Nanocząstki w biokompozytach polimer – ceramika do regeneracji tkanki kostnej

Nanoparticles in polymer – ceramic biocomposites for bone tissue regeneration

SŁOWA KLUCZOWE
nanocząstki, nanomateriały, implanty kostne, kompozyt, metale, inżynieria tkankowa, medycyna regeneracyjna

KEY WORDS
nanoparticles, nanomaterials, bone implants, composite, metals, tissue engineering, regenerative medicine

Magdalena Bartolewska *
Wydział Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego
* bartolewskamagdalena@gmail.com

STRESZCZENIE
Medycyna regeneracyjna staje się szybko rozwijającą techniką w współczesnej biomedycynie. Coraz częściej na świecie są wykorzystywane nanocząstki do naprawiania i leczenia uszkodzonych komórek. Ten artykuł przeglądowy przedstawia wiedzę na temat kompozytów, składających się z polimeru oraz hydroksyapatytu, modyfikowanych nanocząstkami i ich zastosowaniami w medycynie regeneracyjnej.

SUMMARY
Regenerative medicine is becoming a rapidly developing technique in modern biomedicine. Nanoparticles are used increasingly to repair and heal damaged cells. The paper presents knowledge about the use of nanoparticles in the modification of polymer and hydroxyapatite composites and their applications in regenerative medicine.

Wstęp

Choroby kości, od zapalenia stawów i osteoporozy po raka kości i złamania kości, stanowią poważny problem i duży ciężar dla społeczeństwa. Rocznie pół miliona pacjentów w USA i Europie wymaga przeszczepu kości, co sprawia, że kość jest drugą najczęściej przeszczepianą tkanką [1]. Czasami choroba kości może prowadzić do dużych ubytków tkanki, które nie mają zdolności do samonaprawy i regeneracji, przez co konieczne są przeszczepy kości. Brakującą kość można uzupełnić materiałem przeszczepionym z pacjenta (autologiczny przeszczep kostny), od innego pacjenta (allogenny przeszczep) lub z innego gatunku (przeszczep ksenogeniczny). Jednak dwie ostatnie alternatywy stwarzają ryzyko odrzucenia przeszczepu i przeniesienia patogenu. Chociaż autologiczny przeszczep kostny prezentuje się najlepiej w wynikach klinicznych, tkanka dawcy występuje w ograniczonych ilościach, dlatego może nie nadawać się do naprawy ubytków w dużej kości. Inną opcją przeszczepu jest użycie takich materiałów jak metale i ceramika, stosowane np. w implantach biodrowych. Niestety w wielu przypadkach nie zapewniają one optymalnych właściwości mechanicznych, wykazują słabą osteointegrację i ostatecznie zawodzą z powodu infekcji lub obciążenia zmęczeniowego [2]. Ograniczenia te prowadzą do ciągłego opracowywania nowych syntetycznych biomateriałów kompozytowych, zastępujących tkankę kostną. W celu poprawy właściwości takich syntetycznych kompozytów, w ostatnich latach szczególnie skupiono uwagę na wykorzystanie nanocząstek, które mogą poprawić wzrost nowej kości [3].

Biokompozyty polimer – ceramika

Wiele wad, związanych z przeszczepami tkanek i narządów oraz ich ograniczona dostępność powoduje rosnące zapotrzebowanie na rozwiązania z zakresu inżynierii tkankowej i medycyny regeneracyjnej (TERM), szybko rozwijającej się multidyscyplinarnej dziedziny. Jest to dziedzina łącząca w sobie nauki biologiczne oraz inżynierię materiałową, która ma na celu wyprodukowanie sztucznych struktur, przypominających natywną tkankę lub narządy, mogące służyć do przeszczepów, ale również jako modele do badań [4].

