

# NANOVLAKNA ZA DOSTAVO UČINKOVIN IN TKIVNO INŽENIRSTVO

## NANOFIBERS FOR DRUG DELIVERY AND TISSUE ENGINEERING

AVTORJI / AUTHORS:

Anže Zidar, mag. farm.

prof. dr. Julijana Kristl, mag. farm.

izr. prof. dr. Alenka Zvonar Pobirk, mag. farm.

*Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,  
Katedra za farmacevtsko tehnologijo,  
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: alenka.zvonar-pobirk@ffa.uni-lj.si

## 1 UVOD

Na področju zdravil se v zadnjem času pojavlja vse več naprednih dostavnih sistemov, ki pogosto omogočajo doseganje boljše biološke uporabnosti in nadzorovano sproščanje učinkovin ter imajo nekatere druge prednosti v primerjavi s tradicionalnimi farmacevtskimi oblikami. Med napredne dostavne sisteme sodijo poleg različnih nanodelcev tudi nanovlakna, ki so jih prvič opisali leta 1934, ko

### POVZETEK

Nanovlakna so edinstven inovativen sistem za dostavo zdravilnih učinkovin in za tkivno inženirstvo. V zadnjih letih so doživela izjemen razvoj, kar bo omogočilo izdelavo novodobnih zdravil in tkivnih nadomestkov za zdravljenje mnogih bolezni in poškodb. Nanovlakna so izdelana z elektrostatskim sukanjem iz naravnih in/ali sinteznih polimerov z različno sestavo in strukturo (enoslojna, večslojna in večplastna) ter izkazujejo edinstveno kombinacijo strukturnih, funkcionalnih in mehanskih lastnosti. Prilagodljivost nanovlaken je privedla do razvoja širokega nabora dostavnih sistemov za različne učinkovine in podpornih struktur za obnovo tkiv. V preglednem članku predstavljamo pripravo nanovlaken z elektrostatskim sukanjem, doseganje različnih profilov sproščanja vgrajenih majhnih molekul in biofarmaceutikov za zdravljenje ter obnovo tkiv. Polimerna nanovlakna v tkivnem inženirstvu podpirajo razmnoževanje in rast celic ter na ta način spodbudijo obnovo tkiva. Nanovlakna kljub mnogim prednostim predvsem zaradi nezadostnih podatkov o njihovi varnosti in omejitvah v industrijski proizvodnji še niso v klinični uporabi, jih pa lahko pričakujemo kmalu.

### KLJUČNE BESEDE:

dostavni sistemi, elektrostatsko sukanje, nanovlakna, polimer, sproščanje učinkovin, tkivno inženirstvo

### ABSTRACT

Nanofibers provide unique systems for drug delivery and tissue engineering. In recent years, major advances have been made towards the formulation of innovative medicines and tissue replacements for the treatment of disease and injury. Nanofibers are made by electrospinning of natural and/or synthetic polymers, and as such, they can have a range of different compositions and structures (e.g., monolayers, multilayers, 'sandwich'). They also show unique combinations of structural, functional and mechanical properties. This flexibility has led to the development of a wide assortment of nanofibers as drug-delivery systems and tissue-regeneration structures. This review covers the preparation of nanofibers by electrospinning and provides the details on their release kinetics for small

molecules and biopharmaceuticals, and their use for treatment and tissue engineering. Polymeric nanofibers in tissue engineering support proliferation and growth of cells, hence encouraging tissue regeneration. Despite the many advantages of nanofibers, they are not yet in clinical use. This is mainly due to insufficient data on their safety and limitations in their industrial production, but these aspects are expected to be overcome soon.

**KEY WORDS:**

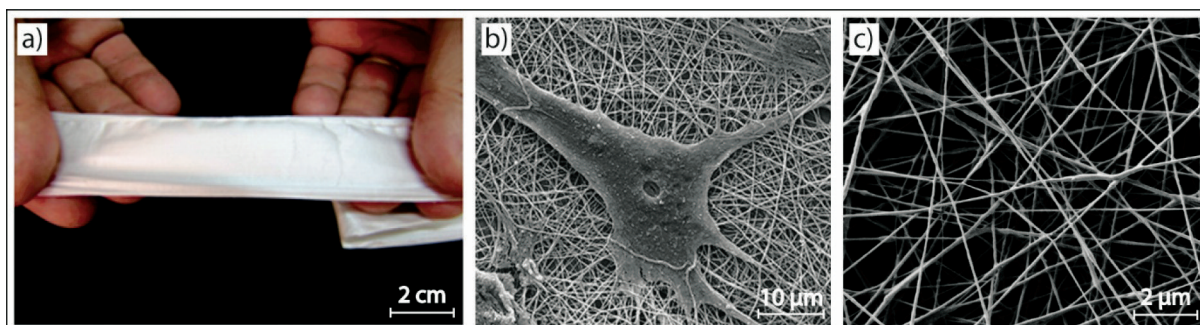
drug delivery, drug release, electrospinning, nanofibers, polymer, tissue engineering

so patentirali postopek njihove izdelave. Zaradi pomanjkanja ustrezne tehnologije je razvoj na tem področju v večji meri zastal do konca dvajsetega stoletja, ko so se možnosti za izdelavo in posledično tudi interes industrije močno povečali (1). Nanovlakna so zelo tanka in teoretično neomejeno dolga. Premer nanovlaken je največkrat od 10 do 1000 nm, imajo veliko specifično površino glede na maso in raznovrstne površinske lastnosti. Za njihovo uporabo so zelo pomembne ustrezne strukturne, funkcionalne in mehanske lastnosti, kot sta visok Youngov modul in posledično visoka natezna trdnost (2–4). Za biomedicinske namene danes raziskujejo nanovlakna za uporabo v dostavnih sistemih učinkovin in tkivnem inženirstvu, za izdelavo filtrov za filtracijo zraka in preprečevanje okužb (kot del obraznih mask), kot sestavine pametnih ovojnin za shranjevanje živil, sestavine gradbenih materialov, pa tudi v sistemih za pridobivanje,

prenos in shranjevanje električne energije (3, 5–7). Nanovlakna z zdravilno učinkovino lahko vgradimo v farmacevtske oblike z različnimi profili sproščanja učinkovin ali pa jih uporabimo pri tkivnem inženirstvu za spodbujanje obnove tkiv (8–10). V nanovlakna lahko vgrajujemo male molekule učinkovin, peptide in proteine, nukleinske kisline in celice (11, 12). V literaturi tako zasledimo raziskave o nanovlaknih kot dostavnih sistemih za učinkovine z raznovrstnim farmakološkim delovanjem (protivnetnim, protimikrobnim, antineoplastičnim, analgetičnim, antialergijskim ali kontracepcijskim učinkom). Ena izmed aktualnih tehnologij za inženirstvo in izdelavo nanovlaken je elektrostatsko sukanje, ki omogoča preoblikovanje izbrane koloidne raztopine pod vplivom elektrostatskih sil v tanek curek in nastanek nanovlaken z želenima debelino in morfologijo. V prispevku predstavljamo izdelavo in uporabo nanovlaken za dostavo zdravilnih učinkovin ali pripravo tkivnih nadomestkov (slika 1).

