

**BIOSZKŁA I ORGANICZNO-NIEORGANICZNE  
KOMPOZYTY DLA INŻYNIERII TKANKOWEJ KOŚCI**

**BIOGLASSES AND ORGANIC-INORGANIC  
COMPOSITES FOR BONE TISSUE ENGINEERING**

**Łukasz John**

*Wydział Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego  
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław, Polska  
e-mail: lukasz.john@chem.uni.wroc.pl*

---

*Niniejszy artykuł dedykuję Panu Profesorowi Piotrowi Sobocie z okazji 70. urodzin,  
w podziękowaniu za dotychczasową, pełną zaangażowania współpracę.*

---

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Morfologia i skład materiałów bioaktywnych

2. Krótki przegląd wybranych biomateriałów

3. Synteza biomateriałów

4. Biomineralizacja

5. Modyfikowanie powierzchni biomateriałów

Podziękowanie

Piśmiennictwo cytowane

---

**ABSTRACT**

The most demanded biomaterials for bone tissue engineering could be classified in two main sol-gel derived groups: bioglasses and organic-inorganic composites. The first of these include bioactive ceramics such as calcium phosphates (Tab. 2) [1], glasses and glass ceramics [2], and so-called inert ceramics (Tab. 1) such as  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , zirconium and titanium dioxide, and carbon-based materials [3, 4]. Second-group of compounds constitute bioactive organic-inorganic hybrids, generally based on organic matrix and various inorganic dopants. Biomaterials in contact with human plasma and bone stem cells form, on their surface, hydroxyapatite  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  (HAp) and its derivatives (Tab. 2). HAp-layer initiates bone growth and reconstruction of treated fragment (Fig. 2). These materials, due to the high degree of biocompatibility are considered as the most valuable compounds for bone surgery [5]. Extremely rapid development of biomaterials used in medicine caused the production of implants with different properties (Scheme 1). The real revolution and technological progress have brought biomimetic composites that mimic naturally occurring solutions in living organisms. The role of such implants is not only replacing the damaged parts of body, but – due to the appropriate morphology and composition – stimulating the growth of living cells (Fig. 3) and final bone regeneration. This article is devoted to this type of biomaterials proposed for bone tissue engineering.

Keywords: biomaterials, bioglasses, organic-inorganic hybrid, hydroxyapatite, bone implants, scaffolds, *in vitro*

Słowa kluczowe: biomateriały, bioszklą, organiczno-nieorganiczne hybrydy, hydroksyapatyt, implanty kości, rusztowania, *in vitro*

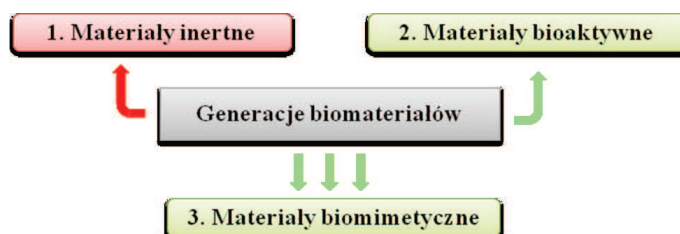
---

---

## WPROWADZENIE

Spośród różnorodnych materiałów stosowanych jako implanty, pokrycia i wypełnienia uszkodzonych kości, bioaktywne ceramiki (zwane również bioszklami, z ang. *bioglasses*) oraz organiczno-nieorganiczne materiały hybrydowe znajdują największe zainteresowanie. Pod koniec XX wieku, materiały stosowane w praktyce klinicznej można było podzielić na dwie grupy. Do pierwszej z nich należą bioaktywne ceramiki, takie jak fosforany wapnia [1], szkła i szkła ceramiczne [2], oraz tzw. ceramiki inertne, jak np.  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , ditlenek cyrkonu oraz tytan i węgiel [3, 4]. Drugą grupę materiałów stanowią bioaktywne organiczno-nieorganiczne materiały hybrydowe i to one wywołują coraz większe zainteresowanie w badaniach klinicznych. Zarówno bioceramiki, jak i kompozyty organiczno-nieorganiczne w kontakcie z tkanką kostną i osoczem ludzkim wytwarzają na swojej powierzchni hydroksyapatyt  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  (HAp) i jego pochodne. Wytworzenie go na powierzchni implantu inicjuje wzrost kości i szybki powrót jej leczonego fragmentu do odbudowy, a tym samym szybki powrót pacjenta do zdrowia. Materiały te, ze względu na wysoki stopień biozgodności, osteoindukcyjność oraz zdolność do tworzenia z żywymi tkankami połączeń chemicznych, są uważane za najcenniejsze wśród materiałów dla chirurgii kostnej [5].

Niezwykle szybki rozwój biomateriałów stosowanych w chirurgii urazowej kości, spowodował wytwarzanie implantów o różnych właściwościach. Obecnie możemy je podzielić na trzy bardzo ogólne generacje (Schemat 1).



Schemat 1. Generacje biomateriałów w medycynie.  
Scheme 1. Generations of biomaterials in medicine.

W latach 50. ubiegłego wieku powstała pierwsza generacja biomateriałów stosowanych w medycynie urazowej kości. Były to materiały inertne, których jedynym celem było zastąpienie uszkodzonych fragmentów kości. Implanty tego rodzaju nie oddziaływały w żaden sposób z tkankami i były nietoksyczne dla organizmu człowieka. Biomateriały drugiej generacji powstały w latach 80. XX wieku. W okresie tym intensywnie zaczęto rozwijać materiały, które oddziaływały z otaczającym środowiskiem. Od tego typu materiałów wymagano, aby reakcje biochemiczne zachodzące na połączeniu implant–tkanka ludzka były nieszkodliwe dla zdrowia pacjenta. Prawdziwą rewolucję i swoisty postęp technologiczny przyniosły na przełomie XX i XXI wieku materiały trzeciej generacji, często określane materiałami biomimetycznymi, czyli

naśladującymi rozwiązaniami występujące w naturze u żywych organizmów. Samo pojęcie „bionika” zostało po raz pierwszy użyte w 1960 roku na konferencji *Living prototypes of artificial organs* w Dayton, w Stanach Zjednoczonych. Rolą implantów trzeciej generacji jest nie tylko zastępowanie uszkodzonych fragmentów ciała, ale – dzięki odpowiedniej morfologii i składowi – stymulowanie żywych komórek do wzrostu i ich regeneracji na powierzchni [6]. Reasumując, materiały biomimetyczne są wynikiem analizy gotowych rozwiązań powstałych na drodze milionów lat ewolucji żywych organizmów. Niniejszy artykuł jest poświęcony właśnie tego typu materiałom projektowanym na potrzeby inżynierii kości.

