

## **Streszczenie rozprawy doktorskiej „Bioaktywne nanokompozyty dla potrzeb inżynierii tkankowej”**

Niezdrowy styl życia, starzejące się społeczeństwo czy szybki rozwój cywilizacyjny mogą prowadzić do różnego rodzaju schorzeń i urazów, co wzmagają zapotrzebowanie na przeszczepy i uzupełnienia powstałych ubytków tkanek. W szczególności, ograniczona aktywność fizyczna, otyłość oraz procesy starzenia powodują wzrost występowania urazów układu kostnego. Zbyt duże uszkodzenie tkanki kostnej spowodowane przez urazy bądź choroby przewlekłe może uniemożliwić organizmowi podjęcie procesu regeneracji. Dlatego też rozwijane są różnorodne podejścia, które mogłyby ułatwić odbudowę tkanek. W ostatnich latach obserwuje się rosnące zainteresowanie inżynierią tkankową jako alternatywą dla standardowo stosowanych metod leczenia. Oczekuje się, że podejście to pozwoli na wyeliminowanie powszechnie występujących problemów z przeszczepami narządów (odrzućenie przez organizm przeszczepu czy brak dawcy), jak również wykluczy stosowanie materiałów o stosunkowo niskiej biozgodności, co jest przyczyną częstych powikłań pooperacyjnych. Inżynieria tkankowa jest dziedziną medycyny regeneracyjnej, a jej założeniem jest zastępowanie brakujących bądź uszkodzonych tkanek właściwie zaprojektowanym biomateriałem, stymulującym odbudowę odpowiednich struktur organizmu. W przypadku poważnego uszkodzenia tkanki, zniszczone zostają nie tylko komórki, ale także macierz zewnątrzkomórkowa (ECM - *extracellular matrix*). Macierz zewnątrzkomórkowa stanowi naturalne rusztowanie dla komórek, z którymi tworzy tkankę. Dlatego też nową tkankę tworzy się na bazie komórek, które są osadzone na odpowiednim substytucie ECM, co pozwala na wspomaganie rozwoju tkanki. Trójwymiarowymi substytutami ECM są tzw. skafoldy, czyli sztuczne rusztowania komórkowe. Dobrze zaprojektowane, powinny być korzystną konstrukcją dla adhezji, namnażania oraz różnicowania się komórek, przez co mogą spełniać równocześnie wiele istotnych funkcji. Z tego względu niezwykle istotną rolę odgrywa materiał wykorzystany do wytworzenia skafoldów. Stosuje się w tym celu takie materiały jak metale, bioceramikę, polimery czy kompozyty, które muszą się charakteryzować odpowiednią biozgodnością. Jednymi z najczęściej badanych materiałów, które można zastosować do wytworzenia sztucznych rusztowań są polimerowe hydrożele. Dzięki swoim fizycznym właściwościom, upodabniającymi je do naturalnych tkanek, biozgodności i możliwości dyfuzji różnych substancji, hydrożele tworzą wydajne środowisko do wzrostu komórek. Obecnie powszechnie rozwijanym podejściem jest projektowanie materiałów nowej generacji, jakimi są funkcjonalne nanokompozyty. Ich interesująca struktura i właściwości sprawiają, że mogą być one użyte jako sztuczne rusztowania komórkowe do odbudowy tkanek, w tym tkanki kostnej. Mając na uwadze fakt, iż do tej pory nie udało się uzyskać materiału, który byłby całkowicie obojętny dla organizmu i posiadał właściwości takie jak żywa tkanka, **przedmiotem badań realizowanych w ramach interdyscyplinarnej pracy doktorskiej było zaprojektowanie,**

**otrzymanie i scharakteryzowanie bioaktywnych nanokompozytów, potencjalnie przydatnych jako rusztowania (skafoldy) do hodowli komórkowych dla potrzeb inżynierii tkankowej, w szczególności do regeneracji tkanki kostnej.** Opracowywane nanokompozyty bazowały na matrycy hydrożelowej, w której rozpraszane były dodatkowe komponenty nieorganiczne, tworząc stabilne strukturalnie materiały o pożądanych właściwościach, zależnych od składu nanokompozytów.

Niniejsza rozprawa zawiera przegląd literatury (**rozdziały 1-6**), dotyczący istotnych aspektów i osiągnięć inżynierii tkankowej, z wyszczególnieniem inżynierii tkankowej kości, projektowania rusztowań komórkowych, polimerowych hydrożeli i funkcjonalnych nanokompozytów jako atrakcyjnych materiałów przydatnych do otrzymywania skafoldów oraz metody druku 3D, zyskującej coraz większe zainteresowanie w obszarze medycyny regeneracyjnej. W rozdziałach odnoszących się do hydrożeli i nanokompozytów skupiono się na opisie komponentów, które wykorzystano do otrzymywania nanokompozytów w ramach pracy doktorskiej. Były nimi biopolimery – kolagen, chitozan i kwas hialuronowy oraz komponenty nieorganiczne – cząstki krzemionki i nanocząstki magnetyczne, przedstawione w kontekście tworzenia wielofunkcyjnych bioaktywnych nanokompozytów przydatnych w regeneracji tkanki kostnej z wykorzystaniem leku przeciwosteoporotycznego alendronianu sodu czy właściwości magnetycznych.