## 2 ELEKTROSTATSKO SUKANJE

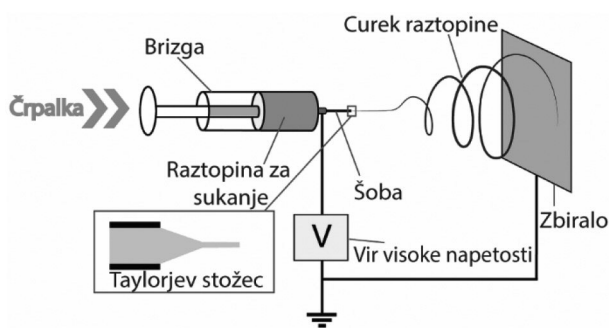
Najpomembnejša metoda za izdelavo nanovlaken za biomedicinske namene je elektrostatsko sukanje, ki omogoča izdelavo vlaken farmacevtske kakovosti (4, 13). To je proces, pri katerem se curek raztopine polimera zaradi močnega električnega polja na poti od šobe do zbirala podaljša, stanjša, posuši in posledično naloži na zbiralu (slika 2). Značilnosti slednjih so odvisne od lastnosti koloidne raztopine polimera (viskoznost, električna prevodnost in površinska



*Slika 1. Videz nanovlaken v različnih merilnih skalah: a) množica plasti nanovlaken tvori belo membrano, kot jo vidimo s prostim očesom; b) posnetek nekaj plasti nanovlaken s keratinocitom, pritrjenim na površini, v mikrometrskem območju; c) posnetek nanovlaken z vrstičnim elektronskim mikroskopom v nanometrskem območju.*

**Figure 1.** Appearance of nanofibers on different scales a) many layers of nanofibers form white membrane that is seen with a naked eye, b) a few layers of nanofibers with an attached keratinocyte in a micrometre scale c) nanofibers captured with an electron microscope in a nanometre scale.





Slika 2: Shema naprave za elektrostatsko sukanje z glavnimi elementi.  
Figure 2: Schematic representation of a nanofiber electrospinning set-up.

napetost), procesnih (velikost in oblika šobe, napetost in razdalja med šobo in zbiralom ter vrsta zbirala) in okoljskih parametrov (relativna zračna vlaga in temperatura) (3, 14, 15). Nanovlakna izdelamo bodisi iz koloidne raztopine ali taline enega ali več polimerov (t. i. kompozitna nanovlakna) bodisi iz taline lipidov (v tem primeru mora biti sistem za dovajanje tekočine skozi šobo opremljen z dodatno grelni enoto). V nadaljevanju bomo podrobneje prikazali elektrostatsko sukanje koloidne raztopine polimera (2, 4, 7, 9). Medtem ko je naprava za elektrostatsko sukanje na videz enostavna (slika 2), je izdelava nanovlaken zahteven in od številnih zgoraj omenjenih parametrov odvisen proces. Napravo sestavljajo rezervoar s šobo, vir visoke napetosti, črpalka za uravnavanje pretoka raztopine in zbiralna elektroda (zbiralno). Napetost med šobo in zbiralom je lahko enosmerna (stalna) ali izmenična (običajno nastavimo med 10 in 100 kV) (13). Poznamo tudi več izvedb šobe, ki je lahko enokanalna (enostavna), dvokanalna (koaksialna) ali večkanalna; iz nje izhaja eden ali več curkov hkrati. Prav tako so razpoložljiva različna zbirala (ravna ploskev, vrteč valj, mrežasto zbiralo). Vrsta zbirala vpliva na nastanek naključno ali vzporedno urejenih nanovlaken (3, 4). Elektrostatsko sukanje temelji na ionizaciji koloidne raztopine v električnem polju. Na izhodu šobe se nastajajoča kapljica pod vplivom tlaka, električne sile, površinske napetosti tekočine in njene viskoznosti oblikuje v t. i. Taylorjev stožec, ki se nadaljuje v vse tanjši polimerni curek. V prvi fazi gibanja potuje curek naravnost proti zbiralu in se medtem podaljšuje in tanjša. Ko se curek tanjša, se na površini povečuje gostota naboja in s tem odbojne sile, zaradi katerih se začne curek vrtinčiti proti zbiralu. To vodi še v nadaljnje tanjšanje curka in povečanje njegove specifične površine, kar še pospeši izhlapevanje topila. Proces izdelave se zaključi z naganjanjem posušenega nanovlakna na zbiralo (3, 4, 7).

Ena glavnih značilnosti elektrostatskega sukanja je možnost vgradnje najrazličnejših učinkovin v vlakna z namenom, da se jim izboljša biološka uporabnost, pospeši raztapljanje ali doseže nadzorovano sproščanje. Poleg tega je mogoča neprekinjena proizvodnja z nizko porabo energije, zaradi česar je lahko alternativa široko uporabljanemu zamrzovalnemu sušenju in sušenju z razprševanjem (16). Doslej je nizka stopnja proizvodnje laboratorijsko prilagojenih naprav omejevala industrijsko uporabo te tehnologije, a danes so na trgu že različne rešitve, razvite za razširjeno proizvodnjo vlaken s poudarkom na farmacevtskih izdelkih (12, 16).

