

SZTUCZNE MACIERZE POZAKOMÓRKOWE NA PODSTAWIE WŁÓKIEŃ KOLAGENA I PROTEOGLIKANÓW (PGS)

T. DOUGLAS*, U. HEMPEL**, C. MIETRACH**, S. HEINEMANN*, C. KNIEB*, S. BIERBAUM*, D. SCHARNWEBER*, H. WORCH*

*MAX BERGMANN CENTER OF BIOMATERIALS, INSTITUTE OF MATERIAL SCIENCE, TECHNISCHE UNIVERSITÄT DRESDEN, BUDAPESTER STRASSE 27, 01069 DRESDEN, GERMANY

**CENTRE OF THEORETICAL MEDICINE, INSTITUTE OF PHYSIOLOGICAL CHEMISTRY, TECHNISCHE UNIVERSITÄT DRESDEN, FIEDLER-STRASSE 42, 01307 DRESDEN, GERMANY
EMAIL: TIMOTHY.DOUGLAS@MAILBOX.TU-DRESDEN.DE

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60, (2006), 36-38]

Wstęp

Główny organiczny komponent kości, kolagen, został zastosowany jako sztuczna macierz pozakomórkowa w kształcie warstwy na implantach tytanowych oraz materiał w podłożach w inżynierii tkankowej. Proteoglikany (PGs) decorin i biglycan, składają się z jądra białkowego, które jest związane z łańcuchami z glikozaminoglikanów (GAGs) z siarczanu chondroitinowego (CS) albo dermatanowego (DS)

ARTIFICIAL EXTRACELLULAR MATRICES BASED ON COLLAGEN FIBRILS AND PROTEOGLYCANS (PGS)

T. DOUGLAS*, U. HEMPEL**, C. MIETRACH**, S. HEINEMANN*, C. KNIEB*, S. BIERBAUM*, D. SCHARNWEBER*, H. WORCH*

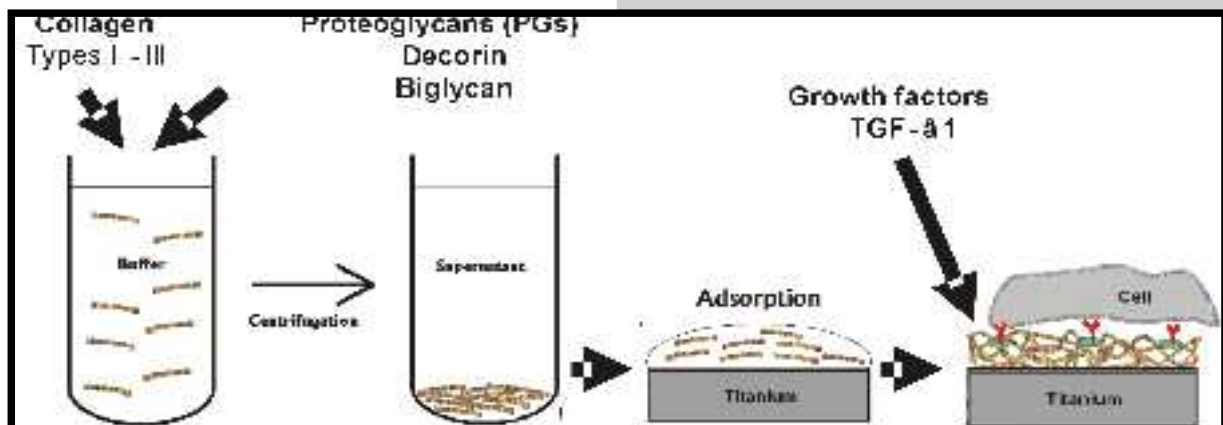
*MAX BERGMANN CENTER OF BIOMATERIALS, INSTITUTE OF MATERIAL SCIENCE, TECHNISCHE UNIVERSITÄT DRESDEN, BUDAPESTER STRASSE 27, 01069 DRESDEN, GERMANY

**CENTRE OF THEORETICAL MEDICINE, INSTITUTE OF PHYSIOLOGICAL CHEMISTRY, TECHNISCHE UNIVERSITÄT DRESDEN, FIEDLER-STRASSE 42, 01307 DRESDEN, GERMANY
EMAIL: TIMOTHY.DOUGLAS@MAILBOX.TU-DRESDEN.DE

