

Jan Chłopek

Akademia Górniczo-Hutnicza, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, Katedra Biomateriałów, al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków, Poland
Corresponding author. E-mail: chlopek@agh.edu.pl

Otrzymano (Received) 02.03.2009

BIOMATERIAŁY KOMPOZYTOWE

ARTYKUŁ ZAMAWIANY

Przedstawiony artykuł ma charakter przeglądowy i prezentuje możliwości wykorzystania materiałów kompozytowych w medycynie. Stosując podejście biomimetyczne związane z naśladowaniem budowy i właściwości naturalnych tkanek, pokazuje zasady projektowania syntetycznych kompozytów spełniających kryteria biogodności i biofunkcyjności. Analiza dotyczy zarówno kompozytów włóknistych, jak i ziarnistych i prezentuje, jak stosując materiały kompozytowe zawierające aktywne fazy biologiczne, można uzyskać efekty synergiczne prowadzące dodatkowo do wspomaganego procesu regeneracji uszkodzonych tkanek. Takie podejście jest możliwe przy ścisłej współpracy głównie dwóch dyscyplin naukowych - nauki o materiałach i biologii. Większość przedstawionych zagadnień opiera się na badaniach własnych autora z uwzględnieniem najnowszych tendencji w rozwoju biomateriałów. W szczególności dotyczy to bioaktywnych kompozytów, kompozytów z udziałem włókien węglowych i organicznych, głównie dla spełnienia funkcji biomechanicznej, nanokompozytów, kompozytów gradientowych oraz zjawisk na styku materiał kompozytowy-środowisko biologiczne (płyny fizjologiczne, komórki, tkanki). Przeprowadzona analiza właściwości mechanicznych i biologicznych kompozytów stwarza dobrą podstawę do projektowania i otrzymywania wielofunkcyjnych materiałów implantacyjnych.

Słowa kluczowe: kompozyty, biomimetyzm, nanokompozyty, materiały gradientowe, reakcje biologiczne

COMPOSITE BIOMATERIALS

The presented article has a review character and it shows the possibilities of using the composite materials in medicine. Applying the biomimetic approach connected with mimicking the structure and properties of natural tissues, it presents the principles of designing synthetic composites fulfilling the biocompatibility and biofunctionality criteria. The analysis concerns both fibrous and particle composites and it shows how it is possible to achieve the synergetic effect leading additionally to supporting the regeneration process of damaged tissues using the composite materials with biologically active phases. Such an approach is possible thanks to the cooperation of mainly two disciplines: materials science and biology. The majority of presented problems is based on author's researches, taking into consideration the latest trends in biomaterials development. Particularly, it concerns bioactive composites, composites with carbon and organic fibers, mainly for fulfilling biomechanical function, nanocomposites, graded composites and phenomena on the border of composite material-biological environment (physiological fluids, cells, tissues). In the case of bioactive composites it has been shown how it is possible to obtain biologically active composite with enhanced mechanical properties and osteointegration ability by modification of the carbon-carbon composites manufacture process by hydroxyapatite particles addition. This effect was caused by the presence of two mechanisms: one connected with hydroxyapatite, the second one with TCP formed after hydroxyapatite decomposition. The investigations conducted on composites made of resorbable polymers, mainly by means of FTIR method, showed that the presence of modifying phases changes the resorption rate of polymer and influences bone tissue regeneration process. The modifiers (particles or fibers) can act as active scaffolds which stimulate the growth of bone tissue. The properties and the geometry of these phases can decide about cellular and tissue reactions. The presence of strongly developed interfaces in composite materials influences durability of the received implants. Creep tests at various stress levels carried out on polysulfone-carbon fiber composite revealed that life-time of such implants is shorter than for pure polymers. Graded materials with Young's modulus, porosity and resorption rate gradients can decide about the stress distribution, ability to overgrowth with bone tissue and blood vessels creation (vascularization). The analysis of properties of composite materials is a good base for designing and manufacturing multifunctional implants with controlled mechanical and biological behaviour.

