

MOŽNOSTI VYUŽITÍ NANOVLÁKEN V MEDICÍNĚ

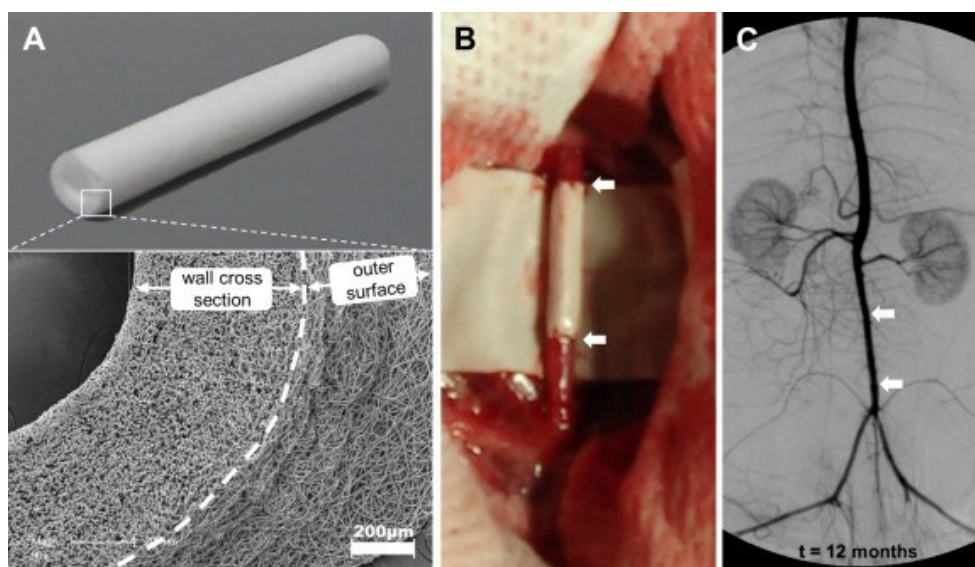
Jana RŮŽIČKOVÁ

Pardam s.r.o., Žižkova 2494, 413 01 Roudnice nad Labem, jana.ruzickova@pardam.cz

Anotace: *Vzhledem k tomu, že nanovláknna jsou svou strukturou velmi blízká lidským tkáním, tak se jejich použití v medicíně doslova nabízí. Vývoji zdravotnických prostředků z nanovláken se proto věnuje řada výzkumných týmů nejen v České Republice, ale po celém světě. Tento článek stručně shrnuje jejich snahy a poznatky.*

1. Tkáňové inženýrství

V oblasti nanovláknenných materiálů pro tkáňové inženýrství jsou vyvíjeny především scaffoldy pro různé typy tkání, podložky pro růst tkání a povrchové úpravy stávajících lékařských protetik. Z biologického hlediska jsou téměř všechny lidské tkáně a orgány organizovány v nanovláknenných formách nebo strukturách (Hong, 2003). Jako příklad jmenujme kosti, dentin - zubovinu, kolagen, chrupavky a kůži. Vývojem nanovláknenných scaffoldů se zabývá řada vědeckých týmů, jednou z částých oblastí jsou cévní štěpy neboli cévní grafty (Berry, 1990; Bornat, 1987; de Valence, 2012; Hashi, 2010).



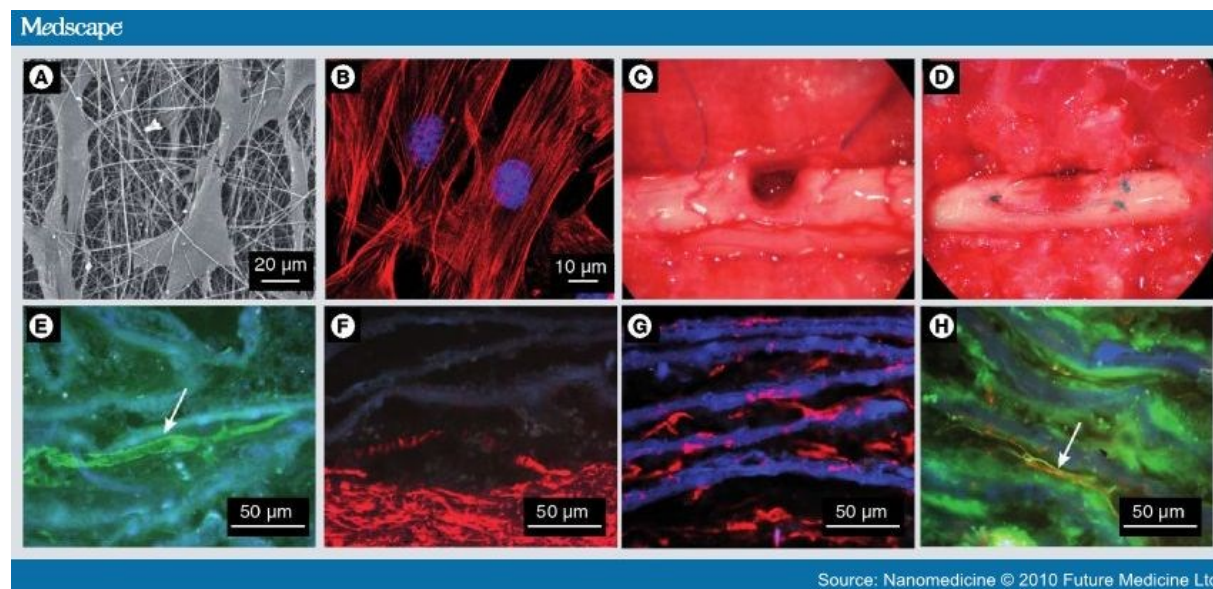
Obr. 1: Nanovláknenný cévní štěp z PCL (de Valence, 2012). A) před implantací, B) během implantace do potkanů použitý pro náhradu břišní aorty a C) 12 měsíců po implantaci na angiografickém snímku

Tradiční bypassové operace srdce vyžadují použití žil z nohou pro nahrazení poškozených krevních cév. Použití nanovláknenných materiálů by mohlo nahradit odběr žil pacienta pomocí umělých krevních cév (Obr. 1). Tyto scaffoldy mohou být i oseté buňkami. Poté, co je trojrozměrná konstrukce elektrostaticky zvlákněna, dojde k umístění buněk na její povrch. Buňky rostou a během tří až šesti týdnů jsou tyto náhradní krevní cévy připraveny k implantaci. Podobný postup lze využít i ke tvorbě umělé trachey, tedy průdušnice. Nanovláknenný scaffold byl osazen pacientovými kmenovými buňkami. Trachea na Obr. 2 byla poprvé implantována v listopadu 2011 ve Švédsku 30 letému pacientovi, jehož vlastní průdušnice byla stížena rakovinou.



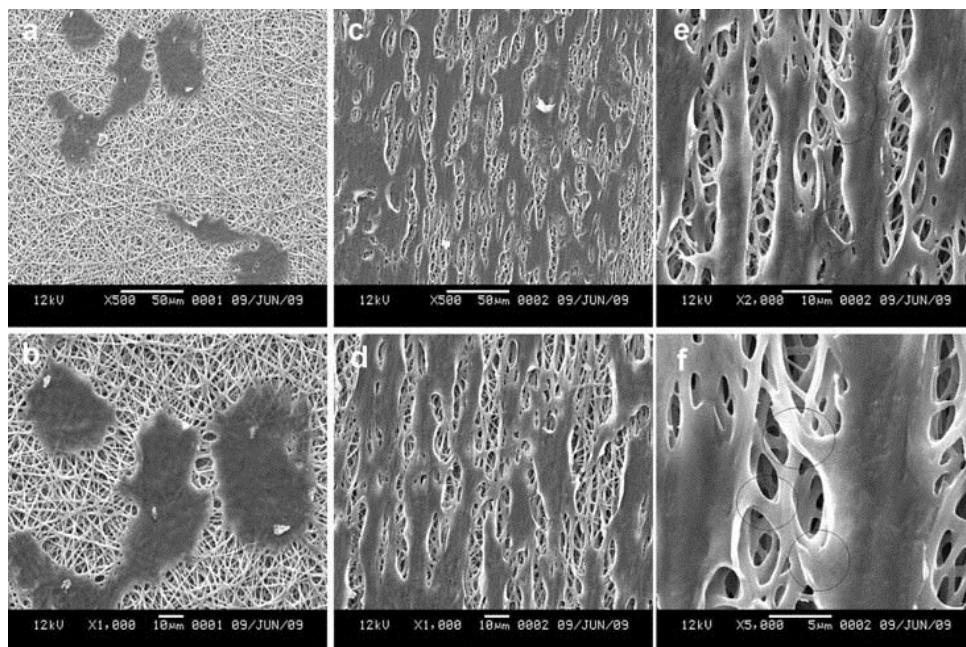
Obr. 2: Umělá nanovláknenná průdušnice po výrobě, a po osetí pacientovými kmenovými buňkami těsně před implantací (<http://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/biowire/nanofiber-scaffold-technology.html>).