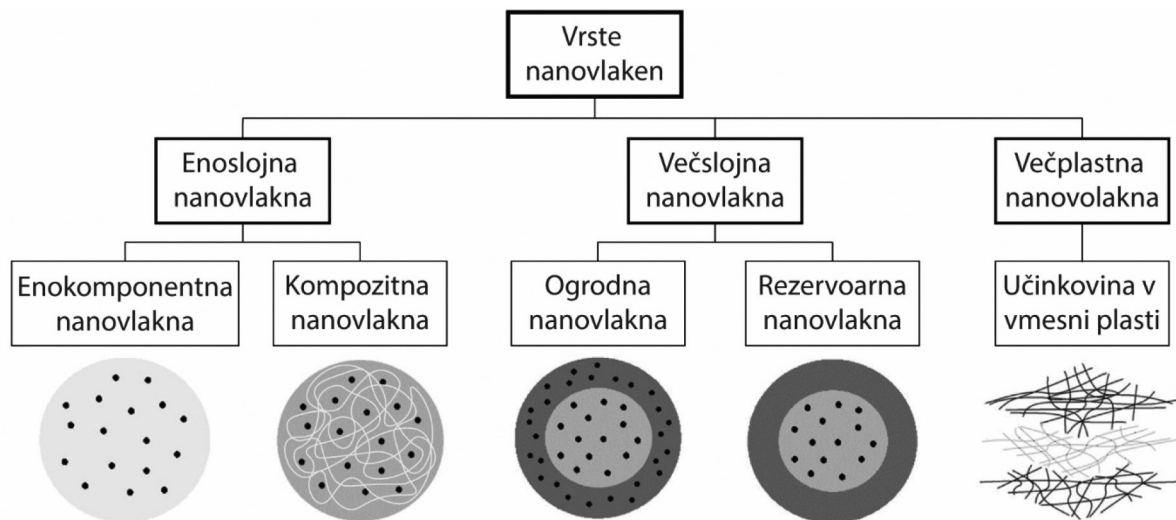
## 3 NANOVLAČNA KOT DOSTAVNI SISTEMI

### 3.1 VRSTE NANOVLAČEN

Glede na morfologijo in mesto vgradnje učinkovine ločimo tri glavne kategorije nanovlaken: enoslojna, večslojna ter večplastna nanovlakna (slika 3).

V **enoslojnih nanovlaknih** je učinkovina enakomerno razporejena po celotnem vlaknu, ki ga sestavlja en polimer (**enokomponentna vlakna**) ali mešanica več polimerov (**večkomponentna ali kompozitna nanovlakna**), ki zagotavljajo načrtovano sproščanje učinkovine, mehansko trdnost in elastičnost vlaken. Obnašanje enoslojnih nanovlaken v telesu je odvisno od topnosti polimera. Nanovlakna iz hidrofilnih polimerov se v bioloških tekočinah hitro raztopijo in omogočajo takojšnje sproščanje učinkovine. Pri nanovlaknih s podaljšanim sproščanjem pa je sproščanje učinkovine odvisno od erodiranja ali razgradnje uporabljenih polimerov v biološkem okolju oziroma difuzije učinkovine. Za izdelavo nanovlaken lahko uporabimo tudi mukoadhezivne polimere, ki omogočajo daljši stik s sluznico ali tkivom (4, 17).

**Večslojna nanovlakna** so zgrajena iz dveh ali več slojev (jedro in zunanji sloj/i) z učinkovino v enem ali več slojih (18). Izdelamo jih s pomočjo koaksialne šobe, ki ima več kanalov in omogoča nastanek več slojev hkrati. Pri takšnem načinu izdelave lahko za notranjo plast nanovlakna uporabimo tudi polimere, ki sami po sebi niso zmožni tvoriti nanovlaken, a s svojimi značilnostmi pomembno prispevajo k lastnostim izdelanih nanovlaken (npr. vpliv na stabilnost in profil sproščanja učinkovine). Glede na strukturo so večslojna nanovlakna lahko ogrodna ali rezervoarna. Pri **ogrodnih večslojnih** nanovlaknih nadzoruje sproščanje



Slika 3: Prečni prerez različnih vrst nanovlaken z vgrajeno učinkovino. Različni odtenki sive predstavljajo različne polimere oz. različne sloje/plasti, učinkovina pa je označena s črnimi pikami.

Figure 3: Cross section of different types of nanofibers with incorporated drugs. Different shades of grey represent different polymers or layers of nanofibers, and drug is represented by black dots.

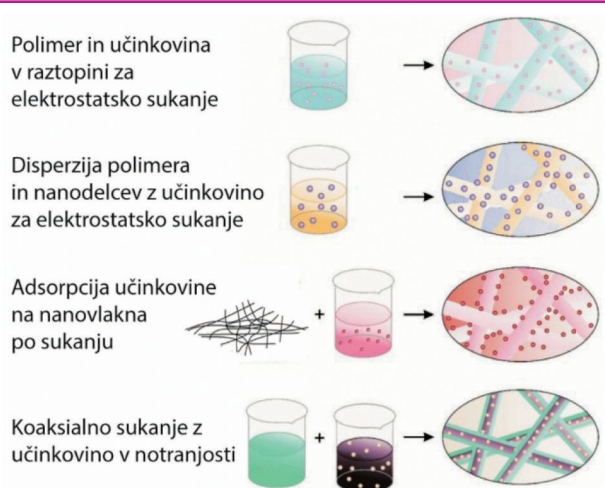
polimerno ogrodje, v katerem je učinkovina enakomerno porazdeljena. V odvisnosti od ogrodnega polimera lahko dosežemo takojšnje ali prirejeno sproščanje učinkovine. Z ustrezno kombinacijo polimerov lahko dosežemo dvojni profil sproščanja, pri čemer se učinkovina iz zunanega sloja sprosti takoj, iz notranjega pa počasneje (4, 19). Večslojna nanovlakna lahko oblikujemo tudi v obliki **rezervoarnih nanovlaken**, kjer zunanji sloj tvori prepustno pregrado, ki nadzoruje sproščanje učinkovine, vgrajene v notranjem sloju. Rezervoarni tip nanovlaken je primeren predvsem za podaljšano sproščanje učinkovin (4, 19, 20). **Večplastna nanovlakna** dobimo z zaporednim elektrostatskim sukanjem plasti raztopin polimera ali polimera z učinkovino na zbiralo. Pri tem nastane sistem, v katerem spodnja in zgornja plast nanovlaken predstavljata pregrado za sproščanje učinkovine, ki je vgrajena v sredinski plasti nanovlaken (t. i. »sendvič tip« nanovlaken). Za izdelavo tovrstnih sistemov so primerni predvsem nabrekajoči hidrofilni polimeri (21).

### 3.2 POLIMERI

Za izdelavo nanovlaken uporabljamo številne biokompatibilne naravne in sintezne polimere, ki se razlikujejo po vrsti, številu in ureditvi monomernih enot, ki določajo fizikalno-kemijske lastnosti (molekulska masa, polarnost, vodotopnost in prisotnosti različnih funkcionalnih skupin) (3). V preglednici 1 so zbrani najpomembnejši polimeri za oblikovanje različnih vrst nanovlaken.

### 3.3 VGRAJEVANJE UČINKOVIN

Učinkovino dodamo v raztopino polimera in jo tako neposredno vgradimo v nanovlakna med samim procesom elektrostatskega sukanja ali pa jo adsorbiramo na že oblikovana nanovlakna (slika 4) (8, 17). V obeh primerih je lahko učin-



Slika 4: Načini vgrajevanja učinkovine v nanovlakna. Barva raztopine pred sukanjem se ujema s slojem nanovlakna po sukanju. Barve predstavljajo različne polimere.