Keywords: composites, biomimetics, nanocomposites, graded materials, biological reactions

WPROWADZENIE

Coraz większe znaczenie w implantologii odgrywają materiały kompozytowe, zarówno włókniste, jak i ziarniste, których udział obejmuje obecnie ok. 30% rynku biomateriałów. Ich rozwój jest szczególnie związany z podejściem biomimetycznym, które w swoich rozwią-

zaniach opiera się na naśladowaniu budowy i właściwości naturalnych tkanek. Zarówno tkanka kostna, jak i tkanki miękkie są typowymi przykładami materiałów kompozytowych: polimerowo-ceramicznych i polimerowo-polimerowych. W pierwszym przypadku dotyczy

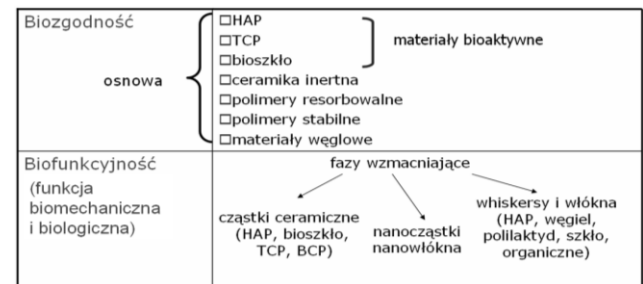
to układu organiczna osnowa (kolagen, białka) - nanometryczne ziarna hydroksyapatytu, w drugim włókna kolagenowe-osnowa organiczna [1, 2]. W przypadku tkanki kostnej kolagen pełni funkcję podłoża, na którym osadzają się kryształki hydroksyapatytu wzmacniające kość. Kolagen kostny posiada typową włóknistą strukturę ze średnicą włókien od 100 do 2000 nm. W przypadku hydroksyapatytu obserwuje się budowę płytkową o średnich wymiarach płytki ok. $4 \times 50 \times 50$ nm [3].

Dopasowanie właściwości syntetycznych implantów do naturalnych tkanek wiąże się z biogodnością i biofunkcyjnością. Biogodność stanowi podstawowe kryterium wyboru materiałów na implanty; w przypadku materiałów kompozytowych dotyczy to materiału osnowy, fazy modyfikującej oraz oddziaływania na granicy faz. Biofunkcyjnością określa się natomiast zespół cech, które są istotne przy przejmowaniu funkcji naturalnych tkanek przez materiał implantacyjny. Przykładem tutaj mogą być elementy zespalające tkankę kostną, gdzie najlepsze efekty uzyskuje się, stosując materiały o porównywalnym module Younga do tkanki kostnej. Podobieństwo to zapewnia właściwy rozkład naprężeń pomiędzy implantem i kością, i tym samym ułatwia proces zrostu kostnego. Przewaga materiałów kompozytowych nad materiałami konwencjonalnymi w spełnianiu funkcji biomechanicznej wynika z możliwości otrzymania materiału o dobrej wytrzymałości oraz niskim module Younga. Najnowsze tendencje w rozwoju biomateriałów wprowadzają niezmiernie ważną zmianę, prowadzącą do nadania materiałowi implantacyjnemu aktywności biologicznej [1, 4, 5]. Może ona objawiać się zdolnością do tworzenia więzi o charakterze chemicznym z naturalnymi tkankami (materiały bioaktywne), spełnienia roli podłoża dla hodowli komórkowych oraz nośnika leków. Takie materiały mogą wspierać procesy regeneracyjne, co jest niezwykle istotne ze względu na starzenie się społeczeństw i związane z tym osłabienie aktywności procesów naprawczych tkanek i ich regeneracji.