## 1. MORFOLOGIA I SKŁAD MATERIAŁÓW BIOAKTYWNYCH

Materiały bioaktywne to takie, które po wszczępieniu, jako element zastępczy kości łączą się bezpośrednio z kością naturalną bez obecności tkanki miękkiej, jako warstwy pośredniczącej. Zadaniem tego typu układów jest uzupełnienie lub zastąpienie uszkodzonego fragmentu lub jego części i w końcu przejęcie jego funkcji. Biomateriały, zależnie od zastosowania, mogą mieć różną postać – od proszków, poprzez monolity, do tzw. porowatych rusztowań tkankowych coraz częściej określanymi w polskiej literaturze naukowej mianem „skafoldów” (z ang. *scaffolds*) (Rys. 1).

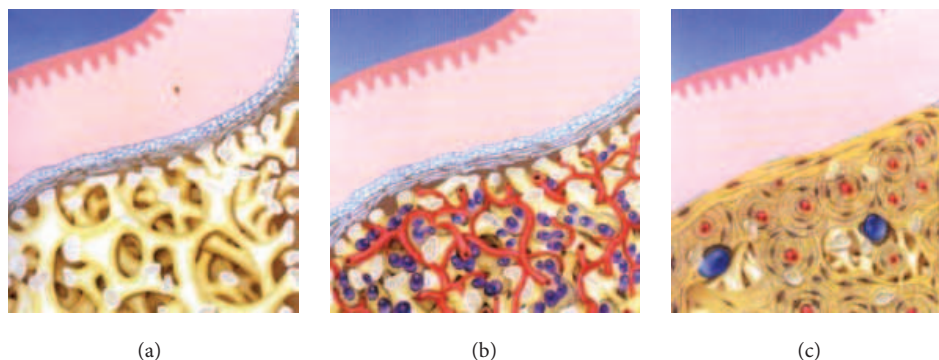


Rysunek 1. Morfologia biomateriałów.  
Figure 1. Morphology of biomaterials.

Obecnie największym zainteresowaniem cieszą się porowate rusztowania, które swoją budową najbardziej przypominają morfologię kości. Taka struktura umożliwia swobodne wrastanie tkanek miękkich i naczyń krwionośnych (Rys. 2). Istotne jest to, że efektywność wnikania tkanek do biomateriału jest uzależniona od wielkości porów. Stwierdza się następujące prawidłowości tego procesu:

- I. Jeżeli pory mają wielkość poniżej 5  $\mu\text{m}$ , nie zachodzi wrastanie tkanek,
- II. Dla porów o wielkości powyżej 25  $\mu\text{m}$  obserwuje się wrastanie tkanki włóknistej, a następnie naczyń,
- III. Od wielkości porów 50  $\mu\text{m}$  następuje mineralizacja wrośniętych tkanek, np. mineralizacja dochodzi do głębokości 500  $\mu\text{m}$  przy średniej wielkości porów 75  $\mu\text{m}$ ,

IV. Przy porach większych od 100  $\mu\text{m}$  mineralizacja przekracza głębokość 1000  $\mu\text{m}$  i kość zostaje prawidłowo odbudowana.



Rysunek 2. Etapy wbudowywania tkanek w porowaty materiał piankowy: (a) ubytek kostny wypełniony piankowym biomateriałem, (b) migracja tkanki i formowanie nowej kości i (c) resorpcja biomateriału w tkankach.

Figure 2. Stages of tissue incorporation in foam-like porous material: (a) the bone defect filled with biomaterial, (b) the migration of tissue and new bone formation and (c) the biomaterials resorption in the bone tissue.

Podsumowując wytworzone biomateriały zarówno ceramiczne, jak i hybrydowe, aby spełniały prawidłowo swoje funkcje muszą posiadać makropory w granicach od 50 do 500  $\mu\text{m}$ . Jest to wielkość zapewniająca skuteczną penetrację implantu. Ich obecność umożliwia sprawną wymianę płynów ustrojowych, m.in. osocza krwi, które w 90% składa się z wody, a pozostałe 10% stanowią związki organiczne (głównie białka) oraz sole nieorganiczne takich jonów jak:  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cl}^-$ , czy  $\text{PO}_4^{3-}$ . Istotną rolę w budowie kości odgrywa również kolagen. Jest to białko wchodzące w skład chrząstek i tkanki łącznej, która wrasta w porowaty biomateriał. Jest ono również odpowiedzialne m.in. za mineralizację fosforowo-wapniową. Szczególnie korzystnym miejscem zarodkowania ziaren hydroksyapatytu są właśnie przestrzenie pomiędzy włóknami kolagenu [7].

Badania kliniczne wskazują, że wraz z wiekiem z kości człowieka ubywa jonów magnezu i żelaza(III) oraz zmienia się wzajemny stosunek jonów wapnia do fosforu. Podczas starzenia się organizmu, obserwuje się w strukturze kości przebudowę minerałów, m.in. wzrost zawartości węgla, część minerałów jest z nich usuwana (demineralizacja kości). Ponadto następuje zmniejszenie jego wytrzymałości mechanicznej przejawiające się np. łamliwością. Jony przenikają także do płynów ustrojowych i tkanek miękkich. Najbardziej rozpowszechnioną i fatalną w skutkach chorobą jest osteoporoza. Wieloletnie badania przeprowadzone na wyselekcjonowanej grupie pacjentów wykazały korzystne dla odbudowy masy kostnej działanie soli strontu przy leczeniu tej choroby [8, 9], a to oznacza, że warto wprowadzać do bioceramików i materiałów hybrydowych sole różnych pierwiastków, w tym wspomnianego strontu [10], ale też jony magnezu, cynku, srebra oraz ceru. Jony

magnezu i cynku działają przeciwzapalnie, dodatkowo  $Mg^{2+}$  są bakteriostatyczne, a  $Zn^{2+}$  mają działanie pobudzające wzrost kości. Z kolei jony  $Ag^+$  i  $Ce^{2+}$  wykazują działanie bakterio- i grzybobójcze [11].

Innym ważnym wyzwaniem przy syntezie biomateriałów ceramicznych jest zmniejszenie lub wyeliminowanie ich kruchości, a w przypadku materiałów hybrydowych, uzyskanie związków wykazujących wysoką adhezję i większą elastyczność. Stosowany dotychczas tzw. cement kostny (używany do mocowania implantów w kości pacjenta) ma tę wadę, że z czasem obłuzowuje się i nie łączy szczelnie implantu z kością. Rezultatem jest silny ból w miejscach wszczepu i powrót pacjenta na stół operacyjny. Dlatego niezwykle ważne jest opracowywanie materiałów odpowiednio wytrzymałych oraz stymulujących łączenie i trwałe wiązanie oraz resorpcję implantu z kością. Ponadto otrzymywane powłoki ochronne, przeznaczone na wszczepy metalicznych endoprotez, nie powinny z czasem wytwarzać luzów w miejscach wszczepu, ale skutecznie pobudzać kość do wzrostu i odbudowy wytwarzając na jej powierzchni sole bogate w jony wapnia i fosforu.

