

BIOIMPLANTY KOŚCI - INNOWACYJNE ROZWIĄZANIA DLA MEDYCYNY REGENERACYJNEJ

Konferencja naukowa prezentująca wyniki badań prowadzonych w ramach projektu „Wielofunkcyjny materiał kompozytowy o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych i proregeneracyjnych do odbudowy tkanki kostnej”





Łukasiewicz

Instytut Ceramiki
i Materiałów Budowlanych

Grupa Badawcza

BIOMATERIAŁY

to interdyscyplinarny zespół badawczy składający się ze specjalistów w zakresie: chemii, inżynierii materiałowej, ceramiki i polimerów, dysponujący najnowocześniejszym zapleczem badawczym i laboratoryjnym.



- ✓ biokompozyty polimerowo-ceramiczne
- ✓ bioszkiełka o właściwościach przeciwbakteryjnych
- ✓ ceramiczne nośniki komórek do stosowania w inżynierii tkankowej
 - ✓ hydrożele i masy kompozytowe do biodruku 3D
- ✓ syntetyczne cząstki hydroksyapatytowe o różnej morfologii
 - ✓ cementy do wybranych zastosowań w endodoncji
- ✓ syntetyczne włókna, nanocząstki apatytowe oraz bioszkiełka do biokompozytów polimerowych

ZAPRASZAMY DO WSPÓŁPRACY



Grupa Badawcza Biomateriały

dr inż. Monika Biernat
tel. 519 331 830
monika.biernat@icimb.lukasiewicz.gov.pl

Komercjalizacja i Sprzedaż

Agata Błaszczyk-Pasteczka
tel. 500 217 415
agata.blaszczyk-pasteczka
@icimb.lukasiewicz.gov.pl



BIOIMPLANTY KOŚCI – INNOWACYJNE ROZWIĄZANIA DLA MEDYCYNY REGENERACYJNEJ

Konferencja naukowa prezentująca wyniki badań prowadzonych w ramach projektu pt. „Wielofunkcyjny materiał kompozytowy o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych i proregeneracyjnych do odbudowy tkanki kostnej”

PROGRAM KONFERENCJI

Warszawa, 10 marca 2023 r.

9.30–9.45	Otwarcie konferencji – dr hab. inż. Paweł Pichniarczyk, prof. AGH, Dyrektor Ł-ICiMB	
9.45–10.00	Wprowadzenie do konferencji – dr inż. Zbigniew Jaegermann, Ł-ICiMB, kierownik projektu	
10.00–10.15*	<i>Jak zostać cyborgiem, by żyć dłużej. Nowe biomateriały w procesie regeneracji</i> – prof. dr hab. Sylwia Rodziewicz-Motowidło, UG	s. 14
10.15–10.30	<i>Bioszklą jako składnik wielofunkcyjnych materiałów kompozytowych do odbudowy tkanki kostnej</i> – mgr inż. Lidia Ciołek, Ł-ICiMB	s. 16
10.30–10.45	<i>Funkcjonalizacja cząstek bioszklą aminokwasem egzogennym</i> – mgr inż. Anna Krokos, PWr	s. 18
10.45–11.00	<i>Metody analizy właściwości przeciwbakteryjnych bioszkieł oraz kompozytów</i> – mgr Piotr Bollin, IBMM	s. 20
11.00–11.15	<i>Sposoby wprowadzania składników aktywnych biologicznie w postaci peptydów do porowatych kompozytów chitozanowych</i> – mgr inż. Anna Woźniak, Ł-ICiMB	s. 22
11.15–11.30	<i>Synteza maleimidoglicyny, sposób przyłączenia jej do chitozanu i wyznaczenie stopnia modyfikacji chitozanu</i> – dr Natalia Karska, UG	s. 24
11.30–11.45	<i>Synteza i analiza fizykochemiczna koniugatu chitozan-peptyd oraz charakterystyka peptydów o potencjale proregeneracyjnym</i> – mgr inż. Agnieszka Kubiś, UG	s. 26
11.45–12.00	<i>Peptydy o właściwościach przeciwbakteryjnych ug36/39 oraz ug46 – charakterystyka fizykochemiczna i strukturalna</i> – dr Justyna Sawicka, UG	s. 28
12.00–13.00	Przerwa obiadowa	
13.00–13.15	<i>Innowacyjne rozwiązania w zakresie biomateriałów wykorzystywanych w regeneracji kości oraz w procesach gojenia ran</i> – mgr Beata Gromadzka, IBMM	s. 30
13.15–13.30	<i>Peptyd ug46 o właściwościach proregeneracyjnych i przeciwwzapalnych jako dodatek do porowatych biokompozytów na bazie chitozanu i bioszklą w celu poprawy regeneracji kości</i> – dr Mirosława Panasiuk, IBMM	s. 32
13.30–13.45	<i>Synteza, optymalizacja i funkcjonalizacja poli(adypinianu glicerolu)</i> – dr inż. Małgorzata Gazińska/dr inż. Ewelina Ortyl, PWr	s. 34
13.45–14.00	<i>Formowanie litych i porowatych kompozytów PGA-bioszklą-peptyd</i> – dr hab. inż. Konrad Szustakiewicz, prof. PWr	s. 36
14.00–14.15	<i>Właściwości termiczne, mechaniczne i biologiczne biokompozytów PGA-bioszklą-peptyd</i> – dr inż. Michał Grzymajło, PWr	s. 38
14.15–14.30	<i>Metody sieciowania biokompozytów i ich wpływ na wzrost osteoblastów</i> – dr Lilit Hovhannisyan, IBMM	s. 40
14.30–14.45	<i>Wielofunkcyjne chitozanowe kompozyty do odbudowy tkanki kostnej o działaniu przeciwdrobnoustrojowym</i> – dr inż. Monika Biernat, Ł-ICiMB	s. 42
14.45–15.00	<i>Porównanie bezpośredniej i pośredniej metody oceny toksyczności kompozytów chitozan-bioszklą wspierających regenerację kości</i> – dr inż. Milena Chraniuk, IBMM	s. 44
15.00–15.15	<i>Wpływ trójskładnikowych biokompozytów dokostnych na ogólnoustrojową i miejscową reakcję tkanek w badaniach in vivo</i> – dr hab. Bogusława Żywicka, UM Wrocław	s. 46
15.15–15.30	Zakończenie konferencji – Zbigniew Jaegermann	

*Czas każdego wystąpienia wynosi 10 minut. Po każdym wystąpieniu zaplanowano dodatkowe 5 minut na zadawanie pytań.

Info

Termin konferencji: 10 marca 2023 r.

Miejsce: Hotel LORD, Aleja Krakowska 218, Warszawa

Komitet programowy:

prof. dr hab. Sylwia Rodziewicz-Motowidło,
UG – przewodnicząca

dr inż. Monika Biernat, Ł-ICiMB

mgr inż. Lidia Ciołek, Ł-ICiMB

dr inż. Małgorzata Gazińska, PWr

dr Beata Gromadzka, IBMM

dr inż. Zbigniew Jaegermann, Ł-ICiMB

dr inż. Dawid Nidzworski, IBMM, SensDx

dr hab. inż. Konrad Szustakiewicz, prof. PWr

mgr inż. Anna Woźniak, Ł-ICiMB

Komitet organizacyjny:

Barbara Chruściel

Zbigniew Jaegermann

Agata Wieczorek

Dominika Kądziołka

Bartosz Goryluk-Gierszewski

Izabela Cićkiewicz

Patronat medialny:

kwartalnik „Szkło i Ceramika”

W broszurze:

Informacje o projekcie – s. 4

Konsorcjanci – s. 6

Biogramy badaczy – s. 11

Streszczenia wystąpień – s. 14

Zgłoszone patenty – s. 48



O konferencji

Konferencja BIOIMPLANTY KOŚCI – INNOWACYJNE ROZWIĄZANIA DLA MEDYCZYNY REGENERACYJNEJ podsumowuje prace naukowo-badawcze prowadzone w ramach projektu GlassPoPep (TECHMATSTRATEG2) przez konsorcjum naukowo-przemysłowe, którego liderem jest Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytut Ceramiki i Materiałów Budowlanych. Konferencja skierowana jest do badaczy zajmujących się inżynierią biomateriałów, przedstawicieli instytutów badawczych, w tym Sieci Badawczej ŁUKASIEWICZ, zainteresowanych tematyką zdrowia, a także do przedsiębiorców poszukujących możliwości współpracy w obszarze nowych biomateriałów do zastosowania w medycynie.

W projekcie uczestniczyło ponad 20 naukowców z czterech ośrodków naukowych: Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytutu Ceramiki i Materiałów Budowlanych, Uniwersytetu Gdańskiego, Politechniki Wrocławskiej, Instytutu Biotechnologii i Medycyny Molekularnej oraz spółki SensDx. Prace w ramach fazy badawczej projektu trwały od 1 marca 2019 r. do 31 grudnia 2022 r. Ostatnim etapem realizacji projektu jest faza przygotowania do wdrożenia, która zakończy się 31 maja 2023 r.

Niniejsza broszura skrótowo przedstawia tematykę konferencji, prezentując streszczenia wystąpień realizatorów projektu. Przybliży także główne cele projektu, jednostki go realizujące, a także sylwetki poszczególnych badaczy oraz twórców nowatorskich rozwiązań.

Organizatorem konferencji jest Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytut Ceramiki i Materiałów Budowlanych.





Informacje o projekcie badawczym „Wielofunkcyjny materiał kompozytowy o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych i proregeneracyjnych do odbudowy tkanki kostnej”

Akronim: **GlassPoPep**

Kierownik projektu: **dr inż. Zbigniew Jaegermann**

Termin realizacji: **1.03.2019 r. – 31.05.2023 r.**

Program: **TECHMATSTRATEG (umowa nr: TECHMATSTRATEG2/406384/7/NCBR/2019)**

Dofinansowanie NCBiR: **6 884 252 zł**

Więcej informacji: **www.glasspopep.eu**

Głównym celem projektu było opracowanie i wytworzenie wielofunkcyjnych biomateriałów kompozytowych do wypełniania ubytków kości – biomateriałów, które łączyłyby właściwości bioaktywnego, antybakteryjnego szkła, biopolimerów oraz peptydów i fibryli peptydowych o działaniu proregeneracyjnym, przeciwzapalnym i przeciwbakteryjnym. Biomateriały powinny się cechować zdolnościami osteokondukcyjnymi, właściwościami antybakteryjnymi i wykazywać aktywność biologiczną. Dzięki temu pojawiłyby się szerokie możliwości sterowania ich właściwościami fizycznymi, chemicznymi i biologicznymi.

Badania nad wymienionymi biomateriałami miały innowacyjny charakter, zarówno w ujęciu krajowym, jak i międzynarodowym. Nie tylko poszerzyły wiedzę zespołów realizujących, ale także stworzyły szansę na podniesienie międzynarodowej pozycji polskich badaczy uczestniczących w projekcie.

Jednym z celów projektu był transfer innowacyjnych rozwiązań do środowiska społeczno-gospodarczego. Dokumentacja techniczna i badawcza (know-how) ma ułatwić poszukiwanie partnerów biznesowych zainteresowanych wprowadzeniem nowej technologii na rynek.

Prace projektowe realizował interdyscyplinarny zespół badawczy łączący wiedzę i doświadczenie w zakresie:

- projektowania i badania biomateriałów ceramicznych i kompozytowych, opracowania i wdrażania technologii bioceramiki i bioszklą (Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytut Ceramiki i Materiałów Budowlanych);
- syntezy, a także fizycznej i chemicznej modyfikacji polimerów ze szczególnym uwzględnieniem polimerów biodegradowalnych i bioresorbowalnych (Politechnika Wrocławska);
- projektowania, syntezy i badania strukturalnych peptydów aktywnych biologicznie oraz szkieletowych, opracowywania metod syntezy peptydów i metod analitycznych, syntezy i modyfikacji peptydów i ich analogów (Uniwersytet Gdański);

- biologii molekularnej, inżynierii genetycznej, metod analitycznych, pracy z liniami komórkowymi oraz badaniami cytotoksyczności i proliferacji (Instytut Biotechnologii i Medycyny Molekularnej);
- komercjalizacji, certyfikacji i wdrażania produktów medycznych (Spółka SensDx SA).

Realizacja projektu wpisała się w misję Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytutu Ceramiki i Materiałów Budowlanych. Strategia działania Instytutu, będącego liderem projektu, dowodzi, że współpraca zarówno z innymi jednostkami badawczymi jak i przedsiębiorcami, jest priorytetem jego rozwoju. Dobrym przykładem pozytywnego wpływu programu TECHMATSTRATEG 2 na nawiązywanie nowych kontaktów i inicjowanie współpracy jest fakt, że do realizacji projektu instytut powołał konsorcjum badawcze złożone z jednostek, z którymi wcześniej prowadził jedynie nieformalną współpracę. Podjęcie nowatorskich prac związanych z realizacją projektu przyczyniło się do zacieśnienia istniejącej już współpracy, a także do inicjowania nowych, wspólnych pomysłów badawczych.

W części badawczej osiągnięto cel główny projektu: wytworzono dwie serie prototypowych biokompozytów trójskładnikowych opartych na chitozanie, bioszkle i peptydach oraz serię prototypową biokompozytów trójskładnikowych opartych na poliadypinianie glicerolu, bioszkle i aktywnym peptydzie. Wszystkie biokompozyty zostały scharakteryzowane pod względem właściwości fizykochemicznych, mikrostruktury porowatej, a także właściwości biologicznych w badaniach *in vitro* i *in vivo*.

Zrealizowano także wszystkie zakładane cele cząstkowe projektu:

- Otrzymano 10 bioaktywnych szkieł niewykazujących działania cytotoksycznego w kontakcie z komórkami hFOB 1.19 (linia ludzkich osteoblastów) oraz niewykazujących genotoksyczności, natomiast wykazujących działanie bakterioójczne w stosunku do dwóch szczepów bakterii *Pseudomonas aeruginosa* i *Staphylococcus aureus*.
- Przeprowadzono syntezy chemiczne i oczyszczanie zaprojektowanych 26 aktywnych peptydów. Zsyntezowano i oczyszczono 7 peptydów tworzących włókna oraz przebadano formowania włókien. Przeprowadzono modyfikacje chemiczne chitozanu poprzez przyłączenie aktywnych biologicznie peptydów.
- Opracowano technologię i wytworzono 124 kompozyty chitozan/bioszkle, z czego 98 w ramach opracowywania i badania techniki stabilizacji matrycy polimerowej. Opracowano technologię i wytworzono 34 kompozyty trójskładnikowe chitozan/bioszkle/peptyd, z których 26 nie wykazało działania cytotoksycznego (test LDH), a proliferację na poziomie >90% wykazało 27 kompozytów (Test WST-1).
- Otrzymano poli(adypinian glicerolu) (PGA) metodą polimeryzacji enzymatycznej i przeprowadzono funkcjonalizację PGA aminokwasem egzogennym. Przeprowadzono modyfikację powierzchniową cząstek bioszkle przy pomocy L-lizyny. Wytworzono serię kompozytów z modyfikowanego L-lizyną PGA oraz modyfikowanego L-lizyną bioszkle, które nie wykazywały działania cytotoksycznego.
- Wytworzono trzy serie prototypowych biokompozytów opartych na chitozanie, bioszkle i peptydzie, które zostały poddane ocenie pod względem właściwości fizykochemicznych i mikrostruktury porowatej oraz właściwości biologicznych.
- Wytworzono serię prototypową biokompozytów trójskładnikowych z modyfikowanego L-lizyną PGA, modyfikowanego L-lizyną bioszkle oraz aktywnych biologicznie peptydów.
- Na podstawie przeprowadzonych badań biologicznych *in vivo* (wykonanych metodą pośrednią) ustalono, że biokompozyty nie wykazują cytotoksyczności i wzmagają proliferację komórek. Na podstawie uzyskanych wyników wytypowano 3 biokompozyty trójskładnikowe o najlepszych właściwościach i przekazano do badań biologicznych *in vivo*.
- Przeprowadzono biologiczną ocenę trzech serii prototypowych biodegradowalnych biokompozytów w oparciu o normy: PN-EN ISO 10993-6: „Miejscowa reakcja po implantacji” oraz PN-EN ISO 10993-11: „Badania toksyczności układowej”.

Konferencja „Bioimplanty kości – innowacyjne rozwiązania dla medycyny regeneracyjnej” podsumowuje prace naukowo-badawcze opisywanego projektu przed ostatnim etapem realizacji, czyli przygotowaniem do wdrożenia, który zakończy się 31 maja 2023 r. Głównym celem ostatniego etapu, którego liderem jest spółka SensDx S.A., będzie ocena komercyjnej wartości finalnej technologii z punktu widzenia medycyny i potencjalnych przyszłych inwestorów.

Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytut Ceramiki i Materiałów Budowlanych Grupa Badawcza Biomateriały, ul. Cementowa 8, 31-983 Kraków

Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytut Ceramiki i Materiałów Budowlanych (Ł-ICiMB) jest trwałą i ważną częścią polskiego środowiska naukowego, łącząc wysoki poziom badań z wdrożeniami rozwiązań do praktyki przemysłowej. Zakres prowadzonych w instytucie badań jest bardzo szeroki i obejmuje w całości nauki techniczne związane z ceramiką, szkłem, materiałami budowlanymi i ogniotrwałymi oraz ochroną środowiska.

Pracownicy instytutu mają wieloletnie doświadczenie w realizowaniu projektów zleczanych przez podmioty zewnętrzne oraz finansowanych ze środków NCBiR, NCN, FNP, MEiN i funduszy UE. Dzięki aktywnej współpracy prowadzonej z instytucjami naukowo-badawczymi oraz ośrodkami przemysłowymi z całej Europy nieustannie poszerzają swoją wiedzę i doświadczenie. Współpraca ta zorientowana jest na realizację projektów badawczych oraz wspólne publikowanie wyników prac badawczych.

Instytut dysponuje specjalistyczną infrastrukturą badawczą, która pozwala na pełne scharakteryzowanie większości materiałów, w szczególności składu chemicznego (WD-XRF, EDS-SEM), składu fazowego (XRD), obserwacji z użyciem wysokorozdzielczego mikroskopu elektronowego (HRSEM), analizy FTIR, analizy termicznej (TG, DTA/TG, DSC-TG), badań właściwości mechanicznych (wytrzymałość na zginanie metodą trójpunktową, wytrzymałość na ściskanie), badań twardości metodą Vickersa, badań gęstości pozornej i powierzchni właściwej metodą BET, badań procesów spiekania i topienia różnych materiałów w wysokich temperaturach, badań uziarnienia proszków metodą laserową.

Jednym z ważnych kierunków badań prowadzonych w instytucie jest inżynieria biomateriałów. Tematyka ta jest realizowana przez **Grupę Badawczą Biomateriały**. Celem jej działalności jest opracowywanie nowych technologii oraz nowych biomateriałów z przeznaczeniem do zastosowania w najbardziej rozwijających się gałęziach medycyny. Interdyscyplinarny zespół badawczy grupy składa się ze specjalistów w dziedzinie chemii, inżynierii materiałowej, ceramiki i polimerów. Wiedza merytoryczna zespołu pozwala na podejmowanie zadań i rozwiązywanie problemów z pogranicza kilku dyscyplin naukowych. Kadra oraz wyposażenie badawcze i laboratoryjne zapewniają warunki do prowadzenia prac naukowo-badawczych oraz świadczenia usług w zakresie doradztwa technologicznego.

Głównymi kierunkami działalności Grupy Badawczej Biomateriały są: bioszklta o właściwościach przeciwbakteryjnych, syntetyczne cząstki hydroksyapatytowe o różnej morfologii, biokompozyty polimerowo-ceramiczne, syntetyczne włókna, nanocząstki apatytowe oraz bioszklta do biokompozytów polimerowych, cementy do wybranych zastosowań w endodoncji, ceramiczne nośniki komórek do stosowania w inżynierii tkankowej, hydrożele i masy kompozytowe do biodruku 3D.

Dzięki aktywnemu uczestnictwu w pracach wielu jednostek (m.in. Komitetu Technicznego nr 283 ds. Materiałów Stomatologicznych PKN, Komitetu Technicznego nr 247 ds. Materiałów Medycznych i Biomateriałów PKN, Sekcji Biomateriałów Komitetu Nauki o Materiałach PAN, Polskiego Stowarzyszenia Biomateriałów) pracownicy Grupy Badawczej Biomateriały biorą udział w planowaniu strategicznym i wyborze kierunków rozwoju (technologii, materiałów, diagnostyki), w doradztwie, opiniodawczym oraz inicjowaniu działań naukowych.

Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, Katedra Chemii Biomedycznej, ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk

Uniwersytet Gdański (UG) to dynamicznie rozwijająca się uczelnia, która łączy tradycję z nowoczesnością. Kształcenie we wszystkich niemal dziedzinach wiedzy akademickiej i w zawodach poszukiwanych na rynku pracy połączone jest z nowoczesnymi warunkami studiowania w kampusach Uniwersytetu Gdańskiego w Gdańsku, Sopocie i Gdyni. Uniwersytet Gdański znajduje się w Związku Uczelni w Gdańsku im. Daniela Fahrenheita (FarU). FarU został powołany na wspólny wniosek rektorów trzech największych uczelni trójmiejskich.

Główne obszary aktywności badawczej **Wydziału Chemii UG** dotyczą chemii i biochemii peptydów, analityki chemicznej i środowiskowej, chemii obliczeniowej, fizykochemii organicznej i nieorganicznej, chemii materiałów, chemii cukrów oraz chemii środowiska. Znaczny wkład w dorobek naukowy wniosły badania prowadzone we współpracy krajowej i międzynarodowej z takimi krajami jak USA, Niemcy, Japonia czy Szwecja. Światowy poziom prowadzonych badań naukowych możliwy jest dzięki zgromadzonej nowoczesnej aparaturze. Na realizację swoich badań pracownicy wydziału pozyskują środki finansowe z krajowych i międzynarodowych instytucji finansujących naukę. Uznaniem dorobku wydziału jest przydzielona mu najwyższa kategoria naukowa A.

Zespół projektowy pracujący w strukturach **Katedry Chemii Biomedycznej** ma 30 lat doświadczenia w zakresie chemii peptydów i chemii organicznej, w szczególności w projektowaniu, syntezie i badaniach strukturalnych peptydów aktywnych biologicznie, w opracowywaniu metod syntezy peptydów i metod analitycznych, w tym syntezy peptydów na nośniku stałym, konstrukcji chimer peptydowych i peptydomimetyków, peptoidów lub rusztowań peptydowych, wprowadzaniu modyfikacji, metod kombinatorycznych, syntezie minibiłek (40–60 aminokwasów), syntezie koniugatów peptydów i polimerów i przyłączaniu peptydów do fazy stałej, a także doświadczenie w analizie fizykochemicznej oraz w badaniu oddziaływań peptydów z ligandami/receptorami.

W ramach projektu GlassPoPep zespół zaprojektował i zsyntezował bioaktywne peptydy, które w badaniach biologicznych wykazują działanie proregeneracyjne, przeciwzapalne lub przeciwbakteryjne. Zaletą peptydów jest ich działanie w niskich stężeniach oraz fakt, że są to związki biodegradowalne i biokompatybilne. Dodatkowo zespół projektowy opracował nowy sposób kowalencyjnego przyłączania peptydu do chitozanu celem zwiększenia jego bioaktywności. Część z uzyskanych peptydów została przez zespół przygotowana w formułacji fibryli peptydowej, której zadaniem jest zwiększenie stabilności peptydu aktywnego. Peptydy, peptydylo-chitozan oraz fibryle peptydowe zostały użyte jako składnik kompozytów implantacyjnych w celu zwiększenia aktywności biologicznej komórek kości i stymulacji procesu regeneracji kości.





Politechnika
Wroclawska

Politechnika Wroclawska, Wydział Chemiczny, Katedra Inżynierii i Technologii Polimerów, ul. Wybrzeże Wyspiańskiego 42, 50-370 Wrocław

Politechnika Wroclawska (PWr) jest uczelnią techniczną oraz uniwersytecką instytucją badawczą. Nauczanie studentów ma na celu nie tylko przekazanie im rzetelnej wiedzy, ale także kształtowanie twórczego i krytycznego myślenia. Uczelnia realizuje swą misję przede wszystkim poprzez najwyższe standardy w badaniach naukowych, umiędzynarodowienie oraz wysoką jakość kształcenia dostosowanego do wymogów rynku.

Grupa badawcza z Politechniki Wroclawskiej ma doświadczenie w prowadzeniu syntez alifatycznych poliestrów glicerolu na drodze politransestyfikacji enzymatycznej oraz polikondensacji. Grupa badawcza z Politechniki Wroclawskiej zajmuje się również funkcjonalizacją polimerów oraz modyfikacją chemiczną napełniaczy ceramicznych. Ponadto grupa ma doświadczenie w opracowywaniu, wytwarzaniu i optymalizacji właściwości materiałów kompozytowych głównie z polimerów termoplastycznych, a także z elastomerów oraz napełniaczy. Główną metodą wytwarzania i formowania kompozytów wykorzystywanych przez grupę w projekcie GlassPoPep należą indukowana termicznie separacja faz z etapami sieciowania termicznego i wymywania poroforu oraz formowanie litych elastomerowych kompozytów metodą sieciowania chemicznego i termicznego prepolimeru w masie.

Zespół ma doświadczenie w badaniach strukturalnych semikrystalicznych polimerów termoplastycznych z wykorzystaniem szerokokątowego rozpraszania promieniowania rentgenowskiego (WAXS) oraz skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC), DSC z modulacją temperatury, wysokociśnieniowego DSC oraz DSC z szybkim skanowaniem. W zakresie charakterystyki materiałowej grupa wykorzystuje szereg metod spektroskopowych (m.in. FTiR, UV-Vis), reologicznych (reometria rotacyjna oraz kapilarna), wytrzymałościowych (testy przy statycznym rozciąganiu, zginaniu, ściskaniu) oraz badania właściwości lepkosprężystych (DMTA).

Grupa zdobyła doświadczenie podczas wyjazdów stażowych, m.in. do Belgii, Francji, Hiszpanii, Holandii, Niemiec, USA, Wielkiej Brytanii oraz Japonii.

W ramach projektu GlassPoPep grupa badawcza z **Katedry Inżynierii i Technologii Polimerów** Politechniki Wroclawskiej opracowała i wytworzyła bioaktywne trójskładnikowe kompozyty elastomerowe na bazie bioresorbowalnego prepolimeru z grupy alifatycznych poliestrów glicerolu, bioszklę i peptydów, które dzięki specyficznej sekwencji aminokwasów wykazują działanie proregeneracyjne, przeciwzapalne i przeciwbakteryjne. Zaletą wytworzonych biokompozytów są różne sposoby wprowadzenia peptydów do struktury kompozytów dostosowane do rodzaju aktywności biologicznej peptydu, czasu uwalniania peptydu i korzystnego czasu działania w miejscu implantacji.

Grupa badawcza opracowała także sposoby biofunkcjonalizacji bioresorbowalnego prepolimeru z grupy alifatycznych poliestrów glicerolu z zastosowaniem odpowiednich pochodnych aminokwasu egzogenego. Aminokwas egzogeny zastosowany do funkcjonalizacji prepolimeru promuje adhezję i proliferację osteoblastów i zwiększa potencjał osteogeniczny komórek macierzystych kości, co ma istotne znaczenie w aspekcie zastosowania wytworzonych biokompozytów jako materiałów implantacyjnych do regeneracji tkanki kostnej.

Instytut Biotechnologii i Medycyny Molekularnej, ul. Kampinoska 25, 80-180 Gdańsk

Instytut Biotechnologii i Medycyny Molekularnej (IBMM) jest niezależną instytucją badawczą tworzącą elitarne centrum badań biomedycznych. Działalność IBMM skupia się na wykonywaniu integracyjnych i nowatorskich badań.

Instytut Biotechnologii i Medycyny Molekularnej jest interdyscyplinarną instytucją prowadzącą działalność badawczo-rozwojową w dziedzinie biomedycyny, weterynarii i inżynierii materiałowej. Składa się z zespołu specjalistów i naukowców, którzy do swojej pracy podchodzą z pasją, a dzięki chęci ciągłego doskonalenia się i rozwoju, tworzą innowacyjne projekty, które mogą rozwijać w laboratoriach instytutu.

Celem IBMM jest dostarczanie kompleksowych rozwiązań poprawiających jakość życia, wspierających rozwój technologii i mających wysoki potencjał komercyjny. Jest on realizowany poprzez nadzór i wsparcie instytutu w każdej fazie realizacji projektu, począwszy od pojawienia się pomysłu, przez analizę możliwych rozwiązań i potrzeb rynku, po konstrukcję prototypu i zdobywanie środków na ostateczne stworzenie w pełni gotowego do produkcji wyrobu lub rozwiązania. Takie podejście doprowadziło do złożenia wielu zgłoszeń patentowych i zawiązania konsorcjów naukowych m.in. z Uniwersytetem Jagiellońskim, Uniwersytetem Gdańskim czy Politechniką Warszawską.

Absolwenci wielu prestiżowych uczelni państwowych rozwijają swoje pomysły w laboratoriach IBMM i współpracują z wieloma lokalnymi i międzynarodowymi instytucjami, co owocuje wieloma nowatorskimi pomysłami i publikacjami naukowymi pojawiającymi się w prestiżowych czasopiśmie. Od 2018 r. pracownicy IBMM mogą również publikować w czasopiśmie *Applied Biosciences*, którego wydawcą jest IBMM.

Instytut Biotechnologii i Medycyny Molekularnej jest fundacją non-profit. Fundusze na projekty pozyskuje z niezależnych źródeł, takich jak Narodowe Centrum Badań i Rozwoju czy Narodowe Centrum Nauki, oraz dzięki współpracy z inwestorami, którzy, widząc duży potencjał proponowanych i prowadzonych przez instytut projektów, zdecydowali się wesprzeć rozwój polskiej nauki.

W ramach projektu GlassPoPep instytut zajmuje się badaniem cytotoksyczności materiałów używanych w trakcie realizacji projektu oraz badaniami biogodności serii prototypowych trzech wybranych wielofunkcyjnych kompozytów.



Spółka SensDx S.A., ul. Postępu 14B, 02-676 Warszawa

Spółka SensDx produkuje urządzenia diagnostyczne. Nowatorstwo rozwiązania polega na połączeniu prostego w obsłudze urządzenia z ultraczułym i szybkim testem diagnostycznym z aplikacją na urządzenia mobilne do łatwego i wygodnego odczytywania wyników diagnozy.

Działania SensDx skupiają się na poszukiwaniu metod zapobiegania rozprzestrzenianiu się bakterii i wirusów poprzez wykrywanie patogenów we wczesnym etapie ich rozwoju. Głównym celem działalności i jednocześnie wizją spółki jest zrewolucjonizowanie diagnostyki medycznej na świecie poprzez dostarczanie skutecznych, szybkich i prostych w obsłudze testów do wykrywania patogenów wywołujących określone choroby.

Zespół badawczy SensDx pracuje m.in. nad technologiami ultraczułych elektrod zmodyfikowanych cząsteczkami biologicznymi. Cząsteczki znajdujące się na powierzchni elektrody są wyselekcjonowane metodami biotechnologicznymi. Dzięki temu można jednoznacznie określić, jaka bakteria lub wirus jest przyczyną infekcji bądź określić marker onkologiczny, DNA czy RNA. Aktualnie SensDx rozwija badania w zakresie kardiologii, onkologii, urologii i weterynarii.

SensDx składa się z interdyscyplinarnego zespołu ekspertów z obszaru nauk biotechnologicznych, chemicznych, elektrochemicznych, elektronicznych, IT, automatyzacji produkcji oraz biznesu, w tym ochrony IP, komercjalizacji technologii, sprzedaży i marketingu. Pracuje on zgodnie z nowoczesnymi metodami zarządzania, wysokimi standardami jakości oraz zasadami bezpieczeństwa.

Na dynamiczny rozwój SensDx wpłynęły fundusze zdobyte z puli dofinansowań. Eksperti oceniający aplikacje SensDx docenili nie tylko technologię, która będzie miała szerokie zastosowanie w telemedycynie i diagnostyce, ale też zwrócili uwagę na nowatorską funkcjonalność spółki, jej wielki potencjał komercjalizacyjny oraz konsekwentnie wdrażany model biznesowy.

dr inż. Monika Biernat



Absolwentka Wydziału Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej i studiów doktoranckich na Wydziale Chemicznym Politechniki Warszawskiej. Lider Obszaru, Kierownik Grupy Badawczej Biomateriały w Sieci Badawcza Łukasiewicz – Instytucie Ceramiki i Materiałów Budowlanych. Swoją aktywność naukową skupia na zagadnieniach związanych z opracowywaniem innowacyjnych biomateriałów do zastosowań w medycynie regeneracyjnej i stomatologii. Szczególnie interesuje się biomateriałami na bazie polimerów naturalnych oraz kompozytami polimerowo-ceramicznymi.

<https://orcid.org/0000-0002-5692-0653>
monika.biernat@icimb.lukasiewicz.gov.pl

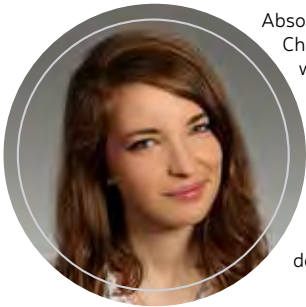
mgr inż. Lidia Ciotek



Absolwentka Wydziału Inżynierii Materiałowej i Ceramiki AGH. Jako pracownik Grupy Badawczej Biomateriały Łukasiewicz – ICiMB aktywnie uczestniczy w projektowaniu, wytwarzaniu i ocenie właściwości biomateriałów dla stomatologii, otocznictwa i ortopedii. Szczególnie miejsce wśród jej naukowych zainteresowań zajmują bioszklą o działaniu antybakteryjnym.

<https://orcid.org/0000-0001-5906-7195>
lidia.ciolek@icimb.lukasiewicz.gov.pl

mgr inż. Anna Woźniak



Absolwentka Technologii Chemicznej na Wydziale Chemicznym Politechniki Warszawskiej. Specjalista w Grupie Badawczej Biomateriały w Sieci Badawcza Łukasiewicz – Instytucie Ceramiki i Materiałów Budowlanych w Centrum Ceramiki i Betonów. Obecnie doktorantka wdrożeniowa w Ł-ICiMB i Wydziale Inżynierii Materiałowej Politechniki Warszawskiej. W swojej pracy zajmuje się m.in. opracowywaniem i badaniem materiałów hydrożelowych przeznaczonych do druku 3D oraz materiałów kompozytowych do regeneracji tkanki kostnej.

<https://orcid.org/0000-0002-9250-6089>
anna.wozniak@icimb.lukasiewicz.gov.pl

dr inż. Zbigniew Jaegermann



Absolwent Wydziału Inżynierii Materiałowej i Ceramiki AGH w Krakowie. Zastępca Kierownika Grupy Badawczej Biomateriały Sieci Badawcza Łukasiewicz – Instytucie Ceramiki i Materiałów Budowlanych. Specjalizuje się w pracach badawczo-wdrożeniowych w zakresie inżynierii materiałowej, ceramiki, materiałów ceramicznych do zastosowań medycznych, a także w technologiach wytwarzania materiałów porowatych i implantów bioceramicznych do regeneracji tkanki kostnej. Kierownik projektu GlassPoPep.

<https://orcid.org/0000-0003-2829-439X>
zbigniew.jaegermann@icimb.lukasiewicz.gov.pl

Uniwersytet Gdański

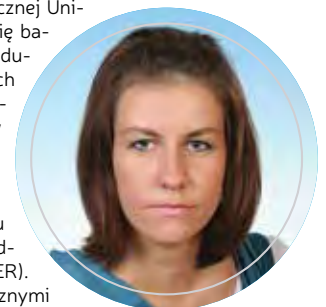
prof. dr hab. Sylwia Rodziewicz-Motowidło, prof. UG



Kierowniczka Katedry Chemii Biomedycznej (od 2012 r.) Uniwersytetu Gdańskiego. Prowadzi badania naukowe związane z procesami formowania fibryli amyloidowych przez peptydy i białka oraz z zależnościami struktura-aktywność biologicznie czynnych peptydów. Objektem jej badań są peptydy o właściwościach przeciwnowotworowych, przeciwbakteryjnych i przeciwwirusowych. Interesuje się także peptydami formującymi nanostruktury będące rusztowaniami dla komórek w procesach regeneracyjnych. W swoich badaniach stosuje następujące techniki badawcze: NMR, MS, CD, IR, HPLC, MD, SPR, MST i fluorescencję. Jej dorobek naukowy obejmuje 110 prac oryginalnych z tzw. listy filadelfijskiej, a obecny indeks Hirscha wynosi 23.

<https://orcid.org/0000-0002-4471-5951>
s.rodziewicz-motowidlo@ug.edu.pl

dr Natalia Karska



Pracowniczka w Katedrze Chemii Biomedycznej Uniwersytetu Gdańskiego. Naukowo zajmuje się badaniami mechanizmu działania immunomodulacyjnych białek alfa herpeswirusów będących inhibitorami transportera peptydów antygenowych TAP. Zajmuje się syntezą peptydów oraz białek, ich oczyszczaniem metodami chromatograficznymi (NP-HPLC, RP-HPLC, IEC, SEC), analizą strukturalną (CD, NMR) oraz modelowaniem molekularnym w celu wyznaczenia struktur przestrzennych na podstawie danych eksperymentalnych (AMBER). Zajmuje się również modyfikacjami chemicznymi chitozanu poprzez przyłączenie do niego peptydów oraz analizą uwalniania substancji czynnych z kompozytów.

<https://orcid.org/0000-0003-2429-4157>
n.karska@ug.edu.pl

prof. dr hab. Franciszek Kasprzykowski



Pracownik Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego. Jego zainteresowania naukowe skupiają się głównie wokół zagadnień projektowania, syntezy i badania zależności struktura-aktywność analogów hormonów neuroprzysadkowych, projektowania, syntezy i badania inhibitorów proteaz cysteinowych, izolacji oczyszczania i chemicznych modyfikacji hepatotoksyn cyjanobakteryjnych, chemicznej syntezy mikrocytyn, poszukiwania peptydomimetyków o działaniu antymikrobiocynnym, poszukiwania związków hamujących proces osteoklastogenezy. Jest autorem ok. 60 publikacji, a jego indeks Hirscha wynosi 18.

<https://orcid.org/0000-0003-1877-9860>
f.kasprzykowski@ug.edu.pl

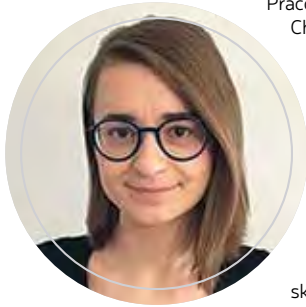
mgr inż. Agnieszka Kubiś



Doktorantka w Katedrze Chemii Biomedycznej. W swoich badaniach zajmuje się syntezą, oczyszczaniem i analizą peptydów o potenciale proregeneracyjnym, syntezą organiczną maleimidów, chemiczną modyfikacją chitozanu i analizą kompozytów polimerowych zawierających peptydy (UPLC).

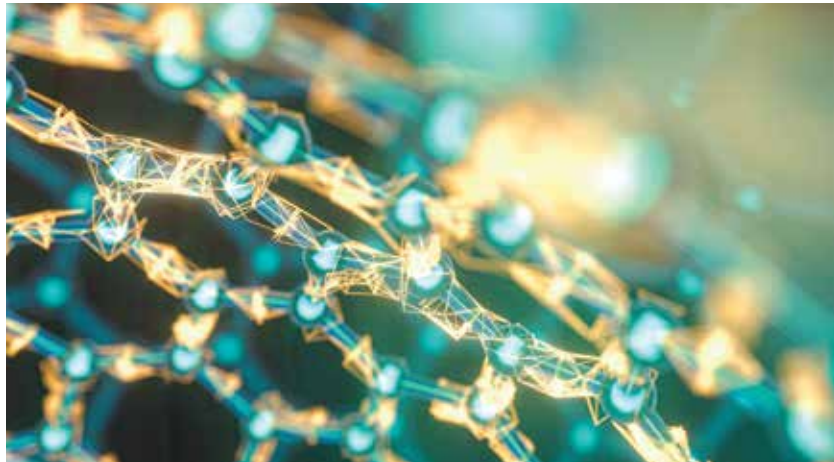
<https://orcid.org/0000-0003-0480-2548>
a.kubis@ug.edu.pl

dr Justyna Sawicka



Pracowniczka dydaktyczno-naukowa w Katedrze Chemii Biomedycznej Uniwersytetu Gdańskiego. W swojej pracy naukowej zajmuje się projektowaniem i syntezą peptydów, hydrożeli oraz fibryli peptydowych o właściwościach proregeneracyjnych oraz przeciwbakteryjnych. Poszukuje nowych materiałów, które mogą być wykorzystane jako biotusz w biodruku 3D. W swoich badaniach naukowych wykorzystuje szereg technik mikroskopowych (TEM, SEM, cryoSEM, AFM) oraz chromatograficznych i spektroskopowych (LC-MS, UHPLC, CD, FTIR).