Tubulární nanovláknenná protetika lze použít pro záchranu poškozených nervů, třeba po úrazu míchy, kde mohou pomoci obnovit spojení poškozených nervů (Obr. 3). Porézní struktura nanovláknenných sítí napodobuje architekturu přirozené extracelulární matrice a velký měrný povrch podporuje adhezi, proliferaci a diferenciaci rozličných buněk (Vasita, 2006). Oseté buňky totiž snadno migrují dovnitř trubičky, kde mohou obnovit porušený nerv. V tomto případě může být velmi výhodná orientovaná struktura nanovláken (Obr. 4 a Obr. 5) díky podpoře vhodného směrového růstu (Zhang, 2012).



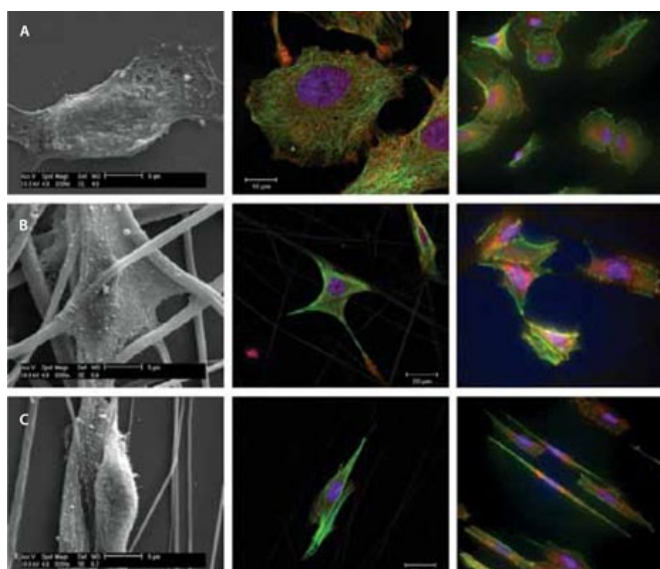
Source: Nanomedicine © 2010 Future Medicine Ltd

Obr. 3: Snímky elektrostaticky zvlákněných nanovláknenných scaffoldů cílených pro poranění páteře (Kubinová, 2010). A) SEM snímek lidských mezenchymálních buněk vypěstovaných na želatinových nanovlákněch, B) snímek mezenchymálních kmenových buněk vypěstovaných na želatinových nanovlákněch a zobrazených pomocí konfokální mikroskopie, C) srolovaný nanovláknenný scaffold, který byl implantován do výřezu páteře potkanů, D) tvrdá plena míšní, svaly a podkožní tkáň byly sešity v anatomických vrstvách, E) krevní céva vrůstající do nanovláknenného scaffoldu. Vrstvy nanovláknenného scaffoldu jsou zobrazeny modrou barvou, F) na nanovláknenných scaffoldech došlo ke vzniku astrocytů, G) růst Schwannových buněk na vrstvách scaffoldu, H) vrůstání NF-160 neurofilamentů (zelená) a Schwannových buněk (červená) do nanovláknenného scaffoldu. Všechny imunohistologické parametry stainings byly vyhodnocovány 4 týdny po implantaci.



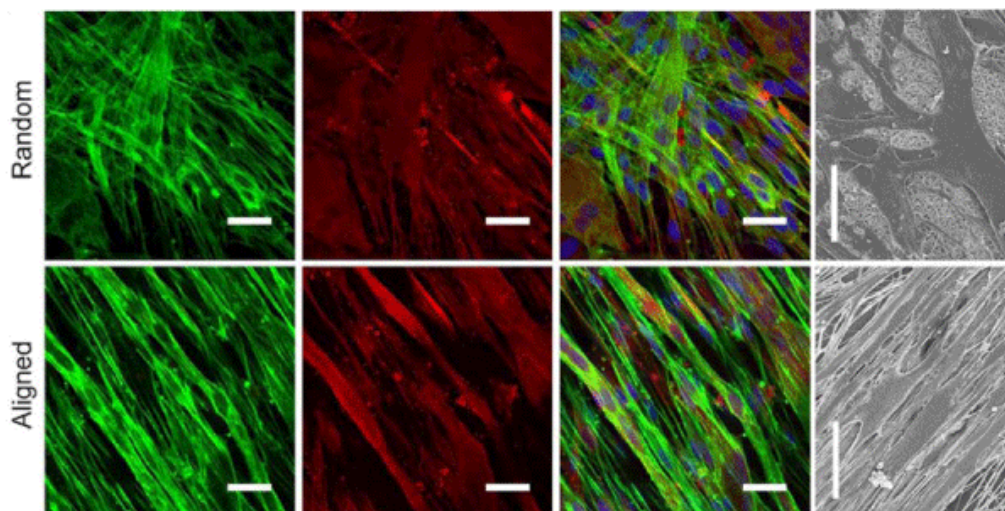
Obr. 4: Snímky jednosměrně orientovaných a náhodně orientovaných nanovláknenných scaffoldů připravených elektrostatickým zvlákňováním směsného polymerního roztoku silk fibroin/poly[(L-lactic acid)-co-(ϵ -caprolactone)] v poměru 25:75 (Zhang, 2012) s nánosem Schwannových buněk a) náhodně orientovaná struktura zvětšená 500x, b) náhodně orientovaná struktura zvětšená 1000x, c) jednosměrně orientovaná struktura zvětšená 500x, d) jednosměrně orientovaná struktura zvětšená 1000x, e) jednosměrně orientovaná struktura zvětšená 2000x, f) jednosměrně orientovaná struktura zvětšená 5000x.

Studie zabývající se viabilitou Schwannových buněk (Zhang, 2012) prokázala, že scaffoldy z jednosměrně orientovaných nanovláken významně podporují růst buněk a směr prodloužení těchto buněk je rovnoběžný se směrem vláken.



Obr. 5: SEM snímky A) buněk vypěstovaných na běžném kultivačním materiálu z polystyrenu (TCPS) B) buněk na náhodně orientovaných nanovláčkách, C) buněk na jednosměrně orientovaných nanovláčkách (<http://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/biowire/nanofiber-scaffold-technology.html>).

Orientované nanovláknenné struktury, které mají za následek růst asymetrických buněk, jsou výhodné i při pěstování svalových buněk. Autoři (Cooper, 2011; Zhang, 2010) vyvinuli jednosměrně orientovaný nanovláknenný scaffold z chitosan/PCL.