TERM wykorzystuje kombinację biomateriałów do produkcji rusztowań 3D kości, które następnie można wszczepić z komórkami lub bez, w miejsce ubytku. Dodatkowo rusztowania można sfunkcjonalizować biologicznie aktywnymi cząsteczkami, aby zapewnić wstępne wsparcie dla natywnej tkanki, promując jej naprawę [1]. Rusztowania są zwykle wytwarzane z materiałów biodegradowalnych, w szczególności polimerów. Powszechnie stosowane polimery w ortopedii obejmują poli(kwas-L-mlekowy) (PLLA), polikaprolakton (PCL) i poli(kwas-L-glikolowy) (PLGA). PLLA jest szczególnie atrakcyjny ze względu na swoje właściwości mechaniczne, takie jak wysoka wytrzymałość, stosunkowo małe wydłużenie przy zerwaniu i elastyczność porównywalna do kości [5]. Dodatkowo ten polimer jest zatwierdzony przez FDA jako biodegradowalny, biokompatybilny i łatwy w obróbce.

Biorąc pod uwagę złożony charakter kości oraz mając na celu zwiększenie powinowactwa między tkanką pacjenta a materiałem wszczepianym, w kompozytach polimerowych stosuje się często wypełniacze bioceramiczne [6]. Znane są z literatury połączenia polimerów biodegradowalnych z hydroksyapatytem (HA), dodawanym w celu wytworzenia rusztowań kompozytowych o zwiększonych zdolnościach bioaktywnych i osteoindukcyjnych [7,8]. Udowodniono, że kompozyty PLLA-HA są wysoko biokompatybilne, wykazują wysoką żywotność komórek in vitro i indukują różnicowanie osteogenne, w porównaniu ze zwykłym analogowym rusztowaniem z PLLA [7]. Z innych doniesień literaturowych znane są rusztowania PCL-HA [9–11]. Zastosowane wypełniacze hydroksyapatytowe mogą występować w różnej formie (włókien, pręcików, whiskersów czy też nanocząstek). Bardzo często stosowane hydroksyapatytv są dotowane różnymi pierwiastkami o specyficznych właściwościach. Kompozyty PCL z HA dotowanym strontem wykazują mianowicie ułatwioną pro-

liferację komórek i różnicowanie osteogenne wraz ze zmniejszoną aktywnością fosfatazy [12]. Znane są też przykłady dotowania hydroksyapatytu jonami srebra lub cynku, wykazujących działanie antybakteryjne [13,14].

Nanocząstki w inżynierii tkankowej

Nanocząstki, zarówno polimerowe, jak i nieorganiczne (NP) są szeroko stosowane do poprawy właściwości rusztowań w inżynierii tkankowej. Zaobserwowano i zastosowano nanostruktury do kierowania przyłączania komórek, w tym różnicowania mezenchymalnych komórek macierzystych, przeprogramowania fibroblastów w komórki neuronalne i wzmocnienia funkcji osteoblastów. Ponadto wykazano, że nanocząstki tlenków metali, w tym nanocząstki srebra, tlenku cynku, tlenku żelaza, na powierzchni biomateriału ograniczają adhezję bakterii i tworzenie biofilmu bez stosowania antybiotyków [15,16].

Nanoczastki metali

Obiecującym materiałem dla inżynierii tkankowej i medycyny regeneracyjnej są nanocząstki złota (AuNP) [17]. Ze względu na swoje unikalne właściwości fotofizyczne odgrywają istotną rolę w rozwoju nanoleków. Szczególna uwagę przykuwa zastosowanie nanocząstek w diagnostyce różnych typów nowotworów oraz jako systemy dostarczania leków [18]. Nanocząstki złota, zastosowane w połączeniu z antybiotykami, powodują zwiększoną aktywność przeciwdrobnoustrojową, a więc AuNP są obiecującym materiałem do zastosowania w antybiotykoterapii [19]. Z doniesień literaturowych znane jest również połączenie nanocząstek złota z hydroksyapatytem, jako obiecujący materiał mający na celu poprawę regeneracji tkanki kostnej. W pracy Liang i in. [20] naukowcy skupili się na opracowaniu połączenia nanocząstek złota z nanocząstkami hydroksyapatytu, w celu zaprojektowania nowych materiałów, wpływających na różnicowanie ludzkich mezenchymalnych komórek macierzystych (hMSC) w osteoblasty. Taki proces mógłby zapewnić szybką regenerację i odbudowę kości. Badania potwierdziły cytokompatybilność i synergiczny wpływ na przyspieszenie różnicowania osteogennego ludzkich mezenchymalnych komórek macierzystych.