Figure 4: Different drug loading techniques in nanofibers. Colours of original dispersions correlate with nanofiber layers after electrospinning. Colours represent different polymers.

**Preglednica 1:** Pregled nanovlaken glede na kinetiko sproščanja in primeri polimerov za njihovo izdelavo.

**Table 1:** Summary of nanofibers with different release kinetics and polymers for their formulation.

Nanovlakna s takojšnjim sproščanjem	
Enokomponentna nanovlakna	<ul style="list-style-type: none"> <li>Sintezni polimeri: polietilenglikol (PEG) (22), polivinilalkohol (PVA) (23), polimlečna kislina (PLA), polivinilpirolidon (PVP) (24), poliakrilati, Soluplus® (polivinil kaprolaktam-polivinil acetat-polietilenglikol razvejan kopolimer) (8, 23, 24)</li> <li>Naravni in polysintezni polimeri: hitosan, alginat, dekstran, kolagen, želatina, fibroin (protein svile) (25)</li> </ul>
Večkomponentna nanovlakna	<ul style="list-style-type: none"> <li>Soluplus® in PVA; poloksameri in PEG; alginat in PEG (15); hitosan in PEG (26); PVP in PVA (27)</li> </ul>
Nanovlakna s podaljšanim sproščanjem	
Enoslojna ogrodna nanovlakna	<ul style="list-style-type: none"> <li>Polikaprolakton (PCL) (28), hidroksipropilmetilceluloza, kopolimer mlečne in glikolne kisline (PLGA) (3)</li> <li>Polikaprolakton in želatina, polikaprolakton in hitosan, PVA in etilhidroksietilceluloza, natrijev alginat in gelan (8)</li> </ul>
Večslojna ogrodna nanovlakna	<ul style="list-style-type: none"> <li>Polikaprolakton (zunanji sloj) in PVA (jedro) (20), PMMA (zunanji sloj) in PVA (jedro) (18); PLGA (zunanji sloj) in PVP (jedro) (19)</li> </ul>
Večslojna rezervoarna nanovlakna	<ul style="list-style-type: none"> <li>Polimlečna kislina (PLA) in tiohitosan (zunanji sloj) in PEG (jedro) (8, 29)</li> <li>Glicerol monostearat (zunanji sloj) in etilceluloza (jedro) (30)</li> </ul>
Večplastna nanovlakna	<ul style="list-style-type: none"> <li>Želatina (zunanji plasti) in želatina z učinkovino (notranja plast) (21)</li> </ul>
Nanovlakna z večfaznim sproščanjem	
Večslojna ogrodna nanovlakna	<ul style="list-style-type: none"> <li>PEG (zunanji sloj) in PLA (jedro) (31)</li> </ul>
Nanovlakna z zakasnelim sproščanjem	
Temperaturno odzivna nanovlakna	<ul style="list-style-type: none"> <li>Poli(N-izopropilakrilamid) in etilceluloza (32)</li> </ul>
pH odzivna nanovlakna	<ul style="list-style-type: none"> <li>Eudragit RS100, Eudragit S100 (derivata polimetilakrilne kisline) (33)</li> </ul>

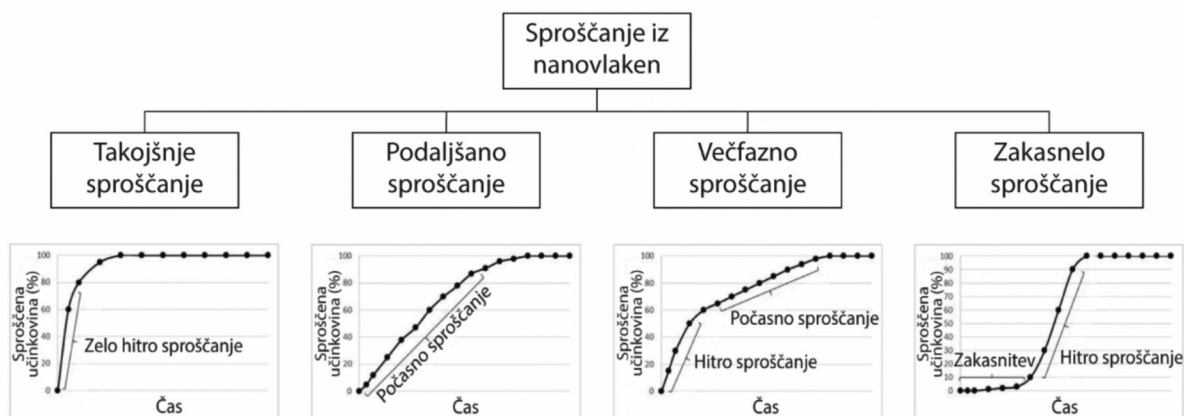
kovina v tekoči disperziji (raztopina, emulzija ali suspenzija) raztopljena, emulgirana ali suspendirana. Učinkovino (samo ali vgrajeno v nanodelce) lahko tudi adsorbiramo na nanovlakna (slika 4). Z adsorpcijo specifičnih ligandov (npr. protitelesa, folna kislina) lahko povečamo funkcionalnost nanovlaken. V nanovlakna lahko vgrajujemo male molekule učinkovin, peptide in proteine, nukleinske kisline in celice (11, 12, 34). Aktualno je vgrajevanje celic in bakterijskih spor v nanovlakna za namen obnove in podpore mikrobiote na mestu delovanja (34). Nanovlakna izdelujemo z namenom doseganja lokalnega ali systemskega delovanja vgrajene učinkovine (4).

### 3.4 PROFILI SPROŠČANJA UČINKOVIN IZ NANOVLAKEN

Poleg morfoloških lastnosti je zelo pomembna lastnost nanovlaken tudi sposobnost dostave učinkovine z izbrano

kinetiko sproščanja. Sproščanje učinkovin iz nanovlaken je lahko takojšnje ali prirejeno (slika 5), kar je odvisno od vrste polimera oz. njihovih zmesi ter od strukture nanovlaken (4). Primeri polimerov in struktur nanovlaken za doseganje določene kinetike sproščanja so navedeni v preglednici 1.

