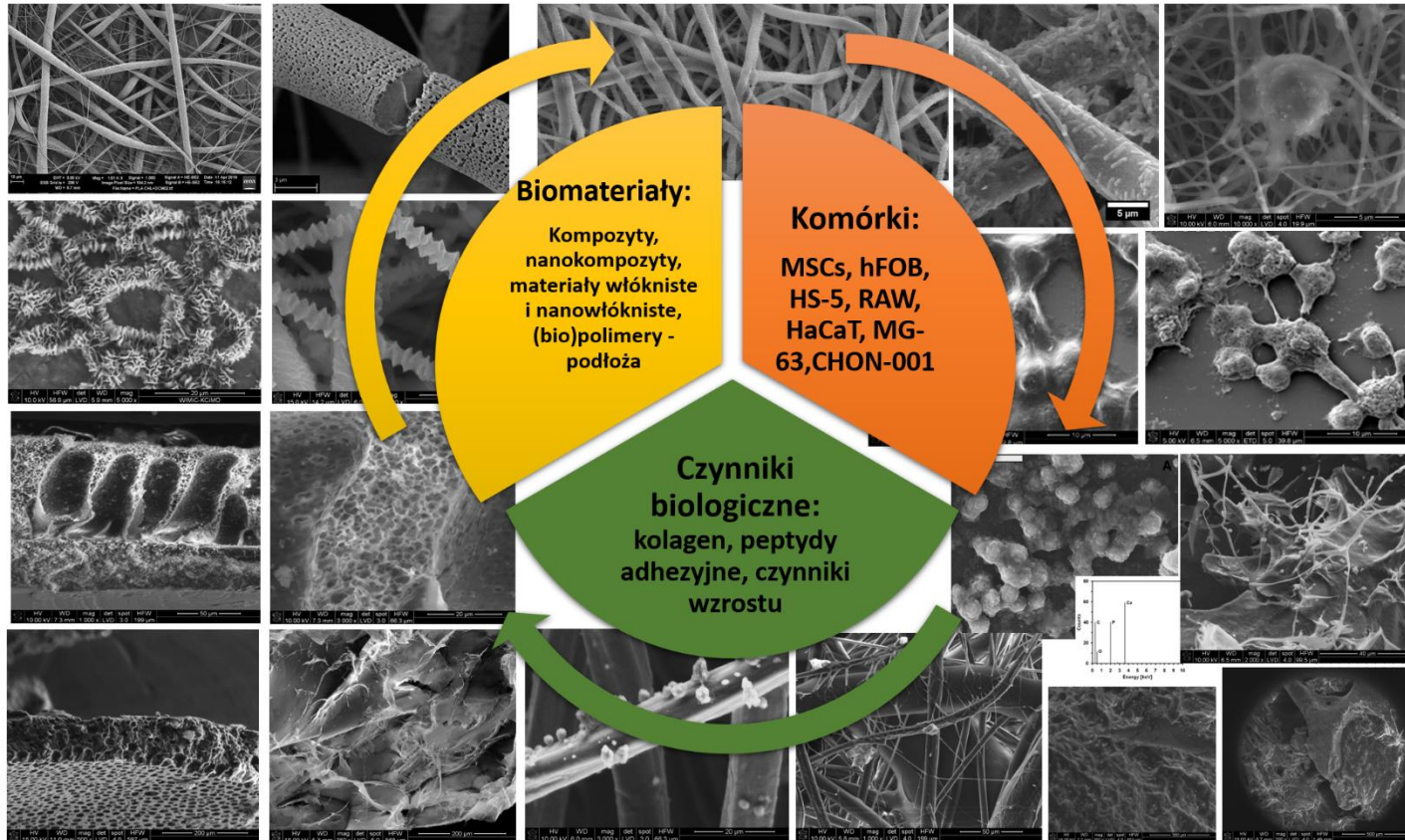


Biomimetyczne materiały stymulujące regenerację tkanek i narządów

ZESPÓŁ BIOMIMETYCZNYCH MATERIAŁÓW STYMULUJĄCYCH REGENERACJĘ TKANEK I NARZĄDÓW

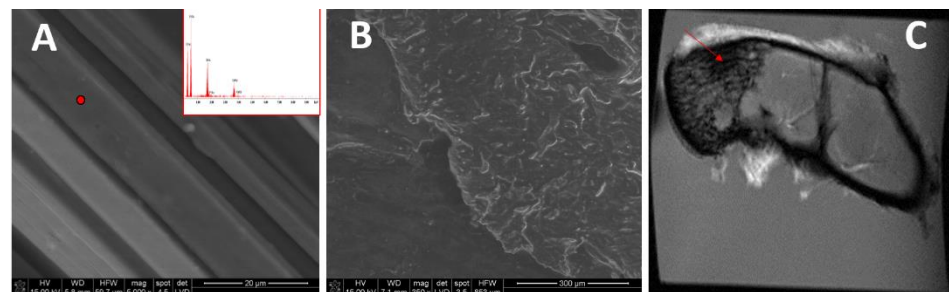
BioMimReg



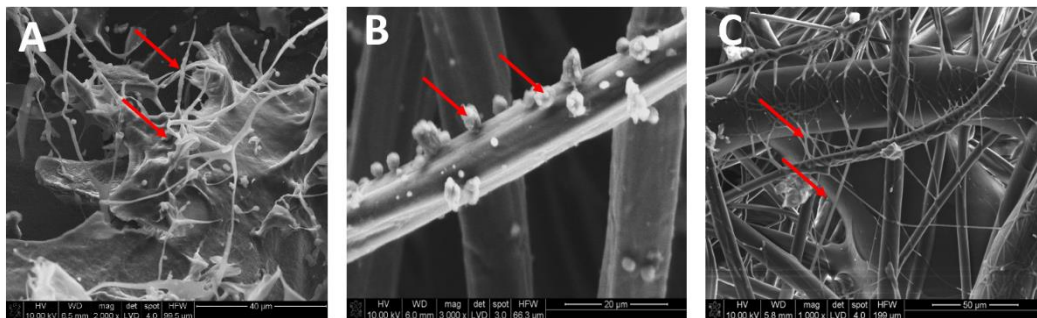
Badania

Tematyka badawcza zespołu koncentruje się wokół biomateriałów mimikujących tkanki lub ich elementy, które stosowane mogą być w ramach terapii związanych z medycyną regeneracyjną. Aby osiągnąć pożądany cel terapeutyczny rozwiązaniem prezentowanym w literaturze są dwa podejścia: pierwsze strukturalne – gdzie biomateriał swym składem chemicznym lub fazowym naśladuje np. macierz zewnątrzkomórkową czy wybraną część tkanki (np. części organiczną/nieorganiczną kości). Drugie podejście - mikrostrukturalne, które polega na wytworzeniu takiej formy materiału, która wykazuje podobieństwo do budowy fragmentu tkanki ułatwiając jej zasiedlenie przez komórki. Do realizacji pierwszego podejścia w naszych pracach wykorzystujemy podstawowe mechanizmy chemii organicznej (addycje, substytucje) jak i technologie związane z otrzymywaniem materiałów nanokompozytowych opartych na matrycach (bio)polimerowych. W przypadku tych ostatnich, istotne jest tu zastosowanie takich metod dyspersji