W miejscach pooperacyjnych, tam gdzie wszczepiono implant, dochodzi często do powstawania stanów zapalnych. Z tego punktu widzenia opracowanie biomateriałów, które w sposób kontrolowany oraz lokalnie uwalniałyby niesteroidowe leki przeciwzapalne, jest niezwykle ważne. Zainteresowanie kompozytami uwalniającymi leki systematycznie rośnie [12, 13], zwłaszcza tymi, które są bioaktywne [14]. W literaturze znane są nieliczne przykłady materiałów wielofazowych, w których skład wchodzi ściśle zdefiniowane ilości

- I. Bioaktywnych materiałów proszkowych, np. o składzie  $SiO_2$ -CaO- $P_2O_5$ , które indukują wzrost kości,
- II. Bioaktywnych i biodegradowalnych polimerów, np. polilaktydu, który ułatwia uwalnianie leku,
- III. Hydrofobowego i biostabilnego polimeru, np. poli(metakrylan) metylu, który zapobiega gwałtownemu wydzielaniu substancji farmakologicznie czynnej,
- IV. Leku przeciwzapalnego, np. ibuprofenu [15].

Materiały tego typu mają zalety i wady. Użycie materiałów proszkowych pozwala dokładnie wypełnić uszkodzone miejsca kości tak, że materiał przybiera kształt defektu kostnego, jednak z drugiej strony materiał taki może migrować w momencie, gdy nie został jeszcze trwale związany z biodegradowalną lub/i biostabilną matrycą polimerową.

Kości są również narażone na przerzuty nowotworowe, zwłaszcza wśród grupy pacjentów chorujących na raka piersi i prostaty. Szacuje się, że ok. 70% pacjentów, którzy umarli na ten rodzaj raka, miało przerzuty zlokalizowane w kościach. Z kolei, w przypadku raka tarczycy, nerek i płuc – do przerzutów dochodzi w przypadku 30–40% chorych [16]. Radioterapia jest ogólnie bezpieczną i efektywną formą leczenia raka kości. Jednakże, radioterapia bez interwencji chirurgicznej nie jest skuteczna w długoterminowym leczeniu. Z metodą tą wiążą się poważne wady,

dotyczące m.in. nieodwracalnego niszczenia tkanek miękkich, a w przypadku niektórych odmian raka – radioterapia jest zupełnie nieskuteczna [17]. Alternatywą jest leczenie za pomocą hipertermii. Strategia ta polega na wprowadzaniu implantów z domieszką tlenków ferromagnetycznych, np.  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  [18], które pod wpływem zmiennego pola elektromagnetycznego „rozgrzewają się” powodując obumieranie komórek rakowych, które są bardziej wrażliwe na podwyższoną temperaturę, niż komórki zdrowe. Koncepcja hipertermii w terapii raka rozwijana jest przez wiele grup naukowych na całym świecie i w zdecydowanej większości dotyczy bioszkieł żelowych [19–21].

## 2. KRÓTKI PRZEGLĄD WYBRANYCH BIOMATERIAŁÓW

Dzięki odkryciom archeologicznym, ludzkość poznała wiele rodzajów materiałów służących w czasach starożytnych jako implanty. Do tej grupy zaliczały się kości zwierząt, muszle, koralowce, kość słoniowa, drewno, metale (głównie złoto i srebro), itp. [22]. W terażniejszych czasach materiałami zastępującymi fragmenty kości i zębów są kości ludzkie (w przypadku autoprzeszczepów), materiały z kości bydłych, przetworzone koralowce, metale (głównie tytan i stal nierdzewna), ceramiki tlenkowe i polimery, w tym polimery biodegradowalne [23].

Biomateriały odgrywają istotną rolę w medycynie. Od wielu lat naukowcy prowadzą badania nad związkami, które są lub dopiero będą stosowane, np. w chirurgii urazowej, jako składniki wbudowywane w różne struktury biologiczne, stosowane w leczeniu, diagnozowaniu, poprawianiu lub zastępowaniu częściowym lub całkowitym ubytku tkanki, narządu lub pełnienia jego funkcji w organizmie. Najlepszą strategią leczenia dużych ubytków kości są autoprzeszczepy (przeszczep kości z miejsc o mniejszych obciążeniach, np. żeber). Ponieważ nie zawsze jest to możliwe, zapotrzebowanie na biomateriały zastępujące kość szybko rośnie. Pierwszym bioaktywnym ceramikiem stosowanym do regeneracji tkanki kostnej był Bioglass®, o składzie  $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{P}_2\text{O}_5-\text{SiO}_2$ . Odkrywcą tego materiału był w 1971 roku Larry L. Hench z *Imperial College London* [24]. Po tym odkryciu ruszyła lawina badań w poszukiwaniu efektywniejszych materiałów bioaktywnych w postaci granulatów, proszków lub monolitów [25].

Ze względu na interakcje implantu z organizmem człowieka, ceramiki dzieli się na dwie grupy (Tab. 1):

- I. Ceramiki bioinertne, które nie łączą się w trwały sposób z kością,
- II. Ceramiki bioaktywne, które łączą się z kością przez utworzenie odpowiednich wiązań chemicznych [26].

Tabela 1. Przykłady komercyjnych bioceramików stosowanych w leczeniu ubytków kostnych.  
Table 1. Examples of commercially available bioceramics for bone defects treatment.

Typ	Przykład
Ceramiki bioinertne	Spiek $\text{Al}_2\text{O}_3$ Spiek $\text{ZrO}_2$
Ceramiki bioaktywne	Bioglass® ( $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{SiO}_2-\text{P}_2\text{O}_5$ ) Spiek hydroksyapatytowy $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ Ceravital® ( $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{SiO}_2-\text{Ca}(\text{PO}_3)_2$ ) Cerabone® ( $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{SiO}_2-\text{Ca}(\text{PO}_3)_2$ )
Ceramiki bioresorbowalne (biodegradowalne)	Spiek $\beta$ -dwufosforanu(V) trójwapnia ( $\beta$ -TCP) Kalcyt ( $\text{CaCO}_3$ )

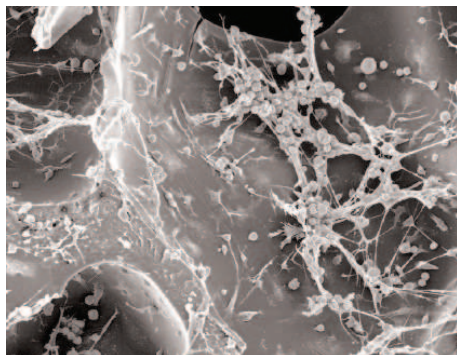
Do komercyjnie stosowanych ceramików bioinertnych zalicza się m.in.  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{ZrO}_2$ , które stosuje się w chirurgii stomatologicznej i ortopedii [27]. Z kolei do bioaktywnych materiałów syntetycznych zalicza się szkła krzemowe lub fosforanowe, siarczan(VI) wapnia (tzw. z ang. *plaster of Paris*) oraz różnego rodzaju fosforany wapnia. Do tej ostatniej i najbardziej rozpowszechnionej grupy zalicza się m.in. hydroksyapatyt,  $\beta$ -dwufosforan(V) trójwapnia ( $\beta$ -TCP) oraz dwufazowy fosforan(V) wapnia (BCP), który jest mieszaniną HAp i  $\beta$ -TCP. Ponadto fosforany wapnia są minerałami występującymi w kości człowieka. Znanych jest ich wiele odmian, które są badane pod kątem przydatności do wypełnień kości (Tab. 2) [28–31].