Część eksperymentalna rozprawy składa się z czterech głównych części (**I-IV**), każda z nich zawiera wprowadzenie, opis stosowanych materiałów i metod, wyniki badań i ich dyskusję oraz podsumowanie. Część I (**rozdziały 7 i 8**) dotyczy otrzymania i scharakteryzowania właściwości fizykochemicznych i biologicznych nanokompozytów opartych na hydrożelowej matrycy i cząstkach krzemionki, potencjalnie przydatnych jako wstrzykiwalne bioaktywne rusztowania do regeneracji tkanki kostnej. Matryca hydrożelowa na bazie kolagenu, chitozanu i kwasu hialuronowego została zoptymalizowana pod kątem zawartości biopolimerów oraz stężenia czynnika sieciującego (genipiny). Następnie do wybranej matrycy wprowadzono cząstki krzemionki funkcjonalizowane grupami aminowymi, tworząc stabilny bioaktywny materiał hybrydowy. Grupy funkcyjne na powierzchni cząstek krzemionki zapewniły wbudowanie się ich w strukturę hydrożelu (grupy aminowe) oraz indukowanie fazy mineralnej na materiałach w obecności symulowanego sztucznego osocza (grupy silanolowe). Część II (**rozdziały 9 i 10**) dotyczy otrzymania i scharakteryzowania właściwości fizykochemicznych i biologicznych nanokompozytów opartych na hydrożelowej matrycy i cząstkach krzemionkowo-apatytowych z przyłączonym lekiem przeciwosteoporotycznym, potencjalnie przydatnych jako wstrzykiwalne rusztowania do odbudowy tkanki kostnej, w szczególności niewielkich ubytków kostnych spowodowanych osteoporozą. Matryca hydrożelowa została udoskonalona poprzez wykorzystanie funkcjonalizowanego grupami aminowymi kwasu hialuronowego, który dzięki modyfikacji mógł być chemicznie sieciowany genipiną razem z kolagenem i chitozanem. Następnie do wybranej matrycy wprowadzono cząstki krzemionkowo-apatytowe z przyłączonym alendronianem sodu - lekiem przeciwosteoporotycznym, otrzymując układ mogący wspierać regenerację tkanki kostnej i posiadający potencjał terapeutyczny w leczeniu osteoporozy. Materiał przetestowano zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo*. Część III (**rozdział 11**) dotyczy otrzymania i scharakteryzowania właściwości fizykochemicznych i biologicznych nanokompozytów

opartych na hydrożelowej matrycy i nanocząstkach magnetycznych, określanych jako hydrożele magnetyczne, potencjalnie przydatnych do zastosowań w inżynierii tkankowej kości z możliwością wspomagania regeneracji zewnętrznym polem magnetycznym. Fazę magnetyczną stanowiły superparamagnetyczne nanocząstki tlenku żelaza (SPION), które opłaszczano kationową pochodną chitozanu. Następnie wprowadzano je do matrycy hydrożelowej na bazie kolagenu i chitozanu sieciowanej genipiną, uzyskując stabilny strukturalnie hydrożel o właściwościach superparamagnetycznych. Polimerowe otoczki nanocząstek umożliwiły ich kowalencyjne związanie z matrycą hydrożelową, zapobiegając separacji faz i agregacji. Ostatnia część – IV (**rozdział 12**) dotyczy opracowania i wstępnego scharakteryzowania właściwości fizykochemicznych i biologicznych rusztowań 3D, wytwarzanych techniką druku 3D z zastosowaniem metody ekstruzji. Optymalizowano skład i sposób sieciowania lepkich past biopolimerowych jako atramentów do drukowania, wykorzystując biopolimery stosowane we wcześniejszych etapach badań w ramach niniejszej pracy doktorskiej. Wybraną pastę biopolimerową wzbogacano o komponenty nieorganiczne opracowane także we wcześniejszych etapach badań – cząstki krzemionki oraz nanocząstki magnetyczne i badano ich wpływ na efektywność procesu drukowania oraz stabilność otrzymanych rusztowań 3D.

Rozprawę kończą podsumowanie i wnioski z całości badań prowadzonych w ramach pracy doktorskiej oraz dorobek naukowy Autorki rozprawy.