i suszenia, które pozwala otrzymać rusztowania o składzie fazowym zbliżonym do naturalnego przy zachowaniu jego wysokiej biogodności. Dodatkowo, obecność nanometrycznego modyfikatora nadaje materiałowi nowe cechy np. bioaktywność, właściwości elektryczne czy magnetyczne, które mogą być, czynnikami indukującymi pożądaną odpowiedź komórkową szczególnie w odniesieniu do tkanek tj.: kostnej, nerwowej czy mięśniowej. Dzięki obecności nanocząstek umożliwiamy lekarzowi pełniejszą diagnostykę procesu regeneracyjnego i jego monitorowanie metodami obrazowania takimi jak MRI czy uCT (Rys 1).

Prowadzimy badania nie tylko z zakresu przygotowania biomateriału i określenia jego przydatności ze względu na podstawowe badania biologiczne ale wykorzystując różne metody formowania tworzyw polimerowych jak i (nano)kompozytowych wytwarzamy porowate rusztowania 3D i membrany 2D. Techniki jakie stosujemy w tym celu to głównie suszenie sublimacyjne, elektroprzędzenie, inwersja fazowa oraz druk 3D. Przedstawione metody nakierowane są na otrzymanie takiej porowatości, w której rozkład wielkości porów ich wielkość a w końcu całkowita porowatość podłoża będą współdziałać z procesem regeneracji tkanki ułatwiając jej obudowę i neowaskularyzację. Opisane cechy topografii



