

Praca doktorska pt. „*Modyfikacja krystalicznych fosforanów wapnia w celu uzyskania biomateriałów o skutecznej aktywności antybakteryjnej*”

Streszczenie w języku polskim

Na przestrzeni kilkunastu ostatnich lat zauważyć można znaczący rozwój wielu gałęzi medycyny. Do jednej z wyróżniających się dziedzin należy chirurgia, gdzie ów rozwój (np. nowe techniki zabiegowe, upowszechnianie chirurgii robotycznej) przyczynia się do przystępności, a tym samym do wzrostu liczby wykonywanych zabiegów chirurgicznych. Z drugiej strony w krajach rozwiniętych można obserwować starzejące się społeczeństwa, co z kolei znacząco wpływa na zwiększone zainteresowanie chirurgią ortopedyczną (ze względu na zwiększone ryzyko wystąpienia chorób kości takich jak osteoporoza u osób w podeszłym wieku). Pomimo oczywistych korzyści płynących z zabiegów wykonywanych w chirurgii ortopedycznej, niesie ona ze sobą niekorzystne skutki związane między innymi z prawdopodobieństwem wystąpienia zakażenia miejsca operowanego (ZMO). Tego typu zakażenia nie tylko należą do grupy najczęściej nabywanych zakażeń szpitalnych, ale także znacząco utrudniają oraz spowalniają wyleczenie pacjenta. Należy zaznaczyć, że w przypadku operacji ortopedycznych są one szczególnie problematyczne, co związane jest ze słabym ukrwieniem tkanki kostnej. Prowadzi to do sytuacji wymagających stosowania wyższych dawek antybiotyków w celu osiągnięcia stężenia terapeutycznego leku w tkance kostnej, a to z kolei skutkuje zwiększonym ryzykiem wystąpienia, czasami ciężkich, działań niepożądanych.

W niniejszej pracy skupiłem się na opracowaniu porowatego materiału zbudowanego z fosforanów wapnia, który służyłby jako nośnik dla substancji bakteriobójczych do bezpośredniego dostarczenia ich do tkanki kostnej. Pozwoliłoby to na optymalne zapobieganie lub wyeliminowanie zakażenia bakteryjnego, zmniejszając ryzyko powikłań u pacjenta. Materiał ten pozwoliłby także na długotrwałe uwalnianie leku w tkance kostnej. Fosforany wapnia, dzięki swoim właściwościom biologicznym oraz fizykochemicznym (takim jak np. biokompatybilność z tkanką kostną czy brak cytotoksyczności) są od dawna wykorzystywane w ortopedii oraz dentyście. Dodatkowo, w odniesieniu do tematu niniejszej pracy, istotna jest ich zdolność do łatwego adsorbowania wielu substancji leczniczych oraz łatwość do licznych podstawień jonowych. Pozwala to na zakwalifikowanie

tych materiałów do bardzo dobrych nośników dla antybiotyków i także umożliwia modyfikację ich struktury jonami o działaniu antybakteryjnym.

W swojej pracy zająłem się syntezą czterech typów fosforanów wapnia (bruszytu – DCPD, trójfosforanu wapnia typu α – α -TCP, trójfosforanu wapnia typu β – β -TCP oraz hydroksyapatytu – HA). Zastosowałem dwie metody – syntezę w ciele stałym lub syntezę strąceniową. Dodatkowo, każdy materiał był zmodyfikowany jonami srebra i/lub galu wykazującymi działanie antybakteryjne. Z otrzymanych proszków hydroksyapatytowych opracowałem trzy rodzaje porowatych granul: mikrogranule o średnicy 0,2-1 mm, granule kompozytowe o średnicy 3-4 mm oraz granule kompozytowe o średnicy 3-4 mm, zawierające w swojej strukturze wcześniej otrzymane mikrogranule. Spośród wymienionych typów granul wybrałem ten o najkorzystniejszych właściwościach, aby następnie zsyntetyzować dwufazowe granule wspomnianego rodzaju, zbudowane z mieszanki dwóch różnych proszków fosforanowo-wapniowych – jednego zmodyfikowanego jonami galu oraz drugiego zawierającego jony srebra. Do części granul wprowadziłem chemioterapeutyki – ciprofloksacynę lub gentamycynę, a także pokryłem je polimerem biodegradowalnym – polikaprolaktonem (PCL).

Na uzyskanych materiałach przeprowadziłem szereg badań fizykochemicznych oraz biologicznych. Badania: spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FT-IR), rentgenowskiej dyfraktometrii proszkowej (PXRD) oraz spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego w ciele stałym (ssNMR) pozwoliły na analizę strukturalną otrzymanych materiałów. Ocena morfologiczna była możliwa dzięki wykorzystaniu transmisyjnej oraz skaningowej mikroskopii elektronowej (odpowiednio TEM i SEM). Badania porozytometrii rtęciowej oraz SEM pozwoliły na ocenę porowatości granul. Badania: optycznej spektrometrii emisyjnej z plazmą sprzężoną indukcyjnie (ICP-OES), spektrometrii mas z plazmą sprzężoną indukcyjnie (ICP-MS) oraz absorpcyjnej spektrometrii atomowej (AAS) zostały wykorzystane do określenia wydajności podstawienia jonów oraz oszacowania ich profilu uwalniania. Analogicznie badanie wysokosprawnej chromatografii ciekowej (HPLC) wykorzystano do oceny zawartości oraz profilu uwalniania w przypadku chemioterapeutyków. Badania cytotoksyczności zostały przeprowadzone na fibroblastach mysich, z kolei badania właściwości antybakteryjnych wykonano przeciwko różnym szczepom bakterii Gram-dodatnich (*S. aureus*, *S. epidermidis*) oraz Gram-ujemnych (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *P. fluorescens*).

Uzyskane materiały mogłyby pełnić funkcję materiałów kościozastępczych dzięki wykorzystaniu fosforanów wapnia oraz jonów galu (które wykazują pozytywny wpływ na tkankę kostną), jednocześnie dostarczałyby do kości antybiotyk oraz jony o działaniu antybakteryjnym. Zastosowanie różnych czynników bakteriobójczych pozwoliłoby na poszerzenie spektrum działania antybakteryjnego materiału (ze względu na różne mechanizmy działania), z kolei zastosowanie mieszanki różnych fosforanów wapnia pozwoliłoby na uzyskanie materiału o przedłużonym uwalnianiu substancji czynnej do środowiska tkanki kostnej. Otrzymane materiały mogłyby zostać poddane dalszym badaniom *in vivo*, co przybliżyłoby je do wykorzystania w praktyce klinicznej oraz przyczyniło się do opracowania skuteczniejszych metod prewencji i zwalczania zakażeń miejsca operowanego w ortopedii.