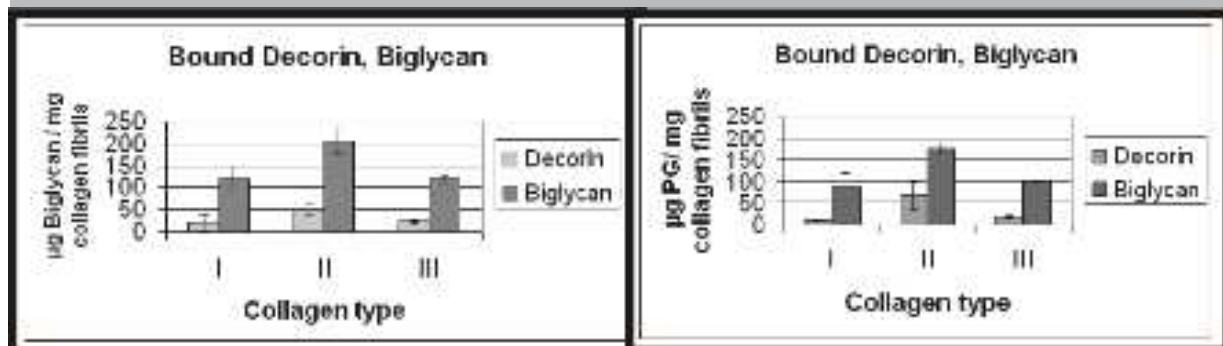
[Engineering of Biomaterials, 58-60, (2006), 36-38]

Introduction

Collagen, the main organic component of bone, has been used as an artificial extracellular matrix in the form of coatings on titanium implants and a scaffold material in tissue engineering. The proteoglycans (PGs) decorin and biglycan, consisting of a protein core connected to glycosaminoglycan (GAG) chains consisting of chondroitin (CS) or dermatan



RYS.1. Tworzenie sztucznych macierzy pozakomórkowych na powierzchniach tytanowych.
FIG.1. Formation of artificial extracellular matrices on titanium surfaces.



RYS.2. Masa związanego decorinu/biglycanu na mg włókien kolagenu typu I, II oraz III, ustalona za pomocą dimethylmethylene blue (po lewej stronie) i hexosamine (po prawej stronie) metod.
FIG.2. Mass decorin/biglycan bound per mg collagen type I, II and III fibrils as determined by dimethylmethylene blue (left) and hexosamine (right) assays.

i mogą się wiązać z włóknami kolagenu w czasie tworzenia włókien w stosownym buferze fosforanowym. CS oraz DS wpłynęły na zachowanie się kilka typów komórek [1] [2] [3]. PGs mogą wiązać czynniki wzrostu takie jak TGF- β 1, który stymuluje produkcję macierzy pozakomórkowej, i wpływać na ich działanie [4] [5] [6]. Celami tego badania były a) charakterystyka włókien kolagenu typu I, II oraz III odnośnie ilości związanego decorinu i biglycanu; b) badanie reakcji pierwotnych osteoblastów, hodowanych na powierzchniach pokrytych włóknami zawierającymi decorin albo biglycan; c) zaobserwowanie wpływu decorinu oraz biglycanu na działanie TGF- β 1-a na osteoblasty.

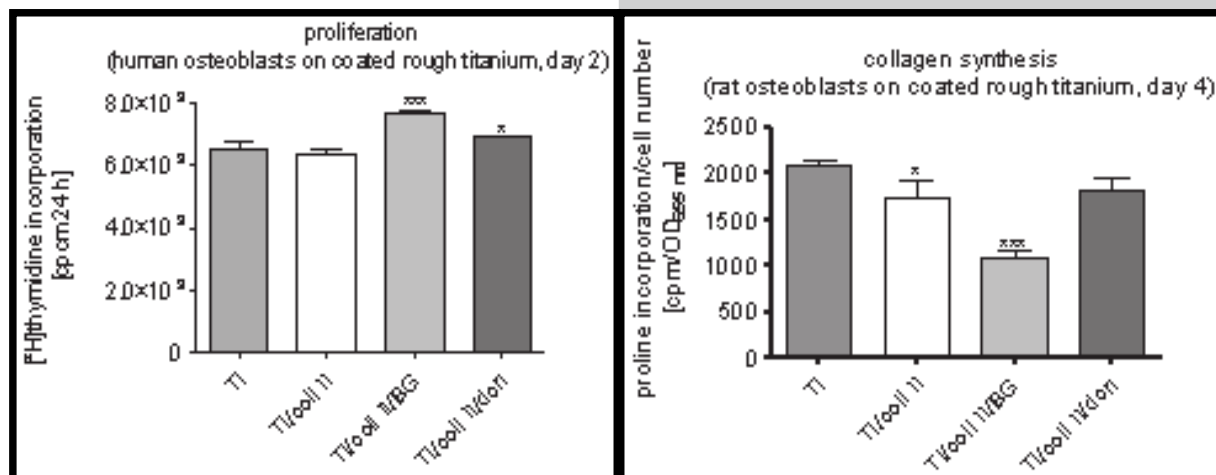
Materiały i metodyka

Włókna kolagenu typu I, II oraz III, zawierające decorin albo biglycan, utworzyły się w temperaturze 37°C w 30