Szczególnie kłopotliwe przy implantacji są infekcje, które mogą być spowodowane poluzowaniem implantu lub zużyciem. Dodatkowo, wraz ze wzrostem nowych szczepów bakterii odpornych na antybiotyki, coraz większe jest zapotrzebowanie na zapobieganie takim infekcjom, w celu uniknięcia kolejnych operacji. Dużą popularność w pokrywaniu implantów stomatologicznych zyskały tu nanocząstki srebra (AgNP) [21]. W pracy Wang i in [22] opisano unieruchomienie AgNPs na powierzchni nanowłókien PLLA. *Testy in vitro* wykazały doskonałe właściwości antybakteryjne kompozytów PLLA-Ag. Wykazały również dobrą biokompatybilność, co oznacza, że kompozyt PLLA z nanocząstkami srebra ma potencjalne zastosowanie jako materiał antybakteryjny do sterowanej regeneracji kości. Według badań Lee i in. [23] AuNP mogą być użytecznym materiałem do hamowania różnicowania osteoklastów i mogą być stosowane w leczeniu pacjentów z osteoporozą.

Nanocząstki innych pierwiastków

Pomimo, że poli (kwas L-mlekowy) (PLLA) to biokompatybilny i biodegradowalny polimer, który otrzymał dużo uwagi jako materiał biomedyczny, to w czasie degradacji *in vivo* PLLA powstają małocząsteczkowe produkty uboczne, które zakwaszają otaczające tkanki, co wywołuje stan zapalny.

Wiadomo, że dodatek wypełniaczy apatytowych, czy też bioszklanych, które wykazują charakter zasadowy, neutralizuje w pewnym stopniu kwasowe produkty rozkładu PLLA i zapobiega stanom zapalnym. Jednakże, aby przezwyciężyć ten problem, niektórzy badacze zastosowali nanocząstki wodorotlenku magnezu, które zostały dodane do matrycy PLLA jako bioaktywny wypełniacz, mający tłumić reakcje zapalne poprzez neutralizację zakwaszonego środowiska [24]. Nanocząstki wodorotlenku magnezu również zyskały znaczną uwagę w obszarze biomedycyny ze względu na ich rolę jako dodatek do polimerów biodegradowalnych, w celu poprawy właściwości mechanicznych i biologicznych implantowanych biomateriałów [25].

W różnych dziedzinach medycyny mają też zastosowanie nanocząstki o właściwościach magnetycznych. Wykorzystuje się je zarówno w diagnostyce do obrazowania za pomocą rezonansu magnetycznego MRI (Magnetic Resonance Imaging), w sensorach, testach immunologicznych i separacji komórek, jak i w systemach dostarczania leków, komórek i genów, hipertermii, radioterapii oraz chemioterapii [8]. Ze względu na swoje właściwości superparamagnetyczne i dużą powierzchnię właściwą, związki te wykazują stosunkowo łatwe wiązanie z naturalnymi biocząsteczkami lub lekami. Nanocząstki żelaza oraz jego tlenków (Fe_3O_4) np. wykorzystuje się w medycynie głównie ze względu na brak toksyczności oraz ich biozgodność. Andronescu i in. [26] opracowali materiał kompozytowy na bazie kolagenu i hydroksyapatytu, zawierający różne dodatkowe stężenia nanocząstek magnetycznych. Głównym celem zastosowania wspomnianych nanomateriałów była możliwość zastosowania tak uformowanych układów w kontrolowanej hipertermii, aktywowanej polem elektromagnetycznym. Nanocząstki tlenku żelaza dzięki przyłożonemu polu elektromagnetycznemu wywołały hipertermię i apoptozę komórek nowotworowych.