Analiza właściwości mechanicznych i biologicznych wskazuje, że kompozyty włókniste ze względu na ich dobre właściwości mechaniczne nadają się głównie do spełnienia funkcji biomechanicznych, natomiast w kompozytach ziarnistych z udziałem biologicznie aktywnych faz dominować będzie funkcja biologiczna. Podejście to wydaje się być jednak zbyt uproszczone, ponieważ obecność włókien jako fazy wzmacniającej w kompozytach może także wywołać określoną, kontrolowaną reakcję z komórkami, może mieć wpływ zarówno na proces adsorpcji białek, jak również ze względu na swój wydłużony kształt może sprzyjać procesowi odtwarzania naczyń krwionośnych (waskularyzacja). W przypadku kompozytów ziarnistych można oczekiwać w niektórych sytuacjach podwyższenia odporności na pęknięcie, czego dobrym przykładem jest kompozyt HA-ZrO₂. Funkcja materiału kompozytowego może więc być wymienna, a rodzaj fazy modyfikującej, jej udział objętościowy oraz rozmieszczenie przestrzenne, w tym homo-

geniczność, mogą decydować zarówno o właściwościach mechanicznych, jak i biologicznych.

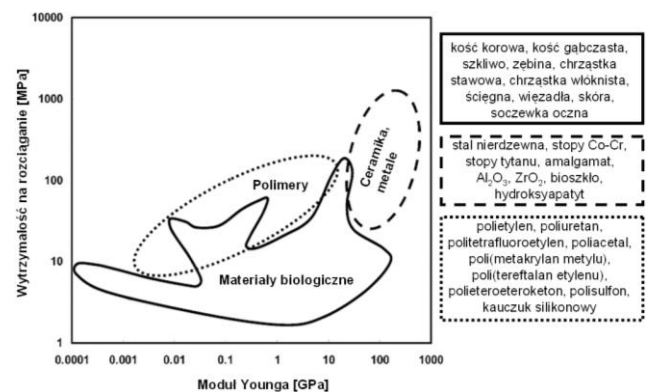
Zaprojektowanie materiału kompozytowego dla celów implantacyjnych wymaga odpowiedniego doboru materiałów na osnowę i na fazę modyfikującą, przy czym podstawowym, decydującym kryterium jest biogodność rozumiana jako brak negatywnych efektów cytotoksycznych i ogólnoustrojowych. Analiza biogodności różnych materiałów implantacyjnych (rys. 1) pokazuje, że modyfikacja powinna dotyczyć głównie materiałów ceramicznych uważanych za bioaktywne, takich jak hydroksyapatyt, bioszkló oraz polimerów zarówno biostabilnych (polietylen, polisulfon, politetrafluoroetylen, etc.), jak i resorbowalnych (polilaktyd, poliglikolid, poli-hydroksymaślan, polikaprolaktan) [6-10].



Rys. 1. Potencjalne materiały na osnowy i fazy modyfikujące w kompozytach dla celów medycznych

Fig. 1. Matrices and modifying phases in composites for medical applications

Większym problemem wydaje się znalezienie biogodnych włókien, które z jednej strony istotnie mogą zwiększać właściwości mechaniczne stosowanych materiałów, z drugiej mogą również wpływać na proces regeneracji leczonych tkanek. Z tego punktu widzenia największe możliwości wykazują włókna węglowe, których jednak biogodność wymaga spełnienia określonych wymogów związanych z ich budową, udziałem fazy krystalicznej, gęstością oraz obecnością grup funkcyjnych [11, 12]. Jak pokazuje zależność wytrzymałość-moduł Younga (rys. 2), większość materiałów konwencjonalnych z punktu widzenia charakterystyk mechanicznych znajduje się poza zakresem odpowiednim dla naturalnych tkanek [13].