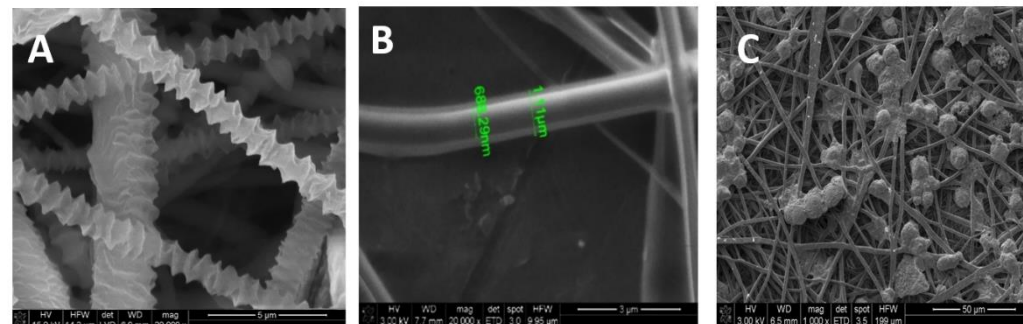
Rys 1. Włókna alginowe modyfikowane magnezytem (A), implant przerośnięty tkanką kostną (B), obraz MRI z widocznym implantem w części nasady kości (C)



Rys 2. Liofilizowane podłoże chitozanowe modyfikowane powierzchniowo kolagenopochodną (A), mikrowłókna z osadzonymi cząstkami krzemionki (B), włókna PLA otrzymana techniką melt-blow z naniesionym elektrosprejem kolagenem (C)

mocno rzutuują na odpowiedź komórkowa wrażliwych tj.: kertynocyty, komórki epitelium czy hepatocyty. Prace zespołu służą dopasowaniu cech mikrostrukturalnych przy jednoczesnej możliwości modyfikacji powierzchni podłoża 3D/2D przez szczepienie peptydami, electrospraying, elektrodepozycje sprzyja uzyskaniu wysokiej biouzgodności tych materiałów względem tkanek oka czy wątroby (rys 2). Takie synergicznie podejście wykorzystujące potencjał chemii i inżynierii wydaje się być optymalnym rozwiązaniem

dla regeneracji uszkodzonej gałki ocznej. Prace w tym kierunku nastawione są na polimerowe podłoża włókniste najlepiej oddające charakter mikrostrukturalny ECM w obrębie tak subtelnych części oka jak rogówka, kąt przesączania czy twardówka. Bazujemy tu na elektroprzędzonych włóknach i zdefiniowanym ułożeniu (różnokierunkowe, równoległe) ale także mikrostrukturze (włókna porowate, włókna karbowane – shish kebab, włókna typu core-shell). To one stanowią mogą podłoże gotowe do dalszej modyfikacji np. białkami adhezyjnymi, czynnikami wzrostu czy lekami, które z jednej strony może stymulować procesy autonaprawy tkanki a z drugiej hamować rozwój biofilmu (rys 3).



Rys 3. Nanowłókna polimerowe otrzymane metodą kierunkowej krystalizacji (A), nanowłókna typu core-shell (B), podłoże z polimerowych nanowłókien porowatych kontaktowane z keratocytami (C)

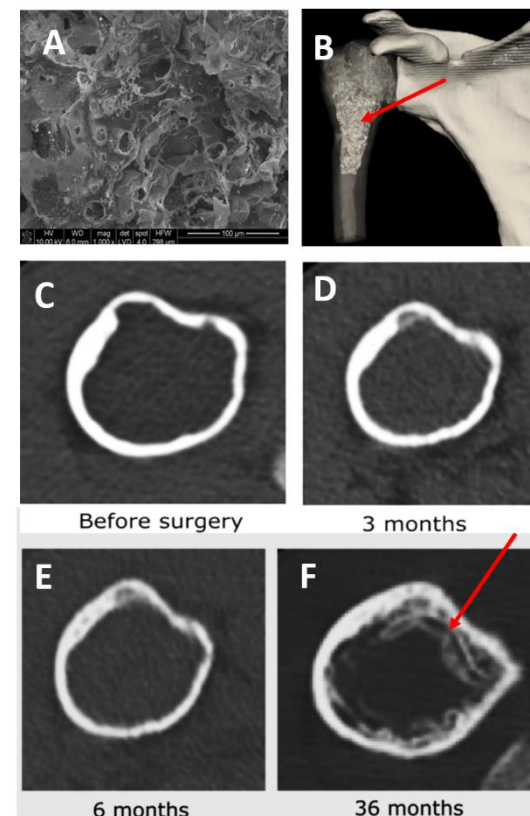
Ten aspekt badawczy – a więc hamowanie/rozwój biofilmu bakteryjnego - od niedawna rozwijamy już w własnym laboratorium mikrobiologicznym, w którym posługując się komercyjnymi szczepami prowadzimy badania w zakresie aktywności mikrobiologicznej materiałów proszkowych (np. MMT dotowany antybiotykami), membran porowatych (modyfikowanych powierzchniowo i objętościowo związkami aktywnymi biologicznie), litych warstw lub materiałów o charakterze bakteriobójczym lub bakteriostatycznym. Opisane działania mają szczególne znaczenie również w aspekcie nowoczesnych materiałów opatrunkowych jak i substytutów skóry. Modyfikowanie powierzchni podłoża przeznaczonych do

kontakty ze skórą istotnie wpływa na minimalizację stanu zapalnego i redukcję biofilmu. Takie spojrzenie na powierzchnie tworzywa wzmacnia jego potencjał kliniczny,

poprawiając nie tylko interakcje komórka - materiał żywo rozpatrywaną w literaturze, ale umożliwia preferencyjne warunki do adhezji i proliferacji komórek właściwej tkanki.

W związku z realizowaną tematyką badawczą współpracujemy z ośrodkami medycznymi i weterynaryjnymi. Dzięki grupie medyków jesteśmy w stanie projektować rozwiązania nie tylko materiałowe, ale przede wszystkim wymogi użytkowe implantów wykonanych z naszych biomimetycznych materiałów i ich poręczność chirurgiczną. Drugą grupą ekspertów weryfikujących przydatność proponowanych rozwiązań materiałowych są ośrodki weterynaryjne, współpracujące w zakresie badań przedklinicznych z udziałem zwierząt. Kooperacja w zakresie materiałowym, biologicznym, weterynaryjnym i medycznym została potwierdzona badaniami klinicznymi z udziałem grupy pacjentów. Przeprowadzone zabiegi resekcji nawracających defektów tkanki kostnej (np. cyst) potwierdziły skuteczność implantu w 93% przypadkach. Szczególnie ważnym osiągnięciem, który warto tu zaznaczyć możliwość regeneracji tkanki kostnej dzięki obecności wysokooporowego implantu w sytuacji, gdy konwencjonalne rozwiązania kliniczne (tzw. złote standardy) prowadziły do wtórnych stanów zapalnych a w konsekwencji do kolejnych patologicznych zmian w obrębie wszczepu (rys 4).

Prowadzimy prace także nad dedykowanymi implantami i specyficznymi materiałami medycznymi stosowanymi do diagnostyki medycznej. Wykorzystując wiedzę z zakresu materiałów włóknistych wytwarzanych konwencjonalnymi technikami (np. *wet spinning*, *melt-blown*) i współpracując z Instytutami zgrupowanymi w Sieci Łukasiewicz prowadzimy badania nad implantami zamykającymi perforacje żołądka, stentami trzustkowymi, implantami przegrody nosowej czy kateterami do kriokonserwacji stosowanymi w ginekologii i transplantologii. W zakresie działań nad materiałami medycznymi skupiamy się nad opracowaniem materiałów o właściwościach silnie hydrofobowych i separujących fazy o zróżnicowanej gęstości. Takie cechy



Rys 4. Membrana polimerowa o wysokiej powierzchni rozwinięcia wykorzystana w badaniach (A), ubytek kostny uzupełniony implantem (B), proces regeneracji uszkodzenia, obraz z tomografu komputerowego: przed zabiegiem (C), 3 miesiące po zabiegu (D), obraz miejsca wszczepu po 6 miesiącach (E), obraz kości w miejscu implantu po 36 miesiącach (F).

materiału planujemy wykorzystać w filtrach do oczyszczania wody, gdyż są kluczowym elementem instalacji w farmacji i medycynie zapobiegając biofoulingowi i wydłużając czas życia takiego elementu.

Wszystkie prace badawcze realizowane są na Uczelni jak również poza nią, w międzyuczelnianych zespołach badawczych o charakterze interdyscyplinarnym.

Tematyka badawcza zespołu

- Podłoża polimerowe i nanokompozytowe naśladujące tkanki lub/i ECM.
- Materiały o powierzchniach ułatwiającej interakcję - komórka materiał.
- Biogodność powierzchni modyfikowanych chemicznie i fizycznie.
- Implanty stymulujące procesy naprawcze uszkodzonych: kości, skóry, nerwów, narządów wewnętrznych.
- Materiały zaawansowane: inhibitujące powstawanie biofilmu i stymulujące wzrost komórkowy, materiały nanokompozytowe o właściwościach magnetycznych i elektrycznych.
- Materiały dla potrzeb nowoczesnych sztucznych narządów