Selen z kolei reguluje różne funkcje fizjologiczne, takie jak różnicowanie komórek i funkcje przeciwzapalne, i odgrywa ważną rolę w regulacji ROS, jako przeciwutleniacz [27]. Nanocząstki selenu (SeNPs) są obiecującym materiałem do zmniejszania funkcji komórek rakowych, hamowania bakterii i promowania zdrowych funkcji komórek, jednakże nie zostały one jeszcze szeroko zbadane pod kątem leczenia nowotworów kości. W badaniu Stolzff i in. [15] wykazano, że powlekane nanocząstkami selenu materiały PLLA selektywnie zmniejszają długoterminową gęstość komórek kostniakomięsaka, jednocześnie promując zdrowe, nienowotworowe funkcje osteoblastów. Badania te sugerują, że SeNPs są potencjalnym materiałem do zastosowania w inżynierii tkankowej i należy je dalej badać pod kątem zastąpienia guza tkanki kostnej zdrową tkanką kostną. Co ważne, wyniki tego badania osiągnięto bez użycia chemioterapeutyków lub środków farmaceutycznych, które mają negatywne skutki uboczne.

Podsumowanie

Wraz z szybkim postępem, dokonującym się w inżynierii tkankowej i w materiałoznawstwie, opracowywane są różne kompozyty, które odgrywają bardzo ważną rolę w zastosowaniach biomedycznych. Z wielu powodów kompozyty polimerowo – ceramiczne należą do materiałów szeroko rozpatrywanych w aspekcie stosowania w medycynie regeneracyjnej układu kostnego. Poprawienie właściwości kompozytów można osiągnąć poprzez dodatek nanocząstek. Nanocząstki wspomagają kompozyty m.in. w działaniu antybakteryjnym oraz wzmacniają funkcje osteoblastów, przez co poprawiają właściwości rusztowań kostnych w inżynierii tkankowej.

Projekt „Wielofunkcyjne kompozyty aktywne biologicznie do zastosowań w medycynie regeneracyjnej układu kostnego" jest realizowany w ramach programu TEAM - NET Fundacji na rzecz Nauki Polskiej, finansowanego przez Unię Europejską z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego.

LITERATURA:

[1] Amini AR, Laurencin CT, Nukavarapu SP. Bone tissue engineering: Recent advances and challenges. *Critical Reviews in Biomedical Engineering* 2012;40.

[2] Hu C, Ashok D, Nisbet DR, Gautam V. Bioinspired surface modification of orthopedic implants for bone tissue engineering. *Biomaterials* 2019;219.

[3] Walmsley GG, McArdle A, Tevlin R, *et al.* Nanotechnology in bone tissue engineering. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 2015;11.

[4] Fathi-Achachelouei M, Knopf-Marques H, Ribeiro da Silva CE, *et al.* Use of nanoparticles in tissue engineering and regenerative medicine. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 2019;7.

[5] Melo P, Naseem R, Corvaglia I, *et al.* Processing of Sr2+ Containing Poly L-Lactic Acid-Based Hybrid Composites for Additive Manufacturing of Bone Scaffolds. *Frontiers in Materials* 2020;7.

[6] Ramesh N, Moratti SC, Dias GJ. Hydroxyapatite–polymer biocomposites for bone regeneration: A review of current trends. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials* 2018;106.

[7] Xiao G, Yin H, Xu W, Lu Y. Modification and cytocompatibility of biocomposited porous PLLA/HA-microspheres scaffolds. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* 2016;27.

[8] Sobczak-Kupiec A, Drabczyk A, Florkiewicz W, *et al.* Review of the applications of biomedical compositions containing hydroxyapatite and collagen modified by bioactive components. *Materials* 2021;14.

[9] Xin C, Qi X, Zhu M, Zhao SC, Zhu YF. Hydroxyapatite Whisker-reinforced Composite Scaffolds Through 3D Printing for Bone Repair. *Wuji Cailiao Xuebao/Journal of Inorganic Materials* 2017;32.

[10] Chong LH, Hassan MI, Sultana N. Electrospun Polycaprolactone (PCL) and PCL/ nano-hydroxyapatite (PCL/nHA)-based nanofibers for bone tissue engineering application. In: 2015 10th Asian Control Conference: Emerging Control Techniques for a Sustainable World, ASCC 2015. 2015.