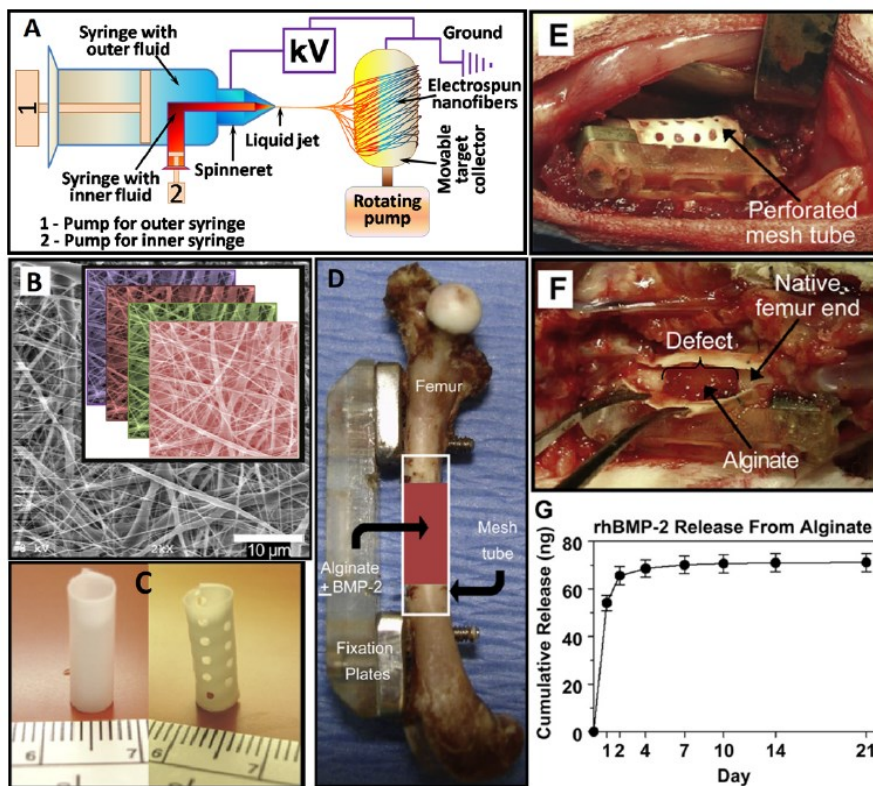
Obr. 6: Snímky z konfokální mikroskopie znázorňující imunocytochemickou analýzu aktinu (levý sloupec, zeleně) a myosinu (prostřední sloupec, červeně) vyjadřující růst svalových buněk na náhodně orientovaných a jednosměrně orientovaných chitosan-PCL nanovláknenných scaffoldech po pětidenní kultivaci. Snímky v dalším sloupci ukazují sloučené obrazy a pravý sloupec popisuje morfologii svalových buněk vyrostlých na chitosan-PCL nanovláčknech po 5 dnech kultivace. Měřítka na snímcích je 40 μm (Skotak, 2008).

Ideální scaffold pro tkáňové inženýrství svalů by měl poskytnout prostředí s vhodnými topografickými a chemickými podněty kvůli regulaci interakcí mezi svalovými buňkami a scaffoldem (Mahoney, 2012). Vysoce orientovaná nanovláknna z chitosan-PCL ve srovnání s náhodně orientovanými nanovláknny vykazala vynikající pevnost v tahu, podporující proliferaci svalových buněk a způsobující utváření protažených a anizotropně orientovaných svalových vláken (Obr. 6). Svalové buňky na jednosměrně orientovaných nanovláčknech prokázaly, že díky tomuto vhodnému uspořádání došlo ke správnému vývoji kontraktilního aparátu myocytu (Mahoney, 2012).

Zdá se, že nanovláknenné konstrukce připravené elektrostatickým zvlákňováním mají potenciál i pro scaffoldy cílené pro kostní implantáty. Jednou z možností je použití mezenchymální kmenových buněk odvozených od kostní dřeně, jejich kultivace, pěstování a nasazení na elektrostaticky zvlákňované PCL scaffoldy (Yoshimotoa, 2003). Pokroky v biologii kmenových buněk dokázaly, že mezenchymální kmenové buňky (MSCs) se mohou ve vhodném scaffoldu diferenciovat na buňky kostí, chrupavek, svalů, šlach, vazů a buňky tukové, a očekává se, že budou hrát důležitou roli v opravě kostních defektů (Caplan, 1991; Pittenger, 1998).

Je zřejmé, že podmínky pěstování ovlivní kvalitu uměle vytvořených tkání. Obecně se usuzuje, že vysoce porézní mikrostruktura s vzájemně propojenými póry a velká plocha povrchu přispívá k vrůstání tkáně do scaffoldu (Yoshimotoa, 2003). Elektrostatické zvlákňování je oceňováno jako alternativní způsob výroby scaffoldů pro tvorbu kostních náhrad in vitro. Příkladem může být nanovláknenný scaffold z PCL (Pramanik, 2012; Kolambkar, 2011) zobrazený na Obr. 7.

Pramanik (Pramanik, 2012) uvádí, že dutá tubulární vlákna vyrobená koaxiálním zvlákňováním jsou zajímavější z hlediska transportu živin a odpadních látek dovnitř a ven z kostního implantátu. Kombinace klasických a dutých vláken pak pro tento typ aplikace může být optimální, přičemž scaffold by měl také podporovat biomineralizaci, ale také zachování vhodných biologických a mechanických vlastností pro regeneraci tkání.



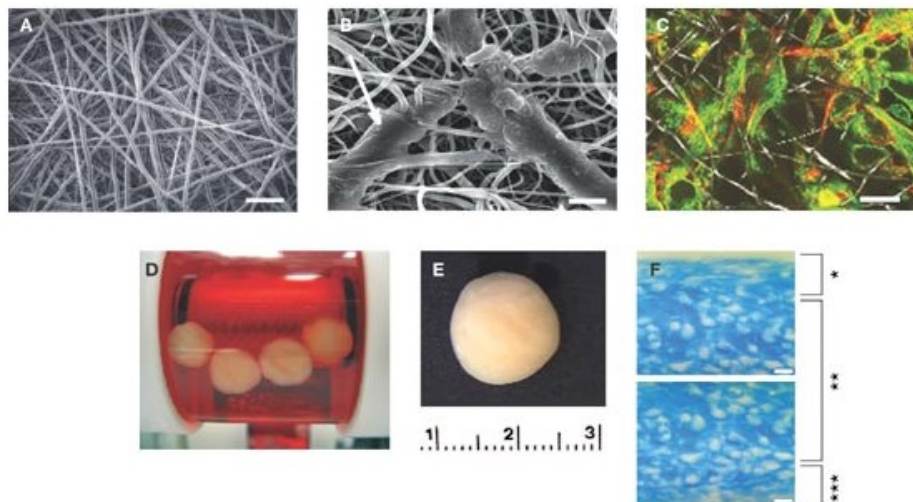
Obr. 7: Nanovláknenné kostní implantáty (Pramanik, 2012; Kolambkar, 2011). A) schéma koaxiálního zvláknování, B) SEM snímek elektrostatičticky zvlákněných nanovláken ilustrující hladká nanovláknena bez korálkových defektů, C) duté tubulární implantáty z nanovláken s perforací a bez ní, D) In vivo aplikace nanovláknenných implantátů umístěných kolem 8 mm defektu femuru potkana (alginátový hydrogel s rhBMP-2 nebo bez byl injekčně vpraven do implantátu), E) defekt po implantaci perforovaného tubulárního nanovláknenné implantátu s alginátovým hydrogelem uvnitř, viditelným skrz perforace, F) po 1 týdnu od aplikace byl implantát vyjmut a rozříznut a alginát byl stále přítomen uvnitř defektu s hematodem na koncích kosti, G) In vitro kinetika uvolňování alginátu, uvolňování rhBMP-2 bylo pozorováno během prvního týdne.

V oblasti ortopedie je veden výzkum i na poli scaffoldů pro chrupavky. Pro představu je na Obr. 8. Je nutné dodat, že použití nanovláken nejen v oblasti kostních a chrupavkových implantátů, ale scaffoldů obecně je do značné míry limitováno velikostí mezivláknenných pórů, které jsou tak malé, že často neumožní buňkám migraci dovnitř jejich struktury, buňky tak zůstávají na jejich povrchu, což může vést k nežádoucí dediferenciaci buněk. Většina scaffoldů potřebuje 3D strukturu s velkými póry umožňující migraci buněk, jejich proliferaci a komunikaci. Tento problém se řeší třeba postupným vrstvením a prokládáním nanovláknenných vrstev vrstvami buněk, přesto tyto materiály nejsou optimální pro některé typy aplikací.

Masivní výzkum a vývoj je také věnován povrstvování stávajících protetik nanovláknennými vrstvami, které mají za účel vytvoření jakési mezifáze mezi protetikem a okolními tkáněmi (Athreya, 1999; Buchko, 1999; Buchko, 2001). Nanovláknenné vrstvy by měly poskytnout vhodné prostředí pro osídlení povrchu protetika buňkami a efektivně redukovat strnulost spojení na rozhraní mezi tkání a protetikem a předcházet tak selhání implantátu po implantaci (Huang, 2003).