Tabela 2. Przykłady fosforanów wapnia.  
Table 2. Examples of calcium phosphates.

Wzór sumaryczny	Stosunek molowy Ca/P
$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,5
$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0,5
$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0
$\text{CaHPO}_4$	1,0
$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33
$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5
$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67
$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	2,0

Bioaktywne ceramiki są dostępne w postaci proszków, granulatów, kostek (monolity i materiały porowate), cementów (CPC), kompozytów szkło ceramiczne/polimer oraz pokryć na implanty inertne [32]. Postać produktu jest ściśle uzależniona od potencjalnych zastosowań, jednak obecnym i nowym trendem wśród chemików zajmujących się tą tematyką jest poszukiwanie bioaktywnych materiałów o morfologii zbliżonej do struktury kości. Tego typu rozwiązanie jest idealne z punktu widzenia skutecznego wiązania materiału z kością oraz umożliwia swobodny transport masy przez makropory oraz wrastanie i różnicowanie żywych komórek do wnętrza biomateriału (Rys. 3).



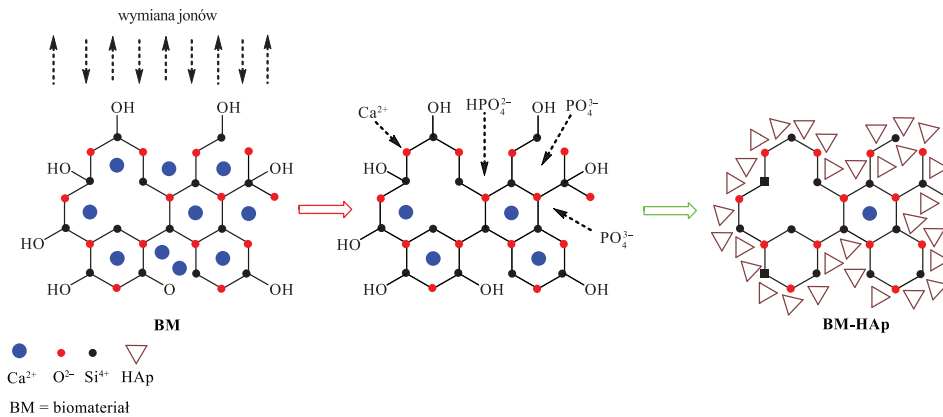


Rysunek 3. Wzrost komórek gwiaździstych na implantacie porowatym [33].  
Figure 3. Growth of stellate cells in porous implant [33].

W literaturze jest niewiele doniesień na temat biomateriałów o strukturze rusztowań, pianek (z ang. *foams*). Przy wytwarzaniu tego typu materiałów głównym problemem jest taki dobór substratów i środków spieniających, aby tworzone układy były w pełni odtwarzalne pod względem kontroli wielkości porów, kształtu produktu końcowego i jego porowatości [34]. W ostatnim czasie pojawiło się kilka artykułów na temat białka jaja kurzego (EWP – z ang. *Egg White Protein*), jako czynnika piankotwórczego [35–38]. Materiał ten, w porównaniu z dotychczas stosowanymi spieniaczami, jest zdecydowanie stabilniejszy podczas wytwarzania, a struktura materiałów jest powtarzalna, co jest dużą zaletą. Jest nietoksyczny i naturalnego pochodzenia, ale – niestety – mało stabilny termicznie. Podczas obróbki termicznej na jego powierzchni pojawia się dużo pęknięć, co jest przeszkodą przy potencjalnych wdrożeniach. Lepsze rezultaty osiągnięto dla materiałów, gdzie jako środków spieniających użyto syntetycznych surfaktantów, np. Teepol®, będącego mieszaniną długołańcuchowych anionowych i niejonowych związków organicznych. Jego dużą wadą jest jednak niska powtarzalność strukturalna otrzymywanych biomateriałów i szeroki rozrzut wielkości makroporów. Przykładem są tutaj rusztowania ceramiczne o składzie  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  i inne, które są syntezowane w reakcji hydrolizy i polikondensacji prekursorów alkoksy krzemowych i odpowiednich soli fosforu i wapnia [39–42].

Istnieje dużo informacji na temat proszkowych tlenkowych biomateriałów ceramicznych, otrzymywanych w wyniku reakcji zol-żelowych. Skład szkielet żelowych oraz ich właściwości, takie jak duża powierzchnia właściwa i porowatość, są kluczowymi czynnikami stymulującymi ich bioaktywność. Na styku powierzchni biomateriału i osocza zachodzi szereg dobrze zdefiniowanych procesów biologicznych (m.in. proliferacja i różnicowanie komórek, adhezja) oraz reakcji fizykochemicznych (rozpuszczanie, degradacja, resorpcja, uwalnianie i wymiana jonów oraz tworzenie HAP i jego pochodnych) [43]. Mechanizm wymiany jonów jeszcze nie został do końca poznany. W literaturze dominuje jeden (Schemat 2), który zakłada, że w początkowym etapie proces jest wymuszany przez gwałtowną wymianę jonów

między biomateriałem a osoczem [44]. Wymiana ta jest możliwa dzięki obecności na styku faz grup silanolowych, powstałych na skutek rozpuszczania materiału w płynie biologicznym. W dalszym etapie grupy  $-SiOH$  ulegają polikondensacji i tworzą bogatą w krzem warstwę, na której odbywa się wzrost faz krystalicznych, bogatych w wapń i fosfor [45].



Schemat 2. Mechanizm tworzenia bioaktywnej warstwy hydroksyapatytu na bioszkle żelowym.  
 Scheme 2. The mechanism of bioactive hydroxyapatite layer formation on bioglass gel.

Warto tutaj zaznaczyć, że tworzenie stabilnego apatytu na powierzchni biomateriału jest ściśle uzależnione od jego składu i struktury.