[11] Calandrelli L, Immirzi B, Malinconico M, *et al.* Natural and synthetic hydroxyapatite filled PCL: Mechanical properties and biocompatibility analysis. In: Journal of Bioactive and Compatible Polymers. Vol 19. 2004.

[12] Liu D, Nie W, Li D, *et al.* 3D printed PCL/SrHA scaffold for enhanced bone regeneration. *Chemical Engineering Journal* 2019;362.

[13] Groza A, Ciobanu CS, Popa CL, *et al.* Structural properties and antifungal activity against Candida albicans biofilm of different composite layers based on Ag/Zn doped hydroxyapatite-polydimethylsiloxanes. *Polymers* 2016;8.

[14] Audita R, Khoirunisa, Zahra HA, Hernawan BN, Hidayat H, Is F. Composite of Polylactic Acid / Chitosan / Ag- Hydroxyapatite Synthesized Using Turmeric Leaves Extract-Mediated Silver Nanoparticle and Snail Shell as Antibacterial Material. *Journal of Science and Data Analysis* 2021;2:116–123.

[15] Stolzoff M, Webster TJ. Reducing bone cancer cell functions using selenium nanocomposites. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A* 2016;104:476–482.

[16] Beyth N, Houri-Haddad Y, Domb A, Khan W, Hazan R. Alternative antimicrobial approach: Nano-antimicrobial materials. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* 2015;2015.

[17] Yadid M, Feiner R, Dvir T. Gold Nanoparticle-Integrated Scaffolds for Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *Nano Letters* 2019;19:2198–2206.

[18] Kohout C, Santi C, Polito L. Anisotropic gold nanoparticles in biomedical applications. *International Journal of Molecular Sciences* 2018;19.

[19] Rajchakit U, Sarojini V. Recent Developments in Antimicrobial-Peptide-Conjugated Gold Nanoparticles. *Bioconjugate Chemistry* 2017;28.

[20] Liang H, Xu X, Feng X, *et al.* Gold nanoparticles-loaded hydroxyapatite composites guide osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells through Wnt/β-catenin signaling pathway. *International Journal of Nanomedicine* 2019;14.

[21] Kisterskaya LD, Loginova OB, Ulyanchich N v., *et al.* Antibacterial Surfaces Formed by Silver Nanoparticles on Bone Implants with Bioactive Coatings. *Powder Metallurgy and Metal Ceramics* 2019;58:189–196.

[22] Wang J, Zhan L, Zhang X, Wu R, Liao L, Wei J. Silver Nanoparticles Coated Poly(L-Lactide) Electrospun Membrane for Implant Associated Infections Prevention. *Frontiers in Pharmacology* 2020;11.

[23] Lee D, Ko WK, Kim SJ, *et al.* Inhibitory effects of gold and silver nanoparticles on the differentiation into osteoclasts in vitro. *Pharmaceutics* 2021;13.

[24] Kang EY, Park S bin, Choi B, *et al.* Enhanced mechanical and biological characteristics of PLLA composites through surface grafting of oligolactide on magnesium hydroxide nanoparticles. *Biomaterials Science* 2020;8:2018–2030.

[25] Kum CH, Seo SH, Kang SN, *et al.* Effect of magnesium hydroxide nanoparticles with rod and plate shape on mechanical and biological properties of poly(L-lactide) composites. *Macromolecular Research* 2014;22.

[26] Andronescu E, Ficai M, Voicu G, Ficai D, Maganu M, Ficai A. Synthesis and characterization of collagen/hydroxyapatite: Magnetite composite material for bone cancer treatment. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 2010;21.

[27] Lee SC, Lee NH, Patel KD, et al. The effect of selenium nanoparticles on the osteogenic differentiation of MC3T3-E1 cells. *Nanomaterials* 2021;11.

Magdalena Bartolewska

Obecnie studentka studiów magisterskich na kierunku Biofizyki Molekularnej na Wydziale Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego. Stypendystka i członek zespołu w projekcie „Wielofunkcyjne kompozyty aktywne biologicznie do zastosowań w medycynie regeneracyjnej układu kostnego", realizowanym przez Sieć Badawczą Łukasiewicz - Instytut Ceramiki i Materiałów Budowlanych, w programie TEAM – NET Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej.