wewnątrzkomórkowych, nierozpuszczalnych w wodzie. Polimer jest następnie zbierany, oczyszczany i gotowy do dalszej obróbki, co otwiera nowe możliwości produkcji w pełni naturalnych polimerów bez szkody dla środowiska. Oba wybrane polimery są aktywnie stosowane w medycynie (PLA) i obecnie badane pod kątem możliwości zastosowania, np. jako matryce do gojenia ran. Udowodniono, że posiadają one cechy wpływające na morfologię komórek i współzależności między elementami cytoszkieletu. Dlatego też tematem niniejszej pracy jest analiza wpływu PLA i P(3HO) na cytoszkieleł wimentyny w powiązaniu do zachowania komórki i mechanotransdukcji sygnałów z zewnątrz komórki do obszaru otoczki jądrowej.