

Streszczenie

Na przestrzeni ostatnich kilkudziesięciu lat biomateriały zyskały ogromne znaczenie zarówno w medycynie, jak i w inżynierii tkankowej. Podstawową właściwością, która musi cechować każdy biomateriał jest biokompatybilność, co oznacza, że obecność ciała stałego po wprowadzeniu do organizmu pacjenta nie będzie powodować niepożądanych efektów ubocznych. Na biogodność wpływa wiele parametrów powierzchniowych materiału. Najważniejsze z nich to skład chemiczny, topografia oraz zwilżalność. Niezwykle istotne jest, aby prowadząc badania podstawowe odpowiednio zaprojektować układy, które pozwolą uzyskać kontrolę nad właściwościami fizykochemicznymi powierzchni biomateriału, a tym samym zapewnią pozytywną odpowiedź pacjenta.

Jednym z często stosowanych polimerów do wytwarzania biomateriałów w inżynierii tkankowej jest poli(tereftalan etylenu), PET. PET służy między innymi do produkcji stentów naczyń krwionośnych i/lub ich pokryć. Jednak jego niska swobodna energia powierzchniowa ogranicza biokompatybilność, a w konsekwencji wykorzystanie medyczne. Dlatego też, konieczna jest modyfikacja jego powierzchni poprzez aktywację plazmą i/lub pokrycie filmem substancji przyjaznych dla organizmu. W tym aspekcie na uwagę zasługuje naturalny polisacharyd, chitozan (Ch), który charakteryzuje się biokompatybilnością, biodegradowalnością oraz właściwościami przeciwdrobnoustrojowymi. Jednakże, w kontakcie z krwią Ch przyjmuje ładunek dodatni, co może powodować powstawanie skrzepu w wyniku adhezji ujemnie naładowanych elementów morfotycznych krwi. Taki proces poza zwężeniem stentu może prowadzić do odrzucenia wszczepu. W celu przeciwdziałania konieczne jest wprowadzenie dodatkowych substancji biologicznych, które modyfikując ładunek powierzchniowy filmu chitozanu, mogą uczynić go mniej trombogennym. Jedną z nich jest 1,2-dioleilo-*sn*-glicero-3-fosfocholina (DOPC), która reprezentuje fosfolipidy. Stanowią one podstawowy składnik budulcowy błon komórkowych, dlatego DOPC może pełnić rolę naturalnego łącznika między sztucznym biomateriałem a tkankami pacjenta. Ponadto wprowadzenie leku immunosupresyjnego cyklosporyny A (CsA), stosowego w medycynie głównie w celu zapobiegania odrzuceniu przeszczepu, zapewni jego dostarczenie bezpośrednio do odpowiedniej tkanki, jednocześnie eliminując problem niskiej biodostępności CsA podczas przyjmowania doustnego. Jednakże terapia z udziałem CsA powoduje wiele skutków ubocznych związanych z powstawaniem wolnych rodników, które mogą uszkadzać tkanki. Dlatego też, dodanie kolejnej substancji, posiadającej właściwości przeciwutleniające, przykładowo galusanu laurylu (LG) wydaje się być niezbędne. LG jest pochodną kwasu

galusowego, która wykazuje znaczną aktywność przeciwutleniającą. Dzięki temu może efektywnie wychwytywać wolne rodniki chroniąc błony komórkowe przed utlenieniem.

Celem pracy było zaprojektowanie i scharakteryzowanie nowoczesnych powłok dla implantów/stentów o szerokim potencjale aplikacyjnym w inżynierii tkankowej. Realizując zamierzony cel w pierwszym etapie scharakteryzowano właściwości monowarstw badanych związków (DOPC, CsA i/lub LG) uzyskanych na ciekłej fazie nośnej, którą stanowiła woda, roztwór kwasu octowego lub roztwór chitozanu. Określono organizację cząsteczek podczas procesu sprężania, ich wzajemne oddziaływania pod względem jakościowym i ilościowym, oraz wpływ rodzaju subfazy na właściwości filmów, szczególnie w aspekcie stabilności termodynamicznej.

W kolejnym etapie dokonano wyboru optymalnych warunków przenoszenia monowarstw na podłoże stałe w oparciu o badania stabilności i relaksacji w funkcji czasu oraz proces sprężania-rozprężania określony zadaniem ciśnieniem powierzchniowym. Następnie monowarstwy odpowiednio sprężone przenoszono na nośnik PET aktywowany plazmą, a także inne podłoża (mikę, mikę pokrytą złotem i/lub szkło pokryte złotem, kryształ kwarcu z napyłonymi elektrodami złotymi) w zależności od zastosowanej techniki badawczej. Monowarstwy przenoszono z subfazy ciekłej na nośnik stały bezpośrednio po osiągnięciu zadanej wartości ciśnienia powierzchniowego uzyskując zadowalające wartości współczynnika przeniesienia. Opisano efektywność przenoszenia, stopień i jakość pokrycia powierzchni. W ostatnim etapie scharakteryzowano topografię powierzchni oraz jej organizację cząsteczkową i zwilżalność, które ściśle determinują biokompatybilność biomateriałów.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że wszystkie monowarstwy znajdują się w stanie ciekłym rozprężonym i/lub stanie pośrednim ciecz rozprężona-ciecz skondensowana, co doskonale odwzorowuje warunki panujące w naturalnych błonach biologicznych. Wprowadzenie chitozanu do fazy nośnej zwiększa upakowanie monowarstw. Dodanie LG jako kolejnego składnika monowarstw DOPC-CsA zmienia charakter oddziaływań z odpychającego na przyciągający poprzez lepsze dopasowanie strukturalne, co także wpływa na zwiększenie stabilności termodynamicznej badanych filmów.

Przedstawiony w pracy mechanizm oddziaływań pomiędzy DOPC, CsA i LG zakłada, że LG lokuje się blisko wiązań nienasyconych fosfolipidu, aby chronić je przed utlenianiem. Ponadto łańcuchy węglowodorowe DOPC i LG zapewniają hydrofobowe środowisko dla leku cyklosporyny A, przez co może ona zmieniać swoją konformację z „otwartej” na „zamkniętą”. Taki proces ma miejsce w dyfuzji biernej podczas przechodzenia leku przez błony.

Mikroskopia sił atomowych (AFM) pozwoliła na wyznaczenie chropowatości osadzonych monowarstw oraz wykazała, że rodzaj podłoża znacząco wpływa na ten parametr. Spektrometria masowa jonów wtórnych z analizatorem czasu przelotu (TOF-SIMS) potwierdziła, że cząsteczki LG lokują się blisko DOPC. Co więcej, wykazała, że obecność Ch poprawia organizację cząsteczkową monowarstw. Pomiary kąta zwilżania wody, formamidu i diiodometanu dowiodły, że modyfikacja PET plazmą oraz monowarstwami powoduje wzrost swobodnej energii powierzchniowej polimeru. Zapewnia to lepsze właściwości hydrofilowo-hydrofobowe materiału stosowanego w inżynierii tkankowej, co pozwala na oddziaływanie z substancjami o różnej polarności.

Badania wskazują, że otrzymane filmy wieloskładnikowe są odpowiednie do uzyskania powierzchni biokompatybilnej o szerokim spektrum zastosowań biomedycznych. Ponadto mogą być pomocne w dalszych etapach badań *in vitro* oraz *in vivo*.