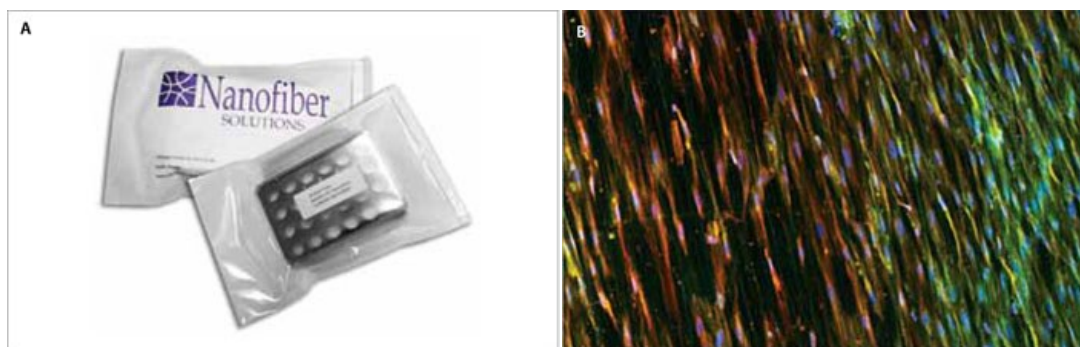
Živá tkáň často reaguje na cizí objekty jejich opouzdřením jizvou tkání. Tento problém je spojený především s ortopedickými implantáty např. umělými kyčlemi (Price, 2004). Pro deponované nanovláknenné vrstvy jsou vlastnosti povrchu stěžejní, protože proteiny a následně buňky budou interagovat okamžitě po implantaci s povrchy biomateriálů. Jinými slovy, hojivá odezva přímo následující po implantaci biomateriálů zajistí dlouhodobou funkčnost zařízení (Kaplan, 1994; Park, 1992). Neúspěšné hojení rány po implantaci kostních a nervových protetik se projevuje vznikem opouzdření a chronických zánětů (Brunski, 1991). Vlákenné opouzdření na rozhraní tkání - implantát snižuje efektivitu implantace a často má za následek selhání implantátu. Rozsáhlá formace jizvové tkáně je bohužel dosud běžnou poruchou implantačního mechanismu vedoucí k nedostatečnému propojení ortopedického implantátu s vedlejší kostí nebo nervového implantátu s vodivou

neurální tkáni (Kaplan, 1994; Park, 1992). Nanovlákná v tomto případě mohou významně přispět k vývoji kvalitnějších protetik.



Obr. 8: Nanovláknenné chrupavkové implantáty (Chen, 2006). A) SEM znázorňující strukturu nanovláken z PLLA. B) Mezenchymální kmenové buňky (označené šipkou) umístěné na nanovláknenné matici. C) Chondrocyty osetý nanovláknenný scaffold vizualizovaný konfokální laserovou rastrovací mikroskopií; cytoskeleton byl značen (červená = actin; zelená = tubulin). D) Příprava trojrozměrného uměle vytvořeného tkáňového konstruktu, E) makroskopický vzhled umělé chrupavky vykazující hladký povrch a značnou velikost, měřítko je v centimetrech. F) Histologie uměle vytvořené chrupavky s lidskými mezenchymálními kmenovými buňkami značená Alcianovou modří vykazující hojně se vyskytující chrupavkovou matrix obklopující velké chondrocyty.

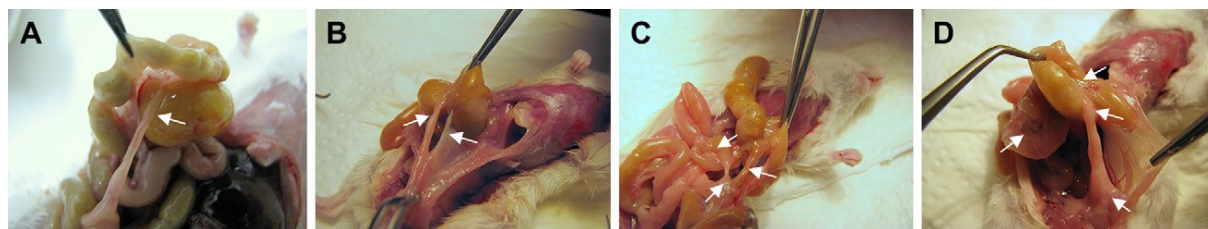
Jak bylo již řečeno, pro vývoj implantátů osazených buňkami je leckdy zapotřebí vypěstovat buňky určitých vlastností, nanovláknenné materiály pak mohou poskytnout optimální podložku pro osazení, přesun a růst buněk (Huang, 2003). Takový materiál byl již úspěšně uveden na trh firmou Nanofiber Solutions (<http://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/biowire/nanofiber-scaffold-technology.html>) a je znázorněn na Obr. 9.



Obr. 9: Nanovláknenné podložky pro růst tkání (<http://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/biowire/nanofiber-scaffold-technology.html>). A) Příklad 24 jamkového plata vyrobeného firmou Nanofibers Solutions. B) Fluorescenční snímek lidských mezenchymálních kmenových buněk na jednosměrně orientovaných nanovláčknech, který ukazuje schopnost snímkování nanovláknenných substrátů.

2. Antiadhezí membrány

Post chirurgické adheze jsou komplikace provázející až 90% chirurgických zákroků v oblasti dutiny břišní a (55-100)% zákroků v pánevní oblasti (Liakakos, 2001). Abdominální adheze (Obr. 10) jsou definovány jako patologická fibrotická spojení utvořená mezi jakýmkoliv povrchy v dutině břišní (Hellebrekers, 2000). Jejich následkem mohou být nejen komplikace v případě dalších případných operací, ale také střevní obstrukce, ženská neplodnost, chronická bolest (Bölgen, 2007).



Obr. 10: Intraperitoneální adheze utvořené v myším organismu (Dinarvand, 2012). (A) Stupeň 1, velmi slabé adheze, (B) Stupeň 2, slabé adheze, (C) Stupeň 3, střední adheze, (D) Stupeň 4, těžké adheze (nejdou oddělitelné bez poškození orgánů).

V literatuře je již popsáno velké množství materiálů určených pro prevenci post chirurgických adhezí především v dutině břišní. Účinnost stávajících materiálů, ať už ve formě tekutých nebo pevných zdravotnických prostředků, je řadou odborných studií hodnocena jako omezená (Bölgen, 2007; Zong, 2004; Liu, 2012; Hooker, 1999; Chang, 2012; Johns, 2001; Kim, 2004; Pados, 2010; Schnüriger, 2011; Wallwiener, 2006).

Jednou z možností vylepšení vlastností antiadhezí materiálů na principu fyzikálních bariér, které se jeví podle několika studií jako účinnější (Pados, 2010; Schnüriger, 2011), je použití nanovláknenných materiálů. V této souvislosti již došlo k vývoji nanovláknenných antiadhezí membrán z různých polymerů, např. polykaprolaktonu (PCL) zvlákněného z chloroformu a DMF (Bölgen, 2007; Dinarvand, 2012), PES z DMF, PLLA z DMF a chloroformu (Zong, 2004; Dinarvand, 2012), PLGA z DMF nebo ze směsi rozpouštědel DMF/THF (Zong, 2004; Lee, 2006; Dinarvand, 2012), PCL zvlákněný z THF s obsahem vodné HA mikrodisperze (Liu, 2012), nylon 6 zvlákněný z kyseliny mravenčí s obsahem stříbrných nanočástic (Park, 2009), PVDF z N,N-dimethylacetamidu (DMAc), kopolymer PEG a PLLGA z chloroformu a DMF (Ma, 2012), kopolymer PLA-PEG (Yang, 2009), směs PLGA/PEG-PLA (Zong, 2004) a směs alginátu a chitosanu připravená pomocí glycerolu, kyseliny octové a lihu (Yeo, 2008). Směsná nanovláknna chitosan/alginát byla doposud jediná patentována jako antiadhezí membrána, ale ještě nedošlo k její komercializaci (Chang, 2012). Téměř všechny uvedené rozpouštědlové systémy jsou pro použití ve zdravotnických prostředcích nevhodné nejen z hlediska aplikace, ale také z hlediska výroby a likvidace toxických odpadů.

Antiadhezí materiály pro prevenci post chirurgických adhezí na bázi HA se již používají a některé z nich jsou již schváleny FDA pro humánní použití (Hooker, 1999), jejich nevýhodou je rychlá degradace a rychlé vstřebávání (Chang, 2012). Oproti tomu syntetické materiály jako např. PCL s velmi pomalou degradací také nejsou vhodné, jejich zbytky mohou způsobovat zánětlivé reakce ústící ve vyšší množství adhezí (Bölgen, 2007; Wallwiener, 2006). Proto chemicky síťované materiály na bázi HA (Johns, 2001; DeIaco, 1998) s lepší stabilitou a pomalejší degradací, případně jejich směsi s nativní HA, mohou být pro tento typ aplikace velmi vhodné. Účinnost HA v případě antiadhezí materiálů je dána její schopností lubrikovat buňky, udržováním strukturální integrity tkání, regulací zadržování tekutiny (Johns, 2001), stimulací obnovy mesothelia (Wallwiener, 2006) atd.

3. Systémy cíleného/řízeného doručení léčiv

Tyto typy nosičů léčiv doručí začleněné léčivo pacientům fyziologicky přijatelnějším způsobem, jenž snižuje zátěž organismu pacienta při jeho podání. Systém dodávky léku polymerními nanovláknny je založený na principu, že rychlost rozpuštění částičky léku se zvyšuje s rostoucí plochou povrchu léku i odpovídajícího nosiče. Nanovláknna se vyznačují velkým měrným povrchem, což má za následek jejich vysokou reaktivitu, malý rozměr zase způsobí krátkou difúzní dráhu začleněných aditiv uvolňujících se z nanovláken a jejich degradace je také velmi rychlá, to činí nanovláknna zajímavými i pro některé typy systémů uvolňujících léčiva. V oblasti systémů doručení léčiv a tkáňového inženýrství si už elektrostatičtce zvlákněná polymerní nanovláknna získala stále rostoucí důležitost a to především díky následujícím výhodám: relativně snadné začlenění léčiv během

zvláknovacího procesu, možnost začlenění vysokých dávek léčiva, potlačení „burst efektu“, stabilita a uchování aktivity léčiva či růstových faktorů, velký měrný povrch (zlepšující uvolňování léčiv) a specifická morfologie, která může být do jisté míry řízena během procesu výroby (Agarwal a kol., 2008). Systémy cíleného doručení léků jsou materiály, které vytvoří ochranné opouzdření léčiva během tranzitu tělem. Struktury menších rozměrů mají větší měrnou plochu povrchu, menší velikost pórů a lepší rozpustnost. Pro tyto systémy mohou být obecně použity biokompatibilní a biodegradabilní polymery.

Do nanovláken lze začlenit různé typy léčiv, antibiotiky počínaje a kancerostatiky konče, ale tento způsob lze využít i pro dodávku růstových faktorů, DNA a jiných látek. Uvolnění začleněných aditiv probíhá dvěma mechanismy, jsou to difúze a uvolňování dané erozí matrice. Nejčastěji žádaný profil uvolnění léčiva je konstantní a stabilní, takového profilu je možné dosáhnout začleněním lipofilního léčiva do lipofilního polymeru, zatímco hydrofilní polymer by měl sloužit jako nosič hydrofilních léčiv, přičemž použité rozpouštědlo by mělo být dobré jak pro léčivo, tak pro polymer (Zeng, 2005). Pokud tomu tak není, léčivo se v polymerním roztoku nemůže rozpustit a výsledkem je zvláknování disperzí, elektrostaticky zvlákněná disperze léčiva zapříčiní přítomnost léčiva na povrchu vláken nebo v jejich blízkém okolí a následně rychlou difúzi léčiva do uvolňovacího media, tedy tzv. „burst efekt“. Jmenovaný efekt se vyznačuje okamžitým uvolněním téměř veškerého začleněného aditiva a ve většině případů je nežádoucí.

První možností inkorporace je navázání léčiva na povrch nosného materiálu ve formě nanovláken. Druhou možností je formace nosného materiálu i léčiva do nanovlákněné struktury, pak konečný produkt obsahuje dva druhy vzájemně provázaných nanovláken, ovšem za předpokladu, že léčivo je samo o sobě zvláknitelné a vláknotvorné. Třetí možností je integrace směsi léku a nosných materiálů do jednoho druhu dvousložkových kompozitních vláken. Čtvrtou možností je nosný materiál, který je elektrostaticky zvlákněný do tzv. core-shell nanovláken, v níž je léčivo jádrem (core) a nosný materiál vlákna pouzdrem (shell) a léčivo je zapouzdřeno. Systémy doručení léků ve formě nanovláken jsou stále v počátečním stadiu zkoumání.

Nanovlákná byla jako nosiče léčiv zkoumána v různých případech, příkladem může být nanovlákněný nosič na bázi poly (etylen -co-vinyl-acetátu), kyseliny polymléčné a jejich směsí s obsahem tetracyklin hydrochloridu (Kenawy, 2002), nanovlákněné membrány z kyseliny polymléčné užívané pro doručení antibiotika Mefoxinu (Zong, 2002) nebo polymerní nanovlákná pro farmaceutické účely s různou kinetikou uvolnění aditiva (Ignatious, 2001). Potlačení již zmiňovaného „burst efektu“ se povedlo např. zvlákněním PLLA ze směsi chloroformu a acetonu (Zeng, 2003) a zapouzdření aditiva bylo podpořeno použitím surfaktantů, ale uvedená rozpouštědla ani surfaktanty nejsou vhodné pro použití ve zdravotnictví. Dalšími příklady mohou být heparin v PCL matrici (Zhang, 2006) paclitaxel v PLGA (Xie, 2006), doxorubicin hydrochlorid v kopolymeru PEG-PLA (Xu, 2009), příkladů v této oblasti je nepřeberné množství.

Značným přínosem nanovláken může být i zjištění, že nanovlákněné implantáty vyrobené ze směsi kopolymeru kyseliny polymléčné, kvarterního chitosanu a doxorubicinu, což je léčivo s protirakovinným účinkem, prokázaly zvýšenou efektivitu doxorubicinu při současném potlačení vedlejších účinků (Toshkova, 2010). Tento jev je nejspíš způsoben synergickým působením doxorubicinu a kvarterního chitosanu. Kombinace biopolymerů a léčiv ve formě nanovláken tak mohou dosáhnout významně rozdílných účinků v organismu oproti standardním materiálům.

Srovnáním nanovlákněných materiálů a fólií z PVA bylo dokázáno, že z fólií se léčivo uvolňuje postupně především vlivem rozpouštění agregátu aditiva na povrchu fólií, u nanovláken k tomu docházelo klasickým difúzním mechanismem, protože na povrchu nanovláken se netvořily žádné agregáty (Taepaiboon, 2006). Verreck (Verreck, 2003) zase potvrdil, že oproti běžným formám jako jsou fyzikální směsi, roztoky a extrudované vzorky, elektrostaticky zvlákněné materiály ve zkoumaných případech dosahují lepší použitelnosti ve farmaceutických aplikacích a stejně tak i řízeného rozpouštění.

Zajímavá je aplikace nanovlákněných nosičů v případě doručení léčiv, která jsou obtížně rozpustná ve vodném prostředí, mohly by totiž vlivem velkého měrného povrchu zlepšit jejich rozpustnost v organismu, a to i při orálním podání (Leuner, 2000). Navíc tato aplikační forma může být výhodnější než běžné disperze, jež také přispívají stejným způsobem ke zvýšení rozpustnosti léčiva (Chokshi, 2007).

Použití kyseliny hyaluronové (HA) jako nosiče je lákavé už proto, že jde o přírodní biodegradabilní polymer zlepšující migraci a proliferaci buněk a produkci extracelulární matrice (Schmidt, 2010). Potíž je v tom, že kyselina hyaluronová je ve své přirozené formě vodorozpustný materiál, který se po elektrostatickém zvlákněním do nanovláken rozpouští bezprostředně po kontaktu s vodou, což může být výhodné jen pro některé aplikace.

