

Współczesna medycyna dysponuje dużym zasobem materiałów do rekonstrukcji kości, jednak nadal odbudowa tkanki kostnej stanowi ogromne wyzwanie. Obecnie dostępne materiały i metody leczenia ubytków kostnych nie do końca spełniają oczekiwania pacjentów i lekarzy.

Inżynieria tkankowa stwarza nowe możliwości w regeneracji tkanki kostnej. Połączenie wiedzy z zakresu inżynierii tkankowej oraz osiągnięć terapii celowanej stwarza możliwość tworzenia nowych „inteligentnych” kościozastępczych rusztowań z kontrolowaną funkcją miejscowego uwalniania leku.

Celem pracy było opracowanie hybrydowych układów kompozytowych do regeneracji tkanki kostnej z funkcją modyfikowanego uwalniania leku oraz ocena właściwości fizykochemicznych, biologicznych i kinetyki uwalniania in vitro poprzez opracowanie metodyki badania dostępności farmaceutycznej. W pracy połączono dwie metody wytwarzania biomateriałów (metodę wytwarzania monolitów i metodę druku 3D - techniką FDM). Dzięki zastosowaniu metody druku 3D wytworzone materiały posiadały przestrzenną, porowatą mikrostrukturę naśladującą budowę i funkcje kości na którą naniesione zostały komórki macierzyste z tkanki tłuszczowej.

W przedstawionej pracy badano materiały kompozytowe, których osnowę stanowił polimer – polilaktyd oraz polikaprolakton, a fazami modyfikującymi były różnej wielkości cząsteczki hydroksyapatytu pochodzenia syntetycznego. Badany materiał wytworzono w formie monolitu. W późniejszych badaniach dzięki metodzie hot melt extrusion udało się wytworzyć filament zawierający cząsteczki leku. Za pomocą druku 3D wytworzono przestrzenne scaffoldy. Wytworzony materiał służył jako rusztowanie dla komórek macierzystych.

W pracy połączono dwie metody wytwarzania biomateriałów (metodę wytwarzania monolitów i metodę druku 3D - techniką FDM). Dzięki zastosowaniu metody druku 3D wytworzone materiały posiadały przestrzenną, porowatą mikrostrukturę naśladującą budowę i funkcje kości na którą naniesione zostały komórki macierzyste z tkanki tłuszczowej.

We wstępnych badaniach uzyskano dziesięć substytutów kości na bazie PLLA, PCAP i hydroksyapatytu. Morfologię wewnętrzną kompozytów określono za pomocą skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM), scharakteryzowano pod względem parametrów fizyko-chemicznych. Wykonano analizę metodą rentgenowskiej dyfrakcji proszkowej (XRPD), w podczerwieni i Ramana oraz różnicowej kalorymetrii skaningowa (DSC), bioaktywności in vitro i odpowiedzi komórek osteoblastycznych. Badanie cytotoksyczności przeprowadzono zgodnie z normą 10993-5 ocena cytotoksyczności in vitro wyrobów medycznych. Wykonano izolację komórek macierzystych z tkanki tłuszczowej wraz z ich charakterystyką. Uzyskane hodowle komórkowe wykorzystano do wytworzenia prototypu produktu leczniczego terapii zaawansowanej zawierającego komórki macierzyste. Zbadano również podatność biomateriałów na adhezję mikroorganizmów i powstawanie biofilmu. W doświadczeniach komórkowych nie zaobserwowano toksyczności materiału.

W badaniach wytworzono hybrydowe trójwymiarowe rusztowania do rekonstrukcji tkanki kostnej. W tym celu wykorzystałam otrzymane wcześniej rusztowania funkcjonalizując je dodatkowo niesteroidowym lekiem przeciwzapalnym tj. meloksykalem oraz tworząc przestrzenną matrycę dla multipotencjalnych komórek pozyskanych z tkanki tłuszczowej. Wybór meloksykamu był podyktowany jego właściwościami hamującymi aktywność COX-2 i wysoką temperaturą degradacji, umożliwiającą wykorzystanie tego leku w procesie szybkiego prototypowania 3D.

Dodanie meloksykamu spowodowało, że uzyskany scaffold nie był zasiedlany przez drobnoustroje. Otrzymany za pomocą druku 3D hybrydowy biokompozyt posiada działanie osteoindukcyjne, a zawarty w nim lek powoduje utrudnione zasiedlanie przez bakterie oraz działa przeciwzapalnie.

Wykazano, że hamuje on wzrost komórek THP1, które są modelem monocytów i stanu zapalnego. Otrzymany materiał stał się rusztowaniem dla multipotencjalnych komórek zrębu z tkanki tłuszczowej i wykazał różnicowanie w kierunku osteoblastów. Badania in vitro wykazały duży potencjał otrzymanych materiałów do regeneracji tkanki kostnej.

Otrzymane wyniki pozwalają wnioskować, że wielofunkcyjne materiały hybrydowe otrzymywane za pomocą technologii druku 3D wykazują przewagę nad materiałami z pojedynczą odpowiedzią i mają duży potencjał do zastosowania w inżynierii wyrostka zębodołowego. Kontrolowanie uwalniania leku za pomocą nośnika polimerowego o znanym profilu uwalniania pozwala na analityczne dostosowanie mechanizmu dyfuzji, zapewniając bezpieczniejsze terapie. Dzięki bezpośredniemu transportowi leku do tkanki kostnej ukierunkowane systemy dostarczania leków dają możliwość ulepszonej terapii.