Możliwości weryfikacji zastosowanych rozwiązań materiałowych. Techniki i metody

1. Techniki formowania służące dopasowaniu mikrostrukturalnemu biomateriałów i implantów; elektroprzędzenie, liofilizacja, inwersja fazowa, druk 3D, melt-blown, wet-spinning,
2. Techniki służące biofunkcjonalizacji powierzchni implantów: elektrospreng, dip coating, electrodeposition (EPD)
3. Badania biomateriałów i implantów z wykorzystaniem modeli komórkowych
4. Badania biomateriałów i implantów z wykorzystaniem modeli zwierzęcych
5. Badania mikrobiologiczne biomateriałów

Skład osobowy zespołu badawczego

- Dr hab. inż. Ewa Stodolak-Zych, prof. AGH
- Dr hab. inż. Aneta Frączek-Szczypta, prof. AGH
- Prof. dr hab. inż. Jadwiga Laska
- Dr hab inż. Barbara Szaraniec, prof. AGH
- Dr hab. inż. Alicja Rapacz-Kmita, prof. AGH
- Dr inż. Anna Lis-Bartos, adiunkt
- Mgr inż. Ewa Dzierzkowska – doktorant
- Mgr inż. Roksana Kurpanik – doktorant

Projekty badawcze realizowane i zrealizowane

Aktualnie realizowane projekty badawcze

- *Wpływ hybrydowych struktur węglowych na proces regeneracji tkanki chrzęstnej/kostnej.* Źródło: NCN, UMO-2018/31/B/ST8/02418 Czas realizacji: 2019-2022.
- *Opracowanie innowacyjnej, prośrodowiskowej technologii produkcji wielkoformatowych, w tym głęboko strukturalnych płyt ceramicznych w technologii gresu z wykorzystaniem pionierskiej metody zawracania wszystkich braków miękkich powstałych na etapie formowania produktu.* Wykonawca zadania: Ocena mikrobiologiczna płyt ceramicznych. Źródło: NCBiR, projekt POIR.01.01.01-00-0503/20. Czas realizacji: 2020-2022.
- *BioSpong. Porowate, biodegradowalne implanty do regeneracji kości gąbczastej.* Wykonawca zadania: Ocena biomechaniczna i fizykochemiczna wszczepów kostnych. Źródło: NCBiR, projekt Lider, Czas realizacji: 2021-2024.

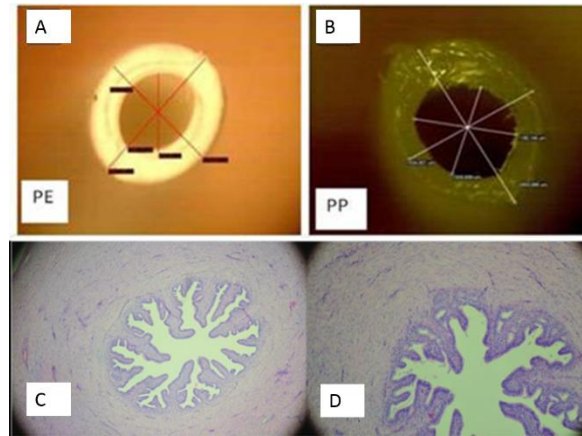
- *Opracowanie technologii produkcji jednoskładnikowego laminatu polietylenowego do pakowania żywności, Wykonawca zadania: Ocena fizykochemiczna i mikrobiologiczna tworzy do pakowania żywności, Źródło: NCBiR, projekt POIR.01.01.01-00-2071/20. Czas realizacji 2020-2022*

Projekty badawcze zakończone

- UMO-2018/31/B/ST8/02418 Wpływ hybrydowych struktur węglowych na proces regeneracji tkanki chrzęstnej/kostnej (2019-2022), konsorcjum AGH. Źródło: NCN.
- UMO-2015/19/B/ST8/02594 Innowacyjne materiały hybrydowe do regeneracji tkanek wywodzące się wyłącznie ze związków naturalnych (2016-2019), konsorcjum AGH. Źródło: NCN.
- UMO-2012/07/B/ST8/03378 Biodegradowalne, hybrydowe struktury z kwasu hialuronowego otrzymane metodą elektroprądzenia zawierające aktywne modyfikatory (2014-2017), konsorcjum AGH. Źródło: NCN.
- UMO-2011/01/ B/ST5/06 424, *Analiza fizyko-chemicznych i biologicznych właściwości nanoform węgla przeznaczonych dla zastosowań medycznych* (2011-2014) Źródło: NCN.
- N N507401939 Osteokonduktywne i osteoinduktywne kompozytowe materiały hybrydowe dla celów medycyny regeneracyjnej (2010-2013). Źródło: MNiSzW,
- N R08001706 Wytwarzanie nowej generacji biodegradowalnych kopoliestrów chityny, otrzymywanie z nich włókien nanokompozytowych oraz biokompozytów do celów implantacyjnych (2009-2012). Źródło: MNiSzW.
- N N302632140 Wykorzystanie kateterów polikaprolaktonu do laparoskopowego przenoszenia świeżych lub kriokonserwowanych zarodków świni (2010-2013.) Źródło: MNiSzW.