4. Obvazoviny

Další možnou aplikací polymerních nanovláken může být krytí ran, a to nejen chirurgických, ale také popálenin nebo ran chronických, jakými jsou třeba bércové vředy, proleženiny nebo rány vznikající v důsledku

syndromu diabetické nohy. Mohou obsahovat začleněná aditiva. Nanovlákná mohou být nanášena přímo na ránu, jak je vidět na Obr. 11. Měla by podporovat normální růst tkání a vyloučit formaci jizvové tkáně, která by se vyskytovala při tradičním ošetření (Jin, 2013; Martindale, 2000). Nanovláknenné membrány mají obvykle velikost pórů v rozsahu od desítek po stovky nanometrů, jsou tedy dostatečně malé, aby chránily ránu před průnikem bakterií. Velký měrný povrch je extrémně účinný pro sorpci kapalin a kožní dodávku.



Obr. 11: Tvorba krytu rány přímo na kůži (Huang, 2003).

Kryty ran, a to především těch chronických, musí splňovat následující kritéria: ochrana rány před průnikem bakterií, udržování vhodné vlhkosti hojení, snadná aplikace krytu a jeho odstranění z rány (neměl by přilnout k ráně, což by vyžadovalo bolestivé odstranění), dostatečné mechanické vlastnosti.

Chronické rány vyžadují tzv. vlhké hojení, které urychluje hojení tím, že předchází dehydrataci buněk, podporuje tvorbu kolagenu v ráně a angiogenezi (Elsner, 2010). Jenže při vlhkém hojení se vlivem zábrany odpařování tekutiny z rány hromadí tekutina pod obvazem a tím dochází k maceraci tkáně v okolí rány, jejímu podráždění a následně ke zvětšování rány, proto musí být odvod tekutiny s ohledem na typ rány přiměřený (Elsner, 2010).

Vlhké hojení je vhodné zejména pro léčbu defektů a poranění měkkých tkání (Fu, 2013). Ideálními podmínkami pro růst bakterií jsou vlhkost, teplo a nutriční prostředí lůžka rány (Wright, 2002). Různé látky, jakými jsou třeba toxiny, proteázy a prozánětlivé molekuly, mohou způsobit nadměrnou a vleklou zánětlivou odezvu hostitelské tkáně danou bakteriální kolonizací a následnou infekcí, což může závažně ovlivnit hojící proces (Jones, 2004; Leaper, 2006).

Právě kvůli silné kontaminaci chronických ran je třeba, aby ideální kryty ran měly širokospektrou antimikrobiální aktivitu, včetně účinku na bakterie rezistentní vůči antibiotikům. Cílem vývoje nanovláknenných materiálů je poskytnout ideální strukturu, která by mohla nahradit přirozenou extracelulární matici, dokud hostitelské buňky rostou a syntetizují novou přirozenou extracelulární matici (Unnithan, 2012).

Díky velkému měrnému povrchu a mikroporézní struktuře nanovláknenných materiálů mohou rychle nastartovat signální dráhy a přitahování fibroblastů k dermální vrstvě, která může vytvářet důležité složky extracelulární matrice jako kolagen a cytokiny (např. růstové faktory a angiogenní faktory) a tedy opravu poškozené tkáně. Nanovláknenné materiály navíc mohou být využity jako nosiče antibakteriálních látek a jiných terapeutik (Bölgen, 2012).

Vyvinuté nanovláknenné obvazy často obsahují léčiva, což ale komplikuje registraci produktu, který nadále není posuzován jako zdravotnický prostředek, ale jako léčivo. Pro krytí povrchových ran je nutné uvážit výrobní cenu vyvinutého krytu, protože v této oblasti je značná konkurence, která tlačí cenu těchto produktů velice nízko. Zřejmě proto se na trhu objevil pouze jediný nanovláknenný kryt vnějších ran, jde o Suprasorb X®, což je materiál na bázi regenerované celulózy.

Jedním z častých aditiv používaných ve vývoji nanovláknenných obvazů jsou nanočástice stříbra, které mají antimikrobiální účinky. Jejich použití je ale značně diskutabilní, protože stříbrné nanočástice se mohou navázat na buněčnou stěnu a narušit tak její permeabilitu a mezibuněčnou výměnu. Mohou také penetrovat dovnitř buněk a způsobovat tak poškození interakcí s biomolekulami obsahujícími fosfor nebo síru včetně DNA a proteinů (Abdelgawad, 2013). Jde o materiál cytotoxický. Totéž platí i pro nanočástice ZnO (Shalumon, 2011). Ale antibakteriálního účinku lze dosáhnout i přidavkem přírodních látek a výtažků (Unnithan, 2012; Vargas, 2010; Ignatova, 2006).

Další problém spojený s rizikem cytotoxicity je sklon nanovláken k překotnému uvolňování aditiv, tedy již zmiňovaný „burst efekt“ (Costache, 2010). Použití bikomponentních vláken typu jádro-plášť nebo vícevrstvých materiálů může přispět k potlačení „burst efektu“ a kinetiku lze ovládat tloušťkou vrstev a průměrem vláken (Okuda, 2010).

Oblíbenými biopolymery používanými pro výrobu nanovláknenných krytů ran jsou kolagen a chitosan (Chen, 2008; Jayakumar, 2011; Charernsriwilaiwat, 2012), želatina (Chong, 2007), alginát (Shalumon, 2011), silk protein (Schneider, 2009), karboxyethylchitosan (Zhou, 2013). Často jsou ale zvláknována z nevhodných rozpouštědel nebo síťována nevhodnými síťovacími činidly.

Literatura

Abdelgawad A.M., Hudson S.M., Rojas O.J. Antimicrobial wound dressing nanofiber mats from multicomponent (chitosan/silver-NPs/polyvinyl alcohol) systems. *Carbohydrate Polymers* (2013). Article in press. http://www4.ncsu.edu/~ojrojas/PDF/2013_9.pdf

Agarwal S., Wendorff J.H., Greiner, A., 2008. Use of electrospinning technique for biomedical applications. *Polymer* 49, 5603–5621.

Athreya, S. A. - Martin D. C.: Impedance spectroscopy of protein polymer modified silicon micromachined probes. *Sensors and Actuators A—Physical* 72 3 (1999), pp. 203–216

Berry, J. P.: US patent 4965110, 1990.

Bölgen N., Vargel I., Korkusuz P., Menciloglu Z., Piskin E. In Vivo Performance of Antibiotic Embedded Electrospun PCL Membranes for Prevention of Abdominal Adhesions. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2007 May;81(2):530-43.

Bornat, A.: Production of electrostatically spun products. US Patent 4689186. 1987.

Brunski, J. B.: 1991 Influence of biomechanical factors at the bone–biomaterial interface *The Bone–Biomaterial Interface* ed J E Davies (Toronto: Canada University of Toronto Press) pp 391–404.

Buchko, C. J. - Chen, L. C. – Shen, Y. - Martin, D. C.: Processing and microstructural characterization of porous biocompatible protein polymer thin films. *Polymer* 40 (1999), pp. 7397–7407.

Buchko, C. J. – Kozloff, K. M. - Martin, D. C.: Surface characterization of porous, biocompatible protein polymer thin films. *Biomaterials* 22 11 (2001), pp. 1289–1300.

Caplan, A. I.: Mesenchymal stem cells. *J Orthoped Res* 1991; 9: 641–50.

Chang J.-J., Lee Y.-H., Wu M.-H., Yang M.-Ch., Chien Ch.-T. Electrospun anti-adhesion barrier made of chitosan alginate for reducing peritoneal adhesions. *Carbohydrate Polymers*, 88 (2012) 1304–1312.

Charernsriwilaiwat N., Opanasopit P., Rojanarata T., Ngawhirunpat T. Lysozyme-loaded, electrospun chitosan-based nanofiber mats for wound healing. *International Journal of Pharmaceutics*, 427 (2012) 379–384.

Chen F.H., Rousche K.T., Tuan R.S. Technology Insight: adult stem cells in cartilage regeneration and tissue engineering. *Nature Reviews Rheumatology*. 2006, Vol. 2, Issue 7, 373-382 doi:10.1038/ncprheum0216.