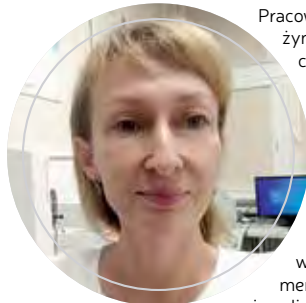
<https://orcid.org/0000-0002-1506-3202>
j.sawicka@ug.edu.pl



Politechnika Wrocławska



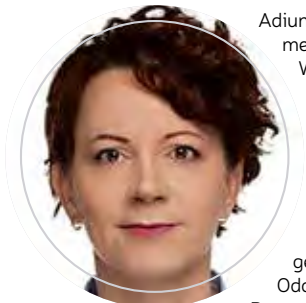
dr inż. Małgorzata Gazińska



Pracowniczka badawczo-dydaktyczna w Katedrze Inżynierii i Technologii Polimerów Politechniki Wrocławskiej. Naukowo zajmuje się wytwarzaniem oraz analizą i optymalizacją właściwości termicznych, strukturalnych i lepkością biokompozytów polimerowo-ceramicznych do zastosowań medycznych, syntezą alifatycznych poliesterów glicerolu, biofunkcjonalizacją powierzchni cząstek ceramicznych, kompatybilizacją składników biokompozytów, analizą termiczną i strukturalną materiałów polimerowych. Bada wpływ modyfikacji laserowej biopolimerów i biokompozytów, zajmuje się formowaniem i analizą proszków dedykowanych do druku 3D metodą selektywnego spiekania laserowego, charakterystyką wpływu parametrów procesu druku na właściwości detali z druku 3D.

<https://orcid.org/0000-0002-2972-7620>
malgorzata.gazinska@pwr.edu.pl

dr inż. Ewelina Ortyl



Adiunkt w Katedrze Inżynierii i Technologii Polimerów na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej. Jej prace dotyczą chemicznej modyfikacji polimerów, syntezy polimerów fotoczulych, wytwarzania mikro- i nanoobjektów o różnej morfologii oraz wykorzystania procesu elektropędzenia do formowania włókien. Kierowniczka projektów Polonium realizowanych w latach: 2014–2015 i 2017–2018 we współpracy z Uniwersytetem w Angers we Francji. Członkini Zarządu i Skarbnik Oddziału Stowarzyszenia Inżynierów i Techników Przemysłu Chemicznego we Wrocławiu.

<https://orcid.org/0000-0003-2220-1922>
ewelina.ortyl@pwr.edu.pl

mgr inż. Anna Krokos



Doktorantka w Katedrze Inżynierii i Technologii Polimerów Politechniki Wrocławskiej. Jej naukowe zainteresowania to wytwarzanie i charakterystyka fizykochemiczna kompozytów polimerowo-ceramicznych oraz modyfikacja powierzchni cząstek hydroksypatyty i bioszklą do zastosowań w rekonstrukcji tkanki twardej.

<https://orcid.org/0000-0003-2220-1922>
anna.krokos@pwr.edu.pl

dr hab. inż. Konrad Szustakiewicz, prof. PWR



Habilitację w zakresie Inżynierii Materiałowej zdobył na ZUT. (fizyczna modyfikacja tworzyw polimerowych). Specjalizuje się w przetwórstwie tworzyw polimerowych, szczególnie materiałów termoplastycznych, wytwarzaniu materiałów kompozytowych, technikach formowania w stopie polimerowym oraz technikach rozpuszczalnikowych. Odbił staż na UC Berkeley w USA (2013) oraz w Toyota Technological Institute w Nagoi, Japonia (2017).

<https://orcid.org/0000-0002-2855-852x>
konrad.szustakiewicz@pwr.edu.pl

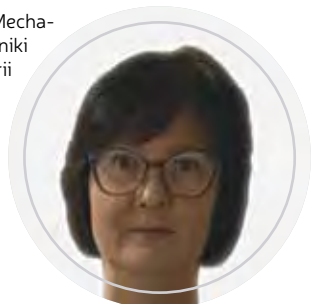
dr inż. Michał Grzymajło



Pracownik w Katedrze Inżynierii i Technologii Polimerów. W 2022 r. obronił pracę doktorską pt. „Materiały kompozytowe z poli(adypinianu glicerolu) oraz bioszklą o potencjalnym zastosowaniu do odbudowy tkanki kostnej”. Poza biomedycznymi materiałami polimerowymi interesuje się recyklingiem materiałów polimerowych, ich przetwórstwem oraz drukiem 3D techniką FDM.

<https://orcid.org/0000-0003-2335-164X>
michal.grzymajlo@pwr.edu.pl

dr inż. Magdalena Kobielarz



Pracowniczka badawczo-dydaktyczna w Katedrze Mechaniki, Inżynierii Materiałowej i Biomedycznej Politechniki Wrocławskiej. Prowadzi badania w zakresie inżynierii mechanicznej i biomateriałów. Specjalizuje się w interdyscyplinarnych badaniach doświadczalnych na styku obu dyscyplin, w tym szczególnie w analizie odpowiedzi tkanek i materiałów na obciążenia mechaniczne oraz zmienne warunki środowiska pracy. Swoją pracę naukową koncentruje na aplikacjach biomedycznych.

<https://orcid.org/0000-0002-0191-6390>
magdalena.kobielarz@pwr.edu.pl

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

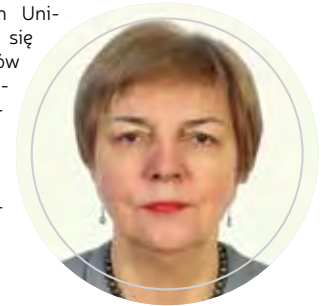
mgr inż. Katarzyna Chyży



Absolwentka Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej, Pracowniczka Katedry Inżynierii i Technologii Polimerów Politechniki Wrocławskiej. W pracy zajmuje się syntezą biopolimerów i wytwarzaniem biokompozytów oraz badaniem właściwości fizykochemicznych materiałów polimerowych.

<https://orcid.org/0000-0001-6944-159>
katarzyna.chyzy@pwr.edu.pl

dr hab. Bogusława Żywicka



Pracowniczka Centrum Badań Przedklinicznych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Zajmuje się badaniami biogodności biomateriałów i wyrobów medycznych *in vitro* i *in vivo*. Specjalizuje się w histologii. Zajmowała się czystością mikrobiologiczną i aktywnością bakteriostatyczną leków, a także uczestniczyła w badaniach nad skażeniem mutagennym materiału biologicznego. Wykonawca i kierownik projektów z ramienia UMW w tym projekcie „Biogratex”.

<https://orcid.org/0000-0003-4307-9188>
boguslawa.zywicka@umw.edu.pl

Instytut Biotechnologii i Medycyny Molekularnej



mgr Beata Gromadzka



Biolog molekularny, specjalistka w dziedzinie technologii szczepionek rekombinowanych i cząstek wirusopodobnych (VLP). Absolwentka Biotechnologii na Międzyuczelnianym Wydziale Biotechnologii UG i GUMed (kierunek: wirusologia molekularna). Laureatka VI edycji programu LIDER Narodowego Centrum Badań i Rozwoju. W 2020 r. powołała Zakład Badań *In vitro* w Instytucie Biotechnologii i Medycyny Molekularnej. Jej zainteresowania badawcze obejmują cząsteczki wirusopodobne, opracowywanie szczepionek, produkcję rekombinowanych białek i testy cytotoxycywności.

<https://orcid.org/0000-0002-3525-2158>
b.gromadzka@ibmm.pl

dr inż. Milena Chraniuk



Specjalistka toksykologii molekularnej i statystyki, doktor nauk medycznych i nauk o zdrowiu (Gdański Uniwersytet Medyczny). Stypendystka Deutsche Bundesstiftung Umwelt (badania zakończone w Fraunhofer Institute for Toxicology and Experimental Medicine, Hannover, Niemcy). Jej zainteresowania badawcze obejmują badanie toksyczności substancji ciekłych, stałych i gazowych, ocenę markerów toksyczności, modele *in vitro* w badaniach toksyczności, analizę statystyczną.

<https://orcid.org/0000-0003-2921-446X>
m.chraniuk@ibmm.pl

dr Mirosława Panasiuk



Wirusolog molekularny z doświadczeniem w propagacji wirusów, obrazowaniu konfokalnym i hodowli komórkowej. Absolwentka biotechnologii na Międzyuczelnianym Wydziale Biotechnologii UG i GUMed oraz doktorantka w Pracowni Biologii Molekularnej Wirusów. Pracowniczka Instytutu Biotechnologii i Medycyny Molekularnej. Jej zainteresowania badawcze obejmują biologię molekularną wirusów, rozprzestrzenianie się infekcji między komórkami, produkcję białek rekombinowanych oraz badania cytotoxycywności.

<https://orcid.org/0000-0001-7470-7306>
m.panasiuk@ibmm.pl

Związany z Instytutem Biotechnologii i Medycyny Molekularnej, gdzie pracuje jako biotechnolog – specjalista mikrobiolog. Wśród jego zainteresowań naukowych znajdują się badania aktywności przeciwdrobnoustrojowej, biotechnologia roślin oraz wykorzystanie naturalnych związków biologicznie czynnych. Od 2022 r. doktorant w Katedrze Technologii Leków i Biochemii na Wydziale Chemicznym PG. W ramach studiów doktorskich realizuje projekt pt. „Badanie molekularnych mechanizmów działania przeciwgrzybowego etanolowych ekstraktów propolisu pszczelego”.

<https://orcid.org/0000-0001-8467-1167>
p.bollin@ibmm.pl

mgr Piotr Bollin



dr Lilit Hovhannisyán



Specjalistka w zakresie pęcherzyków zewnątrzkomórkowych, biologii molekularnej i immunologii. Absolwentka Yerevan State University (Armenia), doktor nauk biologicznych, laureatka European Academy of Allergy and Immunology Research Fellowship (Szwecja) oraz European Federation of Immunological Societies (Szwecja). Postdoc na Uniwersytecie Gdańskim.

<https://orcid.org/0000-0003-4706-6202>
l.hovhannisyán@ibmm.pl

Wiceprezes, CTO/Dyrektor Naukowy w SensDx SA., Absolwent Wydziału Chemicznego Politechniki Gdańskiej oraz Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii UG-GUMed. Laureat wielu programów MNiSW, FNP, NCBR, PAPP, Teraz Polska, SME Instruments. Współautor kilkudziesięciu publikacji, zgłoszeń patentowych oraz patentów. Osobowość Roku Pomorza 2019, Manager Roku 2020, Finalista konkursu EY Przedsiębiorca Roku 2021. Twórca Instytutu Biotechnologii i Medycyny Molekularnej (IBMM).

<https://orcid.org/0000-0003-0533-0837>
d.nidzworski@ibmm.pl

dr inż. Dawid Nidzworski



Sylwia Rodziewicz-Motowidło

Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, Katedra Chemii Biomedycznej

JAK ZOSTAĆ CYBORGEM, BY ŻYĆ DŁUŻEJ? NOWE BIOMATERIAŁY W PROCESIE REGENERACJI

How to become a cyborg to live longer? New biomaterials in the regeneration process

ABSTRACT

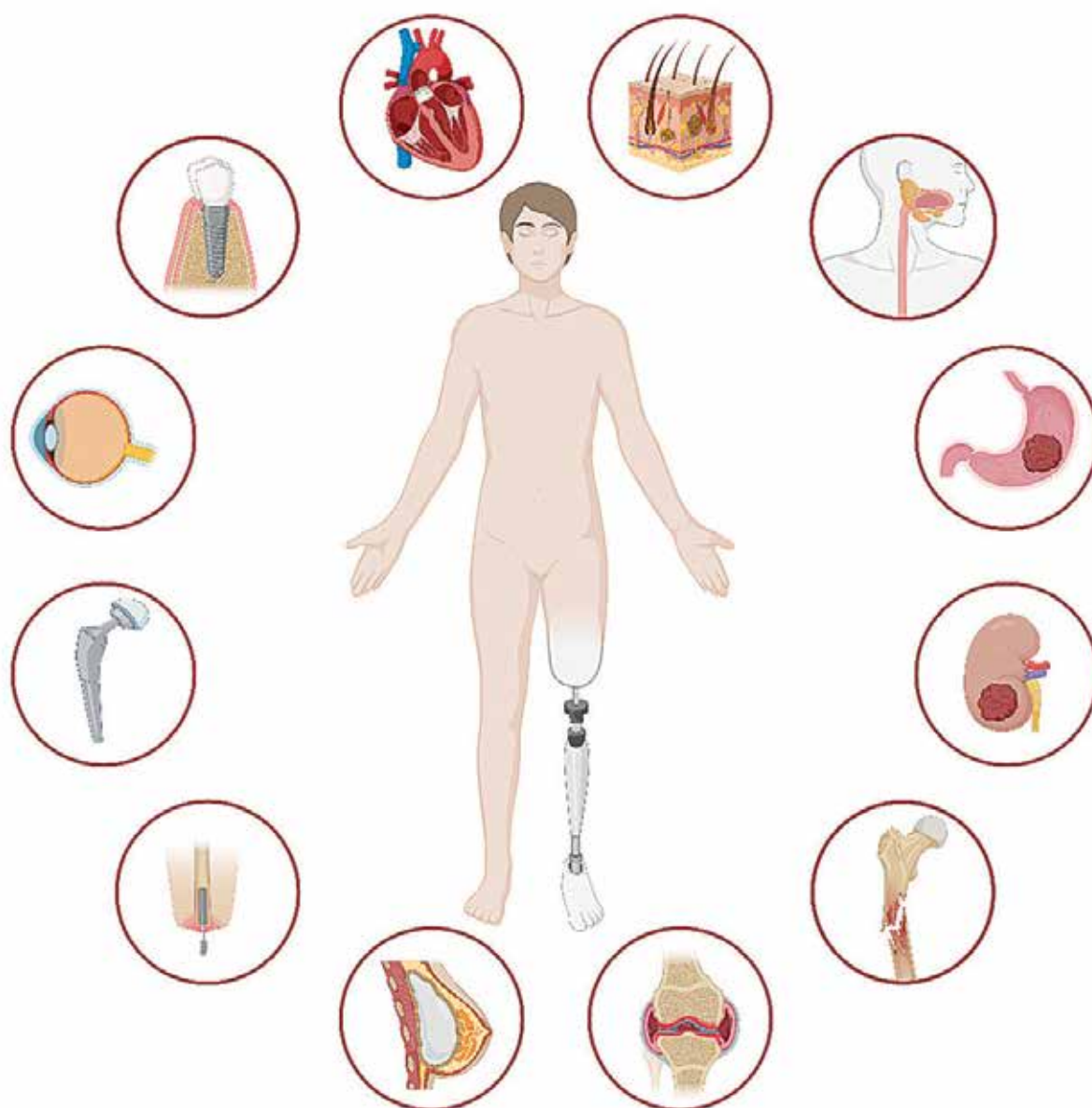
The purpose of the lecture is to present the current trends of science and medicine in the field of bioimplants.

Cyborg to człowiek wspomagany przez urządzenia elektroniczne lub mechaniczne, posiadający dodatkowe umiejętności lub zwiększający naturalne zdolności bądź sprawność. Zgodnie z tą definicją cyborgiem można nazwać również człowieka, którego uszkodzone tkanki lub narządy zostały zastąpione nowymi.

Dziedziną, która zajmuje się odtwarzaniem uszkodzonych lub utraconych tkanek lub narządów jest medycyna regeneracyjna wymagająca integracji wiedzy z zakresu nauk fizycznych i przyrodniczych z materiałoznawstwem i medycyną kliniczną po to, aby nauczyć się wzmagać regenerację niesprawnych ludzkich narządów i tkanek (ryc.). Ludzie na świecie żyją coraz dłużej i dążą do wyższej jakości życia w zaawansowanym wieku. Dodatkowo w krajach rozwiniętych spada płodność kobiet, co oznacza, że światowe gospodarki będą musiały utrzymać jak najdłużej sprawność człowieka, wykorzystując m.in. medycynę regeneracyjną. Technologie regeneracyjne oparte na nowych materiałach, urządzeniach i terapiach komórkowych stworzyły również nowe rozwiązania dla osób będących ofiarami urazów, chorób i wad wrodzonych.

W nowej erze regeneracyjnej naprawy człowieka materiały naprawcze zmieniły się z głównie mechanicznych w zaawansowane regulatory aktywności biologicznej – „inteligentne biomateriały”. W nowoczesnych biomateriałach molekularna informacja biologiczna jest zakodowana w taki sposób, aby szybko rozpocząć regenerację tam, gdzie nie zachodzi ona samoistnie. Ponadto nowe biomateriały tworzą niezbędną bioaktywną architekturę, dzięki czemu integrują się z organizmem człowieka w sposób najmniej inwazyjny. Dodatkowo bioaktywna struktura biomateriału może pełnić rolę nośnika dla leków lub komórek. Celem medycyny regeneracyjnej jest odbudowa tkanek miękkich i twardych, narządów i nerwów odpowiedzialnych za poważną niepełnosprawność człowieka.

Niniejszy wykład będzie poświęcony cząsteczkom, które są przeznaczone do formowania rusztowań komórkowych w celu naprawy organizmu człowieka. Podczas wykładu będą pokazane przykłady biomateriałów do gojenia ran, naprawy uszkodzeń mięśni szkieletowych i mózgu, złamań kości i destrukcji chrząstki.



Ryc. Przykłady tkanek i narządów będących przedmiotem badań z zakresu medycyny regeneracyjnej

Lidia Ciołek^A, Piotr Bollin^B, Milena Chraniuk^B, Monika Biernat^A, Mirosława Panasiuk^B, Beata Gromadzka^B, Zbigniew Jegermann^A

^A Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytut Ceramiki i Materiałów Budowlanych, Grupa Badawcza Biomateriały

^B Instytut Biotechnologii i Medycyny Molekularnej, Zakład Badań *In Vitro*

BIOSZKŁA JAKO SKŁADNIK WIELOFUNKCYJNYCH MATERIAŁÓW KOMPOZYTOWYCH DO ODBUDOWY TKANKI KOSTNEJ

Bioglasses as a component of multifunctional composite materials for bone tissue reconstruction

ABSTRACT

The aim of the work was to produce and characterize bioglasses and evaluate their biocompatibility *in vitro*. Bioglasses doped with ZnO or SrO were produced by the sol-gel method in the SiO₂-P₂O₅-CaO system. The produced bioglasses showed properties suitable for use as a component of multifunctional composite materials.

Wstęp

Biokompozyty do odbudowy tkanki kostnej powinny być materiałem biokompatybilnym, nietoksycznym, nierakotwórczym i niealergicznym. Ze względu na miejsce zastosowania stawia się im wysokie wymagania opisane w normach ISO 10993. W prowadzonych badaniach nad nowymi biomateriałami dużo uwagi poświęca się także zapobieganiu infekcjom bakteryjnym po wszczepieniu implantu, np. poprzez włączenie do ich składu szkielek bioaktywnych¹.

Bioszkle są materiałem, który może indukować bioaktywność, osteointegrację oraz działanie bakteriobójcze. Zwłaszcza bioszkle wytworzone metodą zol-żel wykazują wysoką bioaktywność, czyli zdolność tworzenia apatytowej warstwy pośredniej. Odpowiednio dobrany skład chemiczny szkielek wpływa na skład jakościowy uwalnianych jonów, które następnie odgrywają ważną rolę w procesie gojenia wokół wszczepu i regeneracji kości. Modyfikacja składu bioszkielek przez częściowe zastąpienie w sieci szkła jonów Ca²⁺ jonami Mg²⁺ lub Sr²⁺ wpływa na wzrost reaktywności powierzchniowej, a to podwyższa zdolność tworzenia hydroksyapatytu² podczas kontaktu biomateriału z płynem ustrojowym. Włączenie do składu materiału kompozytowego bioszkielek o odpowiednim składzie chemicznym może zapewnić bioaktywność, bakteriobójczość oraz działanie osteogenne poprzez uwalnianie odpowiednich jonów.