Rys. 2. Właściwości mechaniczne naturalnych tkanek i materiałów implantacyjnych [6]

Fig. 2. Mechanical properties of natural tissues and implant materials [6]

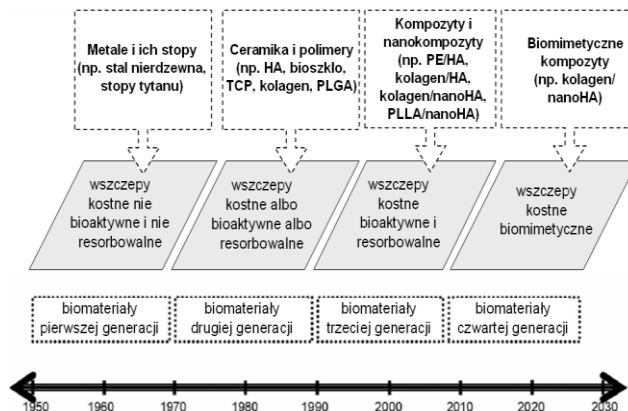
Potwierdza to, że podejście biomimetyczne najlepiej może być realizowane w przypadku materiałów powstających w wyniku kombinacji różnych faz, a więc kompozytów.

Same kompozyty ulegały również ewolucji i wraz z pojawieniem się nanotechnologii można uznać, że pełne naśladowanie budowy i właściwości naturalnych tkanek może nastąpić wraz z pojawieniem się nanokompozytów [3, 14-16]. Mogą być one wykorzystywane jako syntetyczne grafty do wypełniania ubytków tkanki kostnej oraz podłoża dla hodowli komórkowej (tab. 1, rys. 3).

TABELA 1. Klasyfikacja biomateriałów stosowanych w chirurgii kostnej [3]

TABLE 1. Classification of biomaterials for bone grafting [3]

BIOMATERIAŁY
<p>Metale i ich stopy <i>Zalety:</i> odporne, wytrzymałe, plastyczne <i>Wady:</i> duży ciężar, możliwość korozji <i>Zastosowania:</i> wewnętrzna fiksacja (śruby, płytki, gwoździe, klamry), endoprotezoplastyka stawu biodrowego, kolanowego i barkowego, stomatologia, chirurgia szczękowo-twarzowa (implanty stomatologiczne, ortodontyczne, fiksacja wewnętrzna) <i>Przykłady:</i> tytan i jego stopy, stal nierdzewna, stopy Co-Cr</p>
<p>Ceramika <i>Zalety:</i> obojętna, bioaktywna, bioresorbowalna, duża odporność na zużycie <i>Wady:</i> krucha, nierozciągliwa, mała odporność na obciążenia dynamiczne <i>Zastosowania:</i> protezy stawów, wypełnienia kości, pokrycia na implantach metalicznych, implanty dentystyczne, kosteczki słuchowe, implanty do rekonstrukcji czaszki, implanty do stabilizacji kręgow <i>Przykłady:</i> Al_2O_3, ZrO_2, bioszklka, hydroksyapatyt, TCP</p>
<p>Polimery <i>Zalety:</i> elastyczne, możliwość modyfikacji powierzchni, dobór chemicznych grup funkcyjnych <i>Wady:</i> niska wytrzymałość, możliwe działanie toksyczne niektórych produktów degradacji <i>Zastosowania:</i> podłoża polimerowe dla sterowanej regeneracji tkanek, implanty konstrukcyjne o dopasowanych właściwościach mechanicznych i kontrolowanym czasie resorpcji, elementy zespalające (śruby, płytki), stabilizatory zewnętrzne, nośniki leków <i>Przykłady:</i> kolagen, chitozan, alginiany, PLA, PGA, PLGA, PE, PMMA, PCL</p>
<p>Kompozyty <i>Zalety:</i> wytrzymałe, elastyczność projektowania, zwiększona niezawodność mechaniczna w porównaniu do materiałów monolitycznych <i>Wady:</i> właściwości mogą się różnić w zależności od metod otrzymywania <i>Zastosowania:</i> wszczepy kostne, implanty ucha środkowego, podłoża do regeneracji tkanek, membrany do sterowanej regeneracji kości, nośniki leków, implanty konstrukcyjne <i>Przykłady:</i> kolagen/HA, chitozan/HA, alginian/HA, PLGA/HA, PLLA/HA, PE/HA, PEEK/CF, PLLA/CF, PS/CF, LCP/CF, Epoxy/CF, PMMA/CF, PLA/CF, P(GLA/PLA)/CF</p>
<p>Nanokompozyty <i>Zalety:</i> większe rozwinięcie powierzchni, wysoka reaktywność powierzchniowa, elastyczność projektowania, zwiększona niezawodność mechaniczna w porównaniu do materiałów monolitycznych i/lub mikrokompozytów <i>Wady:</i> brak optymalnych technik do przetwarzania materiałów <i>Zastosowania:</i> większość obszarów ortopedii, inżynieria tkankowa, nośniki leków <i>Przykłady:</i> kolagen/nanoHA, chitozan/nanoHA, PLLA/nanoHA,</p>