Chen J.-P., Chang G.-Y., Chen J.-K. Electrospun collagen/chitosan nanofibrous membrane as wound dressing. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 313–314 (2008) 183–188.

Chokshi, R.J., Zia, H., Sandhu, H.K., Shah, N.H. and Malick, W.A. (2007) Improving the dissolution rate of poorly water soluble drug by solid dispersion and solid solution-pros and cons, *Drug Delivery*, **14**, 33-45.

Chong EJ, Phan TT, Lim IJ, Zhang YZ, Bay BH, Ramakrishna S, Lim CT. Evaluation of electrospun PCL/gelatin nanofibrous scaffold for wound healing and layered dermal reconstitution. *Acta Biomater*. 2007 May;3(3):321-30. Epub 2007 Feb 26.

Cooper A, Bhattarai N, Zhang M (2011) Fabrication and cellular compatibility of aligned chitosan-PCL fibers for nerve tissue regeneration. *Carbohydrate Polymers* 85: 149-156.

Costache MC, Qu H, Ducheyne P, Devore DI. Polymer-xerogel composites for controlled release wound dressings. *Biomaterials*. 2010 Aug;31(24):6336-43.

de Valence S., Tille J.Ch., Mugnai D., Mrowczynski W., Gurny R., Möller M., Walpoth B.H. Long term performance of polycaprolactone vascular grafts in a rat abdominal aorta replacement model. *Biomaterials*. 2012, Volume 33, Issue 1, Pages 38–47.

De Iaco P.A., Stefanetti M., Pressato D., Piana S., Dona M., Pavesio A., Bovicelli L. A novel hyaluronan-based gel in laparoscopic adhesion prevention: preclinical evaluation in an animal model. *Fertility and Sterility*. 1998, vol. 69, no. 2.

Dinarvand P., Hashemi S.M., Seyedjafari E., Shabani I., Mohammadi-Sangcheshmeh A., Farhadian S., Soleimani M. Function of Poly (lactic-co-glycolic acid) Nanofiber in Reduction of Adhesion Bands *Journal of Surgical Research* 172, e1–e9 (2012).

Elsner J.J., Zilberman M. Novel antibiotic-eluting wound dressings: An in vitro study and engineering aspects in the dressing's design. *Journal of Tissue Viability* (2010) 19, 54-66.

Fu L., Zhou P., Zhang S., Yang G. Evaluation of bacterial nanocellulose-based uniform wound dressing for large area skin transplantation. *Materials Science and Engineering C* 33 (2013) 2995–3000.

Hashi C.K., Derugin N, Janairo R.R.R., Lee R., Schultz D., Lotz J., Li S. Antithrombogenic Modification of Small-Diameter Microfibrous Vascular Grafts. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010; Vol. 30, Pages 1621-1627; originally published online May 13, 2010; doi: 10.1161/ATVBAHA.110.208348

Hellebrekers B, Trimbo-Kemper T, Trimbo J, Emeis J, Kooistra T. Use of fibrinolytic agents in the prevention of postoperative adhesion formation. *Fertil Steril* 2000;74:203–212.

Hooker G.D., Taylor B.M., Driman D.K. Prevention of adhesion formation with use of sodium hyaluronate-based bioresorbable membrane in a rat model of ventral hernia repair with polypropylene mesh—A randomized, controlled study. *Surgery*. 1999 Feb; 125(2):211-6.

Huang, Z. M. – Zhang, Y. Z. – Kotaki, M. - Ramakrishna S.: A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites, *Composites Science and Technology*, Volume 63, Issue 15, November 2003, Pages 2223-2253.

Ignatious, F., Baldoni, J.M. (2001) Electrospun pharma-ceutical compositions, *WO Pat 0154667*.

Ignatova M., Manolova N., Rashkov I. Electrospinning of poly(vinyl pyrrolidone)–iodine complex and poly(ethylene oxide)/poly(vinyl pyrrolidone)–iodine complex – a prospective route to antimicrobial wound dressing materials. *European Polymer Journal*, Volume 43, issue 5 (May, 2007), p. 1609-1623.

Jayakumar R, Prabakaran M, Sudheesh Kumar PT, Nair SV, Tamura H. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. *Biotechnol Adv*. 2011 May-Jun;29(3):322-37.

Jin, H. J. - Fridrikh, S. – Rutledge, G. C. - Kaplan, D.: Electrospinning Bombyx mori silk with poly(ethylene oxide). *Abstracts of Papers American Chemical Society* 224 1–2 (2002), p. 408.

Jin G, Prabhakaran MP, Kai D, Annamalai SK, Arunachalam KD, Ramakrishna S. Tissue engineered plant extracts as nanofibrous wound dressing. *Biomaterials*. 2013 Jan;34(3):724-34. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.10.026. Epub 2012 Oct 27.

Johns D.B., Keyport G.M., Hoehler F., diZerega G.S. Reduction of postsurgical adhesions with Intergel® adhesion prevention solution: a multicenter study of safety and efficacy after conservative gynecologic surgery. *Fertility and Sterility*. 2001, vol. 76, no. 3.

Jones, S. A., Bowler, P. G., Walker, M., & Parsons, D. Controlling wound bioburden with a novel silver-containing hydro fiber dressing. *Wound Repair and Regeneration*. 2004, 12, 288–294.

Kaplan, F. S. – Hayes, W. C. – Keaveny, T. M. – Boskey, A. – Einhorn, T. A. – Iannotti, J. P.: 1994 Form and function of bone *Orthopedic Basic Science* ed S P Simon (Columbus, OH: American Academy of Orthopedic Surgeons) pp 127–85.

Kenawy, El-Refaie; Bowlin, Garry L.; Mansfield, Kevin; Layman, John; Simpson, David G.; SANDERS Elliot. H. a kol. Release of tetracycline hydrochloride from electrospun poly(ethylene-co-vinylacetate), poly(lactic acid), and a blend. *Journal of Controlled Release*. 2002, 81, s. 57–64.

Kim K, Luu YK, Chang C, Fang D, Hsiao BS, Chu B, Hadjiargyrou M. Incorporation and controlled release of a hydrophilic antibiotic using poly(lactide-co-glycolide)-based electrospun nanofibrous scaffolds. *J Control Release*. 2004 Jul 23;98(1):47-56.

Kolambkar Y M, Dupont K M, Boerckel J D, Huebsch N, Mooney D J, Hutmacher D W and Guldberg R E An alginate-based hybrid system for growth factor delivery in the functional repair of large bone defects. *Biomaterials*. 2011, Vol. 32, Issue 1, Pages 65-74. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.08.074.

Kubínová Š., Syková E. Nanotechnology for Treatment of Stroke and Spinal Cord Injury. *Nanomedicine*. 2010; Vol. 5, Issue 1, Pp 99-108.

Leaper, D. J. Silver dressings: Their role in wound management. *International Wound Journal*. 2006, 3, 282–294.

Leuner, C. and Dressman, J. (2000) Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **50**, 47-60.

Lee L.J. Polymer Nanoengineering for Biomedical Applications. *Annals of Biomedical Engineering*, 2006, Vol. 34, No. 1, pp. 75–88.

Liakakos, T; Thomakos, N; Fine, PM; Dervenis, C; Young, RL (2001). "Peritoneal adhesions: etiology, pathophysiology, and clinical significance. Recent advances in prevention and management". *Digestive surgery* **18** (4): 260–73. doi:10.1159/000050149

Liu S, Zhao J, Ruan H, Tang T, Liu G, Yu D, Cui W, Fan C. Biomimetic sheath membrane via electrospinning for antiadhesion of repaired tendon. *Biomacromolecules*. 2012;13(11):3611-9.

Mahoney C, McCullough MB, Sankar J, Bhattarai N (2012) Nanofibrous Structure of Chitosan for Biomedical Applications. *J Nanomedic Biotherapeu Discover*. 2:102. doi:10.4172/2155-983X.1000102

Martindale, D.: *Scientific American* (2000), pp. 34–36.

Okuda T, Tominaga K, Kidoaki S. Time-programmed dual release formulation by multilayered drug-loaded nanofiber meshes. *J Control Release*. 2010 Apr, 19;143(2):258-64.