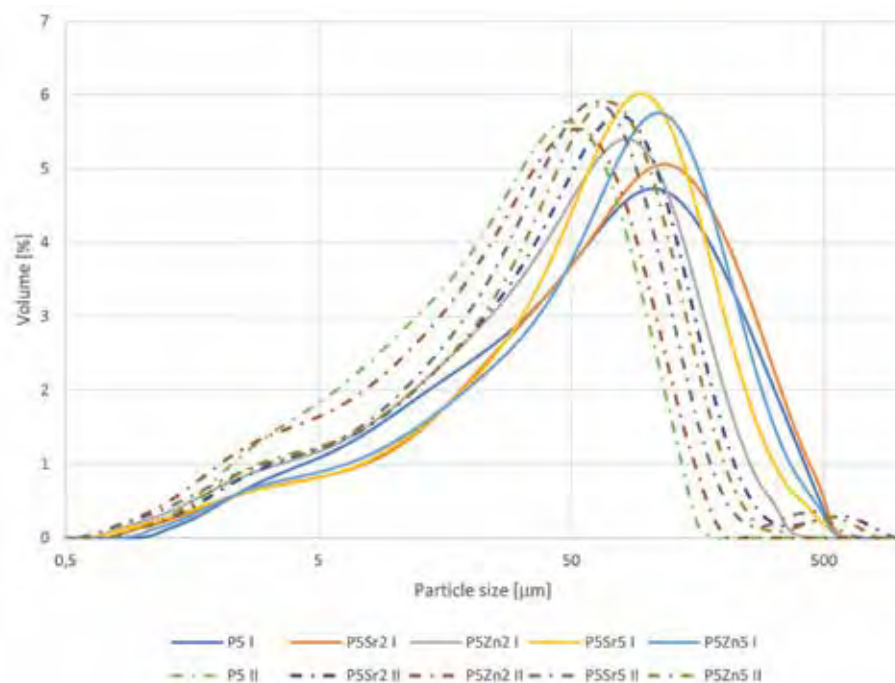
Metodyka

Do wytworzenia bioszkielek zastosowano niskotemperaturową metodę zol-żel gwarantującą wysoką czystość chemiczną i dużą homogeniczność. Uzyskane szkła scharakteryzowano pod kątem uziarnienia, cytotoksyczności w kontakcie z komórkami hFOB 1.19 oraz działania bakteriobójczego na szczepy bakterii *Staphylococcus aureus* oraz *Pseudomonas aeruginosa*.

Wyniki

W ramach realizacji zadania projektu opracowano 5 składów chemicznych bioszkieł z udziałem ZnO lub SrO. Bioszkieła uzyskano w postaci proszków o uziarnieniu I: P5_I, P5Sr2_I, P5Zn2_I, P5Sr5_I, P5Zn5_I oraz dłużej rozdrabniane bioszkieła o uziarnieniu II: P5_II, P5Sr2_II, P5Zn2_II, P5Sr5_II, P5Zn5_II. Analizy rozkładu ziarnowego (ryc.) przeprowadzono przy użyciu laserowego analizatora firmy Malvern Instruments Mastersizer 2000 z wykorzystaniem metody niskokątowego rozpraszania światła laserowego (LALLS).

Wartości charakterystyczne uziarnienia otrzymanych proszków $dv(0,5)$ wahały się od 45,5 μm do 69,1 μm w grupie I. Natomiast w grupie II wartości $dv(0,5)$ były niższe i wahały się od 26,8 μm do 45,0 μm .



Ryc. Rozkład ziarnowy uzyskanych bioszkieł

Żadne z wytworzonych bioszkieł nie wykazało działania cytotoksycznego podczas kontaktu z komórkami hFOB 1.19 (osteoblasty płodu ATCC CRL-11372), natomiast wszystkie wykazały aktywność przeciwbakteryjną wobec użytych do badań szczepów bakterii *Staphylococcus aureus* oraz *Pseudomonas aeruginosa*.

Podsumowanie

Po dokonaniu oceny biologicznej *in vitro* bioszkieła zostały sklasyfikowane jako niecytotoksyczne oraz wykazujące aktywność przeciwbakteryjną. Właściwości wytworzonych bioszkieł pozwalają na zastosowanie ich jako składników innowacyjnych wielofunkcyjnych kompozytów opracowywanych jako materiały do wypełniania ubytków kostnych.

- ¹ L. Ciołek et al., *The studies of cytotoxicity and antibacterial activity of composites with ZnO-doped bioglass*, Int J Appl Ceram Technol 2019, 16, pp. 541–551. <https://doi.org/10.1111/ijac.13144>
- ² G. S. Lázaro et al., *Individual and combined effects of the elements Zn, Mg and Sr on the surface reactivity of a $\text{SiO}_2\cdot\text{CaO}\cdot\text{Na}_2\text{O}\cdot\text{P}_2\text{O}_5$ bioglass system*, J Non Cryst Solids 2014, 386, pp. 19–28. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrsol.2013.11.038>

Anna Krokos^A, Ewelina Ortył^A, Lidia Ciołek^B, Małgorzata Gazińska^A

^A Politechnika Wrocławska, Wydział Chemiczny, Katedra Inżynierii i Technologii Polimerów

^B Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytut Ceramiki i Materiałów Budowlanych, Grupa Badawcza Biomateriały

FUNKCJONALIZACJA CZĄSTEK BIOSZKŁA AMINOKWASEM EGZOGENNYM

Functionalization of bioglass particles with exogenous amino acid

ABSTRACT

The paper presents the method of a two-stage modification of bioglass particles of different grain size doped with ZnO with the use of APTS and an exogenous amino acid. Based on FTIR-ATR and TGA analyses, the covalent binding of the amino acid to the surface of bioglass particles was confirmed qualitatively and quantitatively.

Wstęp

Szkoło bioaktywne (BG) dotowane ZnO jest materiałem ceramicznym składającym się z minerałów, które naturalnie występują w organizmie. BG tworzy połączenie z tkankami twardymi i miękkimi poprzez wzrost aktywnej biologicznie warstwy apatytu, w związku z czym jest szeroko badane do zastosowań w inżynierii tkanki miękkiej i twardej¹. Cynk w cząstkach bioszkoła wykazuje dodatkowe działanie bakteriobójcze i łagodzi reakcje zapalne². Kontrolowana reakcja cząstek BG z aminokwasami pozwala zwiększyć bioaktywność BG. Do modyfikacji powierzchni cząstek bioszkoła dotowanych ZnO zastosowano aminokwas egzogeny, który promuje adhezję i proliferację osteoblastów³.

Metodyka

Modyfikacji poddano cząstki bioszkoła z ZnO (P5Zn5) wytworzone metodą zol-żel o składzie: SiO₂ 70% wag., CaO 20% wag., P₂O₅ 5% wag., ZnO 5% wag. i dwóch różnych uziarnieniach. P5Zn5_I (d_{0,1} 7,960 μm, d_{0,5} 68,088 μm, d_{0,9} 198,461 μm) oraz P5Zn5_II (d_{0,1} 5,349 μm, d_{0,5} 42,334 μm, d_{0,9} 118,711 μm). W pierwszym etapie modyfikacji wprowadzono APTS na powierzchnię cząstek P5Zn5 w celu uzyskania wolnych grup aminowych. W drugim etapie przyłączono aminokwas egzogeny w obecności EDC i NHS w buforze MES (pH 6) do powierzchni P5Zn5/APTS poprzez wiązanie amidowe (ryc.). Modyfikację powierzchni cząstek P5Zn5 potwierdzono metodą FTIR-ATR i TGA.

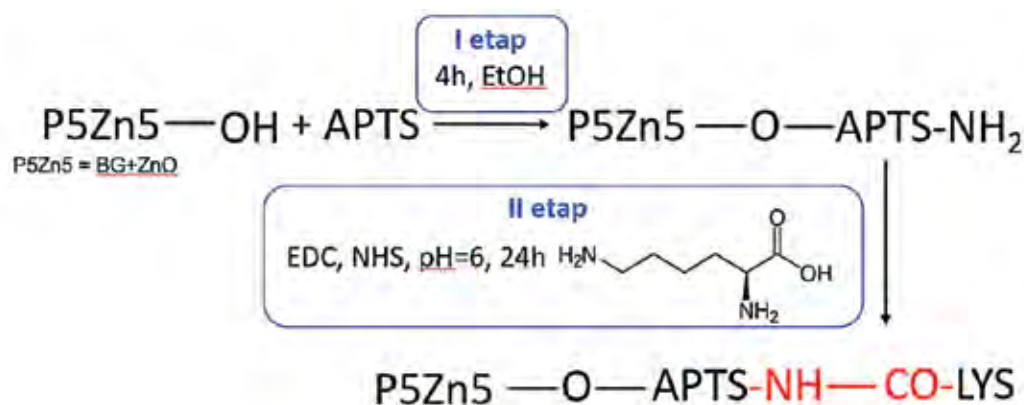
Wyniki

Na widmie FTIR-ATR widoczne są charakterystyczne pasma absorpcji dla P5Zn5. Główne pasmo przy 1036 cm^{-1} oznacza wiązania Si-O-Si (SiO_4) oraz P-O w grupach PO_4^{3-} . Pasma absorpcji przy 2840 cm^{-1} i 2930 cm^{-1} odpowiadają za wiązania grup CH_2 , a słabe pasmo przy 1500 cm^{-1} za wiązania grup $-\text{NH}_2$ występujące w cząsteczce prekursora silanowego APTS i potwierdzające strukturę cząstek P5Zn5/APTS. Obecność aminokwasu przyłączonego kowalencyjnie wiązaniem amidowym potwierdza występowanie pasm amidowych przy 1416 cm^{-1} i 1462 cm^{-1} .

Na podstawie analizy TGA w zakresie $25\text{-}900^\circ\text{C}$ określono całkowitą ilość przyłączenia APT-Su oraz aminokwasu do cząstek P5Zn5. Całkowite ubytki masy dla P5Zn5_I, P5Zn5_I/APTS oraz P5Zn5_I/APTS/LYS wynoszą odpowiednio 4,7%, 12,5% i 15,3%. Całkowite ubytki masy dla P5Zn5_II, P5Zn5_II/APTS oraz P5Zn5_II/APTS/LYS wynoszą odpowiednio 4,7%, 12,2% i 16,5%. Wyniki te wskazują, że całkowita ilość aminokwasu przyłączonego do cząstek P5Zn5_I wynosi 2,8%, a do cząstek P5Zn5_II – 4,3%.

Podsumowanie

Zaproponowana metoda modyfikacji cząstek P5Zn5 jest obiecująca w kierunku zastosowań biologicznych. Po dwuetapowej funkcjonalizacji P5Zn5 zaobserwowano dodatkowe pasma absorpcji wskazujące na obecność APTS i aminokwasu. Na podstawie analizy TGA stwierdzono zależność: im mniejszy rozmiar cząstek P5Zn5, tym większa ilość przyłączonego aminokwasu.



Ryc. Schemat modyfikacji cząstek P5Zn5

- ¹ K. Zhang et al., *Processing and properties of porous PLLA/bioactive glass composites*, *Biomaterials* 2004, 25 (13), pp. 2489–2500. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.09.033>
- ² D. Kim et al., *Role of Zn-Doped Bioactive Glass Encapsulated with Microspherical Gelatin in Localized Supplementation for Tissue Regeneration*, *Molecules* 2021, 26 (7), p. 1823. <https://doi.org/10.3390/molecules26071823>
- ³ M. Gazińska et al., *Influence of Hydroxyapatite Surface Functionalization on Thermal and Biological Properties of PLLA- and PLLGA-Based Composites*, *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21 (18), p. 6711. <https://doi.org/10.3390/ijms21186711>

Piotr Bollin^A, Milena Chraniuk^A, Mirosława Panasiuk^A, Lilit Hovhannisyan^A, Lidia Ciołek^B, Anna Woźniak^B, Justyna Sawicka^C, Zbigniew Jaegermann^B, Monika Biernat^B, Sylvia Rodziewicz-Motowidło^C, Beata Gromadzka^A

^A Instytut Biotechnologii i Medycyny Molekularnej, Zakład Badań *In Vitro*

^B Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytut Ceramiki i Materiałów Budowlanych, Grupa Badawcza Biomateriały

^C Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, Katedra Chemii Biomedycznej

METODY ANALIZY WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWBAKTERYJNYCH BIOSZKIEŁ ORAZ KOMPOZYTÓW

Methods of analyzing the antibacterial properties of bioglass and composites.

ABSTRACT

All biomaterials are characterized by biocompatibility. They may also have antibacterial properties. Samples of bioglass and chitosan-based composites were analyzed for antibacterial activity against *S. aureus* and *P. aeruginosa*. Bacteriostatic activity was observed for the bioglass samples and composites analyzed under experimental conditions.

Wstęp

Biomateriały to materiały zaprojektowane z myślą o możliwości ich bezpiecznego wykorzystania w bezpośrednim kontakcie z tkankami organizmów żywych. Podstawową ich cechą jest biokompatybilność, czyli niewykazywanie właściwości toksycznych, a także neutralność wobec układu odpornościowego. Biomateriały mogą cechować się także aktywnością przeciwdrobnoustrojową¹. Przykładami takich biomateriałów są między innymi bioszkieło oraz kompozyty wieloskładnikowe wytwarzane na bazie polisacharydu – chitozanu – i to one stanowią obiekt poniższych badań.

Metodyka

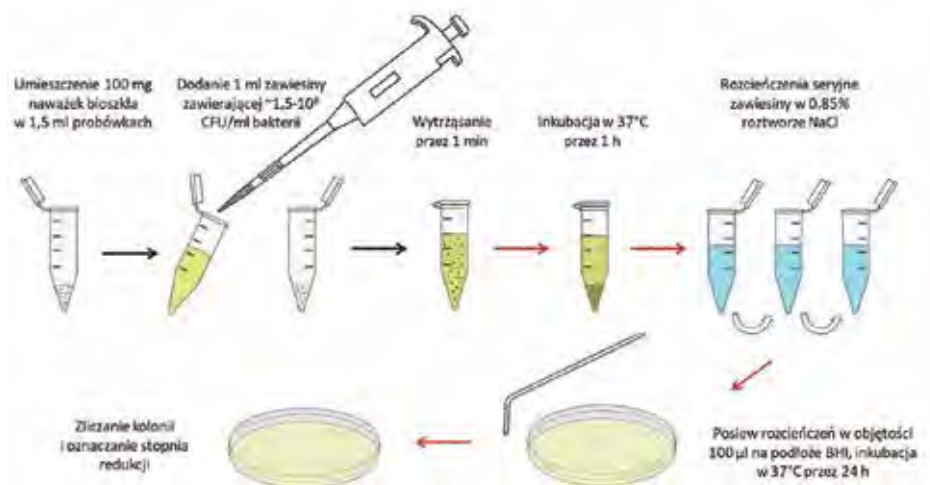
Do określenia właściwości przeciwbakteryjnych zarówno bioszkieła, jak i kompozytów wykorzystano dwa gatunki bakterii: *Staphylococcus aureus* oraz *Pseudomonas aeruginosa*. W celu sprawdzenia działania przeciwbakteryjnego bioszkieła wykorzystano metodę wielokrotnie opisaną w publikacjach poruszających podobną tematykę²⁻⁴. Powierzchniową aktywność przeciwbakteryjną kompozytów badano przy użyciu zmodyfikowanej metody ASTM E2180-07 2012⁵.

Wyniki

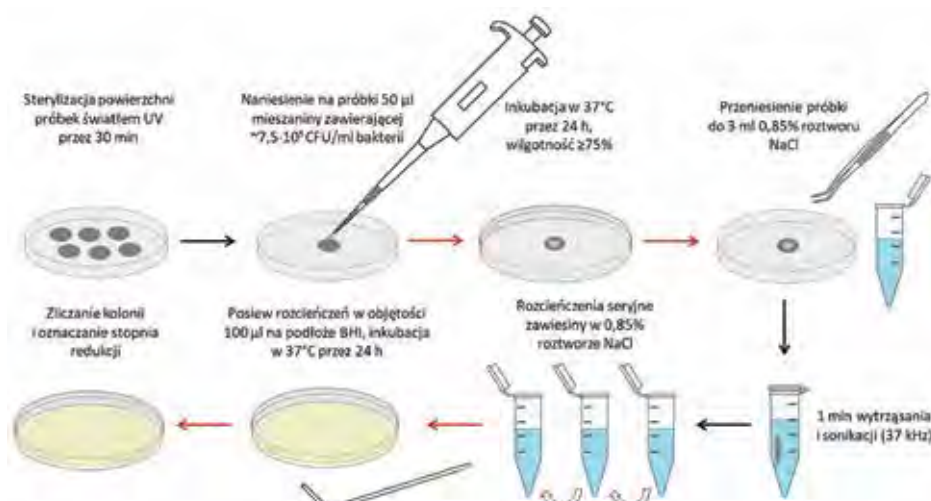
Wśród testowanych bioszkieł, najwyższą aktywnością odznaczały się te z dodatkiem cynku. Cząstki bioszkieła o mniejszym rozmiarze wykazywały lepsze właściwości przeciwbakteryjne. W przypadku kompozytów, najwyższą aktywność przeciwbakteryjną obserwowano głównie dla próbek wytworzonych z kombinacji bioszkieła wzbogaconego cynkiem oraz peptydów ug39 lub ug46. *S. aureus* odznaczał się wyższą wrażliwością na działanie kompozytów niż *P. aeruginosa*.

Podsumowanie

Dla części analizowanych w warunkach doświadczalnych próbek bio szkła oraz kompozytów zaobserwowano aktywność bakteriostatyczną.



Ryc. 1. Schemat przedstawiający procedurę badania aktywności przeciwbakteryjnej bioszklka



Ryc. 2. Schemat przedstawiający procedurę badania powierzchniowej aktywności przeciwbakteryjnej kompozytów

- 1 B. Ratner, A. Hoffman, F. Schoen, J. Lemons, *Biomaterials Science: Introduction to Materials in Medicine, 2nd Edition* 2004, Elsevier Academic Press. ISBN: 9780080470368.
- 2 S. Hu, J. Chang, M. Liu, C. Ning, *Study on antibacterial effect of 4555 Bioglass®*, Journal of Materials Science: Materials in Medicine 2008, 20 (1), pp. 281–286.
- 3 I. Allan, H. Newman, M. Wilson, *Antibacterial activity of particulate Bioglass® against supra- and subgingival bacteria*, Biomaterials 2001, 22 (12), pp. 1683–1687.
- 4 A. Moghanian, A. Ghorbanoghli, M. Kazem-Rostami, A. Pazhouheshgar, E. Salari, M. Saghafi Yazdi, M. Tahriri, *Novel antibacterial Cu/Mg-substituted 585-bioglass: Synthesis, characterization and investigation of in vitro bioactivity*, International Journal of Applied Glass Science 2019, 11, pp. 685–698.
- 5 ASTM E2180-07 (2012), *Standard Test Method for Determining the Activity of Incorporated Antimicrobial Agent(s) In Polymeric or Hydrophobic Materials*, American Society for Testing and Materials. PA, USA.

Anna Woźniak^A, Monika Biernat^A, Lidia Ciołek^A, Agnieszka Kubiś^B, Natalia Karska^B, Justyna Sawicka^B, Sylwia Rodziewicz-Motowidło^B, Lilit Hovhannisyanyan^C, Milena Chraniuk^C, Mirosława Panasiuk^C, Beata Gromadzka^C, Zbigniew Jaegermann^A

^A Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytut Ceramiki i Materiałów Budowlanych, Grupa Badawcza Biomateriały

^B Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, Katedra Chemii Biomedycznej

^C Instytut Biotechnologii i Medycyny Molekularnej, Zakład Badań *In Vitro*

SPOSOBY WPROWADZANIA SKŁADNIKÓW AKTYWNYCH BIOLOGICZNIE W POSTACI PEPTYDÓW DO POROWATYCH KOMPOZYTÓW CHITOZANOWYCH

Methods of introducing biologically active components in the form of peptides into porous chitosan composites.

ABSTRACT

In this presentation, ways of introducing biologically active components in the form of peptides into porous chitosan composites are presented. The methods of crosslinking/stabilization of chitosan composites were also discussed. In all methods used, stable porous composites with suitable microstructure, enriched with active peptides, were obtained.

Wstęp

Materiały wykorzystywane do wytwarzania porowatych rusztowań przeznaczonych do celów medycznych powinny być biokompatybilne, biodegradowalne i bioaktywne. Takie właściwości wykazują w szczególności biokompozyty chitozanowe, na przykład z dodatkiem bioszklę, które zwiększa bioaktywność i mogłoby zapewnić działanie antybakteryjne takiego kompozytu. Dodatkowo w celu rozszerzenia właściwości kompozytów chitozan/bioszklę można je również wzbogacić o różne dodatki, np. biologicznie aktywne peptydy.

W przypadku wytwarzania biokompozytów porowatych bardzo ważny jest sposób wprowadzania peptydów do biomateriału oraz kontrolowanie szybkości ich uwalniania. Jednym ze sposobów dostarczania peptydów do struktury biomateriału jest adsorpcja peptydów na powierzchni biomateriału poprzez inkubację porowatego rusztowania w roztworze peptydu czy modyfikacja z wykorzystaniem wiązania kowalencyjnego¹.

Główną trudnością w przypadku porowatych kompozytów polimerowych jest ich niska trwałość, szybka degradacja i słabe właściwości mechaniczne. W przypadku rusztowań chitozanowych można temu zapobiec poprzez sieciowanie lub stabilizację odpowiednimi metodami i środkami².