(DS) sulphate, bind to collagen fibrils during fibril formation in an appropriate phosphate buffer solution. CS and DS have influenced the behaviour of several cell types [1] [2] [3]. PGs can also bind and influence the effect of growth factors (GFs) such as TGF- β 1, which stimulates extracellular matrix production [4] [5] [6]. The aims of this work were a) to characterise fibrils of the collagen types I, II and III with regard to amount of decorin and biglycan bound; b) to investigate the reaction of primary osteoblasts cultured on titanium surfaces coated with fibrils containing decorin and biglycan; c) to observe the influence of decorin and biglycan on TGF- β 1's effect on osteoblasts.

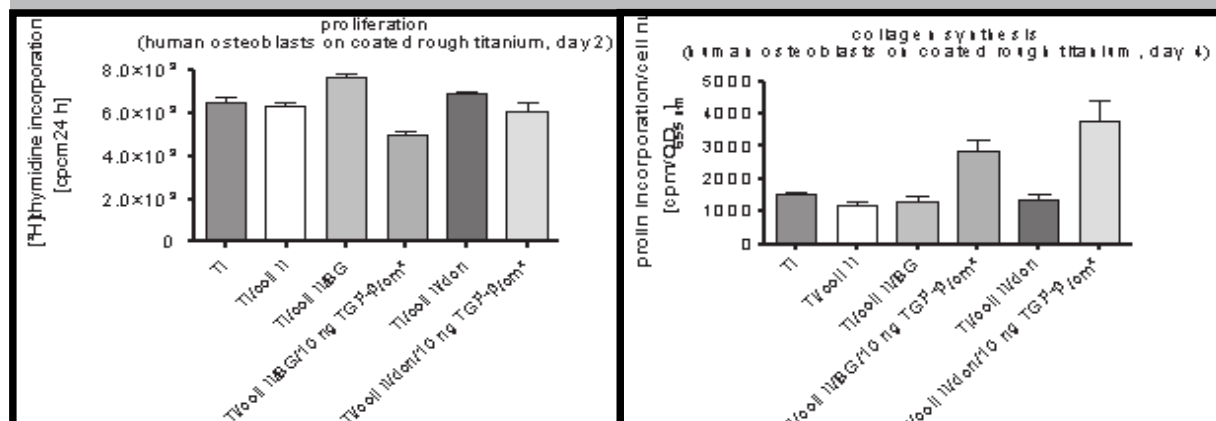
Materials and methods

Fibrils of collagen types I, II and III containing decorin and biglycan formed at 37°C in a 30 mM phosphate buffer



RYS.3. Działanie decorinu oraz biglycanu na proliferację ludzkich osteoblastów (po lewej stronie) i syntezę kolagenu szczurowymi osteoblastami (po prawej stronie).

FIG.3. Effect of decorin and biglycan on proliferation of human osteoblasts (left) and collagen synthesis of rat osteoblasts.



RYS.4. Wpływ decorinu oraz biglycanu na działanie TGF- β 1-a na proliferację ludzkich osteoblastów (po lewej stronie) i syntezę kolagenu (po prawej stronie) ludzkimi osteoblastami

FIG.4. Influence of decorin and biglycan on TGF- β 1's effect on proliferation (left) and collagen synthesis (right) of human osteoblasts.

Klucz do RYSUNKÓW 3 & 4 / Key to FIGURES 3 & 4

Ti	bez warstwy / Bare titanium/no coating
Ti/coll II	Włókna kolagenu typu II / Collagen II fibrils
Ti/coll II/BG	Włókna kolagenu typu II & biglycan / Collagen II fibrils & biglycan
Ti/coll II/Dec	Włókna kolagenu typu II & decorin / Collagen II fibrils & decorin
Ti/coll II/BG/10 ng TGF	Włókna kolagenu typu II & biglycan & TGF / Collagen II fibrils & biglycan & TGF
Ti/coll II/ Dec/10 ng TGF	Włókna kolagenu typu II & decorin & TGF / Collagen II fibrils & decorin & TGF

mM buferze fosforanowym, pH 7,4 w różnych stosunkach proteoglikanów do kolagenu. Zawartość proteoglikanów we włóknach została ustalona za pomocą dwóch różnych metod. [7] [8]. Morfologia włókien została zbadana za pomocą mikroskopu sił atomowych (AFM). Powierzchnie tytanowe zostały pokryte włóknami i w kilku przypadkach też TGF- β 1-em przez adsorpcję (RYS. 1). Potem na zmodyfikowanych powierzchniach zostały wyhodowane a) pierwotne szczurowe osteoblasty (RO); b) ludzkie (HO) osteoblasty. Zbadano parametry: adhezja, proliferacja i synteza kolagenu.