Iz nanovlaken s **takojšnjim sproščanjem** se učinkovina sprosti zelo hitro. Pri učinkovinah z dobro vodotopnostjo in hitro absorpcijo lahko s takšnimi nanovlakni hitro dosežemo terapevtski učinek (npr. v nekaj minutah). K hitremu sproščanju učinkovin pomembno prispeva tudi velika specifična površina nanovlaken. Ob ustrezni izbiri polimera lahko takojšnje sproščanje dosežemo z enoslojnimi ali večslojnimi nanovlakni z učinkovino le v zunanjem sloju (8, 28). Pri slabo vodotopnih učinkovinah je izziv večji; hitrost raztapljanja slednjih lahko med drugim izboljšamo s pravo stabilne amorfne oblike učinkovine v nanovlaknu (11). Za pripravo slednjih je pomembno, da za raztapljanje



Slika 5: Različni profili sproščanja učinkovine iz nanovlaknen: neprirejeno oz. takojšnje sproščanje in prirejeno (podaljšano, večfazno in zakasnelo) sproščanje.

Figure 5: Different profiles of drug release from nanofibers: immediate release and modified release (prolonged release, multiphase release and delayed release).

polimera in učinkovine izberemo topilo, ki zelo hitro in v celoti izhlapi. Sam proces elektrostatskega sukanja mora biti dovolj hiter, da preprečimo kristalizacijo učinkovine med oblikovanjem nanovlakna (8).

Farmacevtske oblike s **prirejenim sproščanjem**, ki vključujejo podaljšano, večfazno in zakasnelo sproščanje, se od oblik s takojšnjim sproščanjem razlikujejo v hitrosti in/ali mestu sproščanja učinkovine. V primerjavi s takojšnjim sproščanjem je za tovrstne sisteme značilno počasnejše sproščanje učinkovine ali z določenim časovnim zamikom, možno pa je tudi podaljšano sproščanje učinkovine skozi daljše časovno obdobje. Ti sistemi so primerni za nadzorovano dostavo učinkovine na izbrano mesto aplikacije (4, 8).

Za **podaljšano sproščanje** je značilna počasna kinetika sproščanja učinkovine skozi določen čas (več dni, tednov ali mesecev), bolj konstantna koncentracija učinkovine v krvi in s tem povezana manjša možnost neželenih učinkov (8). Primerna so predvsem enoslojna nanovlakna iz hidrofobnih polimerov, pa tudi rezervoarna ter večplastna nanovlakna (slika 3). Torej je poleg strukture nanovlaknen bistvena tudi izbira primerne polimera (preglednica 1). Sproščanje učinkovine iz takšnih nanovlaknen je nadzorovano z difuzijo učinkovine skozi polimerno ogrodje (PCL), erozijo (hitosan) ali razgradnjo polimernega ogrodja (PLGA) (4, 8, 35).

Za farmacevtske oblike z **večfaznim sproščanjem** je značilno sproščanje učinkovine z različnimi kinetikami sproščanja v različnih časovnih intervalih. To najlažje dosežemo z večslojnimi nanovlakni, pri katerih zunanji sloj

zagotovi takojšnje sproščanje, notranji pa zakasnelo ali podaljšano sproščanje. Tudi v tem primeru velja, da je poleg strukture nanovlaknen bistvena izbira primernih polimerov, ki omogočajo različne kinetike sproščanja (31).

**Zakasnelo sproščanje** lahko dosežemo z večslojnimi nanovlakni ali z nanovlakni iz polimerov, odzivnih na dražljaje (t. i. inteligentni polimeri). Slednji vsebujejo funkcionalne skupine, ki se odzivajo na določene dejavnike v okolju (npr. na majhne spremembe vrednosti temperature, pH, ionske moči ali elektromagnetnega polja) in na ta način spreminjajo lastnosti polimera. S tem uravnavajo sproščanje vgrajene učinkovine iz nanovlaknen. Takšni polimeri so zelo aktualni za načrtovanje dostavnih sistemov, namenjenih ciljni dostavi učinkovine in sproščanju na točno določenem mestu v prebavnem traktu ali drugje v telesu (4, 8, 32).

**Temperaturno odzivna** nanovlakna se spremenijo in sprostijo učinkovino ob spremembi temperature zaradi segrevanja pod vplivom telesne temperature ali pa zaradi umetnega povišanja s segrevanjem z infrardečo svetlobo (32). **pH odzivna nanovlakna** uporabljamo za dostavo učinkovine na določeno mesto v prebavnem traktu. Primer tovrstnega sistema so gastrozistentna nanovlakna, ki sprostijo učinkovino v dvanajstniku, ter nanovlakna, ki sprostijo učinkovino na začetku debelega črevesja (33). Velika prednost nanovlaknen, ki sicer predstavljajo relativno novo obliko dostavnih sistemov, je njihova vsestranska uporabnost. Z izbiro ustreznih polimerov, strukture nanovlaknen ter parametrov elektrostatskega sukanja lahko dosežemo praktično vse uveljavljene kinetike sproščanja učin-



kovine. Omogočajo tudi vgradnjo učinkovine v amorfni obliki in njeno stabilnost skozi daljše časovno obdobje. Končne farmacevtske oblike za nanovlakna so tablete, kapsule in orodisperzibilne farmacevtske oblike (nanovlakna pred polnjenjem ali stiskanjem zmeljejo) ter vsadki in zdravilni obliži (4, 8, 12).

## 4 TKIVNO INŽENIRSTVO

Tktivno inženirstvo je del regenerativne medicine, ki celicam zagotavlja umetno zunajcelično ogrodje (*scaffold*). Omogoča pritrjevanje, naseljevanje, diferenciacijo, rast in razmnoževanje celic. Tako pripravljen tkivni nadomestek prenesemo na poškodovano tkivo, kjer spodbuja njegovo obnovo. Tktivni nadomestek sestavljajo ogrodje iz polimernih nanovlaken, tkivno specifične celice in rastni dejavniki ali učinkovine (9). Za izdelavo takšnih nanovlaken pogosto uporabljamo naravno pridobljene polimere zaradi dobre tkivne biokompatibilnosti, podobnosti z zunajceličnim ogrodjem in možnostjo pristinih interakcij s celicami (6). Tudi sintezne polimere lahko zasnujemo tako, da posnemajo zunajcelično ogrodje in dostavijo ter sproščajo rastne dejavnike in sorodne spojine kot odziv na fiziološke signale. S tem posnemajo naravni proces celjenja, spodbujanja obnove tkiva in zmanjšujejo brazgotinjenje. Tktivni nadomestki služijo kot opora za razrast celic in obnovo tkiva. Nadomestki morajo posnemati specifične biokemijske, strukturne in mehanske lastnosti biološkega tkiva, a ne smejo povzročati negativnega imunskega odgovora (36, 37). Nanovlakna morajo zagotavljati podporo in spodbujati naseljevanje ter razmnoževanje celic toliko časa, dokler se tkivo ne obnovi. Poleg intrinzičnih lastnosti nanovlaken pa lahko obnovo tkiva izboljšamo z vgrajevanjem rastnih dejavnikov v nanovlakna, ki spodbujajo deljenje celic in njihovo naseljevanje na območje poškodbe (38). Z vidika odstranitve tkivnega nadomestka z mesta obnove tkiva je pri načrtovanju zelo pomembno, da se hitrost razgradnje nanovlaken ujema s hitrostjo obnove tkiva (39). Raziskave kažejo boljše rezultate tkivnih nadomestkov iz naravnih materialov (40). Na možnost infiltracije celic in njihovo razrast imata velik vpliv debelina nanovlaken in velikost por, zato je priprava tridimenzionalne zgradbe podpornega ogrodja zelo pomembna. S pripravo slednjega z elektrostatskim sukanjem lahko dosežemo primerne strukturne lastnosti in hkrati nadzorovano sproščanje vgrajene učin-