Wybór metody wprowadzania substancji aktywnej do kompozytu, a także wybór metody uzyskania struktury porowatej oraz warunków stabilizacji rusztowania jest zatem kluczowym zagadnieniem w projektowaniu i przygotowaniu nowych porowatych rusztowań chitozan-bioszklę-peptyd.

Metodyka

Porowatą strukturę wielofunkcyjnego rusztowania chitozan-bioszko-peptyd otrzymano metodą liofilizacji przy użyciu zaprojektowanych specjalnie form o pożądanym kształcie i wymiarach (ryc.). Biologicznie aktywne peptydy wprowadzano do układu chitozan-bioszko metodą przyłączenia kowalencyjnego, metodą adsorpcyjną oraz w postaci fibryli. Porowate kompozyty stabilizowano sześcioma różnymi metodami. Dla każdej z metod sieciowania/stabilizacji ustalono optymalne warunki dla uzyskania porowatej struktury.

Wyniki

W prezentacji przedstawiono sposoby wprowadzania składników aktywnych biologicznie w postaci peptydów do porowatych kompozytów chitozanowych trzema metodami. Omówiono także metody sieciowania/stabilizacji kompozytów chitozanowych. We wszystkich zastosowanych metodach otrzymano stabilne kompozyty porowate o odpowiedniej mikrostrukturze i wzbogacone o aktywne peptydy.

Podsumowanie

Wszystkie przedstawione w prezentacji metody wprowadzania składników bioaktywnych, sieciowania/stabilizacji struktur zostały z powodzeniem zastosowane.



Ryc. Formy do liofilizacji

- ¹ F. Raquel Maia et. Al, *Functionalization of biomaterials with small osteoinductive moieties*, Acta Biomaterialia 2013, 9 (11), pp. 8773–8789.
- ² A. Woźniak, M. Biernat, *Methods for crosslinking and stabilization of chitosan structures for potential medical applications*, Journal of Bioactive and Compatible Polymers 2022, 37 (3), pp. 151–167.

Natalia Karska^A, Agnieszka Kubiś^A, Małgorzata Gazińska^B, Franciszek Kasprzykowski^A, Sylwia Rodziewicz-Motowidło^A

^A Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, Katedra Chemii Biomedycznej

^B Politechnika Wroclawska, Wydział Chemiczny, Katedra Inżynierii i Technologii Polimerów

SYNTEZA MALEIMIDOGLICYNY, SPOSÓB PRZYŁĄCZENIA JEJ DO CHITOZANU I WYZNACZENIE STOPNIA MODYFIKACJI CHITOZANU

Synthesis of maleimidoglycine, its attachment to chitosan and determination of the degree of modification of chitosan

ABSTRACT

In this presentation, the high-performance method of obtaining maleimidoglycine, its attachment to chitosan and analytical method of determination of the degree of chitosan modification were presented. The idea of the work was to develop optimization of reaction conditions to obtain chitosan with a certain degree of substitution and selection and optimization of a method for the analysis of chitosan modifications.

Wstęp

Chitozan może ulegać zarówno modyfikacji chemicznej, jak i modyfikacji fizycznej. Stosowane metody modyfikacji mają na celu zwiększenie odporności mechanicznej i chemicznej tego polimeru, zmianę jego hydrofilowości i rozpuszczalności, poprawę aktywności biologicznej i biokompatybilności. Chitozan jest podatny na chemiczną modyfikację wolnych grup aminowych z jednostek deacetylowanych w pozycji C-2 oraz grup hydroksylowych w pozycjach C-3 i C-6¹. Przykładem modyfikacji chitozanu w pozycji C-2 za pomocą wiązania amidowego jest reakcja chitozanu z maleimidoglicyną. Powyższa modyfikacja chitozanu jest przeprowadzana w celu dalszego przyłączania substancji biologicznie czynnych o pożądanych cechach aplikacyjnych dla zastosowań biomedycznych, np. nośników substancji biologicznie aktywnych. Kolejne modyfikacje mają również na celu poprawę niektórych specyficznych właściwości chitozanu, takich jak: rozpuszczalność, charakter hydrofilowy, właściwości żelujące².

Celem pracy było opracowanie wydajnej metody otrzymywania maleimidoglicyny, optymalizacja warunków przyłączania maleimidoglicyny do chitozanu oraz dobranie metody analizy stopnia osadzenia chitozanu maleimidokwasem (ryc.).

Metodyka

Maleimidoglicynę otrzymano w procesie kondensacji glicyny z bezwodnikiem maleinowym z zastosowaniem zmodyfikowanej tlenkiem metalu krzemionki jako katalizatora. W następnym

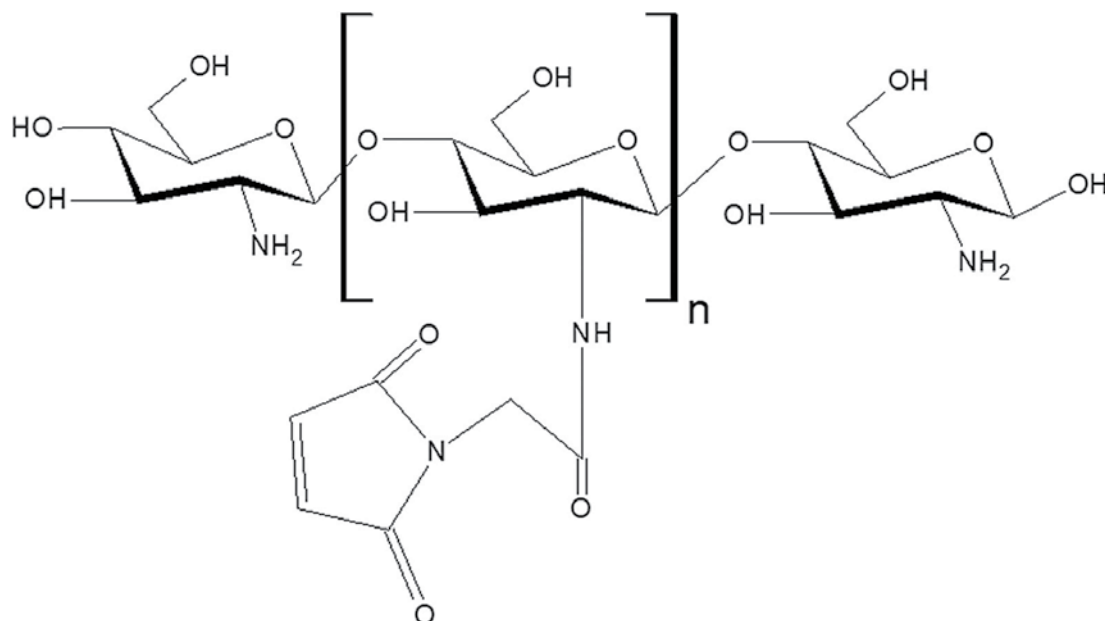
etapie do chitozanu przyłączono zaktywowaną maleimidoglicynę. Uzyskany produkt poddano badaniom fizykochemicznym oraz analizie stopnia osadzenia.

Wyniki

Opracowano procedurę syntezy maleimidoglicyny z minimalną ilością produktów ubocznych. Otrzymano zmodyfikowany chitozan o określonym stopniu osadzenia. Opracowano procedurę analizy stopnia osadzenia chitozanu maleimidoaminokwasem przy użyciu wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Określono właściwości fizykochemiczne modyfikowanego chitozanu.

Podsumowanie

Dobór odpowiedniego katalizatora do syntezy maleimidoglicyny oraz odpowiedni stosunek reagentów umożliwia uzyskanie maleimidoglicyny z wysoką wydajnością bez produktów ubocznych. Opracowanie procedury otrzymywania modyfikowanego chitozanu maleimidoaminokwasem pozwoliło na uzyskanie powtarzalnej procedury. Dzięki opracowaniu metody analizy stopnia osadzenia możliwe jest określenie ilości maleimidokwasu, który jest przyłączony do chitozanu.



Ryc. Schemat chitozanu modyfikowanego maleimidoglicyną

¹ M. D. Partis, D. G. Griffiths, G. C. Roberts, R. B. Beechey, *Cross-Linking of Protein by ω -Maleimido Alkanoyl-N-Hydroxysuccinimido Esters*, *Journal of Protein Chemistry* 1983, 2 (3), pp. 263–277.

² M. W. Sabaa, *Chitosan-g-Copolymers: Synthesis, Properties, and Applications BT - Polysaccharide Based Graft Copolymers*, In eds. Susheel Kalia and M. W. Sabaa, Springer, Berlin, Heidelberg 2013, pp. 111–147.

Agnieszka Kubiś^A, Natalia Karska^A, Monika Biernat^B, Anna Woźniak^B, Lidia Ciołek^B, Zbigniew Jaegermann^B, Milena Chraniuk^C, Mirosława Panasiuk^C, Beata Gromadzka^C, Sylwia Rodziewicz-Motowidło^A

^A Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, Katedra Chemii Biomedycznej

^B Sieć Badawcza Łukasiewicz - Instytut Ceramiki i Materiałów Budowlanych, Grupa Badawcza Biomateriały

^C Instytut Biotechnologii i Medycyny Molekularnej, Zakład Badań *In Vitro*

SYNTEZA I ANALIZA FIZYKOCHEMICZNA KONIUGATU CHITOZAN-PEPTYD ORAZ CHARAKTERYSTYKA PEPTYDÓW O POTENCJALE PROREGENERACYJNYM

Synthesis and physicochemical analysis of chitosan-peptide conjugate and characterization of peptides with pro-regeneration potential.

ABSTRACT

The aim of the work was the synthesis of peptides with pro-regeneration potential and the modification of chitosan with a biologically active peptide. Enrichment of the selected peptide with a sequence specific for an enzyme found in the bone environment allowed for a slow release of the active sequence to the implant site of the potential implant.

Wstęp

Polimery są integralną częścią niemal każdego wyrobu medycznego lub preparatu terapeutycznego w biomedycynie. Tradycyjnie stosuje się różne polimery syntetyczne ze względu na ich doskonałe właściwości mechaniczne, ale zazwyczaj są one pozbawione jakichkolwiek składników biosygnalizacyjnych. Ostatni trend zmierza obecnie w kierunku projektowania materiałów, które mogą dobrze integrować się z biologiczną siecią sygnalizacyjną. Koniugaty białko-peptyd-polimery stały się nową generacją materiałów hybrydowych, łącząc zalety obu składników i jednocześnie zmniejszając wady poszczególnych komponentów. Są one wykorzystywane w dostarczaniu leków, w terapii komórkowej i inżynierii tkankowej oraz jako materiały przeciwdrobnoustrojowe¹. F. Costa i in. w swoich badaniach immobilizowali peptyd przeciwdrobnoustrojowy na cienkich warstwach chitozanu, które mogą mieć zastosowanie jako powłoki implantu ze względu na właściwości osteogenne i antybakteryjne². Innym przykładem wykorzystania kowalencyjnego połączenia peptydu z chitozaniem jest tworzenie hydrożeli z chitozanu modyfikowanego peptydem. Hydrożele te są stosowane w gojeniu się ran skóry³.

Celem pracy była synteza i analiza peptydów o potencjale proregeneracyjnym i modyfikacja chitozanu peptydem o najlepszych właściwościach (ryc.). Wybrany peptyd zawierał w swojej sekwencji fragment specyficzny dla metaloproteiny MMP-7, dzięki temu po wszczepieniu potencjalnego implantu fragment aktywny będzie powoli uwalniany do środowiska kości.

Metodyka

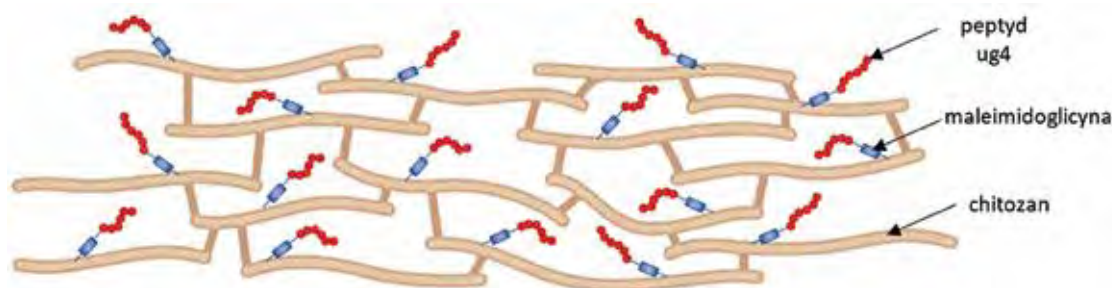
Peptydy zsyntezowano na nośniku stałym (SPPS) z zastosowaniem metodologii Fmoc, a następnie poddano procesowi oczyszczania z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej w układzie faz odwróconych (RP-HPLC). Peptyd ug4 przyłączył do chitozanu, wykorzystując reakcję Michaela, a analizy stopnia osadzenia chitozanu peptydem dokonano, przeprowadzając hydrolizę i analizę aminokwasową produktu reakcji (UPLC).

Wyniki

Zsyntezowano i oczyszczono peptydy o potencjalnych właściwościach proregeneracyjnych, które poddano badaniom stabilności i badaniom biologicznym. Następnie dla peptydu o najlepszych właściwościach (ug1) zsyntezowano analog (ug4) poprzez dodanie fragmentu specyficznego dla metaloproteiny MMP-7, dodatkowo na N-końcu została umieszczona cysteina w celu połączenia peptydu z chitozaniem. Przeprowadzono reakcję przyłączenia peptydu do polimeru, wykorzystując łącznik maleimidowy, dla sfunkcjonalizowanego kompozytu przeprowadzono analizy stopnia osadzenia chitozanu peptydem.

Podsumowanie

Synteza i analiza peptydów będących fragmentami czynników wzrostu kości pozwoliła na wybranie peptydu o wysokim potencjale proregeneracyjnym. Wzbogacenie wybranego peptydu sekwencją specyficzną dla enzymu znajdującego się w środowisku kości pozwoliło na uzyskanie powolnego uwalniania się peptydu aktywnego do miejsca wszczepu potencjalnego implantu. Synteza i analiza koniugatu chitozan-peptyd pozwoliła na uzyskanie kompozytu o znanym stężeniu substancji aktywnej. Może on być wykorzystany do odbudowy tkanki kostnej.



Ryc. Schemat koniugatu chitozan-peptyd ug4

- ¹ N. Kulkarni *et al.*, *Peptide-Chitosan Engineered Scaffolds for Biomedical Applications*, *Bioconjug. Chem.* 2021, 32, 3, pp. 448–465.
- ² F. Costa, S. Maia, J. Gomes, P. Gomes, M. C. L. Martins, *Characterization of hLF1-11 immobilization onto chitosan ultrathin films, and its effects on antimicrobial activity*, *Acta Biomater.* 2014, 10, 8, pp. 3513–3521.
- ³ X. Chen *et al.*, *Peptide SIKVAV-modified chitosan hydrogels promote skin wound healing by accelerating angiogenesis and regulating cytokine secretion*, *Am. J. Transl. Res.* 2018, 10, 12, pp. 4258–4268.

Justyna Sawicka^A, Piotr Bollin^B, Mirosława Panasiuk^B, Milena Chraniuk^B, Beata Gromadzka^B,
Sylvia Rodziewicz-Motowidło^A

^A Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, Katedra Chemii Biomedycznej

^B Instytut Biotechnologii i Medycyny Molekularnej, Zakład Badań *In Vitro*

PEPTYDY O WŁAŚCIWOŚCIACH PRZECIWBAKTERYJNYCH UG36/39 ORAZ UG46 – CHARAKTERYSTYKA FIZYKOCHEMICZNA I STRUKTURALNA

Antimicrobial peptides ug36/39 and ug46 – physicochemical and structural characteristics

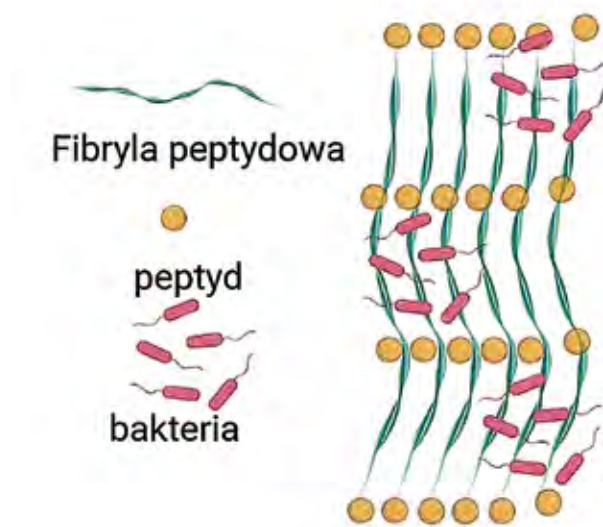
ABSTRACT

The aim of the project was to obtain a biocompatible nanomaterial releasing a peptide with antimicrobial activity. For this purpose, we designed a peptide containing three linked amino acid sequences with different functionality: fibrillogenic, enzymatic and antimicrobial.

Wstęp

Peptydy to małącząsteczkowe związki zbudowane głównie z aminokwasów naturalnie występujących w ludzkim organizmie. Charakteryzują się one szerokim spektrum aktywności biologicznej, biodegradowalnością, biodostępnością oraz łatwością w modyfikacji chemicznej. Ze względu na aminokwasową budowę zazwyczaj są szybko degradowane w obecności enzymów naturalnie występujących w ludzkim osoczu. Jednak niektóre peptydy wykazują zdolność do samoczynnej organizacji w wysoce uporządkowane struktury. Takim przykładem są fibryle peptydowe, które wykazują wysoką odporność na działanie wielu czynników fizycznych, chemicznych czy biologicznych. Zarówno duża stabilność termodynamiczna, jak i wytrzymałość na działanie czynników mechanicznych kwalifikuje fibryle peptydowe do wykorzystywania jako biomateriały, rusztowania i nośniki leków. Jedną z możliwości zastosowania fibryli peptydowych jest stosowanie ich jako magazyn substancji o określonej aktywności biologicznej. Fibryle peptydowe tworzą bardzo cienki stelaż podobny do biofilmu, na którym możliwe jest chemiczne przyłączenie peptydów o aktywności przeciwbakteryjnej. Peptydy przeciwbakteryjne mogą być uwalniane pod wpływem obecności enzymów z nośnika, którym jest fibryla.

W niniejszej pracy zaprojektowaliśmy innowacyjny system do powolnego uwalniania peptydów o właściwościach przeciwbakteryjnych (ug36/ug39) z fibryli peptydowej (ug46) pod wpływem działania metaloproteiny. Jako sekwencję o właściwościach fibrylogennych wykorzystaliśmy peptyd o sekwencji QAGIVV będący analogiem fragmentu 55-60 ludzkiej cystatyny C¹. Pomędzy te dwie sekwencje został wbudowany fragment enzymatyczny, który w obecności metaloproteiny uwolni peptyd przeciwbakteryjny. Schematyczna budowa otrzymanego konstruktu została przedstawiona na ryc.



Ryc. Schemat fibryli peptydowej zawierającej w swojej sekwencji peptyd o działaniu przeciwbakteryjnym

Metodyka

Synteza peptydów została wykonana na nośniku stałym z wykorzystaniem syntezy mikrofalowego. Peptydy oczyszczono oraz wymieniono toksyczny jon trifluorooctowy na octanowy. Masa cząsteczkowa oraz czystość otrzymanych produktów została potwierdzona przy pomocy wysokosprawnej chromatografii cieczowej (UHPLC) oraz spektrometrii mas (LC-MS). Wykonano charakterystykę fizykochemiczną i strukturalną otrzymanych peptydów (AFM, TEM, CD, testy kolorymetryczne, badania stabilności oraz szybkości uwalniania peptydu z kompozytów polimerowych, trawienie enzymatyczne).

Wyniki

Otrzymane peptydy wykazują stabilność w roztworach wodnych oraz pożywkach hodowlanych. Uzyskany konstrukt ug46 wykazuje wysoką tendencję do samoorganizacji. Proces fibrylizacji rozpoczyna się bezpośrednio po rozpuszczeniu peptydu w buforze fosforanowym, a po 6 dniach inkubacji w roztworze widoczne są nierozpuszczalne włókna. Analiza mikroskopowa (TEM, AFM) wykazała, że proces fibrylizacji prowadzi do uzyskania regularnych struktur o powtarzającym się skręcie włókien co 100 nm.

