

STRESZCZENIE

Projektowanie i synteza rusztowań peptydowych o potencjalnym działaniu pro-regeneracyjnym mgr Justyna Sawicka

Skóra stanowi złożony narząd, pełniący funkcję ochronną i oddzielającą narządy wewnętrzne od czynników zewnętrznych. Jest zbudowana z trzech głównych warstw: naskórka, skóry właściwej oraz tkanki podskórnej. Istnieje wiele zagrożeń związanych z uszkodzeniami skóry, które mogą mieć poważne konsekwencje dla całego ludzkiego organizmu. Jednymi z nich są uszkodzenia mechaniczne skóry, czyli zranienia i otarcia. Zagrożenie wynikające z takiego uszkodzenia skóry polega na utworzeniu się otwartej rany, z której wydobywają się krew i płyny ustrojowe. Przy tego typu wypadkach często dochodzi do zakażeń bakteryjnych, naruszenia nerwów i tkanek oraz kości. Urazy takie są zwykle bardzo bolesne, a ich leczenie polega przede wszystkim na oczyszczeniu, zdezynfekowaniu i zabezpieczeniu rany. Tak więc zachowanie ciągłości skóry jest niezwykle ważne dla zdrowia. Kluczową kwestią w przywróceniu ciągłości skóry jest odtworzenie utraconych struktur tkankowych wraz z pełną jej funkcjonalnością i architekturą (regeneracja).

Medycyna regeneracyjna oraz inżyniera tkankowa stanowią sektor medycyny specjalizujący się poszukiwaniem sposobów zastępowania i/lub naprawiania uszkodzonych tkanek. Najważniejszymi elementami w tych badaniach są trzy komponenty, stanowiące triadę inżynierii tkankowej: komórki (np. macierzyste), rusztowania oraz czynniki sygnalizacyjne. Uproszczoną ideą połączenia tych trzech komponentów jest rusztowanie (ang. scaffold) łączące architekturę macierzy zewnątrzkomórkowej, substancji aktywnych jako czynników sygnalizacyjnych oraz zawieszonych w nich lub na nich komórek. W inżynierii tkankowej wciąż istnieje duże zapotrzebowanie na tego typu materiały. Dlatego, w swojej pracy doktorskiej podjęłam się zadania polegającego na zaprojektowaniu rusztowań peptydowych, które spełniałyby powyższe wymagania.

W tym celu zaprojektowałam i zbadalam dwa rodzaje rusztowań, stanowiących hybrydę peptydów o sekwencji: samoorganizującej, enzymatycznej oraz aktywnej biologicznie. Jako peptydy wykazujące właściwości do samoorganizacji wybrałam peptydy fibrylogenne (QAGIVV) oraz żelujące (RADA). Peptydami o potencjalnym działaniu pro-regeneracyjnym były: GHK, KGHK oraz RDKVYR. Peptydy samoorganizujące zostały przedzielone z peptydami biologicznie aktywnymi przez wstawienie sekwencji specyficznej

dla elastazy. Postępowanie to miało na celu uzyskanie konstruktów, który pod wpływem enzymu (obecnego w ranach) będzie uwalniał z rusztowania fragmenty o działaniu pro-regeneracyjnym. Peptydy biologicznie aktywne GHK i KGHK zostały już wcześniej uznane za związki o właściwościach pro-regeneracyjnych, natomiast trzeci peptyd to związek o nazwie handlowej Imunofan (firmy BIONOX). Jest to lek, dostępny w Rosji i na Ukrainie o znanych właściwościach przeciwzapalnych oraz wspomagających pracę układu odpornościowego. W swojej pracy potwierdziłam jego właściwości pro-regeneracyjne. Kolejnymi peptydami o potencjalnych właściwościach pro-regeneracyjnych, które badałam były peptydy o powielonej sekwencji aktywnej (GHK lub KGHK lub RDKVYR) przedzielone sekwencją specyficzną dla elastazy.

Badania przedstawione w niniejszej dysertacji mają charakter interdyscyplinarny i obejmują syntezę chemiczną, badania fizyko-chemiczne i badania biologiczne. W celu przeprowadzenia badań strukturalnych skorzystałam z techniki dichroizmu kołowego i potwierdziłam formowanie się przez rusztowania struktury β -kartki. Technikę chromatografii ciekłowej oraz spektrometrii mas wykorzystałam do oceny stabilności peptydów w wodzie i w osoczu, do zbadania powinowactwa peptydów do albumin oraz do sprawdzenia miejsca cięcia peptydu przez enzym. Z wykorzystaniem technik mikroskopowych (AFM, TEM, Cryo-SEM) określiłam morfologie utworzonych włókien peptydowych. Badania biologiczne tj.: cytotoksyczność i proliferacja komórek skórnych oraz badania immunogenności zostały wykonane we współpracy z Gdańskim Uniwersytetem Medycznym. Związki o największym potencjale pro-regeneracyjnym zostały przekazane do badań *in vivo*, które zostały wykonane na myszach w dwóch modelach uszkodzenia skóry. Badania zostały przeprowadzone we współpracy z Politechniką Gdańską oraz Trójmiejską Zwierzętarnią.

Uzyskane wyniki poszerzają wiedzę światową w zakresie peptydowych rusztowań w inżynierii tkankowej, jak również mogą znaleźć zastosowanie w leczeniu trudno gojących się ran skóry.