kovine. Nanovlakna kot tkivni nadomestki so v obliki različno velikih poroznih membran ali vsadkov in služijo kot podlaga za gojenje tkivnih celic in omogočajo njihov prenos z gojišča v kliniko in samo aplikacijo (41, 42).

### 4.1 KOŽA IN CELJENJE RAN

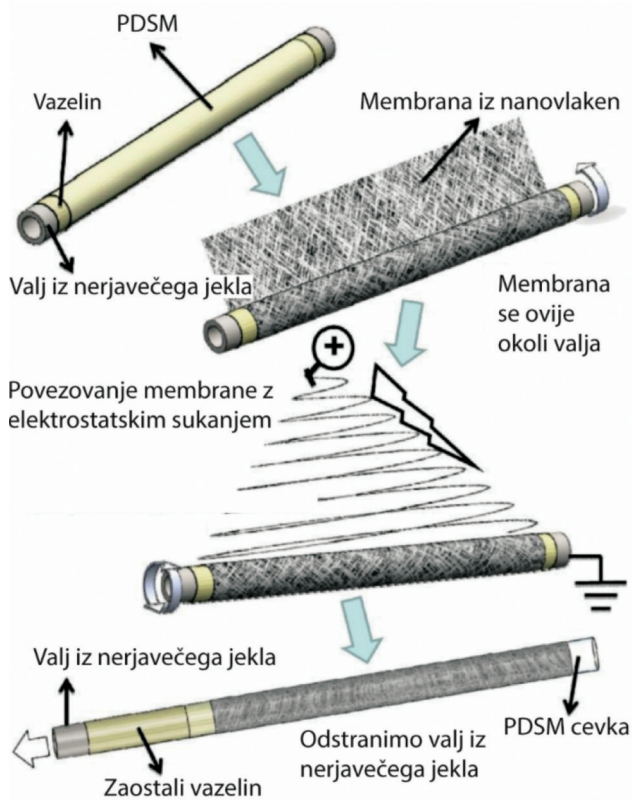
Tktivni nadomestki sodelujejo pri celjenju ran in nadomeščajo fiziološke funkcije kože. Omogočati morajo dostop kisika ter spodbujati keratinocite k naseljevanju in razmnoževanju ter strukturiranju posameznih kožnih plasti. Po drugi strani pa imajo tudi zaščitno vlogo, saj preprečujejo vdor mikroorganizmov v poškodovano tkivo. Glavne celice, ki sodelujejo pri obnovi kože, so keratinociti. Na membrano naselimo keratinocite, ki se pritrdijo in razmnožujejo na nanovlaknih. Če tkivni nadomestek s keratinociti dodamo na poškodovani del kože, ti pospešijo njeno obnovo s sproščanjem rastnih dejavnikov. Podporna membrana iz nanovlaken keratinocitom nudi tudi ustrezno zaščito pred zunanjim okoljem. Polimeri, ki jih uporabljamo za izdelavo kožnih tkivnih nadomestkov na osnovi nanovlaken, so poliuretani, kopolimer mlečne in glikolne kisline in derivati ter polikaprolakton (6, 9, 38, 43).

### 4.2 PODPORNNA MEMBRANA ŽILNE STENE

Žile so sestavljene iz več tkivnih plasti. Takšni morajo biti tudi žilni nadomestki na osnovi nanovlaken, saj želimo, da je obnovljena žila primerljiva ostalim. Poleg strukturne podobnosti z žilno steno mora žilni nadomestek vzdržati tudi pulziranje krvnega tlaka zaradi bitja srca. Shema izdelave podporne membrane žilne stene je prikazana na sliki 6. Podporna membrana iz nanovlaken za žilno steno je sestavljena iz več plasti, ki vključujejo različne kombinacije polimerov glede na funkcijo plasti: protein svile fibroin, želatino, kolagen, polikaprolakton, polimlečno kislino in poliuretane (9, 43).

### 4.3 DRUGE MOŽNOSTI UPORABE

Nanovlakna uporabljamo tudi za obnovo in delno nadomestitev funkcije v kostnem tkivu, hrustancu, ligamentih, tetivah in za gojenje perifernih nevronov. Za nadomestitev oporne funkcije kostnega tkiva morajo imeti tkivni nadomestki ustrezno mehansko trdnost, kar bolnikom omogoča



Slika 6: Prikaz izdelave podporne membrane za žilno steno; PDSM (polidimetilsiloksan).

Figure 6: Illustrative scheme of preparation method for supportive tubular scaffold membrane; PDSM (polydimethylsiloxane).

povrnitev fiziološke funkcije. Glavne celice za obnovo kostnega tkiva so osteoblasti in hondrociti, ki jih nasadimo na podporno ogrodje iz nanovlaken. Ogrodje mora omogočati infiltracijo hondrocitov in osteoblastov, ki po določenem času nadomestijo organski del kostnine in spodbujajo kalcifikacijo kosti (26, 41, 44). Za izdelavo kostnih vsadkov uporabljamo kombinacije biološko razgradljivih naravnih in sinteznih polimerov, najpogosteje polimlečno kislino, kopolimer mlečne in glikolne kisline, polikaprolakton in kolagen (9).

Nevronov trenutno še ne moremo nadomestiti z nanovlakni, lahko pa izdelamo podlago za njihovo rast in obnovo. Podlaga iz nanovlaken mora omogočati rast celic v isto smer, kot so nevroni usmerjeni v perifernem živcu. Za to uporabljamo vzporedno urejena nanovlakna iz polianilina in polikaprolaktona, izdelana z elektrostatskim sukanjem na zbiralo v obliki vrtečega valja. Za spodbujanje rasti vgradimo v nanovlakna nevrotrfične in rastne dejavnike glia celic, ki usmerjajo rast in pospešujejo delitev (9).