Pados G, Venetis CA, Almaloglou K, Tarlatzis BC. Prevention of intra-peritoneal adhesions in gynaecological surgery: theory and evidence. *Reprod Biomed Online*. 2010 Sep;21(3):290-303.

Park, J. B. – Lakes, R. S.: 1992 *Biomaterials—An Introduction* (New York: Plenum) pp 169–83.

Park SW, Bae HS, Xing ZC, Kwon OH, Huh MW, Kang IK. Preparation and properties of silver-containing nylon 6 nanofibers formed by electrospinning. *J Appl Polym Sci*. 2009, 112(4):2320-2326.

Pittenger, M. F. – Mackay, A. M. – Beck, S. C. – Jaiswal, R. K. – Douglas, R. – Mosca, J. D. – Moorman, M. A. – Simonetti, D. W. – Craig, S. – Marshak, D. R.: Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*. 1999;284:143–7.

Pramanik S., Pingguan-Murphy B., Osman N. A. A. Progress of key strategies in development of electrospun scaffolds: bone tissue. *Sci. Technol. Adv. Mater.* 2012, Vol. 13, P.043002 (13pp), doi:10.1088/1468-6996/13/4/043002

Price R.L., Ellison K., Haberstroh K.M., Webster T.J. Nanometer surface roughness increases select osteoblast adhesion on carbon nanofiber compacts. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2004, Volume 70A, Issue 1, pages 129–138. DOI: 10.1002/jbm.a.30073.

Schmidt S., Friedl P. Interstitial cell migration: integrin-dependent and alternative adhesion mechanisms. *Cell Tissue Res.* 2010;339:83-92.

Schneider A, Wang XY, Kaplan DL, Garlick JA, Egles C. Biofunctionalized electrospun silk mats as a topical bioactive dressing for accelerated wound healing. *Acta Biomater.* 2009 Sep;5(7):2570-8. doi: 10.1016/j.actbio.2008.12.013. Epub 2008 Dec 31.

Schnüriger B, Barmparas G, Branco BC, Lustenberger T, Inaba K, Demetriades D. Prevention of postoperative peritoneal adhesions: a review of the literature. *Am J Surg.* 2011 Jan;201(1):111-21. doi: 10.1016/j.amjsurg.2010.02.008.

Shalumon KT, Anulekha KH, Nair SV, Nair SV, Chennazhi KP, Jayakumar R. Sodium alginate/poly(vinyl alcohol)/nano ZnO composite nanofibers for antibacterial wound dressings. *Int J Biol Macromol.* 2011 Oct 1;49(3):247-54. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2011.04.005. Epub 2011 May 27.

Skotak M, Leonov AP, Larsen G, Noriega S, Subramanian A (2008) Biocompatible and biodegradable ultrafine fibrillar scaffold materials for tissue engineering by facile grafting of L-lactide onto chitosan. *Biomacromolecules*. 9:1902-1908.

Taepaiboon, P., Rungsardthong, U., Supaphol, P. (2006) Drug-loaded electrospun mats of poly(vinyl alcohol) fibres and their release characteristics of four model drugs, *Nanotechnology*, **17**, 2317-2329.

Toshkova R, Manolova N, Gardeva E, Ignatova M, Yossifova L, Rashkov I, Alexandrov M. Antitumor activity of quaternized chitosan-based electrospun implants against Graffi myeloid tumor. *Int J Pharm.* 2010 Nov 15;400(1-2):221-33. doi: 10.1016/j.ijpharm.2010.08.039. Epub 2010 Sep 9.

Unnithan AR, Barakat NA, Pichiah PB, Gnanasekaran G, Nirmala R, Cha YS, Jung CH, El-Newehy M, Kim HY. Wound-dressing materials with antibacterial activity from electrospun polyurethane-dextran nanofiber mats containing ciprofloxacin HCl. *Carbohydr Polym.* 2012 Nov 6;90(4):1786-93. doi: 10.1016/j.carbpol.2012.07.071. Epub 2012 Aug 3.

Vargas EA, do Vale Baracho NC, de Brito J, de Queiroz AA. Hyperbranched polyglycerol electrospun nanofibers for wound dressing applications. *Acta Biomater.* 2010 Mar;6(3):1069-78. doi: 10.1016/j.actbio.2009.09.018. Epub 2009 Sep 27.

Vasita R, Katti DS: Nanofibers and their applications in tissue engineering. *Int. J. Nanomedicine* 1(1),15–30 (2006). Vonnegut, B. – Neubauer, R. L.: *Journal of Colloid Science* 7 (1952), p. 616.

Verreck, G., Chun, I., Peeters, J., Rosenblatt, J. and Brewster, M. E. (2003) Preparation and characterization of nanofibers containing amorphous drug dispersions generated by electrostatic spinning, *Pharm Res*, **20**, 810-817.

Wallwiener M, Brucker S, Hierlemann H, Brochhausen C, Solomayer E, Wallwiener C. Innovative barriers for peritoneal adhesion prevention: liquid or solid? A rat uterine horn model. *Fertil Steril.* 2006 Oct;86(4 Suppl):1266-76.

Wright J. B., Lam K., Buret A. G., Olson M. E., Burrell R. E. Early healing events in a porcine model of contaminated wounds: Effects of nanocrystalline silver on matrix metalloproteinases, cell apoptosis, and healing. *Wound Repair and Regeneration*. 2002, 10, 141–151.

Xie, J. and Wang, C.H. Electrospun micro- and nanofibers for sustained delivery of paclitaxel to treat C6 glioma *in vitro*, *Pharm. Res.* (2006), **23**, 1817-1826.

Xu, X., Chen, X., Wang, Z., Jing, X. Ultrafine PEG–PLA fibers loaded with both paclitaxel and doxorubicin hydrochloride and their in vitro cytotoxicity, *Euro. J. Pharm. Biopharm.* (2009), **72**, 18-25.

Yeo Y., Kohane D.S. Polymers in the prevention of peritoneal adhesions. *Eur J Pharm Biopharm.* 2008 January; 68(1): 57–66.

Yoshimotoa, H. - Shina, Z. M. - Teraia, H. - Vacantia, J. P.: A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering, *Biomaterials* 24 (2003) 2077–2082.

Zeng J, Xu X, Chen X, Liang Q, Bian X, Yang L, Jing X: Biodegradable electrospun fibers for drug delivery. *Journal of Controlled Release.* 92 (2003) 227– 231

Zeng J., Yang L., Liang Q., Zhang X., Guan H., Xu X., Chen X., Jing X. Influence of the drug compatibility with polymer solution on the release kinetics of electrospun fiber formulation. *Journal of Controlled Release* 105 (2005) 43–51.

Zhang, Y.Z., Wang, X., Feng, Y., Li, J., Lim, C.T. and Ramakrishna, S. (2006) Coaxial electrospinning of fluorescein isothiocyanate – conjugated bovine serum albumin–encapsulated poly(ϵ -caprolactone) nanofibers for sustained release, *Biomacromolecules*, **7**, 1049-1057.

Zhang MQ, Cooper A, Jana S, Bhattarai N (2010) Aligned chitosan-based nanofibers for enhanced myogenesis. *Journal of Materials Chemistry* 20: 8904-8911.

Zhang, K., Jinglei, W., Huang, C. and Mo, X. (2012), Fabrication of Silk Fibroin/P(LLA-CL) Aligned Nanofibrous Scaffolds for Nerve Tissue Engineering. *Macromol. Mater. Eng.*, doi: 10.1002/mame.201200038.

Zhou Y., Yang H., Liu X., Mao J., Gu S., Xu W. Electrospinning of carboxyethyl chitosan/poly(vinyl alcohol)/silk fibroin nanoparticles for wound dressings. *International Journal of Biological Macromolecules* 53 (2013) 88– 92

Zong X, Kim K, Fang D, Ran S, Hsiao BS, Chu B. Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes. *Polymer.* 2002;43(16):4403–12.

Zong X, Li S, Chen E, Garlick B, Kim K, Fang D, Chiu J, Zimmerman T, Brathwaite C, Hsiao BS, Chu B. Prevention of post-surgery induced abdominal adhesions by electrospun bioabsorbable nanofibrous poly(lactide-co-glycolide) based membranes. *Ann Surg* 2004;240:910–915.

<http://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/biowire/nanofiber-scaffold-technology.html>