

STRESZCZENIE

Obserwowany rozwój wielu groźnych chorób, często o charakterze społecznym, duża ilość kontuzji i wypadków zachodzący przy jednocześnie starzejącym się społeczeństwie, wszystko to wymusza konieczność poszukiwania wielu nowych, efektywnych rozwiązań leczniczych. Dużą nadzieją na zminimalizowanie dotychczasowych ograniczeń oraz przywrócenie do zdrowia wielu, nawet o zaawansowanym wieku pacjentów, jest inżynieria tkankowa. Pomimo długotrwałych badań nad biomateriałami stosowanymi w inżynierii tkankowej, wciąż prowadzone są prace nad uzyskaniem optymalnego specjalistycznego materiału, przeznaczonego do formowania syntetycznych rusztowań komórkowych, a zarazem o własnościach wspierających wzrost i aktywację komórek podczas ich hodowli.

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej było wyszukanie i otrzymanie optymalnych bioresorbowalnych materiałów polimerowych (kopolimerów i terpolimerów alifatycznych poliestrów, poliestroamin, poliamidoamin) biozgodnych, o własnościach, pozwalających na relatywnie łatwą ich modyfikację białkami, czy innymi aktywnymi biologicznie związkami, jednocześnie spełniających wymagania zastosowania w inżynierii tkankowej, jako materiału do formowania trójwymiarowych podłoży komórkowych.

W części literaturowej rozprawy przedstawiono ideę inżynierii tkankowej oraz czynniki wpływające na właściwości fizykochemiczne i aktywność biologiczną podłoży. Omówiono także kryteria stawiane materiałom stosowanym w inżynierii tkankowej oraz potencjalne możliwości zastosowania wybranych związków o charakterze endogennym w szeroko pojętej medycynie. Przedstawiono problem infekcji podczas implantacji, wywołanymi przez szczepy bakteryjne, jak i wpływ obecności zakażeń bakteryjnych na przebieg hodowli komórek. W części tej omówiono krótko sposoby otrzymywania i modyfikowania bioresorbowalnych poliestrów do zastosowań w inżynierii tkankowej, oraz zagadnienia związane z osiągnięciami w syntezie i aplikacji ich w medycynie.

Część doświadczalna przedstawia cel i zakres rozprawy doktorskiej, zestawienie zastosowanych materiałów, technik oraz metod używanych w czasie realizacji pracy badawczej a także przedstawiono szczegółowe procedury poszczególnych wykonywanych modyfikacji monomerów i syntez. W niniejszej pracy przedstawiono przebieg syntez poszczególnych oligomerów, kopolimerów i terpolimerów oraz dokonano charakterystyki otrzymanych materiałów. Omówiono wpływ wprowadzenia grup hydroksylowych i aminowych do łańcucha polimeru na wybrane jego właściwości. Przedstawiono, wyniki podstawowych badań biologicznych (badania cytotoksyczności i bakteriobójczości) pozwalających ocenić przydatność otrzymanych materiałów do założonych celów. Zamieszczono również wyniki badań profilu degradacji *in vitro* w warunkach

hydrolitycznych i enzymatycznych. Z wybranych przykładowych materiałów polimerowych, w celu przetestowania ich przydatności wytworzono trójwymiarowe porowate podłoża do hodowli komórek oraz wykonano nanowłókna metodą elektroprzędzenia.

Na podstawie przeprowadzonych badań wynika, że część zsyntetyzowanych materiałów ze względu na swoją budowę i własności powinno gwarantować poprawę właściwości biologicznych, a przez to znacznie ułatwić warunki hodowli komórek na podłożach formowanych z tych materiałów w porównaniu do powszechnie stosowanych do tych celów typowych poliestrów alifatycznych. Poprzez wprowadzenie do głównego łańcucha grup amidowych, peptydów, sekwencji estrów kwasów obecnych w cyklu Krebsa czy grup funkcyjnych (hydroksylowych czy aminowych) możliwe jest uzyskanie wyciszenia odpowiedzi zapalnych, wspieranie adhezji i proliferacji komórek, oraz uruchomienia przebiegu degradacji kontrolowanej enzymatycznie.