Za obnovo hrustanca potrebujemo prozen, mehansko stabilen vsadek, ki omogoča infiltracijo in pritrjevanje hondrocitov (45). Za obnovo ligamentov in tetiv so potrebne podobne lastnosti, vendar je treba zagotoviti tudi vzporedno usmerjenost nanovlaken, ki zagotavlja dobro natezno trdnost. Nanovlakna iz polikaprolaktona, kolagena tipa 2 in hitosana ustrezajo lastnostim za obnovo navedenih tkiv (9).

## 5 POGLED V PRIHODNOST

Kljub velikim prednostim, ki jih prinašajo nanovlakna, jih na evropskem in ameriškem trgu regulatorni organi še niso odobrili za uporabo v zdravilih. Prve materiale za nanovlakni je odobrila ameriška Agencija za hrano in zdravila (FDA) za zobne zalivke (46). Zaradi nanovelikosti so regulatorni organi previdni pri odobritvi nanomaterialov, saj ima vsak material nanovelikosti specifične lastnosti, zato je treba izvesti več biokompatibilnostnih raziskav kot za delce iz enakega materiala večjih velikosti. Sestava in tehnološki postopek odločilno vplivata na fizikalno-kemijske lastnosti nanovlaken in sproščanje učinkovine v primeru dostavnega sistema, poleg tega v primeru tkivnih nadomestkov tudi na strukturne in mehanske lastnosti. Razvoj in izdelava kompozitnih nanovlaken, ki temeljijo na združevanju različnih polimerov, obetata zelo natančno prilagajanje lastnosti nanovlaken določenemu namenu uporabe in širita nabor dostavnih sistemov in tkivnih nadomestkov za zdravljenje raznih bolezni. Kljub velikemu znanstvenemu napredku na tem področju pa razvoj industrijske proizvodnje takšnih dostavnih sistemov le počasi napreduje. Potrebno je še več kliničnih raziskav in razvoj novih pristopov za izdelavo in vrednotenje dostavnih sistemov in vsadkov iz nanovlaken. V bližnji prihodnosti pričakujemo uspešnejši prenos izsledkov iz raziskovalnih in razvojnih laboratorijev v proizvodnjo in klinično uporabo.

## 6 ZAHVALA

Avtorji se zahvaljujemo Javni agenciji za raziskovalno dejavnost RS za finančno podporo programa P1-0189 in projekta J1-9194.





# 7 LITERATURA

1. Barhoum A, Bechelany M, Makhoulf ASH. *Handbook of Nanofibers*: Springer International Publishing; 2019. 1170 p.
2. Rošic R, Pelipenko J, Kristl J, Kocbek P, Bešter-Rogač M, Baumgartner S. Physical characteristics of poly (vinyl alcohol) solutions in relation to electrospun nanofiber formation. *Eur Polym J*. 2013;49(2):290-8.
3. Barhoum A, Pal K, Rahier H, Uludag H, Kim IS, Bechelany M. Nanofibers as new-generation materials: From spinning and nano-spinning fabrication techniques to emerging applications. *Appl Mater Today*. 2019;17:1-35.
4. Pelipenko J, Kocbek P, Kristl J. Critical attributes of nanofibers: Preparation, drug loading, and tissue regeneration. *Int J Pharm*. 2015;484(1-2):57-74.
5. Szentivanyi A, Chakradeo T, Zernetsch H, Glasmacher B. Electrospun cellular microenvironments: Understanding controlled release and scaffold structure. *Adv Drug Del Rev*. 2011;63(4):209-20.
6. Pelipenko J, Kocbek P, Govedarica B, Rošic R, Baumgartner S, Kristl J. The topography of electrospun nanofibers and its impact on the growth and mobility of keratinocytes. *Eur J Pharm Biopharm*. 2013;84(2):401-11.
7. Wei Q, Tao D, Xu Y. *Functional Nanofibers and Their Applications - 1. Nanofibers: Principles and Manufacture*: Woodhead Publishing Limited; 2012. 1-21 p.
8. Kajdič S, Planinšek O, Gašperlin M, Kocbek P. Electrospun nanofibers for customized drug-delivery systems. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2019;51:672-81.
9. Rodriguez IA, McCool JM, Bowlin GL. *Functional nanofibers for tissue engineering applications*: Woodhead Publishing Limited; 2012. 171-96 p.
10. Zupančič Š, Casula L, Rijavec T, Lapanje A, Luštrik M, Fadda AM, et al. Sustained release of antimicrobials from double-layer nanofiber mats for local treatment of periodontal disease, evaluated using a new micro flow-through apparatus. *Journal of Controlled Release*. 2019;316:223-35.
11. Yu DG, Li JJ, Williams GR, Zhao M. Electrospun amorphous solid dispersions of poorly water-soluble drugs: A review. *Journal of Controlled Release*. 2018;292:91-110.
12. Casian T, Borbás E, Ilyés K, Démuth B, Farkas A, Rapi Z, et al. Electrospun amorphous solid dispersions of meloxicam: Influence of polymer type and downstream processing to orodispersible dosage forms. *Int J Pharm*. 2019;569:118593.
13. Farkas B, Balogh A, Cselkó R, Molnár K, Farkas A, Borbás E, et al. Corona alternating current electrospinning: A combined approach for increasing the productivity of electrospinning. *Int J Pharm*. 2019;561:219-27.
14. Rošic R, Pelipenko J, Kristl J, Kocbek P, Baumgartner S. Properties, engineering and applications of polymeric nanofibers: Current research and future advances. *Chem Biochem Eng Q*. 2012;26(4):417-25.
15. Mirtič J, Balažič H, Zupančič Š, Kristl J. Effect of solution composition variables on electrospun alginate nanofibers: Response surface analysis. *Polymers*. 2019;11(4).
16. Vass P, Szabó E, Domokos A, Hirsch E, Galata D, Farkas B, et al. Scale-up of electrospinning technology: Applications in the pharmaceutical industry. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*. 2020;12(4):e1611.
17. Wei Q, Wei A. *Functional nanofibers for drug delivery applications*: Woodhead Publishing Limited; 2012. 153-70 p.
18. Zupančič Š, Sinha-Ray S, Sinha-Ray S, Kristl J, Yarin AL. Controlled Release of Ciprofloxacin from Core-Shell Nanofibers with Monolithic or Blended Core. *Mol Pharm*. 2016;13(4):1393-404.
19. He P, Zhong Q, Ge Y, Guo Z, Tian J, Zhou Y, et al. Dual drug loaded coaxial electrospun PLGA/PVP fiber for guided tissue regeneration under control of infection. *Mater Sci Eng, C*. 2018;90:549-56.
20. Song W, Seta J, Chen L, Bergum C, Zhou Z, Kanneganti P, et al. Doxycycline-loaded coaxial nanofiber coating of titanium implants enhances osseointegration and inhibits *Staphylococcus aureus* infection. *Biomed Mater*. 2017;12(4):045008.
21. Laha A, Sharma GS, Majumdar S. Sustained drug release from multi-layered sequentially crosslinked electrospun gelatin nanofiber mesh. *Mater Sci Eng, C*. 2017;76:782-6.
22. Krstić M, Radojević M, Stojanović D, Radojević V, Uskoković P, Ibrić S. Formulation and characterization of nanofibers and films with carvedilol prepared by electrospinning and solution casting method. *Eur J Pharm Sci*. 2017;101:160-6.
23. Nam S, Lee J-J, Lee SY, Jeong JY, Kang W-S, Cho H-J. Angelica gigas Nakai extract-loaded fast-dissolving nanofiber based on poly(vinyl alcohol) and Soluplus for oral cancer therapy. *Int J Pharm*. 2017;526(1):225-34.
24. Poller B, Strachan C, Broadbent R, Walker GF. A minitablet formulation made from electrospun nanofibers. *Eur J Pharm Biopharm*. 2017;114:213-20.
25. Lancina MG, 3rd, Shankar RK, Yang H. Chitosan nanofibers for transbuccal insulin delivery. *J Biomed Mater Res A*. 2017;105(5):1252-9.
26. Singh YP, Dasgupta S, Nayar S, Bhaskar R. Optimization of electrospinning process & parameters for producing defect-free chitosan/polyethylene oxide nanofibers for bone tissue engineering. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2020;31(6):781-803.
27. Sebe I, Szabó B, Nagy ZK, Szabó D, Zsidai L, Kocsis B, et al. Polymer structure and antimicrobial activity of polyvinylpyrrolidone-based iodine nanofibers prepared with high-speed rotary spinning technique. *Int J Pharm*. 2013;458(1):99-103.
28. Potrč T, Baumgartner S, Roškar R, Planinšek O, Lavrič Z, Kristl J, et al. Electrospun polycaprolactone nanofibers as a potential oromucosal delivery system for poorly water-soluble drugs. *Eur J Pharm Sci*. 2015;75:101-13.
29. Meng J, Agrahari V, Ezoulin MJ, Zhang C, Purohit SS, Molteni A, et al. Tenofovir Containing Thiolated Chitosan Core/Shell Nanofibers: In Vitro and in Vivo Evaluations. *Mol Pharm*. 2016;13(12):4129-40.
30. Hai T, Wan X, Yu D-G, Wang K, Yang Y, Liu Z-P. Electrospun lipid-coated medicated nanocomposites for an improved drug sustained-release profile. *Mater Des*. 2019;162:70-9.
31. Kuang G, Zhang Z, Liu S, Zhou D, Lu X, Jing X, et al. Biphasic drug release from electrospun polyblend nanofibers for optimized local cancer treatment. *Biomaterials Science*. 2018;6(2):324-31.
32. Elashnikov R, Slepčička P, Rimpelova S, Ulbrich P, Švorčík V, Lyutakov O. Temperature-responsive PLLA/PNIPAM nanofibers for switchable release. *Mater Sci Eng, C*. 2017;72:293-300.
33. Akhgari A, Heshmati Z, Afrasiyabi Garekani H, Sadeghi F, Sabbagh A, Sharif Makhmalzadeh B, et al. Indomethacin electrospun nanofibers for colonic drug delivery: In vitro dissolution studies. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2017;152:29-35.