Podsumowanie

Uzyskane wyniki badań potwierdzają, że istnieje możliwość wykorzystania fibryli peptydowych jako rusztowań dla peptydów przeciwbakteryjnych będących jednocześnie dozownikiem substancji o działaniu biologicznym. Takie zastosowanie pozwala na otrzymanie w pełni biodegradowalnego i biozgodnego biomateriału, który może być w prosty sposób modyfikowany poprzez zmianę sekwencji enzymatycznej oraz sekwencji o działaniu biologicznym.

¹ E. Iłowska, J. Sawicka, A. Szymańska, *Synthesis and physicochemical studies of amyloidogenic hexapeptides derived from human cystatin C*, Journal of Peptide Science 2018, 24, e3073.

Beata Gromadzka^A, Milena Chraniuk^A, Mirosława Panasiuk^A, Piotr Bollin^A, Lilit Hovhannisyanyan^A, Agnieszka Kubiś^B, Natalia Karska^B, Lidia Ciołek^C, Anna Woźniak^C, Monika Biernat^C, Sylwia Rodziewicz-Motowidło^B, Zbigniew Jaegermann^C

^A Instytut Biotechnologii i Medycyny Molekularnej, Zakład Badań *In Vitro*

^B Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, Katedra Chemii Biomedycznej

^C Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytut Ceramiki i Materiałów Budowlanych, Grupa Badawcza Biomateriały

INNOWACYJNE ROZWIĄZANIA W ZAKRESIE BIOMATERIAŁÓW WYKORZYSTYWANYCH W REGENERACJI KOŚCI ORAZ W PROCESACH GOJENIA RAN

Innovative solutions in the field of biomaterials used in bone regeneration and wound healing processes.

ABSTRACT

Biomaterials used in bone reconstruction are constantly being improved. The rapid development in the field of biocompatible materials forces the introduction of new solutions for bone tissue regeneration process. There is a high demand to develop new, improved strategies to support the bone-regeneration process as well as tissue healing and improve antibacterial properties. One of the most promising methods to improve bone healing is implantation using regenerative biomaterials. Biomaterials with antibacterial properties would significantly reduce the problem of infection.

Wstęp

Biomateriały stosowane w odbudowie kości są ciągle udoskonalane. Szybki rozwój w dziedzinie materiałów biokompatybilnych wymusza wprowadzanie nowych rozwiązań w procesie regeneracji tkanki kostnej. Istnieje duże zapotrzebowanie na opracowanie nowych, udoskonalonych strategii wspomagających proces regeneracji kości, gojenia tkanek oraz poprawy właściwości antybakteryjnych. Jedną z najbardziej obiecujących metod poprawy gojenia kości jest implantacja z wykorzystaniem biomateriałów regeneracyjnych. Biomateriały o właściwościach antybakteryjnych znacznie zmniejszyłyby problem infekcji.

Regeneracja kości jest złożonym procesem fizjologicznym, w którym zachodzą sekwencyjne zdarzenia komórkowe i molekularne prowadzące do wytworzenia nowej kości, a nie włóknistej tkanki przypominającej bliznę. Duże ubytki kostne, ciężkie złamania kości i inne złożone stany kliniczne nie mogą w pełni polegać na naturalnym gojeniu się kości i wymagają dodatkowego wsparcia.

Celem przedstawionych badań była ocena wielofunkcyjnych biokompozytów na bazie chitozanu wzbogaconych bioszklami i aktywnymi peptydami. Ich właściwości proregeneracyjne, przeciwzapalne i przeciwbakteryjne oceniane *in vitro* wykazały ich duży potencjał do implantacji.

Metodyka

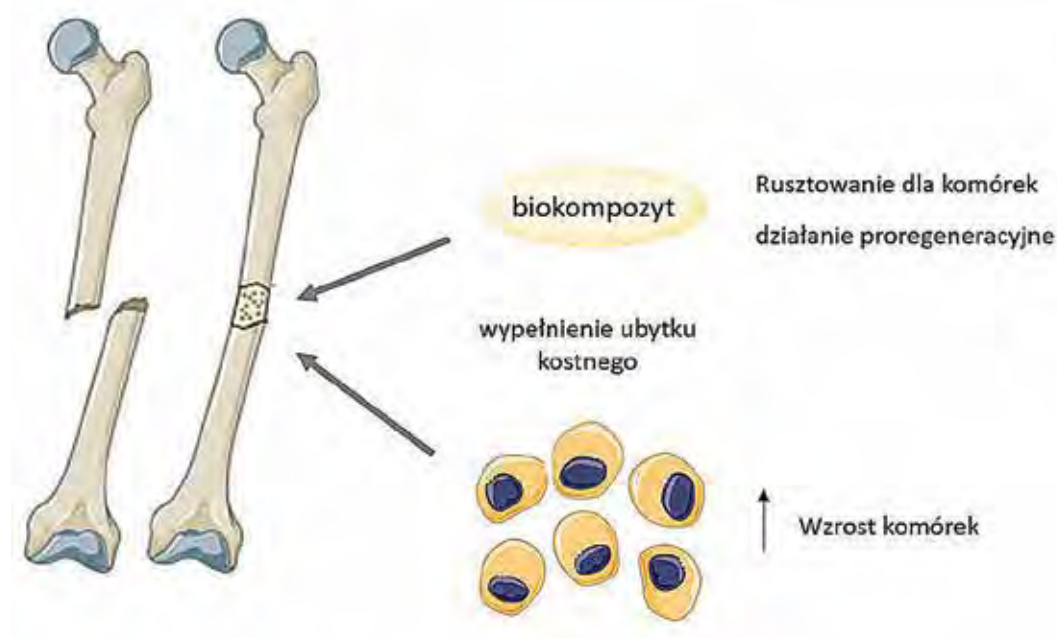
Do określenia potencjału wielofunkcyjnych biokompozytów na bazie chitozanu wzbogaconych bioszklami i aktywnymi peptydami wykonano szereg badań *in vitro* na komórkach ludzkich osteoblastów.

Wyniki

Otrzymane wyniki wykazały brak efektu cytotoksycznego i zwiększoną proliferację komórek hodowanych w obecności ich ekstraktów (efekt substancji wspomagających uwalnianych z kompozytów). Kompozyty wykazujące największy potencjał skierowano do badań implantacyjnych w celu wykazania ich właściwości *in vivo*.

Podsumowanie

Wielofunkcyjne biokompozyty na bazie chitozanu wzbogaconego bioszklami i aktywnymi peptydami wykazują znaczny potencjał proregeneracyjny i wspierający proces regeneracji kości.



Ryc. Schemat użycia biokompozytów do wypełniania ubytków kostnych

Mirosława Panasiuk^A, Milena Chraniuk^A, Piotr Bollin^A, Lilit Hovhannisyan^A, Agnieszka Kubiś^B, Natalia Karska^B, Lidia Ciótek^C, Anna Woźniak^C, Zbigniew Jaegermann^C, Monika Biernat^C, Sylwia Rodziewicz-Motowidło^B, Beata Gromadzka^A

^A Instytut Biotechnologii i Medycyny Molekularnej, Zakład Badań *In Vitro*

^B Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, Katedra Chemii Biomedycznej

^C Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytut Ceramiki i Materiałów Budowlanych, Grupa Badawcza Biomateriały

PEPTYD UG46 O WŁAŚCIWOŚCIACH PROREGENERACYJNYCH I PRZECIWPALNYCH JAKO DODATEK DO POROWATYCH BIOKOMPozyTÓW NA BAZIE CHITOZANU I BIOSZKŁA W CELU POPRAWY REGENERACJI KOŚCI

Ug46 peptide with pro-regenerative and anti-inflammatory properties as an addition to porous bioglass-chitosan biocomposites for improved bone regeneration.

ABSTRACT

The rapid development in the field of biocompatible materials forces the introduction of new solutions for the regeneration process of bone tissue. One of the most promising methods to improve bone healing is implantation using regenerative biomaterials. The improvement of biocompatible materials is often associated with the addition of enriching substances, such as hydroxyapatite-based ceramics, bioglasses, trace element oxides, and other compounds stimulating proliferation or with antibacterial or anti-inflammatory properties. Recent studies show the great importance of additives in forms of bioactive peptides to improve the properties of biocomposites. In this report, we present the multifunctional ug46 peptide showing pro-regenerative and anti-inflammatory properties as an addition to porous bioglass-chitosan biocomposites supporting the bone regeneration process.

Wstęp

Szybki rozwój materiałów biokompatybilnych wymusza wprowadzanie nowych rozwiązań w procesie regeneracji tkanki kostnej. Jedną z najbardziej obiecujących metod poprawy gojenia kości jest implantacja z wykorzystaniem biomateriałów regeneracyjnych. Udoskonalenie materiałów biokompatybilnych często wiąże się z dodaniem substancji wspomagających, takich jak: ceramika na bazie hydroksyapatytu, bioszkle, tlenki pierwiastków śladowych i inne związki stymulujące proliferację lub o działaniu przeciwbakteryjnym czy przeciwzapalnym. Ostatnie badania wskazują na duże znaczenie dodatków w postaci bioaktywnych peptydów dla poprawy właściwości biokompozytów. Przedstawiamy wielofunkcyjny peptyd ug46 wykazujący właściwości proregeneracyjne i przeciwzapalne jako dodatek do porowatych biokompozytów na bazie chitozanu i bioszkle wspierających proces regeneracji kości.

Opisujemy panel porowatych biokompozytów bioszko-chitozan wzbogaconych o wielofunkcyjny peptyd ug46, który wykazuje właściwości proregeneracyjne i przeciwzapalne. Właściwości biomateriału zostały przetestowane *in vitro* na komórkach ludzkich osteoblastów i fibroblastów, które wykazały duży potencjał peptydu w zakresie poprawy gojenia tkanek i regeneracji kości.

Metodyka

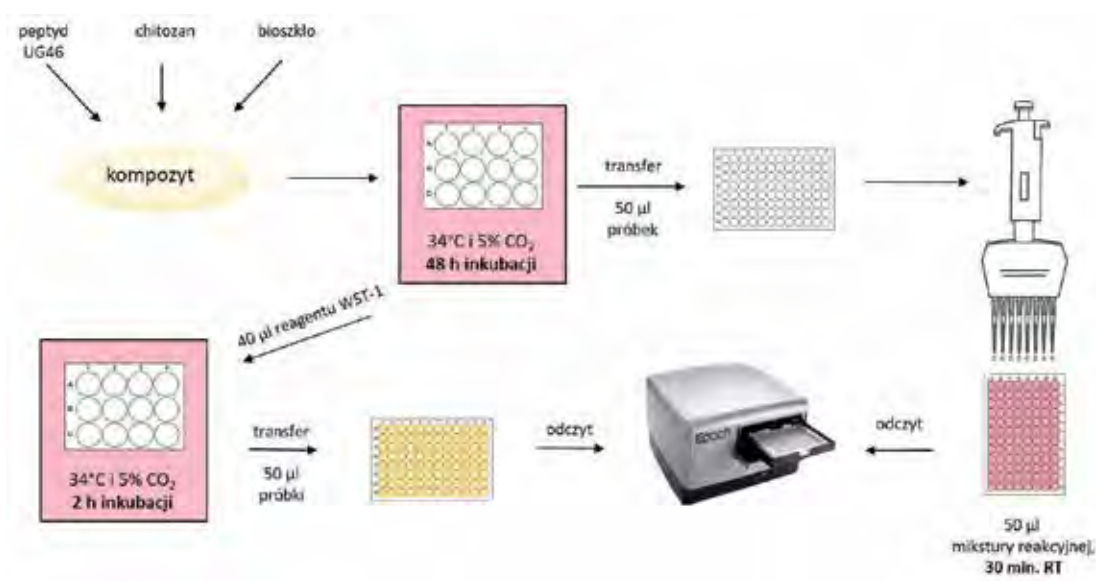
Do określenia potencjału proregeneracyjnego i przeciwzapalnego peptydu ug46 wykonano szereg badań *in vitro* na komórkach ludzkich osteoblastów i fibroblastów w stanie fizjologicznym oraz w stanie zapalnym (ryc.).

Wyniki

Otrzymane wyniki wykazały brak efektu cytotoksycznego, zwiększoną proliferację komórek i obniżony poziom markerów stanu zapalnego przy różnych stężeniach peptydu ug46. Wykazano także, że dodatek peptydu ug46 do biokompozytów zwiększa ich potencjał proregeneracyjny.

Podsumowanie

Wielofunkcyjny peptyd ug46 wykazuje właściwości proregeneracyjne i przeciwzapalne oraz działanie wspomagające jako dodatek do porowatych biokompozytów na bazie chitozanu i bioszka wspierających proces regeneracji kości.



Ryc. Schemat badań określających potencjał proregeneracyjny panelu porowatych biokompozytów na bazie chitozanu i bioszka wzbogaconych o różne stężenia peptydu ug46

Małgorzata Gazińska, Ewelina Ortyl, Anna Krokos, Michał Grzymajło, Katarzyna Chyży

Politechnika Wroclawska, Wydział Chemiczny, Katedra Inżynierii i Technologii Polimerów

SYNTEZA, OPTYMALIZACJA I FUNKCJONALIZACJA POLI(ADYPINIANU GLICEROLU)

Synthesis, optimization and functionalization of poly(glycerol adipate)

ABSTRACT

The studies included (i) enzymatic synthesis of poly(glycerol adipate) (PGA), (ii) determination of the effect of synthesis conditions on the microstructure and thermal properties of the synthesized PGAs (iii) functionalization of PGA with an exogenous amino acid.

Wstęp

Poli(adypinian glicerolu) jest biodegradowalnym i bioresorbowalnym poliestrem i ma liczne zastosowania biomedyczne. Liniowy PGA ma w każdym merze grupę hydroksylową, dzięki której możliwe jest sieciowanie oraz przyłączanie różnych podstawników w celu biofunkcjonalizacji polimeru. Ze względu na zastosowanie PGA do wytwarzania kompozytowych materiałów implantacyjnych przeznaczonych do regeneracji tkanki kostnej, do biofunkcjonalizacji PGA zastosowano aminokwas, który promuje adhezję i proliferację osteoblastów^{1,2} oraz zwiększa potencjał osteogeniczny komórek macierzystych kości³.

Metodyka

Mikrostrukturę PGA badano metodami NMR, strukturę produktu funkcjonalizacji PGA aminokwasem egzogennym potwierdzono metodami NMR, FTIR oraz analizą elementarną. Właściwości termiczne i lepkość dynamiczną zbadano metodami DSC i DMA.

Wyniki

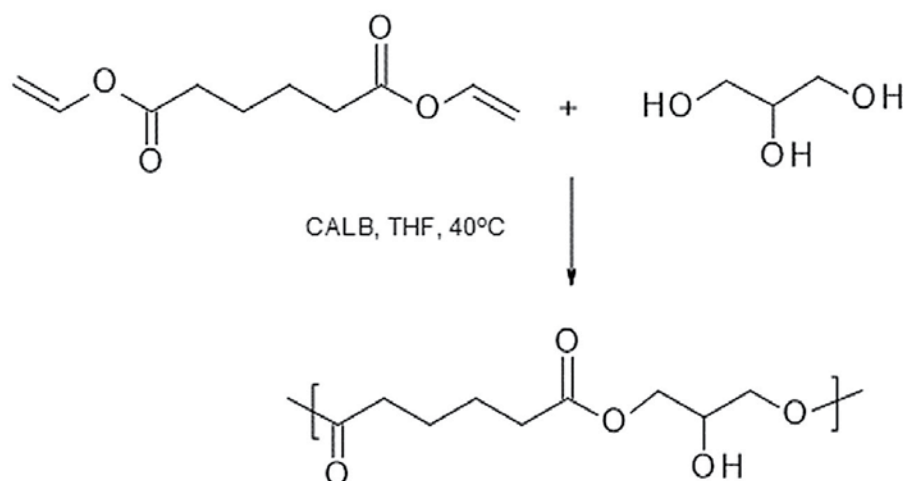
PGA syntezowano enzymatycznie na drodze politransstryfikacji glicerolu i adypinanu diwinyli z zastosowaniem enzymu lipazy B z *Candida antarctica* (ryc.). Celem było uzyskanie polimeru o makrocząsteczkach liniowych o małym stopniu rozgałęzienia, optymalnych do dalszej funkcjonalizacji aminokwasem egzogennym. Badano wpływ czasu syntezy na mikrostrukturę makrocząsteczek, lepkość dynamiczną, właściwości termiczne i zdolność do sieciowania.

Na podstawie analizy widm NMR (^1H NMR, ^{13}C NMR, COSY, HSQC) określono liczbowo średni stopień polimeryzacji, stopień rozgałęzienia, dystrybucję ugrupowań glicerolowych liniowych, terminalnych i dendrycznych. Analiza widm FTIR wykazała występowanie wiązań wodorowych, a ilościowa analiza pasma hydroksylowego wykazała, że w zależności od czasu syntezy, ilość wolnych grup hydroksylowych i grup OH związanych oddziaływaniami wodorowymi była różna.

Wykorzystując obecne w PGA grupy hydroksylowe, przeprowadzono modyfikację chemiczną liniowego PGA pochodną aminokwasu egzogenego. Wyznaczony na podstawie analizy pierwiastkowej stopień podstawienia w polimerze wyniósł 11%.

Podsumowanie

Wytypowano warunki reakcji politransestetyfikacji enzymatycznej, dla których uzyskany polimer PGA ma strukturę liniową z małą ilością rozgałęzień. Analiza wyników DMA i DSC oraz korelacja z mikrostrukturą łańcucha wykazały, że wiązania wodorowe oraz rozgałęzienia wpływają na lepkość polimeru oraz zdolność do sieciowania. Opracowano efektywną metodę funkcjonalizacji PGA aminokwasem egzogennym.



Ryc. Schemat reakcji syntezy PGA

- ¹ M. Yoshikawa, H. Kakigi, H. Maeda, I. Nishikawa, H. Ikenaga, T. Inamoto, N. Tsuji, *Bone Formation in a Scaffold Composed of Cylindrical Hydroxyapatite and Tryptophan- or Lysine-Coated Sponge in Vivo*, Journal of Biomedical Science and Engineering 2015, 8, pp. 389–398. <https://doi:10.4236/jbise.2015.86037>
- ² M. Gazińska, A. Krokos, M. J. Kobielarz, M. Włodarczyk, P. Skibińska, B. D. Stępak, A. Antończak, M. Morawiak, P. Płociński, K. Rudnicka, *Influence of hydroxyapatite surface functionalization on thermal and biological properties of poly(L-Lactide)- and poly(L-Lactide-co-Glycolide)-based composites*, International Journal of Molecular Sciences 2020, 21, 18, art. 6711, pp. 1–21. <https://doi:10.3390/ijms21186711>
- ³ M. Yoshikawa, Y. Shimomura, H. Kakigi, N. Tsuji, T. Yabuuchi, H. Hayashi, *Effect of L-lysine in culture medium on nodule formation by bone marrow cells*, Journal of Biomedical Science and Engineering 2012, 5, pp. 587–592. <https://doi:10.4236/jbise.2012.510072>

Konrad Szustakiewicz^A, Ewelina Ortyl^A, Anna Krokos^A, Michał Grzymajło^A, Lidia Ciołek^B, Katarzyna Chyży^A, Małgorzata Gazińska^A

^A Politechnika Wroclawska, Wydział Chemiczny, Katedra Inżynierii i Technologii Polimerów

^B Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytut Ceramiki i Materiałów Budowlanych, Grupa Badawcza Biomateriały

FORMOWANIE LITYCH I POROWATYCH KOMPOZYTÓW PGA-BIOSZKŁO-PEPTYD

Preparation of bulky and foam composites based on PGA, bioglass and peptides

ABSTRACT

The study contains description of methods for preparation of multicomponent material based on enzymatically synthesized PGA, bioglass and bioactive compounds – peptides. Two types, bulky materials and foam, scaffolds have been prepared and two ways of crosslinking (thermal and chemical) have been developed in the study.

Wstęp

W pracy opisano sposoby formowania PGA oraz jego kompozytów. W ramach badań przedstawiono układy na bazie PGA, które sieciowano na dwa sposoby – termicznie oraz chemicznie oraz formowano również na dwa sposoby – w postaci litych krążków oraz układów porowatych.

Metodyka

Materiały porowate na bazie PGA i bioszklta wytworzono z zastosowaniem modyfikowanej techniki indukowanej termicznie separacji faz wspomaganą poprzez wymywanie ziaren chlorku sodu (TIPS-SL).

■ Układy sieciowane termicznie

W pierwszym etapie w metodzie wytwarzano roztwór PGA w 1,4-dioksanie (20 wt. %), następnie do roztworu wprowadzano bioszklto (1–25 wt.% w odniesieniu do zawartości PGA), po czym wytworzoną zawiesinę wprowadzano na złożę chlorku sodu (porogen o wielkości ziaren z zakresu 500–600 μm). W kolejnym kroku próbkę zamrożono (-40°C, 24 h), liofilizowano (-50°C, 24 h, 10 Pa), a następnie poddano sieciowaniu termicznemu (2 h, 180°C) w suszarce atmosferycznej z termoobiegiem. Po usieciowaniu z próbek wymywano sól poprzez kąpiel w wodzie demineralizowanej (5l, 24 h, wymiana wody 4–5 razy) i suszono w suszarce atmosferycznej (20°C, 24 h).