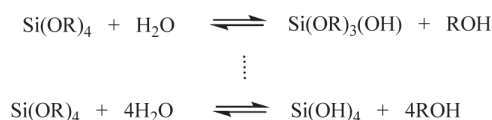
Znana jest również niewielka liczba polimerowych organiczno-nieorganicznych kompozytów hybrydowych przydatnych jako biomateriały dla inżynierii kości [46–48]. Mimo że niniejszy obszar badań jest mało poznany, to dotychczasowe doniesienia literaturowe wskazują, że materiały te są biologicznie aktywne, w odróżnieniu od typowych czystych polimerów stosowanych w medycynie (np. polihydroksyetyery, poliamidy, żywice epoksydowe, poli-L-laktyd, poliglikolid, i inne) [49]. Ich przewagą nad bioaktywnymi materiałami tlenkowymi jest to, że materiały te wykazują niską kruchość i, w zależności od składu, są elastyczne i łatwo przylegają do różnego rodzaju podłoży. Na powierzchni materiałów hybrydowych, podobnie jak w bioaktywnych szklach, tworzy się warstwa bogata w wapń i fosfor, analogiczna do apatytu obecnego w kościach człowieka [50]. Tworzenie się pochodnych apatytu na powierzchni ortopedycznych biomateriałów jest uważane za pozytywną odpowiedź biologiczną tkanek otaczających implant. Już na początku lat 90. ubiegłego wieku [51], cienkie warstwy hybrydowe pokrywające wszczepy endoprotez, uznane zostały za materiały przyszłości.

### 3. SYNTEZA BIOMATERIAŁÓW

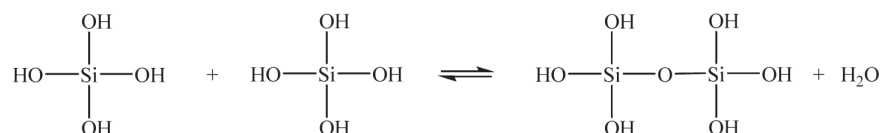
Materiały bioaktywne to szerokie pojęcie, które obejmuje między innymi substancje amorficzne (szkła) oraz różnego rodzaju domieszkowane ceramiki i kompozyty. Od wielu lat niesłabnącym zainteresowaniem cieszą się biomateriały ceramiczne oraz polimery biodegradowalne (np. polilaktydy) [52], ze względu na znaczącą rolę w medycynie, w tym w chirurgii kości. Spośród wielu bioaktywnych kompozytów, najistotniejsze w tej dziedzinie są porowate materiały tlenkowe zawierające jony wapnia, krzemu i fosforu oraz organiczno-nieorganiczne hybrydy domieszkowane ważnymi biologicznie jonami.

Bioszklą oraz organiczno-nieorganiczne materiały hybrydowe otrzymuje się przez syntezę zol-żel. Jest to prosta metoda syntezy składająca się z trzech etapów: (I) hydrolizy związku krzemowego  $\text{Si}(\text{OR})_4$  ( $\text{R} = \text{Me}, \text{Et}$ ), (II) kondensacji i (III) polikondensacji (Schemat 3).

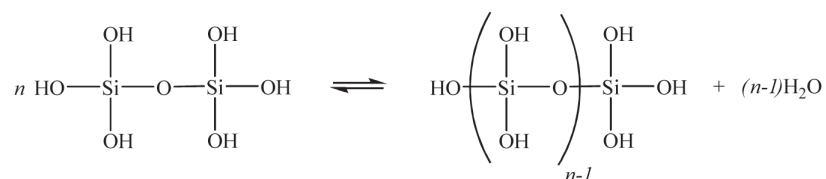
#### Reakcja hydrolizy



#### Reakcja kondensacji



#### Reakcja polikondensacji



Schemat 3. Etapy syntezy zol-żel.  
Scheme 3. The stages of sol-gel synthesis.

Najczęściej bioaktywne ceramiki tlenkowe otrzymuje się w wyniku hydrolizy tetraetoksy krzemu  $\text{Si}(\text{OEt})_4$  w środowisku kwaśnym i zmieszania go z azotanem(V) wapnia  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , w przypadku szkieł dwuskładnikowych (z ang. *binary glasses*) i trietylofosforanem(V)  $\text{OP}(\text{OEt})_3$ , w przypadku szkieł trójskładnikowych



że po polimeryzacji tworzą one połączenia typu *cross-linking*  $(-O-CH_2-Si-O)_n$  – odpowiedzialne za utworzenie elastycznej matrycy. Obecność grup alkoksylowych w związkach Si umożliwia hydrolizę i polikondensację z utworzeniem sieci połączeń  $-Si-O-Si-$  oraz niezwykle ważnych w tego typu materiałach grup silanolowych  $-Si-OH$ , które uczestniczą w wymianie jonów, więc umożliwiają krystalizację związków nieorganicznych na amorficznej powierzchni żelu. Należy tutaj zaznaczyć, że wybierane prekursorzy polimerów nie mogą być toksyczne dla organizmu człowieka. Do powstałych zolów, otrzymywanych w wyniku zmieszania związków typu P1 i P2, dodaje się soli wapnia, w przypadku materiałów wapniowo-krzemowych, oraz fosforany, w przypadku materiałów wapniowo-krzemowo-fosforowych.

#### 4. BIOMINERALIZACJA

Materiały bioaktywne o potencjalnym zastosowaniu w inżynierii kostnej muszą przejść szereg testów wstępnych. Jednym z najważniejszych, obok cytotoksyczności, jest test biomineralizacji. Polega on na umieszczeniu biomateriału w płynie biologicznym o składzie analogicznym jak osocze ludzkie. Najczęściej stosowanymi są:

- I. SBF – z ang. *Simulated Body Fluid*
- II. DMEM – z ang. *Dulbecco Modified Eagle Medium*

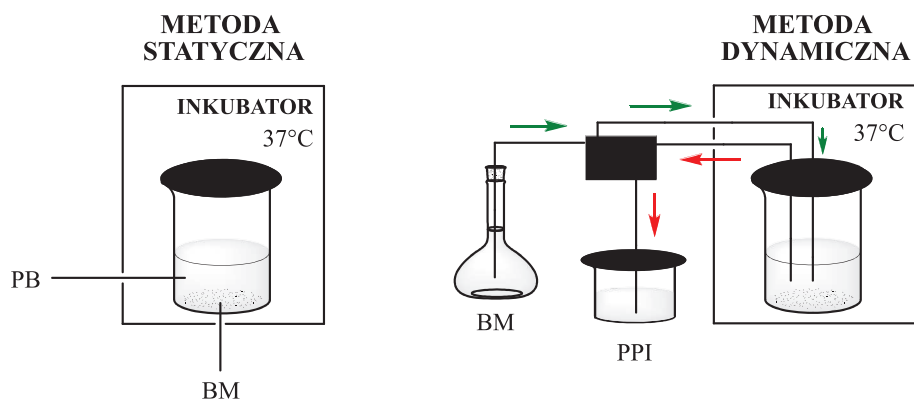
Płyn SBF składa się z różnego rodzaju soli nieorganicznych, a DMEM (powszechnie stosowany w hodowlach komórkowych) dodatkowo posiada m.in. węglowodany, aminokwasy i witaminy. Płyn SBF można łatwo przygotować w warunkach laboratoryjnych [54]. Różnice w stężeniu soli w poszczególnych płynach przedstawia Tabela 3.