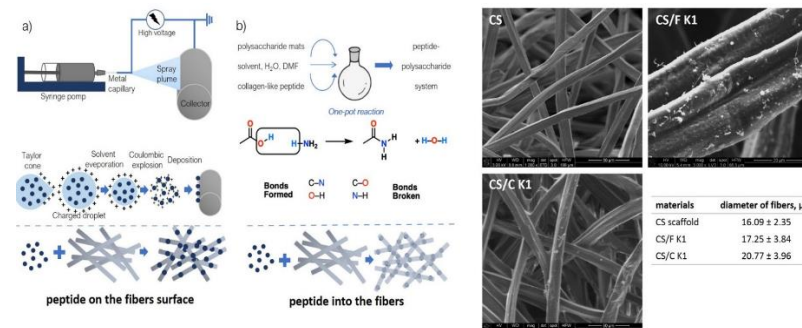
Wybrane publikacje z ostatnich lat

1. J. Wieczorek, E. Stodolak-Zych, K. Okoń, J. Koseniuk, M. Bryła, J.Jura, M. Cegła, K. Poniedziałek-Kempny, I. Rajska *A new concept in minimally invasive embryo transfer*, *Annals of Animal Science* 20 (2020) 4 s.1289–1308.



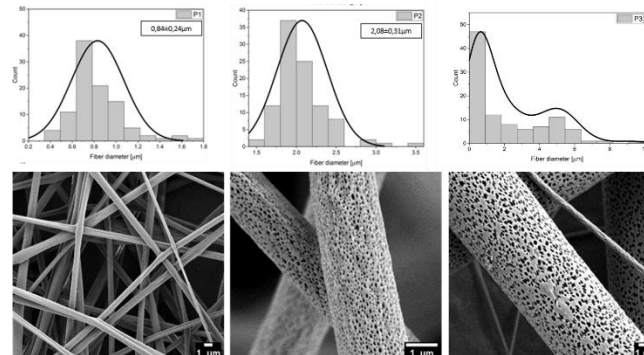
Rys. 1 Przekroje kateterów wykonanych odpowiednio z PE (A) i PP (B) oraz obrazy histopatologiczne jajowodów po transferze zarodków prototypowym kateterem wykonanym z PE (C) i z PP (D)

- E. Stodolak-Zych, P. Jeleń, E. Dzierzkowska, M. Krok-Borkowicz, Ł. Zych, M. Boguń, A. Rapacz-Kmita, B. Kolesińska, *Modification of chitosan fibers with short peptides as a model of synthetic extracellular matrix*, Journal of Molecular Structure 1211 (2020) art. no. 128061, s. 1–9.



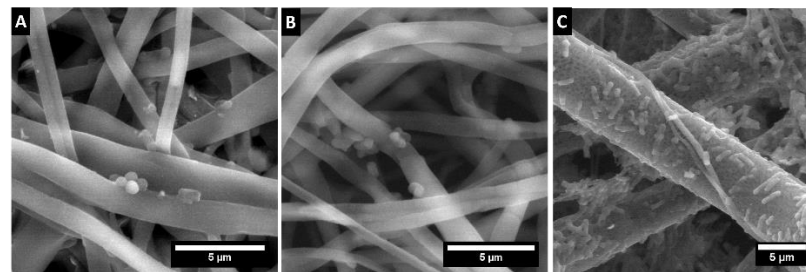
Rys. 2 Metodyka modyfikacji fizycznych (a) i chemicznych (b) włókien chitozanowych (CS) oraz morfologia tych po modyfikacji metodą fizyczną (CS/F K1) i chemiczną (CS/C K1) pochodna syntetyczna kolagenu typu I

3. E. Stodolak-Zych, E. Dzierzkowska, S. Metwally, M. Mikołajczyk, M. Gajek, A. Rapacz-Kmita, *Multifunctional porous membranes with antibacterial properties*, International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials 68 (2019) 1–3, s. 19–26.