Rys. 3. Ewolucja biomateriałów dla chirurgii kostnej [3]

Fig. 3. Evolution of biomaterials in bone grafting [3]

Ta krótka analiza pokazuje, że materiały kompozytowe stanowią dobrą podstawę do projektowania implantów wielofunkcyjnych.

KOMPOZYTY BIOAKTYWNE

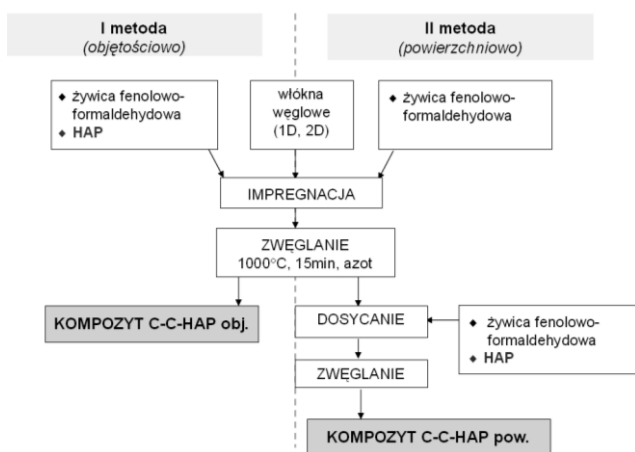
Do bioaktywnych faz wykazujących zdolność do tworzenia bezpośredniej więzi o charakterze chemicznym z tkanką kostną zaliczamy hydroksyapatyt (HA , $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$), fosforan trójwapniowy (TCP $Ca_3(PO_4)_2$), BCP (mieszanka TCP i HA) oraz bioszklko i apatytowo-wollastonitową szkłoceramikę [1, 17-19]. Fazy te mogą występować w postaci proszku, struktur porowatych oraz litych, gęstych materiałów. Wszystkie bioaktywne fazy cechuje jednak niska odporność na pękanie, co ogranicza ich wykorzystanie na implanty zdolne do przenoszenia podwyższonych naprężeń. Największe możliwości wykorzystania doskonałej biozgodności i bioaktywności stwarzają warstwy na różnych powierzchniach materiałów konwencjonalnych. Najbardziej spektakularnym przykładem jest bezcementowa endoproteza stawu biodrowego, w której metalowy trzpień pokryty jest warstwą hydroksyapatytu.