34. Zupančič Š, Rijavec T, Lapanje A, Petelin M, Kristl J, Kocbek P. Nanofibers with Incorporated Autochthonous Bacteria as Potential Probiotics for Local Treatment of Periodontal Disease. *Biomacromolecules*. 2018;19(11):4299-306.
35. Zupančič Š, Baumgartner S, Lavrič Z, Petelin M, Kristl J. Local delivery of resveratrol using polycaprolactone nanofibers for treatment of periodontal disease. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2015;30:408-16.
36. Da Silva GR, Lima TH, Fernandes-Cunha GM, Oréface RL, Da Silva-Cunha A, Zhao M, et al. Ocular biocompatibility of dexamethasone acetate loaded poly( $\epsilon$ -caprolactone) nanofibers. *Eur J Pharm Biopharm*. 2019;142:20-30.
37. Balusamy B, Senthamizhan A, Uyar T. 6 - In vivo safety evaluations of electrospun nanofibers for biomedical applications. In: Uyar T, Kny E, editors. *Electrospun Materials for Tissue Engineering and Biomedical Applications*: Woodhead Publishing; 2017. p. 101-13.
38. Bertonceļ V, Pelipenko J, Kristl J, Jeras M, Cukjati M, Kocbek P. Development and bioevaluation of nanofibers with blood-derived growth factors for dermal wound healing. *Eur J Pharm Biopharm*. 2014;88(1):64-74.
39. Pelipenko J, Kocbek P, Kristl J. Nanofiber diameter as a critical parameter affecting skin cell response. *Eur J Pharm Sci*. 2015;66:29-35.
40. Huang S, Fu X. Naturally derived materials-based cell and drug delivery systems in skin regeneration. *J Control Release*. 2010;142(2):149-59.
41. R Z, P.X M. Poly(alpha-hydroxyl acids)/hydroxyapatite porous composites for bone-tissue engineering. I. Preparation and morphology. *J Biomed Mater Res*. 1999;44:446-55.
42. Janković B, Pelipenko J, Škarabot M, Mušević I, Kristl J. The design trend in tissue-engineering scaffolds based on nanomechanical properties of individual electrospun nanofibers. *Int J Pharm*. 2013;455(1-2):338-47.
43. Al-Enizi AM, Zagho MM, Elzatahry AA. Polymer-based electrospun nanofibers for biomedical applications. *Nanomaterials*. 2018;8(4):1-22.
44. De Witte TM, Fratila-Apachitei LE, Zadpoor AA, Peppas NA. Bone tissue engineering via growth factor delivery: from scaffolds to complex matrices. *Regen Biomater*. 2018;5(4):197-211.
45. Fu L, Yang Z, Gao C, Li H, Yuan Z, Wang F, et al. Advances and prospects in biomimetic multilayered scaffolds for articular cartilage regeneration. *Regenerative Biomaterials*. 2020;7(6):527-42.
46. Gawel R. FDA Approves Nanofiber Flowable Composite 2015 [cited 2020 28.12.2020]. Available from: <https://www.dentistrytoday.com/news/industrynews/item/477-fda-approves-nanofiber-flowable-composite>.