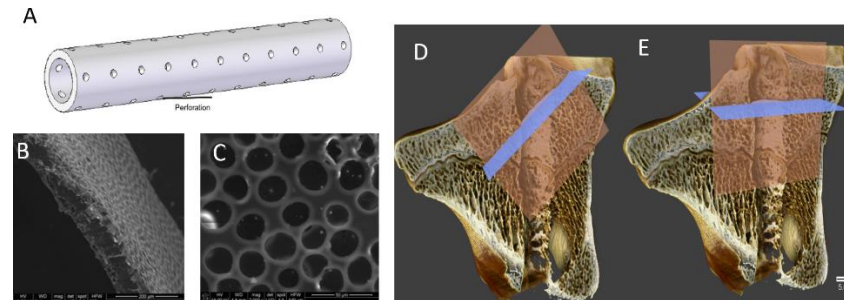
Rys. 3 Rozkład wielkości nieporowatych (P1) i porowatych (P2, P3) włókien z PLA będących nośnikami antybiotyku - gentamycyny .

4. E. Dzierzkowska, A. Ścisłowska-Czarnecka, S. Metwally, D. Romaniszyn, M. Chadzińska, E. Stodolak-Zych, *Porous poly(lactic acid) based fibres as drug carriers in active dressings*, Acta of Bioengineering and Biomechanics 22 (2020) 2, s. 185–197.



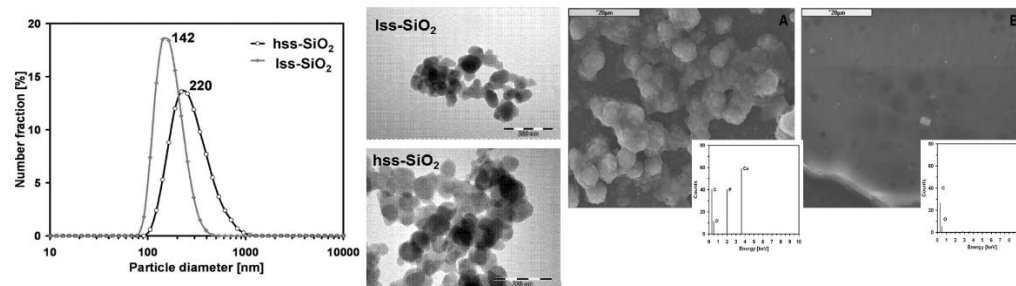
Rys. 4 Morfologia bakterii *S. Aureus* (A, C) oraz *E. coli* (B) na włóknistych podłożach z PLA: modyfikowanych środkiem aseptycznym – mleczan etakrydyny (A, C) oraz antybiotykiem – siarczanem gentamycyny (B)

5. K. Ficek, J. Rajca, M. Stolarz, E. Stodolak-Zych, J. Wieczorek, M. Muzalewska, M. Wyleżoł, Z. Wróbel, M. Binkowski, S. Błażewicz, *Bioresorbable stent in anterior cruciate ligament reconstruction*, *Polymers* 11 (2019) 1961, s. 1–20.



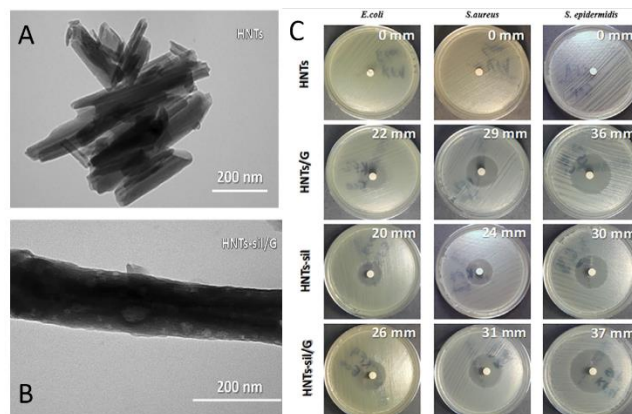
Rys. 5 Implant membranowy wszczepiany w tunel kości piszczelowej (A) wraz z jego porowatą mikrostrukturą (B,C) oraz przekrojami poprzecznym i skośnym z mikrotomografu po 3 msc od implantacji (D,E).

6. Ł. Zych, A. M. Osyczka, A. Łącz, A. Różycka, W. Niemiec, A. Rapacz-Kmita, E. Dzierzkowska, E. Stodolak-Zych, *How surface properties of silica nanoparticles influence structural, microstructural and biological properties of polymer nanocomposites* *Materials* 14 (2021) 843, s. 1-17.



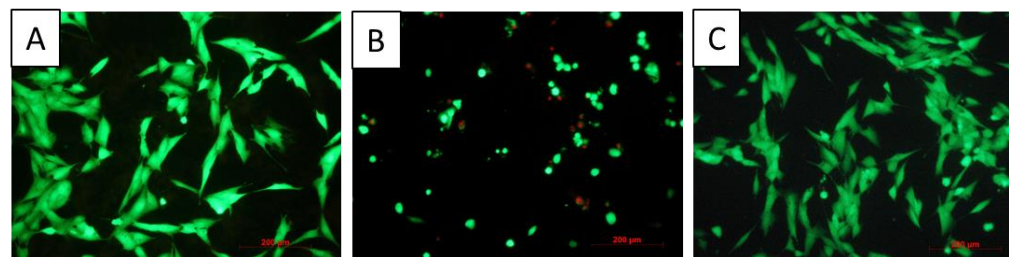
Rys. 6 Rozkład wielkości nanocząstek krzemionki o wysokim (*hss-SiO₂*) i niskim rozwinięciu powierzchni (*lss-SiO₂*) oraz wpływ nanaododatku na bioaktywność materiału nanokompozytowego z wykorzystaniem *hss-SiO₂* (A) i *lss-SiO₂* (B)

7. A. Rapacz-Kmita, K. Foster, M. Mikołajczyk, M. Gajek, E. Stodolak-Zych, M. Dudek, *Functionalized halloysite nanotubes as a novel efficient carrier for gentamicin*, *Materials Letters* 234 (2019) s. 13–16.



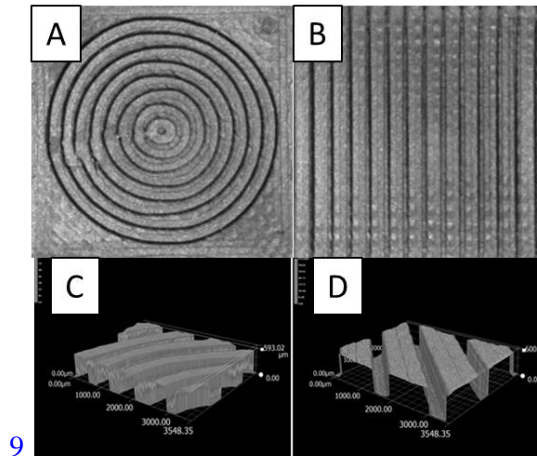
Rys. 7 Morfologia nanorurek halozytowych wyjściowych (A) i modyfikowanych lekiem (B) oraz ich wpływ na aktywność mikrobiologiczną wobec *E. coli*, *S. aureus*, *S. epidermis*.

- 8.W. Smolka, A. Panek, M. Gubernat, A. Frączek-Szczypta, P. Jeleń, C. Paluszkiwicz, J. Markowski, M. Błażewicz. *Structure and biological properties of surface-engineered carbon nanofibers*. *Journal of Nanomaterials* 4146190 (2019) 1–14.



Rys.8 Barwienia fluorescencyjne komórek MG63 w kontakcie z A) PS, B) CNF, C)CNF po utlenianiu

- 9.M. Hunger, W. Podgórný, A. Frączek-Szczypta. *Preparation of composite filaments and 3D prints based on PLA modified with carbon materials with the potential applications in tissue engineering*. *Engineering of Biomaterials* 21(2018) 7–15.



9

Rys. 9 Rusztowania 3D: C) rusztowanie pierścieniowe PLA/SCF_R, F) rusztowanie liniowe PLA/SCF_R oraz zdjęcia 3D mikrostruktury wydrukowanych podłoży kompozytowych: C) pierścieniowe, D) liniowe

Współpraca

Ośrodki naukowe w kraju i zagranicą

- Department of Biomaterials and Tissue Engineering, Institute of Physiology, Academy of Sciences of the Czech Republic.
- Institute of Macromolecular Chemistry, Czech Academy of Sciences, Prague 16206, Czech Republic.
- Uniwersytet Jagielloński, Wydział Chemii.
- Uniwersytet Jagielloński, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych
- Instytut Fizyki Jądrowej Polskiej Akademii Nauk, Kraków.
- Uniwersytet Jagielloński, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Zakład Biotechnologii Medycznej.
- Akademia Wychowania Fizycznego, Zakład Kosmetologii Stosowanej, Kraków.
- Sieć Badawcza Łukasiewicz - Instytut Włókiennictwa w Łodzi.

- Sieć Badawcza Łukasiewicz - Instytut Biopolimerów i Włókien Chemicznych w Łodzi.
- Politechnika Łódzka, Wydział Chemii.
- Uniwersytet Warszawski, Wydział Chemii.
- Uniwersytet Przyrodniczy, Wydział Weterynarii, Lublin
- Uniwersyteckie Centrum Medycyny Weterynaryjnej UR-UJ, Kraków
- Instytut Zootechniki, Państwowy Instytut Badawczy, Balice

Przemysł

- Cerrad
- Expack