■ Układy sieciowane chemicznie

PGA rozpuszczano w 1,4-dioksanie, otrzymując 10 i 20 wt. % roztwory. Po rozpuszczeniu polimeru do kolby wkraplano diizocyjanianowy czynnik sieciujący w objętości wymaganej do przereagowania wszystkich grup hydroksylowych. Reakcję prowadzono przez 5 h. Napętniacze (bioszko) było dosypywane do mieszaniny PGALDI rozpuszczonej w 1,4-dioksanie. Sporządzono układy zawierające 10% P5Sr2_A, 10% P5Sr2_A-AE, 20% P5Sr2_A i 20% P5Sr2_A-AE w przeliczeniu na masę PGA. Podejście zakładające dozowanie bioszkieł jako składników zawiesiny pozwoliło uniknąć problemów wywołanych ich niedostateczną zwilżalnością. Przed samym przesycaaniem złoża soli zawiesiny homogenizowano na wytrząsarce typu vortex. Do każdego gniazda formy wprowadzano za pomocą pipety automatycznej 0,5 cm³ zawiesiny. Pierwsze sieciowanie prowadzono w temperaturze pokojowej przez 24 h. Aby ograniczyć parowanie rozpuszczalnika, formy zamykano w eksykatorze z umieszczonym na dnie 1,4-dioksanem. Następnie mieszaniny mrożono przez 24 h w -40°C, a później liofilizowano w -50°C przy ciśnieniu ok. 10 Pa przez kolejne 24 h. Po usunięciu rozpuszczalnika materiał sieciowano ponownie, stosując tym razem suszarkę z obiegiem powietrza o temperaturze 60°C. Warunki mycia i suszenia pozostawiono jak przy termicznym sieciowaniu skafoldów.

■ Wytwarzanie materiałów litych sieciowanych chemicznie

Mieszaninę PGA-AE przygotowano w roztworze THFu, który odpędzono na wyparce obrotowej (40°C, 80 rpm, 15–20 min). Po odważeniu i utarci składników kompozytu (łącznie z peptydem) mieszanina była odgazowywana w suszarce próżniowej (próżnia, bez ogrzewania). Formę pozostawiono na ok. 20 h w suszarce próżniowej (tylko próżnia, bez ogrzewania). Sieciowanie prowadzono 14 dni w 40°C.

Wyniki

Uzyskane sieciowane termicznie materiały porowate zawierające bioszko charakteryzowały się stabilnością wymiarową (ścianki nie zapadały się), porowatością dochodzącą do 80% oraz chłonnością wody na poziomie ~300%. Skafoldy sieciowane chemicznie charakteryzowały się wyższą porowatością dochodzącą do blisko 90% i chłonnością wody dochodzącą do ponad 800%.

Podsumowanie

W ramach badań opracowano efektywne metody wytwarzania sieciowanych termicznie i chemicznie kompozytów na bazie PGA, bioszka, a także peptydów.

Michał Grzymajło^A, Małgorzata Gazińska^A, Konrad Szustakiewicz^A, Anna Krokos^A, Magdalena Kobielarz^B, Katarzyna Chyży^A, Aleksandra Szwed-Georgiou^C, Karolina Rudnicka^C, Przemysław Płociński^C, Marcin Włodarczyk^C, Agnieszka Krupa^C, Agnieszka Kubiś^D, Natalia Karska^D, Sylwia Rodziewicz-Motowidło^D

^A Politechnika Wrocławska, Wydział Chemiczny, Katedra Inżynierii i Technologii Polimerów

^B Politechnika Wrocławska, Wydział Mechaniczny, Katedra Mechaniki, Inżynierii Materiałowej i Biomedycznej

^C Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej

^D Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, Katedra Chemii Biomedycznej

WŁAŚCIWOŚCI TERMICZNE, MECHANICZNE I BIOLOGICZNE BIODOPROJEKTÓW PGA-BIOSZKŁO-PEPTYD

Thermal, mechanical, and biological properties of PGA-bioglass-peptide biocomposites

ABSTRACT

Thermally stable ternary composites showing no cytotoxicity were produced. The determined glass transition temperatures of the materials were lower than room temperature. Giving the materials a porous structure provided them with flexibility in a large range of compressive deformations.

Wstęp

Wytworzenie kompozytów polimerowych jest odpowiedzią na poszukiwanie ścieżki implantacji bioszklę o właściwościach osteokondukcyjnych i osteoindukcyjnych przy jednoczesnym wyeliminowaniu jego głównej wady, którą jest kruchość¹. Zalety tego typu materiałów to również możliwość wzbogacania ich składu o bioaktywne peptydy oraz względna łatwość formowania zaprojektowanych kształtów. Kompozyty o otwartokomórkowej strukturze porowatej zapewniają zwielokrotnienie przestrzeni oddziaływania między implantem a sąsiadującą żywą tkanką, dogodną migrację komórek, dyfuzję składników odżywczych i produktów przemiany materii. Można je otrzymywać metodą termicznie indukowanej separacji faz wspomaganą wymywaniem NaCl².

Metodyka

Właściwości termiczne wytworzonych kompozytów określono dla próbek litych. Badanie obejmowało wyznaczenie temperatur zeszklenia metodą DSC oraz stabilności termicznej metodą TGA. Docelowy kompozyt lity przeznaczony do implantacji zbadano pod względem cytotoksyczności opartej na zdolności żywych komórek do redukcji MTT. Wytworzono serię porowatych kształtek o różnym stopniu usieciowania (25%, 50% i 100% podstawienia grup hydroksylowych), bez napętniacza oraz zawierających bioszklę (20%). Właściwości mechaniczne kompozytów porowatych przeanalizowano w cyklicznych próbach ściskania. Strukturę kompozytów zobrazowano na podstawie SEM.

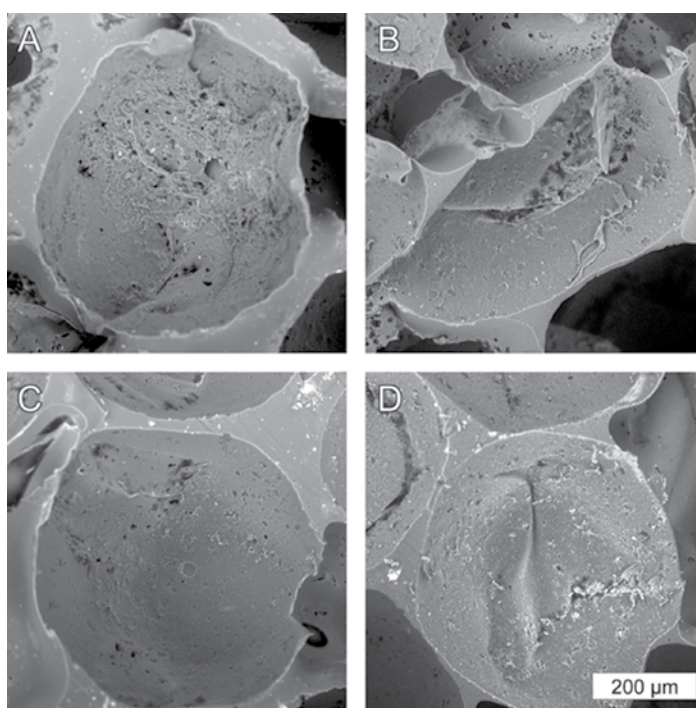
Wyniki

Wykazano dużą stabilność termiczną kompozytów. Udowodniono, że mają one temperatury zeszklenia poniżej temperatury pokojowej, co gwarantuje zachowanie elastyczności zarówno

podczas procesu implantacji, jak i użytkowania w środowisku organizmu człowieka. Wykazano cytozgodność opracowanych kompozytów względem fibroblastów mysich L929 oraz ludzkich osteoblastów hFob 1.19. W zależności od stopnia usieciowania otrzymano kompozyty o zróżnicowanych właściwościach mechanicznych i znacznej sprężystości. Cykliczne próby ściskania dowiodły, że obecność bioszkiełka stabilizuje mechanicznie uzyskane materiały. Na obrazach SEM wykazano, że wpływ obciążeń ściskających na wewnętrzną strukturę skafoldów jest niewielki, ponadto nie stwierdzono dekohezji między polimerem a bioszkiełkiem (ryc.).

Podsumowanie

Wytworzono stabilne termicznie kompozyty trójskładnikowe z PGA sieciowanym chemicznie, bioszkiełkiem i peptydem bioaktywnym. Materiał o wytypowanym składzie został przeznaczony do testów implantacyjnych *in vivo*. Wytworzono również materiały porowate o strukturze otwartokomórkowej i rozwiniętej powierzchni ścian oraz o dużej sprężystości.



Ryc. Obrazy SEM uzyskanych kompozytów porowatych:

- A - 50% podstawienia OH, 0% bioszkiełka przed ściskaniem
- B - 50% podstawienia OH, 0% bioszkiełka po ściskaniu
- C - 50% podstawienia OH, 20% bioszkiełka przed ściskaniem
- D - 50% podstawienia OH, 20% bioszkiełka po ściskaniu

¹ M. Wang, *Developing bioactive composite materials for tissue replacement*, Biomaterials 2003, 24, pp. 2133–2151. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00037-1](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00037-1)

² K. Szustakiewicz, M. Gazińska, B. Kryszak, M. Grzymajło, J. Piętkowski, R. J. Wiglusz, M. Okamoto, *The influence of hydroxyapatite content on properties of poly(L-lactide)/hydroxyapatite porous scaffolds obtained using thermal induced phase separation technique*, Eur. Polym. J. 2019, 113, pp. 313–320. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2019.01.073>

Lilit Hovhannisyan^A, Monika Biernat^B, Milena Chraniuk^A, Mirosława Panasiuk^A, Sabina Żołędowska^A, Dawid Nidzworski^A, Lidia Ciołek^B, Anna Woźniak^B, Zbigniew Jaegermann^B, Beata Gromadzka^A

^A Instytut Biotechnologii i Medycyny Molekularnej, Zakład Badań *In Vitro*

^B Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytut Ceramiki i Materiałów Budowlanych, Grupa Badawcza Biomateriały

METODY SIECIOWANIA BIOKOMPozyTÓW I ICH WPŁYW NA WZROST OSTEObLASTÓW

Different methods of biocomposite crosslinking and their effect on osteoblasts growth.

ABSTRACT

In this study we determined the effect of the stabilization method chitosan-bioglass composites on the growth of osteoblasts. The results showed significant differences between proliferation and cytotoxicity observed for cells seeded on the scaffolds prepared using different methods which can in future help with the choice of method for biocomposites manufacturing.

Wstęp

Chitozan jako biokompatybilny, nietoksyczny i biodegradowalny polimer jest szeroko stosowany w inżynierii tkankowej oraz medycynie regeneracyjnej¹. Związek ten wykazuje również właściwości antybakteryjne i osteokondukcyjne, co umożliwia zastosowanie go w inżynierii tkanek². Ze względu na słabe właściwości mechaniczne materiałów opartych na samym chitozanie polimer ten jest często stosowany w postaci kompozytu będącego mieszaniną chitozanu i np. hydroksyapatytu lub bioszklą wzbogaconego tlenkami m.in. ZnO lub SrO³. Takie podejście zapewnia dodatkową wytrzymałość i czyni materiał biologicznie aktywnym, a także nadaje mu właściwości antybakteryjnych i proregeneracyjnych. W przypadku materiałów porowatych bazujących na biopolimerach niezwykle istotny jest dobór odpowiedniej metody sieciowania/stabilizacji struktury biokompozytu.

Cel pracy to określenie wpływu metody stabilizacji na wzrost osteoblastów, który zależy od właściwości i mikrostruktury porowatych kompozytów chitozan-bioszklę.

Metody

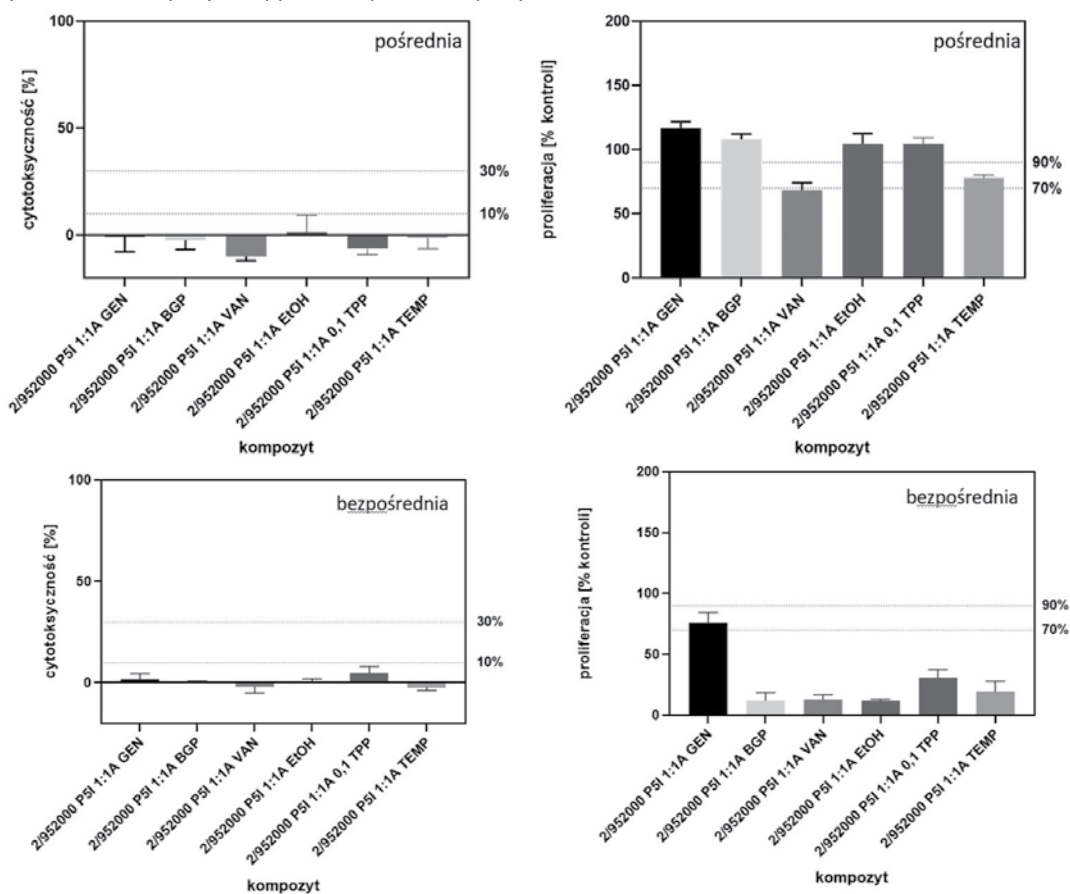
Kompozyty sieciowane różnymi metodami zostały poddane badaniom *in vitro* mającym na celu określenie cytotoksyczności (test LDH) oraz proliferacji (test WST-1) komórek ludzkich osteoblastów hFOB wysianych bezpośrednio na kompozyt (metoda bezpośrednia), bądź inkubowanych z ekstraktem z kompozytu (metoda pośrednia).

Wyniki

Wyniki badań wykazały różnice pomiędzy proliferacją oraz cytotoksycznością komórek rosnących na biomateriałach przygotowanych różnymi metodami, co może w przyszłości pomóc w wyborze optymalnej metody wytwarzania biokompozytów (ryc.).

Podsumowanie

Zaobserwowane różnice w proliferacji komórek i cytotoksyczności wywołanej przez materiały sieciowane różnymi metodami pozwalają określić, które podejście może być najbardziej odpowiednie do przyszłej produkcji biokompozytów.



Ryc. Cytotoksyczność i proliferacja po 48 h inkubacji badana metodą bezpośrednią i pośrednią

- 1 C. Gao, S. Peng, P. Feng, C. Shuai, *Bone biomaterials and interactions with stem cells*, Bone Res. 2017, 5, p. 17059. <https://doi:10.1038/BONERES.2017.59>
- 2 F. Boschetto, H. N. Doan, P. P. Vo, M. Zanooco, W. Zhu, W. Sakai, et al., (2020). *Antibacterial and Osteoconductive Effects of Chitosan/Polyethylene Oxide (PEO)/Bioactive Glass Nanofibers for Orthopedic Applications*, Appl. Sci. 2020, Vol. 10, p. 2360. <https://doi:10.3390/AP10072360>
- 3 J. Zhang, R. J. M. Lynch, T. F. Watson, A. Banerjee, *Chitosan-bioglass complexes promote subsurface remineralisation of incipient human carious enamel lesions*, J. Dent. 2018, 84, pp. 67–75. <https://doi:10.1016/J.JDENT.2019.03.006>

Monika Biernat^A, Anna Woźniak^A, Lidia Ciołek^A, Agnieszka Kubiś^B, Natalia Karska^B, Justyna Sawicka^B, Sylwia Rodziewicz-Motowidło^B, Piotr Bollin^C, Lilit Hovhannisyanc, Milena Chraniuk^C, Mirosława Panasiuk^C, Beata Gromadzka^C, Zbigniew Jaegermann^A

^A Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytut Ceramiki i Materiałów Budowlanych, Grupa Badawcza Biomateriały

^B Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, Katedra Chemii Biomedycznej

^C Instytut Biotechnologii i Medycyny Molekularnej, Zakład Badań *In Vitro*

WIELOFUNKCYJNE CHITOZANOWE KOMPOZYTY DO ODBUDOWY TKANKI KOSTNEJ O DZIAŁANIU PRZECIWDROBNOUSTROJOWYM

Multifunctional chitosan composites for bone tissue reconstruction with antimicrobial activity

ABSTRACT

In this presentation, the methods of obtaining and properties of selected porous composites intended for bone tissue reconstruction are presented. The idea of the work was to develop chitosan/bioglass/peptide composites combining the valuable properties of each individual component and to produce multifunctional biomaterials with proven antimicrobial properties.

Wstęp

Wymagania, jakie stawia się biomateriałom, aby mogły wspomagać przebieg procesów fizjologicznych, to biozgodność, bioaktywność, biodegradowalność i łatwa dostępność. Właściwości takie wykazuje np. chitozan – naturalny, nietoksyczny polimer, który hamuje rozwój mikroorganizmów, przyspiesza gojenie ran, cechuje się właściwościami przeciwzakrzepowymi i przeciwutleniającymi. W kontekście rekonstrukcji i leczenia tkanki kostnej chitozan kompleksowo reguluje proces regeneracji komórek oraz mineralizacji odtwarzanych struktur. Często stosowany jest w postaci porowatych rusztowań, w których dla zapewnienia lepszych właściwości miesza się go z wypełniaczami, np. ceramicznymi lub w postaci bioszkieł, z uzyskaniem materiałów kompozytowych. Kompozyty chitozan-bioszko mogą stanowić ponadto nośniki dla związków aktywnych, np. peptydów¹.

Celem pracy było uzyskanie wielofunkcyjnych chitozanowych materiałów kompozytowych z udziałem bioszkieł oraz peptydów, w których poszczególne składniki mogłyby samodzielnie zapewniać cenne właściwości biologiczne (np. proregeneracyjne lub przeciwzapalne) lub oddziaływać ze sobą na zasadzie synergii i zapewniać np. wzmocnione właściwości przeciwdrobnoustrojowe (ryc.).

Metodyka

Wybrane wielofunkcyjne kompozyty o strukturze porowatej otrzymywano na bazie polimeru naturalnego (chitozanu) z dodatkiem bioszkieł oraz biologicznie aktywnych peptydów, metodą termicznie indukowanej separacji faz. Uzyskane materiały scharakteryzowano pod kątem mikrostruktury, właściwości fizykochemicznych i biologicznych (z włączeniem aktywności przeciwdrobnoustrojowej).