Jedną z perspektywicznych dróg wykorzystania bioaktywnych cech materiałów z grupy fosforanów wapnia dla spełnienia funkcji biomechanicznej wydają się być materiały kompozytowe. Próby prowadzące do podwyższenia odporności na pękanie hydroksyapatytu poprzez zastosowanie włókien węglowych, ZrO_2 , nanorurek węglowych nie dały zadowalających wyników [20-22]. W większości przypadków wzrost K_{Ic} był niewielki, podnoszący wartości do $2 \text{ MPa}\cdot\text{m}^{1/2}$. Inną możliwością coraz powszechniej stosowaną jest wprowadzenie bioaktywnej fazy jako dodatku do polimerów i materiałów węglowych. W przypadku polimerów modyfikacja bioaktywnymi cząstkami dotyczy zarówno grupy polimerów biostabilnych (HDPE, PSU etc.), jak i resorbowalnych (PLA, PGLA, PHB) [23-25]. Właściwości wybranych kompozytów i czystych polimerów zestawiono w tabeli 2.

TABELA 2. Właściwości mechaniczne bioaktywnych kompozytów
TABLE 2. Mechanical properties of bioactive composites

	Moduł Younga E GPa	Wytrzymałość na rozciąganie σ_r , MPa
HDPE	1,2÷1,5	25÷100
HDPE/HA	1,6÷4,0	35÷39
PSU	2,4÷2,6	70÷90
PSU/HA	2,8÷3,8	40÷60
PGLA	3,4	51,5÷70
PGLA/HA	4,2	25÷40
kolagen/HA	2,5	40

Jak wynika z tej tabeli, tego typu kompozyty wykazują niskie właściwości mechaniczne, stąd dla zastosowań medycznych bardziej istotna jest funkcja biologiczna. Wykorzystanie tego typu kompozytów w warunkach podwyższonych naprężeń wiąże się bardziej z układami hybrydowymi, w których jedna z faz odpowiada za właściwości mechaniczne, druga za biologiczne, a trzecia spełnia rolę spoiwa (osnowy). Taki system zastosowano w przypadku kompozytu węgiel-węgiel modyfikowanego HA. Jak wynika z rysunku 4, hydroksyapatyt dodawany jest w postaci cząstek na etapie otrzymywania kompozytu wyjściowego: żywica fenolowa (prekursor osnowy węglowej)-hydroksyapatyt. Proces obróbki cieplnej w atmosferze ochronnej powoduje, że syntetyczny hydroksyapatyt może ulegać częściowemu rozkładowi do TCP, a w strukturę hydroksyapatytu mogą wbudowywać się grupy węglanowe, bardzo istotne dla tworzenia więzi z tkanką kostną [26, 27].

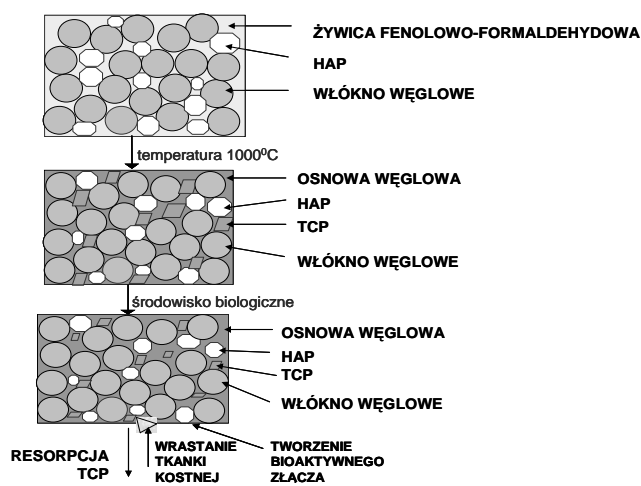


Rys. 4. Schemat otrzymywania kompozytów węglowo-fosforanowych

Fig. 4. Manufacturing of carbon-phosphate composites

Otrzymanie takiego węglowo-fosforanowego kompozytu może zasadniczo zmienić mechanizm łączenia implantu wykonanego z tego kompozytu z tkanką kostną. Jak to pokazuje rysunek 5, w procesie łączenia implantu z tkanką mogą brać udział dwa mechanizmy: jeden związany z tworzeniem bezpośredniej więzi chemicznej przez cząstki hydroksyapatytu zawierające grupy węglanowe,