Tabela 3. Stężenia jonów (mmol/dm<sup>3</sup>) w płynach SBF i DMEM [38].

Table 3. Ionic concentrations (mmol/dm<sup>3</sup>) in SBF and DMEM solutions [38].

	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Cl <sup>-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
SBF	142,0	5,0	1,5	2,5	105,0	27,0	1,0	0,5
DMEM	154,5	5,4	0,8	1,8	118,5	44,0	0,9	0,8

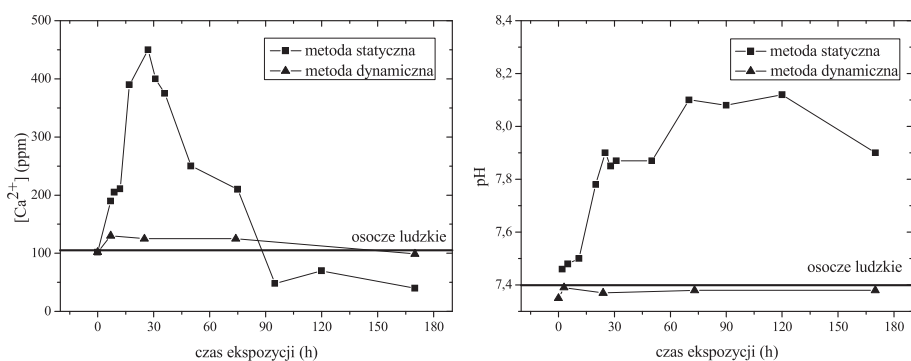
Test biomineralizacji ma na celu analizę składu soli, które krystalizują na styku biomateriału i płynu biologicznego w funkcji czasu ekspozycji. Może on być przeprowadzony w dwojaki sposób – metodą statyczną lub dynamiczną (Rys. 4), choć najczęściej stosowaną jest ta pierwsza [55].



PB - płyn biologiczny  
 BM - biomateriał  
 PPI - płyn po inkubacji

Rysunek 4. Metody biomineralizacji.  
 Figure 4. Methods of biomineralization.

Metoda statyczna polega na ekspozycji biomateriału bez wymiany medium, w przeciwieństwie do metody dynamicznej, w której płyn biologiczny jest wymieniany w sposób ciągły. Ma to oczywiście wpływ na zmiany pH (duże w przypadku metody statycznej) i koncentrację np. jonów  $\text{Ca}^{2+}$ . Dla bioszklá żelowego o składzie  $\text{SiO}_2$ - $\text{CaO}$ - $\text{P}_2\text{O}_5$  (55–41–4%) różnice te przedstawia Rysunek 5.



Rysunek 5. Zmiany stężenia jonów  $\text{Ca}^{2+}$  i pH w płynie biologicznym w funkcji czasu ekspozycji.  
 Figure 5. Changes in  $\text{Ca}^{2+}$  concentrations and pH values in a biological fluid as a function of immersion time.

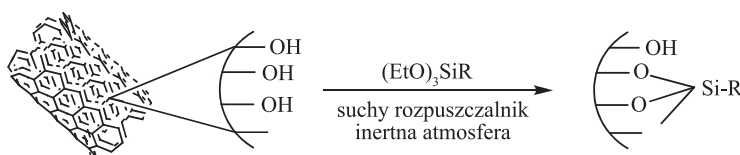
Na wykresach jednoznacznie widać, że w metodzie statycznej stężenie jonów wapnia wzrasta z około 110 ppm (wartość początkowa) do 452 ppm po 30-godzinnej ekspozycji w płynie biologicznym, podczas gdy w metodzie dynamicznej stężenie to pozostaje na niemal stałym poziomie. Dopiero po 3 godzinach następuje nieznaczny

wzrost stężenia  $\text{Ca}^{2+}$ , co tłumaczy się „uwalnianiem” tych jonów z bioszklą. Ogólnie, „wymiwanie” jonów  $\text{Ca}^{2+}$  jest kompensowane przez tworzenie warstw bogatych w wapń i fosfor, przy czym podczas pierwszych godzin ekspozycji, rozpuszczanie biomateriału jest szybsze aniżeli dyfuzja z płynu SBF. Zjawisko to można wytłumaczyć przyglądając się bliżej kinetyce reakcji rozpuszczania bioszklą. Równowaga pomiędzy uwalnianymi jonami  $\text{Ca}^{2+}$ , a tworzeniem fosforanów wapnia jest wspomagana dynamiką wymiany  $\text{Ca}^{2+}-\text{H}_3\text{O}^+$ . Jeśli wymiana ta jest większa niż szybkość wymywania jonów wapnia z biomateriału, równowaga ta zostaje zachwiana i stężenie jonów nie jest utrzymywane na stałym poziomie. Jednak po 24-godzinnej ekspozycji w SBF stężenie jonów wapnia powraca do wartości początkowej, zbliżonej do fizjologicznej.

Z kolei wartość pH silnie rośnie ( $> 8$ ) w metodzie statycznej. Stosując metodę dynamiczną, wykładnik stężenia jonów wodorowych można utrzymać na stałym, zbliżonym do fizjologicznego poziomie. Podczas pierwszych trzech godzin ekspozycji wraz ze stężeniem jonów  $\text{Ca}^{2+}$ , pH również nieznacznie rośnie. Tłumaczy się to wspomnianym powyżej tworzeniem fosforanów wapnia, inicjowanym wymianą  $\text{Ca}^{2+}-\text{H}_3\text{O}^+$ . pH powraca do równowagi jednocześnie z powrotem stężenia jonów wapnia do wielkości początkowej. Podsumowując: zbliżone do warunków fizjologicznych warunki otrzymuje się w metodzie dynamicznej, choć zdecydowana większość publikacji naukowych bazuje na metodzie statycznej, która jest zdecydowanie prostsza i tańsza do wykonania.

## 5. MODYFIKOWANIE POWIERZCHNI BIOMATERIAŁÓW

Do wielu bioszkieł żelowych oraz organiczno-nieorganicznych biokompozytów można przyłączać leki. Jednak, aby można skutecznie „nasycić” je lekami, ich powierzchnia musi być odpowiednio przygotowana i zmodyfikowana (Rys. 6).



Rysunek 6. Funkcjonalizowanie powierzchni biomateriału.  
Figure 6. Functionalization of biomaterial surface.