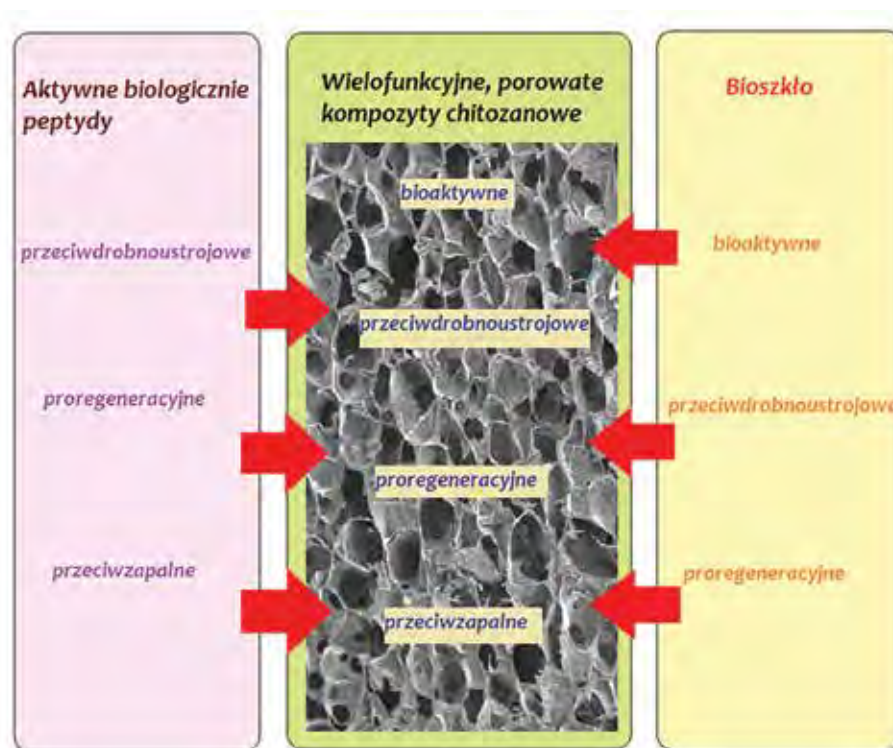
Wyniki

Otrzymano biokompatybilne, bioaktywne kompozyty o porowatej strukturze i odpowiednim zakresie wielkości porów zapewniających dobrą penetrację komórek, wrastanie tkanki i łatwość dostarczania substancji odżywczych.

Uzyskane biokompozyty nie wykazywały właściwości cytotoksycznych wobec linii komórek ludzkich osteoblastów hFOB (ATCC) oraz wykazywały właściwości proproliferacyjne. Prezentowane kompozyty wykazywały aktywność przeciwdrobnoustrojową względem szczepów bakterii *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa*.

Podsumowanie

Dobór właściwego składu materiałowego oraz zastosowanie odpowiedniej metodyki wytwarzania umożliwiają otrzymanie kompozytów na podstawie chitozanu wykazujących szereg właściwości fizykochemicznych i biologicznych istotnych pod względem aplikacji biomedycznych. Dzięki uzyskanym właściwościom prezentowanych kompozytów mogą być one rozpatrywane jako potencjalne biomateriały do odbudowy tkanki kostnej.



Ryc. Właściwości składników kompozytu i wielofunkcyjnych kompozytów chitozanowych

¹ M. Biernat, et al., *Porous chitosan/ZnO-doped bioglass composites as carriers of bioactive peptides*, Int J Appl Ceram Technol. 2020, 17 (6), pp. 2807–2816. <https://doi.org/10.1111/ijac.13609>

Milena Chraniuk^A, Mirosława Panasiuk^A, Lilit Hovhannisyan^A, Lidia Ciołek^B, Anna Woźniak^B, Monika Biernat^B, Beata Gromadzka^A

^A Instytut Biotechnologii i Medycyny Molekularnej, Zakład Badań *In Vitro*

^B Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytut Ceramiki i Materiałów Budowlanych, Grupa Badawcza Biomateriały

PORÓWNANIE BEZPOŚREDNIEJ I POŚREDNIEJ METODY OCENY TOKSYCZNOŚCI KOMPOZYTÓW CHITOZAN-BIOSZKŁO WSPIERAJĄCYCH REGENERACJĘ KOŚCI

Comparison of direct and indirect methods of cytotoxicity evaluation using different chitosan-bioglass composites for bone regeneration

ABSTRACT

Evaluation of materials' biocompatibility and supportive role in tissue regeneration is one of the most important tasks before biomaterials are used in *in vivo* research and in clinical trials. The aim of this study was to compare two methodologies: direct and indirect which are described in the ISO guidelines (ISO 10993-5:2009 Part 5). The results obtained indicate that the molecular surface of biomaterials have an impact on the results. Based on the presented findings we confirm that the indirect method does not provide a clear picture of the cell condition after the exposure to the surface.

Wstęp

Ocena kompatybilności biokompozytów oraz ich właściwości wspierających regenerację tkanek jest jednym z najważniejszych zadań przed zastosowaniem nowych biomateriałów w badaniach *in vivo* i badaniach klinicznych. Brak toksyczności powodowanej przez biomateriał ma kluczowe znaczenie w procesie regeneracji tkanek¹. Aby wstępnie potwierdzić nietoksyczne działanie biokompozytów, konieczne jest zastosowanie badań *in vitro*, które mogą być przeprowadzone z zastosowaniem metody bezpośredniej i pośredniej² (ryc.).

Celem niniejszej pracy było porównanie dwóch metodologii badań toksyczności materiałów stałych opisanych w wytycznych ISO (ISO 10993-5:2009 Part 5).

Metodyka

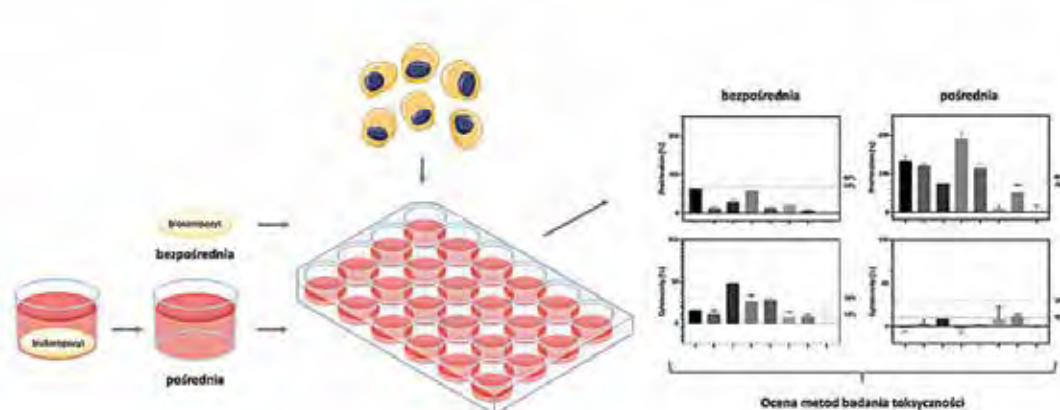
Eksperymenty prowadzono równolegle z wykorzystaniem dwóch typów metodologii: bezpośredniej i pośredniej. Metoda bezpośrednia uwzględniała wzrost komórek na powierzchni badanego materiału. Metoda pośrednia polegała na badaniu wzrostu komórek w ekstrakcie z materiału. Proliferację komórek mierzono za pomocą testu WST-1, zaś cytotoksyczność badano z zastosowaniem testu LDH.

Wyniki

Obniżona proliferacja komórek oraz cytotoksyczność nie wystąpiły w żadnym z eksperymentów prowadzonych z zastosowaniem metody pośredniej. Zastosowana w badaniach metoda bezpośrednia spowodowała niższą proliferację w porównaniu z komórkami kontrolnymi, a cytotoksyczność wywołana przed niektórymi materiałami przekroczyła 30%.

Wnioski

Porównanie wyników z eksperymentów przeprowadzonych dwiema metodami badania toksyczności materiałów stałych wskazuje, iż wpływ na wyniki może mieć powierzchnia biomateriałów³. Na podstawie przedstawionych wyników można wnioskować, że metoda pośrednia nie odzwierciedla stanu komórek mających kontakt z powierzchnią materiału. Dla prawidłowej oceny oraz optymalizacji składu i struktury biomateriału wskazane jest prowadzenie badań *in vitro* zarówno metodą pośrednią, jak i bezpośrednią. Takie podejście pozwoli ocenić wpływ uwalnianych substancji oraz powierzchni materiału na stan modelu komórkowego.



Ryc. Schemat prac eksperymentalnych z zastosowaniem bezpośredniej i pośredniej metody badania toksyczności materiałów stałych

- ¹ M. N. Helmus, D. F. Gibbons, D. Cebon, *Biocompatibility: Meeting a Key Functional Requirement of Next-Generation Medical Devices*, *Toxicol. Pathol.* 2008, 36, pp. 70–80. <https://doi:10.1177/0192623307310949>
- ² International Standard ISO 10993-5 *Biological evaluation of medical devices — Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity* 2009.
- ³ S. M. Lim, A. U. J. Yap, C. S. L. Loo, J. Ng, C.Y. Goh, C. H. L. Hong, W. S. Toh, *Comparison of cytotoxicity test models for evaluating resin-based composites*. *Hum. Exp. Toxicol.* 2017, 36, pp. 339–348. <https://doi:10.1177/0960327116650007>

Bogusława Żywicka^A, Albert Czernski^B, Maciej Janeczek^B, Maria Szymonowicz^A, Aleksandra Tabiś^B, Paulina Jawień^B, Zbigniew Jaegermann^C

^A Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

^B Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

^C Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytut Ceramiki i Materiałów Budowlanych, Grupa Badawcza Biomateriały

WPŁYW TRÓJSKŁADNIKOWYCH BIOKOMPozyTÓW DOKOSTNYCH NA OGÓLNOUSTROJOWĄ I MIEJSCOWĄ REAKCJĘ TKANEK W BADANIACH *IN VIVO*

Influence of intra-bone ternary biocomposites on systemic and local tissue responses in *in vivo* studies

ABSTRACT

The aim was to test acute toxicity in mice for up to 7 days, subchronic toxicity in NZ rabbits for up to 90 days, and local bone reaction in NZ rabbits for 30, 60 and 90 days after implantation. There was no acute or subchronic systemic reaction. Histology showed connective tissue around implants B1 and B2, bone tissue around B3.

Wstęp

Celem badań była ocena *in vivo* układowej toksyczności ostrej, subchronicznej oraz miejscowej reakcji tkanki kostnej po kontakcie z trzema rodzajami biokompozytów¹⁻³. Na badania uzyskano zgodę Lokalnej Komisji Etycznej we Wrocławiu nr 83/2019/P1 z 15 stycznia 2020 r.

Metodyka

Badania przeprowadzono na trzech grupach materiałów:

- B1 – porowaty biokompozyt chitozanowy z udziałem bioszklą oraz z udziałem dwóch aktywnych biologicznie peptydów o działaniu proregeneracyjnym oraz przeciwdrobnoustrojowym i przeciwzapalnym.
- B2 – porowaty biokompozyt chitozanowy z udziałem bioszklą oraz z udziałem aktywnego biologicznie peptydu o działaniu przeciwdrobnoustrojowym i przeciwzapalnym w postaci fibryli peptydowych.
- B3 – biokompozyt, którego matrycę stanowi poli(adypinian glicerolu) sieciowany chemicznie pochodną L-lizyny zawierający bioszklą modyfikowane L-lizyną oraz peptyd o właściwościach proregeneracyjnych.

Test toksyczności ostrej wykonano na myszach po dootrzewnowej iniekcji wyciągów w ilości 50 ml/kg b.m. z B1, B2, B3 oraz kontrolnej 0.9% NaCl. Przez 7 dni do dnia sekcji monitorowano masę ciała, behawioryzm, zużycie paszy i wody^{1,3}.

Test toksyczności subchronicznej przeprowadzono na królikach do 90 dni po implantacji B1, B2, B3 do kości udowych. Monitorowano zużycie paszy i wody, masę ciała, parametry krwi, wykonano badania sekcyjne i histologiczne¹.

Ocenę miejscowej reakcji tkanki kostnej wykonano na królikach po implantacji B1, B2, B3 do kości udowych na 30, 60 i 90 dni, wykonano badania histologiczne i radiologiczne².

Wyniki

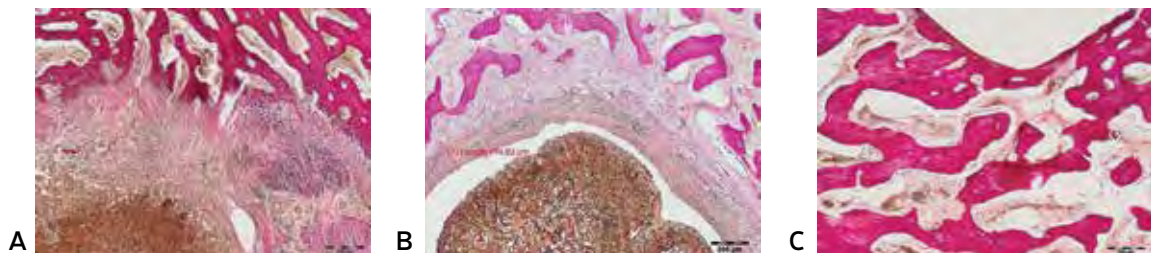
W badaniach toksyczności ostrej średni przyrost masy ciała wyniósł: w kontroli K 1,94 g (0,99), B1: 1,06 g (0,33), B2: 0,88 g (0,67), B3: 0,94 g (0,42). Średnie dobowe zużycie paszy: w kontroli K 5,32 g (0,59), B1: 5,49 g (0,55), B2: 5,16 (0,43), B3: 5,44 (0,72). Średnie dobowe zużycie wody: w kontroli K 7,98 ml (1,176, B1: 7,56 ml (0,63), B2: 7,93 ml (1,46), B3: 7,74 ml (0,63). W badaniach toksyczności subchronicznej zużycie paszy, wody oraz dane z obserwacji behawioralnych i makroskopowych było porównywalne w grupach badanych i kontroli.

Badania makroskopowe miejscowej reakcji tkanki kostnej po implantacji B1 i B2 wykazały słaby wysięk podskórny płynu surowiczego w okolicy ran pooperacyjnych od 3. do 6. dnia. W B3 zmian nie stwierdzono. W badaniach histologicznych od 30. do 90. dnia, B1 i B2 otaczało pasmo włóknistej i luźnej tkanki łącznej. B3 ograniczone były pasmem tkanki kostnej. W otaczającej gąbczastej tkance kostnej widoczna była aktywność osteoblastów.

Podsumowanie

W badaniach toksyczności ostrej do 7. dnia i subchronicznej do 90. dnia nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic między grupami badanymi i kontrolą.

W tkance kostnej wokół B1 i B2 do 90. dnia stwierdzono nasilenie procesów reparacyjnych z wytworzeniem się tkanki łącznej oraz regeneracyjnych indukujących tkankę kostną. Wokół B3 stwierdzano przewagę procesów regeneracyjnych i obecność tkanki kostnej 30 dni po implantacji⁴. B1 i B2 ulegały stopniowej biodegradacji, B3 pozostawał stabilny.



Ryc. Obraz mikroskopowy 30 dni po implantacji w tkankę kostną badanych biokompozytów z grup B1, B2 i B3 (pow. 40x. barw.VG):

- A – grupa B1 – u dołu widoczny brunatno zabarwiony implant otoczony pasmem tkanki łącznej
- B – grupa B2 – u dołu brunatno zabarwiony implant oddzielony od tkanki kostnej torebką łącznotkankową
- C – grupa B3 – u góry przezroczysty implant ograniczony gąbczastą tkanką kostną

¹ PN-EN ISO 10993-11

² PN-EN-ISO 10993-6

³ PN-EN ISO 10993-12

⁴ J. Kuryszek, T. Niedźwiedzki, *Biologia kości*, PWN, Warszawa 2007.

ZASTRZEŻENIE PRAW DO WYNIKÓW BADAŃ PRZEPROWADZONYCH W RAMACH PROJEKTU

Prawa do wyników badań nad nowatorskimi biokompozytami polimerowo-ceramicznymi zawierającymi bioszkła i aktywne biologicznie peptydy zostały zastrzeżone w Urzędzie Patentowym Rzeczypospolitej Polskiej w postaci poniższych zgłoszeń patentowych:

1. „Modyfikowane bioszkło do wytwarzania bioaktywnych kompozytów polimerowych i sposób modyfikacji bioszkła do wytwarzania bioaktywnych kompozytów polimerowych”, P.440261, 28.01.2022.
2. „Biokompozyty polimerowo-ceramiczne o właściwościach przeciwbakteryjnych do wypełniania ubytków kostnych i regeneracji tkanki kostnej oraz sposób ich otrzymywania”, P.442875, 18.11.2022.
3. „Biokompozyty polimerowo-ceramiczne zawierające peptyd o właściwościach przeciwzapalnych do wypełniania ubytków kostnych i regeneracji tkanki kostnej oraz sposób otrzymywania biokompozytów”, P.442876, 18.11.2022.
4. „Biokompozyty polimerowo-ceramiczne o właściwościach proregeneracyjnych do wypełniania ubytków kostnych i regeneracji tkanki kostnej oraz sposób ich otrzymywania”, P.442877, 18.11.2022.
5. „Wielofunkcyjny kompozyt chitozanowy do wypełnień ubytków kostnych i regeneracji tkanki kostnej i sposób otrzymywania wielofunkcyjnego kompozytu chitozanowego do wypełnień ubytków kostnych i regeneracji tkanki kostnej”, P.442878, 18.11.2022.
6. „Wielofunkcyjne kompozyty chitozanowe o działaniu przeciwdrobnoustrojowym do wypełnień ubytków kostnych i regeneracji tkanki kostnej i sposób otrzymywania wielofunkcyjnych kompozytów chitozanowych o działaniu przeciwdrobnoustrojowym do wypełnień ubytków kostnych i regeneracji tkanki kostnej”, P.442879, 18.11.2022.
7. „Wielofunkcyjne kompozyty o działaniu przeciwdrobnoustrojowym i przeciwzapalnym do wypełnień ubytków kostnych i regeneracji tkanki kostnej i sposób otrzymywania wielofunkcyjnych kompozytów o działaniu przeciwdrobnoustrojowym i przeciwzapalnym do wypełnień ubytków kostnych i regeneracji tkanki kostnej”, P.442880, 18.11.2022.
8. „Wielofunkcyjne kompozyty o działaniu proregeneracyjnym do wypełnień ubytków kostnych i regeneracji tkanki kostnej i sposób otrzymywania wielofunkcyjnych kompozytów o działaniu proregeneracyjnym do wypełnień ubytków kostnych i regeneracji tkanki kostnej”, P.442881, 18.11.2022.

W 2023 r. realizatorzy projektu planują przygotowanie i złożenie jednego lub dwóch zgłoszeń patentowych do European Patent Office (EPO), zastrzegając prawa do innowacyjnych wyników realizacji projektu, co jest warunkiem niezbędnym do komercjalizacji rozwiązań projektowych.

NAJNOWSZY NUMER KWARTALNIKA „SZKŁO I CERAMIKA” JUŻ W SPRZEDAŻY!

S+C

Szkło i Ceramika

SZTUKA 3

Czarne konie
Andy Munkevicy
Wywiad z tutejszą
artystką szkła

PRZEMYSŁ 14

Polscy konsumenci
stawiają na szkło
Wyniki ankiety
na zlecenie FEVE

NAUKA 31

Polimeryzacja indukowana
fotochemicznie
w przyrostowych metodach
formowania elementów
ceramicznych

Nr 1/2023

Kwartalnik

GLASS AND CERAMICS, SCIENCE,
HISTORY AND INDUSTRY

Wydawca: Sieć Badawcza Łukasiewicz
- Instytut Ceramiki i Materiałów Budowlanych

Cena 39,99 zł (w tym 8% VAT)
www.szklo-ceramika.pl
ISSN 0039-8144



Jak lepiej gospodarować odpadami szklanymi?

Raport dotyczący zasadności
wprowadzenia systemu kaucyjnego
dla jednorazowych butelek szklanych

Zamów prenumeratę i zyskaj dodatkowe korzyści

Szczegóły w numerze i na www.szklo-ceramika.pl



Łukasiewicz
Sieć Badawcza

To jedna z największych sieci badawczych
w Europie pracująca dla biznesu!

RZUĆ NAM WYZWANIE

i otrzymaj rozwiązanie szyte na miarę

 **ZDROWIE**

 **TRANSFORMACJA CYFROWA**

 **ZRÓWNOWAŻONA GOSPODARKA I ENERGIA**

 **INTELIĞENTNA I CZYSTA MOBILNOŚĆ**

www.lukasiewicz.gov.pl



Łukasiewicz
Instytut Ceramiki
i Materiałów
Budowlanych

Znamy się na materiałach
budowlanych!



BADANIA I ROZWÓJ



WDROŻENIA PRZEMYSŁOWE



AKREDYTOWANE LABORATORIA



CERTYFIKACJA WYROBÓW I USŁUG



**KRAJOWE I EUROPEJSKIE
OCENY TECHNICZNE**



AB 054



AC 008

www.icimb.lukasiewicz.gov.pl

Zakresy akredytacji dostępne są na stronie:
www.icimb.lukasiewicz.gov.pl
oraz www.pca.gov.pl