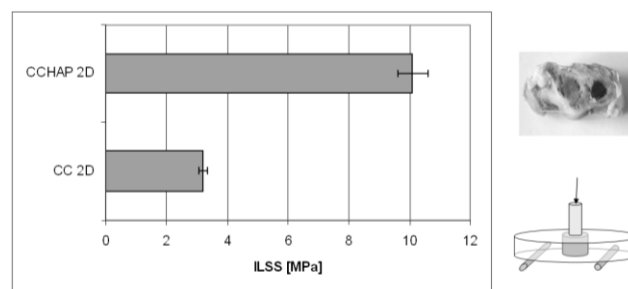
drugi poprzez zastępowanie resorbowalnego TCP przez wrastającą tkankę kostną.



Rys. 5. Zmiany fazowe w kompozycie podczas wysokotemperaturowej obróbki cieplnej

Fig. 5. Phase changes during high temperature treatment

Efektom takiego podwójnego mechanizmu jest znaczący wzrost wytrzymałości na granicy faz implant-tkanka, określony metodą „push out” (rys. 6).



Rys. 6. Wytrzymałość na ścinanie granicy kość-implant

Fig. 6. Shear strength of bone-implant interface

Niezmiernie ważny z punktu widzenia zastosowań biomechanicznych jest także znaczący wzrost odporności na pęknięcie takiego kompozytu w porównaniu do czystego HA. Tego typu kompozyty z powodzeniem stosowane są na wypełnienia (piny) w leczeniu ubytków tkanki chrzęstnej. Przedstawiony tutaj materiał jest dobrym przykładem wielofunkcyjnego materiału kompozytowego, gdzie włókna węglowe odpowiedzialne są za właściwości mechaniczne, a osnowa węglowo-fosforanowa ułatwia proces osteointegracji, a także regeneracji tkanki kostnej lub chrzęstnej.

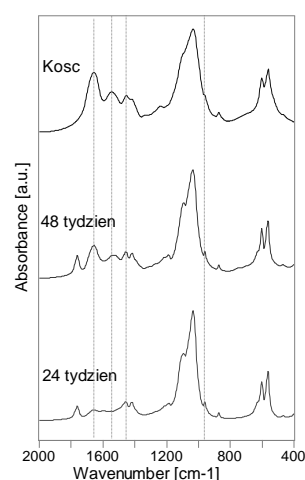
FAZY MODYFIKUJĄCE W KOMPOZYTACH JAKO STYMULATORY PROCESÓW REGENERACJI I OSTEOINTEGRACJI

Głównym narzędziem medycyny regeneracyjnej staje się inżynieria tkankowa, która wykorzystuje trójwymiarowe podłoża (skafoldy) do hodowli komórkowych

i odtwarzania naturalnych tkanek. Podłoża te najczęściej wykonane są z porowatych polimerów resorbowlanych, porowatych materiałów bioaktywnych lub kompozytów zarówno włóknistych, jak i ziarnistych [28-30]. W procesie regeneracji może być wykorzystany również sygnał mechaniczny, który może stymulować wzrost odpowiednio obciążanej tkanki, a także leki przeciwdziałające stanom zapalnym i wspomagające proces regeneracji. Ta sama funkcja aktywnych biologicznie podłoży może być wykorzystana w resorbowlanych materiałach kompozytowych, gdzie po procesie resorpcji polimeru fazy modyfikujące - cząstki lub włókna mogą stymulować procesy odbudowy i regeneracji uszkodzonych tkanek. Obserwacje uzyskane przez wielu autorów wskazują, że w przypadku implantów kostnych wykonanych z czystych polimerów resorbowlanych obserwuje się zastępowanie implantu przez tkankę włóknistą, a nie tkankę kostną [31-33]. Większość nowych rozwiązań implantacyjnych jest skierowana na materiały kompozytowe, w których faza modyfikująca spełnia rolę aktywatora biologicznego.