Wnioski i dyskusja

Decorin spowodował obniżkę grubości włókien, w odróżnieniu od biglycanu. Włókna kolagena typu II wiązały wyższą masę proteoglikanów niż włókna kolagena typów I oraz III: znacznie więcej biglycanu niż decorinu zostało związane we wszystkich trzech typach (RYS. 2). Biglycan wspomógł adhezję. Decorin i szczególnie biglycan stymulowały proliferację HO-ów; biglycan hamował syntezę kolagenu RO-ami, w odróżnieniu od biglycanu (RYS. 3). TGF- β 1 zwiększyło syntezę kolagenu przez HO i obniżyło ich proliferację; jednak przy obecności decorinu na miejscu biglycanu obniżenie proliferacji było mniejsze i zwiększenie syntezy kolagenu zwiększyło się (RYS. 4).

Podsumowanie

Różne typy kolagenu wykazują różne zdolności do wiązania proteoglikanów, przy czym się wiąże więcej biglycanu niż decorinu. Biglycan oraz decorin, związane do włókien kolagenu typu II, wspomogły proliferację pierwotnych ludzkich komórek osteoblastycznych. Poza tym wygląda, że obecność biglycanu oraz decorinu wpływa na działanie TGF- β 1-a. Te wnioski mogą mieć znaczenie przy projektowaniu sztucznych macierzy pozakomórkowych, szczególnie jeżeli zawierają czynniki wzrostu.

Podziękowania

Autorzy dziękują BMBF-u (Niemieckiemu Ministerstwu Federalnemu do spraw Edukacji i Badań) za wsparcie finansowe.

at pH 7.4 at different PG:collagen ratios. PG content of fibrils was determined using two different methods [7] [8]. Fibril morphology was studied by atomic force microscopy (AFM). Titanium surfaces were coated with fibrils and in some cases also with TGF- β 1 by adsorption (FIG.1). Primary rat (RO) or human (HO) osteoblasts were then cultured on the modified surfaces. The parameters investigated were: adhesion, proliferation and collagen synthesis.

Results and discussion

Decorin caused a reduction in fibril diameter, but biglycan did not. Collagen type II fibrils bound more PGs than fibrils of types I and III: considerably more biglycan than decorin was bound by all collagen types (FIG.2). Biglycan promoted the formation of focal adhesions. Decorin and especially biglycan promoted HO proliferation; biglycan but not decorin inhibited RO collagen synthesis (FIG.3). TGF- β 1 reduced the proliferation and enhanced the collagen synthesis of HOs; however, the decrease in proliferation was lower and the increase in collagen synthesis was higher when decorin was present instead of biglycan (FIG.4).

Summary

Different collagen types show differing abilities to bind PGs, with more biglycan bound than decorin. Biglycan and decorin bound to collagen II fibrils improved primary human osteoblast proliferation. Furthermore, the effect of TGF- β 1 seems to be influenced by the presence of biglycan and decorin. These results could be important when designing collagen-based extracellular matrices, especially those containing GFs.

Acknowledgements

The authors are grateful to the Bundesministerium für Bildung und Forschung (German Federal Ministry of Education and Research) for their financial support.

Piśmiennictwo

- [1] Bierbaum S et al. (2006) J Biomed Mater Res A 77, 551-562
- [2] van Susante J et al. (2001) Biomaterials 22, 2359-2369,
- [3] Zhong S et al. (2005) Biomacromolecules 6, 2998-3004
- [4] Hausser H et al. (1994). FEBS Lett 353 (3), 243-245

References

- [5] Takeuchi Y et al. (1994) J Biol Chem. 269(51), 32634-32638
- [6] Moreno M et al. (2005) Embo J 24 (7), 1397-1405
- [7] Yannas IV. et al. (1980) J Biomed Mater Res 14, 107-32
- [8] Chou CH. et al. (2006) J Biomed Mater Res B Appl Biomater 77, 338-348