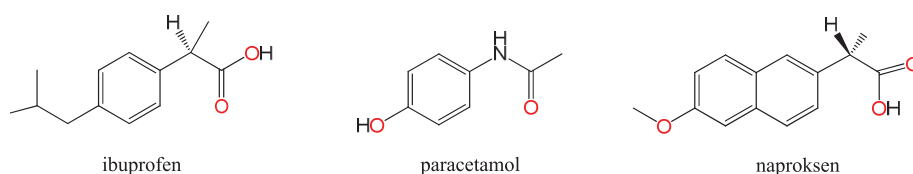
Grupy silanolowe  $-\text{Si}-\text{OH}$ , obecne na powierzchni, ulegają łatwo substytucji i są podatne na słabe oddziaływania typu sił Van der Waalsa oraz tworzą wiązania wodorowe z cząsteczkami leków. Grupy silanolowe mogą być skutecznie modyfikowane w procesie zol-żel. Wyróżnia się dwie metody [56]:

- I. Współkondensacji (z ang. *co-condensation*), kiedy lek wprowadza się podczas syntezy zol-żel. Wadą tej metody jest to, że podstawione grupy często unieruchamiane są wewnątrz matrycy biomateriału, co powoduje brak

możliwości przyłączenia do nich leku. Ocenia się, że około 40 mol% podstawionych grup jest zdolna do związania leku.

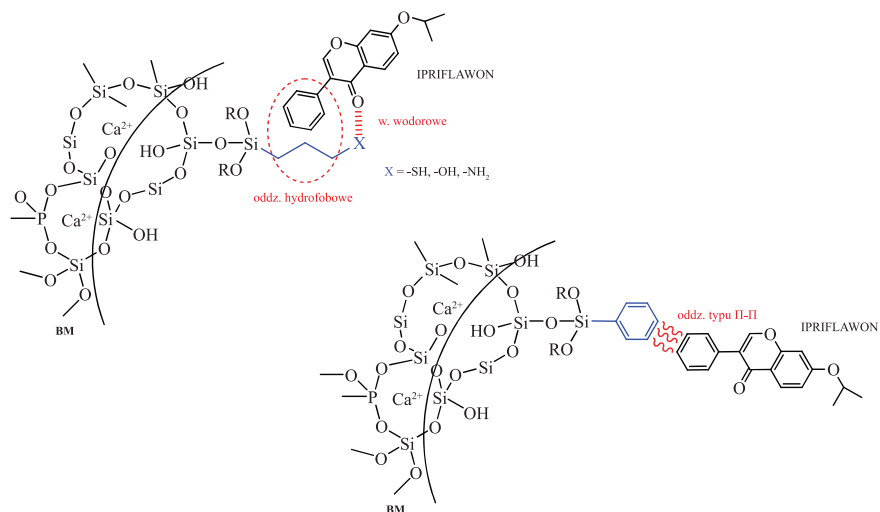
II. Sililowania (z ang. *silylation*), kiedy powierzchnię modyfikuje się po otrzymaniu biomateriału, przez co lek jest efektywniej wiązany i uwalniany.

Funkcjonalizowanie powierzchni silanoli umożliwia określone oddziaływania pomiędzy lekiem a biomateriałem, które mają zazwyczaj charakter elektrostatyczny, hydrofilowo-hydrofobowy lub elektronowy [57, 58]. Najczęstszymi lekami przyłączanymi do mezoporowatych biomateriałów są niesteroidowe leki przeciwzapalne (z ang. *Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs*, NSAIDs) i przeciwbólowe, takie jak: ibuprofen (kwas 2-*p*-izobutylofenylopropionowy), paracetamol (*N*-4-hydroksyfenyloacetamid) i naproksen (kwas (S)-6-metoksy-2-metylo-2-naftalenoctowy) (Rys. 7).



Rysunek 7. Wzory strukturalne wybranych niesteroidowych leków przeciwbólowych i przeciwzapalnych.  
Figure 7. Structures of selected non-steroidal analgesics and anti-inflammatory drugs.

Dodanie tego typu związków organicznych do biomateriałów o potencjalnym zastosowaniu w roli implantów medycznych dla tkanek twardych wydaje się w pełni uzasadnione, choćby ze względu na częste występowanie stanów zapalnych w okolicach pooperacyjnych.



Rysunek 8. Sposoby funkcyjonalizowania bioszklá żelowego w celu przyłączenia do jego powierzchni ipriflawonu.

Figure 8. Methods of functionalization of bioglass gels in order to connect ipriflavone to its surface.



Obecność tych grup umożliwia przyłączenie leku dwoma sposobami: za pomocą wiązań wodorowych lub za pomocą hydrofobowych oddziaływań łańcucha propylowego z grupą aromatyczną leku. Z kolei, funkcjonalizując powierzchnię grupą fenylową, lek wiązany jest za pośrednictwem słabych oddziaływań  $\pi$ - $\pi$  (z ang. *stacking  $\pi$ - $\pi$  interactions*) [59]. W Tabeli 4 przedstawiono wyniki testów związania i uwalniania leku z bioszklą żelowego, w zależności od rodzaju grupy wiążącej R.

Tabela 4. Wyniki testów wiązania i uwalniania ipriflawnonu z bioszklą po 10 dniach w zależności od rodzaju grupy wiążącej R.

Table 4. Amount of ipriflavone loaded in bioglass and percentage of ipriflavone released after 10 days depending on R attached group.

Material*	Związany lek (mg/g)	Uwolniony lek (%)
BM-OH	12,9	brak danych
BM-Pr-SH	40,5	13
BM-Pr-OH	60,8	6,0
BM-Pr-NH <sub>2</sub>	61,4	7,3
BM-Ph	117,0	3,0

\*BM – biomateriał

## PODZIĘKOWANIE

Autor artykułu składa serdeczne podziękowania Pani mgr Barbarze Latko za korektę edytorską tekstu.

## PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] T. Yamamuro, L.L. Hench, J. Wilson, *Calcium phosphate and hydroxyapatite ceramics. Handbook of bioactive ceramics*, vol. 2, Boca Raton, CRC Press, 1990.
- [2] T. Yamamuro, L.L. Hench, J. Wilson, *Calcium phosphate and hydroxyapatite ceramics. Handbook of bioactive ceramics*, vol. 1, Boca Raton, CRC Press, 1990.
- [3] M. Szycher, *High performance biomaterials*, Pennsylvania: Technomic, 1991.
- [4] D.L. Wise, D.J. Trantolo, D.E. Altobelli, M.J. Yaszemski, J.D. Gresser, E.R. Schwartz, *Encyclopedic handbook of biomaterials and bioengineering*, New York, Marcel Dekker, 1995.
- [5] J.M. Polak, L.L. Hench, P. Kemp, *Future Strategies for Tissue and Organ Replacement*, ISBN 1-86094-310-1, Imperial College Press, 2002.
- [6] L.L. Hench, J.M. Polak, *Science*, 2002, **295**, 1009.
- [7] J.R. Jones, L.L. Hench, *J. Mater. Sci.*, 2003, **38**, 3783.
- [8] O. Bruyere, C. Roux, J. Badurski, G. Isaia, M. De Vernejjoul, J. Cannata, S. Ortolani, D. Ortolani, D. Slosman, J. Detilleux, J.Y. Reginster, *Current Medical Research and Opinion*, 2007, **23**, 3041.

