

**Immunofunkcjonalizacja powierzchni stentów kardiowaskularnych poprzez wprowadzenie interleukin przeciwzapalnych**

Miażdżycą określaną jest stan przewlekłe utrzymującego się aktywnego procesu zapalnego w obrębie ścian tętnic, prowadzący do ich pogrubienia i utraty elastyczności. Stan ten jest szczególnie niebezpieczny, gdy obejmuje tętnice wieńcowe, prowadząc do rozwoju choroby wieńcowej. Wynikająca z progresji choroby niewydolność krążenia wieńcowego może skutkować niedokrwieniem mięśnia sercowego, co w rezultacie może doprowadzić do ostrej choroby niedokrwiennej i zgonu.

Spośród wielu metod i technik terapeutycznych, na które składa się intensywne farmakoterapia oraz pomostowanie aortalno-wieńcowe, przezskórna interwencja wieńcowa stanowi złoty standard w rewaskularyzacji zwężonej tętnicy wieńcowej. Szacuje się, że około 80% spośród wszystkich wykonanych interwencji kończy się wprowadzeniem do tętnicy wieńcowej stentu kardiowaskularnego. Corocznie na świecie zabiegów tego typu wykonuje się aż około 4 milionów. Przytoczone dane podkreślają powagę problemu.

Przezskórna interwencja wieńcowa z jednoczasową implantacją stentu prowadzi do poprawy jakości życia i przeżycia milionów pacjentów rocznie, niemniej jednak może wiązać się z ewentualnym niepowodzeniem, decydującym o ograniczeniu długoterminowej skuteczności tego zabiegu. Spośród najczęstszych, wskazać należy restenozę w stencie, rozumianą jako nawrót zwężenia w miejscu uprzednio poddanym rewaskularyzacji.

Mechanizmy leżące u podstaw restenozy w stencie nie zostały w pełni poznane. Szczególną rolę w tym procesie wydają się odgrywać obnażony i dysfunkcyjny śródbłonek, związana z zabiegiem indukcyjna ostrego stanu zapalnego na tle przewlekających się procesów zapalnych, będących wynikiem progresującej miażdżycy, podśródbłonkowe gromadzenie się makrofagów modyfikujących lokalne środowisko naczynia oraz transformacje fenotypowe komórek mięśni gładkich naczyń. Wskazane zjawiska przyczyniają się do przerostu neointymy, stanowiącej pointerywencyjny, patologiczny proces, podczas którego dokonuje się przebudowa błony wewnętrznej ściany naczynia wieńcowego. Prowadzi to stopniowo do restenozy w stencie oraz nawrotu klinicznych cech niewydolności krążenia wieńcowego. Proces ten pozostaje wciąż poważnym problemem w kardiologii interwencyjnej. Stanowi również jedną z ważniejszych przyczyn zgonu wśród pacjentów z chorobą wieńcową.

Obecnie prowadzonych jest wiele badań nad rozwojem coraz to nowszych koncepcji stentów. Strategie te obejmują poszukiwanie nowego materiału, z którego stent zostanie wykonany bądź projektowanie zupełnie odmiennych konstrukcji implantu.

W ramach niniejszej rozprawy doktorskiej podjęto się przeprowadzenia badań z zakresu modyfikacji powierzchni powszechnie stosowanych stentów, która wykaże aktywność biologiczną wobec komórek naczyniowych, przez co pozwoli zredukować prawdopodobieństwo wystąpienia restenozy do minimum. Badania skoncentrowano wokół cząsteczek naturalnie syntezowanych przez organizm i charakteryzujących się plejotropowym działaniem – interleukin. Te — służące jako środki komunikacji dla komórek układu odpornościowego, jak również dla komórek nienależących do tego systemu — zdolne są do wywołania korzystnych reakcji komórek

naczyniowych, ograniczając progresję zmian miażdżycowych oraz zmniejszając prawdopodobieństwo rozwoju restenozy w stencie.

Na wstępie przedstawiono procedurę otrzymywania powłok na bazie polidopaminy i polidopaminy wzbogaconej chitozanem. Wykorzystane biomateriały cechują się silnymi właściwościami adhezyjnymi oraz obecnością licznych grup funkcyjnych. Możliwe zatem jest pokrycie struktury stentu powłoką bazową oraz związanie na powierzchni wybranych cząsteczek biologicznych. Immobilizację wybranych interleukin w obrębie materiałów bazowych przeprowadzono wskutek reakcji bezpośredniej lub za pośrednictwem techniki sieciowania.

Właściwości fizyko-chemiczne otrzymanych powłok zostały scharakteryzowane z wykorzystaniem spektroskopii osłabionego całkowitego wewnętrznego odbicia w podczerwieni z transformatą Fouriera, mikroskopii sił atomowych i testów immunoenzymatycznych. Za pośrednictwem wspomnianych technik udało się potwierdzić skuteczność funkcjonalizacji powierzchni i obecność interleukin w strukturze proponowanej powłoki. Nie tylko wykazano, że powłoka jest nośnikiem interleukin, ale równocześnie, że pozwala na kontrolowane uwalnianie biomolekuł.

Zdefiniowanie właściwości biologicznych otrzymanych powłok możliwe było wskutek przeprowadzenia eksperymentów *in vitro* z wykorzystaniem modelowych komórek śródbłonna oraz modelowych monocytów/makrofagów. Ocenie poddano żywotność i proliferację komórek śródbłonna, scharakteryzowano ich morfologię, a także dokonano oceny ich prozapalnej odpowiedzi. Otrzymane powłoki indukowały wzrost komórek śródbłonna, a z upływem czasu, sprzyjały wyhamowaniu procesów zapalnych w tych komórkach. Udowodniono również, że obecność powłoki na powierzchni materiału znacząco hamuje adhezję monocytów/makrofagów do materiału, jak i do komórek śródbłonna hodowanych na tak zmodyfikowanej powierzchni. Zdolność powłok do indukowania zmian fenotypowych makrofagów zgromadzonych w ścianie tętnicy potwierdziła, że zaproponowana procedura immobilizacji interleukin nie upośledza ich aktywności biologicznej. Ostatecznie, powłoka wspiera procesy gojenia i regeneracji tkanek, ogranicza produkcję cytokin prozapalnych i dostarcza cytokiny przeciwzapalne, co w rezultacie poprawia rokowanie pacjentów w chorobie naczyniowej.

Wyniki przeprowadzonych eksperymentów potwierdzają, że nadrzędny cel rozprawy doktorskiej został zrealizowany. Immunofunkcjonalizowane powłoki zostały otrzymane, kompleksowo scharakteryzowane pod względem parametrów fizyko-chemicznych i aktywności biologicznej. Co więcej, przedstawione w niniejszej pracy badania rzutują nowe światło na patomechanizm choroby naczyniowej, proponując dalsze kierunki rozwoju dziedziny.

30 czerwca 2023 r. ....

Sareń

(data i podpis)