Niniejsza praca pokazuje, że oczekiwany efekt można osiągnąć na etapie syntezy polimerów poprzez odpowiedni dobór składu mieszaniny reakcyjnej, rodzaju zastosowanego inicjatora, warunków prowadzonej kopolimeryzacji. Otrzymane rusztowania do hodowli komórek, formowane z wybranych opisanych w pracy polimerów wykazują bakteriobójczość, co sprawia spadek aktywności patogenów i zahamuje ewentualne infekcje bakteryjne. Szeroka gama otrzymanych podczas realizacji pracy materiałów polimerowych, oferuje duże możliwości doboru najbardziej odpowiednich materiałów, pozwalających na zastosowania w biomedycynie z perspektywą relatywnie łatwej ich dalszej modyfikacji. Przedstawione badania mają oczywiście w dużej mierze charakter badań wstępnych, przesiewowych, otrzymane wyniki są jednak drogowskazem i punktem startowym dla dalszych bardziej specjalistycznych badań rozwojowych w tym obszarze.

SUMMARY

The observed development of dangerous diseases, often of a social nature, and a significant increase in injuries and accidents occurring in the context of an ageing population, all this force the need to look for many new, effective therapeutic solutions. Tissue engineering is a great hope for minimizing the current limitations and restoring health to many, even at an advanced age patient. Despite long-term research on biomaterials used in tissue engineering, work is still being carried out to obtain an optimal specialized material intended for the formation of synthetic cell scaffolds, and at the same time with properties supporting the growth and activation of cells during their culture.

The purpose of this doctoral dissertation was to search for the optimal bioresorbable polymeric materials (copolymers and terpolymers of aliphatic polyesters, polyesteramines, polyamidoamines) biocompatible, with properties that allow for relatively easy modification with proteins or other biologically active compounds, while meeting the requirements for use in tissue engineering, as a material for forming three-dimensional cell substrates.

The literature part of the dissertation presents the idea of tissue engineering and the factors influencing the physicochemical properties and biological activity of the scaffolds. The selection criteria for materials used in tissue engineering and the potential applications of selected endogenous compounds in broadly understood medicine are also discussed. The problem of bacterial infections during implantation, as well as the impact of bacteria during the cell culture, are presented. This section briefly discusses the methods of obtaining and modifying bioresorbable polyesters for biomedical use, as well as issues related to the achievements in their synthesis and application in medicine.

The experimental part presents the purpose and scope of the doctoral dissertation, a summary of the materials, techniques and methods used during the research work, as well as detailed procedures for individual modifications of monomers and syntheses. This paper presents the course of synthesis of individual oligomers, copolymers and terpolymers and characterizes the obtained materials. The influence of the introduction of hydroxyl and amino groups to the polymer chain on its properties is discussed. The results of basic biological tests (cytotoxicity and bactericidal tests) allowing to assess the usefulness of the obtained materials for the assumed purposes are presented too. The results of the in vitro degradation profile under hydrolytic and enzymatic conditions are also included. The selected polymers were tested as a material for the formation of the scaffolds.

Based on the conducted research, it appears that selected synthesized materials, due to their structure and properties, should guarantee the improvement of biological attributes, and consequently significantly facilitate the conditions of cell culture on the scaffolds formed with these materials compared to typical aliphatic polyesters commonly used for these purposes. By introducing amide groups, peptides, sequences of esters of acids present in the Krebs cycle or functional groups (hydroxyl or amino) to the main chain, it is possible to obtain the suppression of inflammatory responses, support cell adhesion and proliferation, and start the process of enzymatically controlled degradation.

This work shows that the expected effect can be achieved at the stage of polymer synthesis by the appropriate selection of the composition of the reaction mixture, the type of initiator used, and the copolymerization conditions. The obtained scaffolds for cell culture, formed from selected polymers described in the work, show bactericidal activity, which reduces the activity of pathogens and inhibits possible bacterial infections. A wide range of polymeric materials obtained during the work offers great opportunities to select the most appropriate materials, for biomedical applications, with the prospect of relatively easy further modification. The presented research is, of course, to a large extent preliminary, screening, but the results obtained are a signpost and a starting point for further specialized development research in this area.