- 
- [9] J.-P. Marie, *Current Opinion in Pharmacology*, 2005, **5**, 633.
- [10] J. Braux, F. Velard, C. Guillaume, S. Bouthors, E. Jallot, J.-M. Nedelec, D. Laurent-Maquin, P. Laquerriere, *Acta Biomaterialia*, 2011, **7**, 2593.
- [11] K. Cholewa-Kowalska, *Materiały Ceramiczne*, 2008, **2**, 81.
- [12] E.M. Santos, S. Radin, P. Ducheyne, *Biomaterials*, 2001, **22**, 701.
- [13] C.J. Goodwin, M. Braden, S. Downes, N.J. Marshall, *J. Biomed. Mater. Res.*, 1997, **34**, 47.
- [14] D. Arcos, C.V. Ragel, M. Vallet-Regi, *Biomaterials*, 2001, **22**, 701.
- [15] S.L. De Guevara-Fernande, C.V. Ragel, M. Vallet-Regi, *Biomaterials*, 2003, **24**, 4037.
- [16] R.E. Coleman, *Clin. Cancer Res.*, 2006, **12**, S6243.
- [17] J. van der Zee, *Ann. Oncol.*, 2002, **13**, 1173.
- [18] A. Matsumine, K. Takegami, K. Asanuma, T. Matsubara, T. Nakamura, A. Uchida, A. Sudo, *Int. J. Clin. Oncol.*, 2011, **16**, 101.
- [19] R. Ivkov, S.J. DeNardo, W. Daum, *Clin. Cancer Res.*, 2005, **11**, 7093s.
- [20] A. Ito, M. Shinkai, H. Honda, T. Kobayashi, *J. Biosci. Bioeng.*, 2005, **100**, 1.
- [21] M. Kawashita, M. Tanaka, T. Kokubo, Y. Inoue, T. Yao, S. Hamada, T. Shinjo, *Biomaterials*, 2005, **26**, 2231.
- [22] M.E. Ring, *Dentistry: An Illustrated History*, New York, Abradable Press, 1985.
- [23] L.L. Hench, J.W. Wilson, *Science*, 1984, **226**, 251.
- [24] L.L. Hench, R. Springer, W. Allen, T.K. Gieenlee, *Journal of Biomedical Materials Research*, 1971, **5**, 117.
- [25] Y. Park, K.-N. Kim, K.-M. Kin, S. Choi, C. Kim, R.Z. Legeros, J. Lee, *Journal of Materials Science*, 2006, **41**, 4357.
- [26] J.F. Osborn, *Biomaterials*, 1980, **1**, 108.
- [27] P. Christel, *Clinical Orthopedics*, 1992, **282**, 210.
- [28] J.O. Hollinger, J. Brekke, E. Gruskin, D. Lee, *Clin. Orthop. Rel. Res.*, 1996, **324**, 55.
- [29] M. Bohner, *Injury. Int. Care Injured.*, 2000, **31**, S-D37.
- [30] M. Vallet-Regi, J.M. Gonzalez-Calbet, *Prog. Solid State Chem.*, 2004, **32**, 1.
- [31] S.V. Dorozhkin, *J. Mater. Sci.*, 2007, **42**, 1061.
- [32] E. Damien, P.A. Revell, *Journal of Applied Biomaterials and Biomechanics*, 2004, **2**, 65.
- [33] Engineering and Physics Sciences Research Council, *Medicine and Materials*, EPSRC, February 2006.
- [34] L. Bonneviot, *New Journal of Chemistry*, 2008, **32**, 1283.
- [35] X. He, X. Zhou, B. Su, *Materials Letters*, 2009, **63**, 830.
- [36] V. Valtchev, F. Gao, L. Tosheva, *New Journal of Chemistry*, 2008, **32**, 1331.
- [37] E. Prouzet, S. Ravaine, C. Sanchez, R. Backov, *New Journal of Chemistry*, 2008, **32**, 1284.
- [38] Ł. John, J. Lao, E. Jallot, J.-M. Nedelec, wysłano do druku.
- [39] E. Jallot, J. Lao, Ł. John, J. Soulié, Ph. Moretto, J.-M. Nedelec, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2010, **2**, 1737.
- [40] A. Rainer, S. M. Giannitelli, F. Abbruzzese, E. Traversa, S. Licoccia, M. Trombetta, *Acta Biomaterialia*, 2008, **4**, 362.
- [41] J.R. Jones, L.M. Ehrenfried, P. Saravanapavan, L.L. Hench, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2005, **16**, 851.
- [42] J.R. Jones, L.L. Hench, *Properties of Bioactive Foam Scaffolds*, Wiley Periodicals, UK 2003.27.
- [43] P. Saravanapava, J.R. Jones, R.S. Pryce, L.L. Hench, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2003, **66A**, 110.
- [44] M. Vallet-Regi, L. Ruiz-Gonzalez, I. Izquierdo-Barba, J.M. Gonzalez-Calbet, *Journal of Materials Chemistry*, 2006, **16**, 26.
- [45] J.P. Zhong, D.C. Greenspan, *Journal of Biomedical Materials Research*, 2000, **53**, 694.

- [46] C. Wu, Y. Ramaswamy, Y. Zhu, R. Zheng, R. Appleyard, A. Howard, H. Zreiqat, *Biomaterials*, 2009, **30**, 2199.
- [47] Z. Hong, R.L. Reis, J.F. Mano, *Acta Biomaterialia*, 2008, **4**, 1297.
- [48] Ł. John, M. Bałtrukiewicz, P. Sobota, R. Brykner, Ł. Cwynar-Zajac, P. Dziegiel, wysłano do druku.
- [49] E. Olędzka, M. Sobczak, W.L. Kołodziejki, *Polimery*, 2007, **52**, 795.
- [50] R.L. Reis, A.M. Cunha, M.H. Fernandes, R.N. Correia, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 1997, **8**, 897.
- [51] R.Z. Legeros, I. Orly, M. Gregoire, G. Daculsi, *The Bone-Biomaterial Interface*, University of Toronto Press, Toronto, 1991.
- [52] A. Belleney, M. Wisniewski, A. Le Borgne, *European Polymer Journal*, 2004, **40**, 523.
- [53] L.L. Hench, J.K. West, *Chem. Rev.*, 1990, **90**, 33.
- [54] A. Cüneyt Tas, *Biomaterials*, 2000, **21**, 1429.
- [55] A. Ramila, M. Vallet-Regi, *Biomaterials*, 2001, **22**, 2301.
- [56] F. Hoffmann, M. Cornelius, J. Morell, M. Froba, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2006, **45**, 3216.
- [57] F. Balas, M. Manzano, P. Horcajada, M. Vallet-Regi, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, **128**, 8116.
- [58] A. Nieto, M. Colilla, F. Balas, M. Vallet-Regi, *Langmuir*, 2010, **26**, 5038.
- [59] A. López-Noriega, D. Arcos, M. Vallet-Regi, *Chem. –Eur. J.*, 2010, **16**, 10879.

Praca wpłynęła do Redakcji 5 grudnia 2012