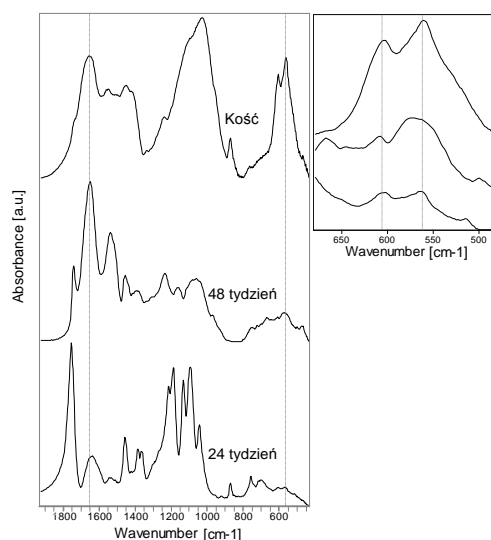
Dla porównania zachowania biologicznego czystego polimeru i kompozytów modyfikowanych cząstkami bądź włóknami wykorzystano metodę spektroskopii w podczerwieni, która pozwalała śledzić proces degradacji polimeru oraz proces odbudowy tkanki kostnej. Na rysunkach 7-9 przedstawiono widma w podczerwieni resorbowlanego kopolimeru L-laktydu z glikolidem i jego kompozytów z włóknami węglowymi i nanocząstkami hydroksyapatytu, na których śledzono zmiany intensywności pasm. Obniżenie intensywności pasm związanych z drganiami grup CH, CH₂, CH₃, C-O w relacji do pasma związanego z drganiami grup C=O związane jest ze zrywaniem wiązań w łańcuchach polimerowych i wskazuje na degradację polimeru. O procesie odbudowy tkanki kostnej świadczy natomiast pojawienie się pasm związanych z fazą organiczną (amid I, amid II) i mineralną kości (drżania grup PO₄³⁻). Na podstawie uzyskanych wyników zaobserwowano, że proces degradacji polimeru przebiega najintensywniej w przypadku kompozytu PGLA+HA (rys. 7). Na widmie tego implantu po 24 tygodniach przebywania w środowisku biologicznym pasma pochodzące od polimeru są już nieobecne. Równocześnie widać stymulujący wpływ dodatków modyfikujących na procesy regeneracyjne kości, dzięki czemu degradacja osnowy przebiega równocześnie z odbudową kości. Świadczy o tym pojawienie się pasm pochodzących od części organicznej kości najwcześniej dla kompozytu PGLA+CF (24 tydzień od implantacji) (rys. 8). Są to pasma przy 1540 cm⁻¹ (amid II) oraz 1655 cm⁻¹ (amid I). Na widmie kompozytu PGLA+CF widoczne jest również pasmo amidu III (przy 1237 cm⁻¹), które nie było zauważalne dla pozostałych materiałów. Identyfikacja białek w obrębie implantu jest niezwykle ważna, gdyż ich obecność decyduje o zgodności tkankowej biomateriału. W przypadku materiałów kompozytowych zaobserwowano również

obecność pasm pochodzących od grup PO₄³⁻, które pojawiały się w znacznie krótszym czasie niż dla czystego polimeru. Są to słabe pasma przy 558 i 604 cm⁻¹ (drżania zginające), przy 963 cm⁻¹ i 1040÷1090 cm⁻¹ (drżania rozciągające). Dla czystego polimeru (rys. 9) pasma białkowe i PO₄³⁻ w zakresie 550÷610 cm⁻¹ pojawiły się dopiero po 48 tygodniach implantacji, natomiast pozostałe pasma fosforanowe wciąż zakrywa intensywnie pasmo polimerowe. Równocześnie wskazuje to na dłuższy czas degradacji czystego polimeru. Stymulujący wpływ hydroksyapatytu na wzrost kości oprócz analizy widm w podczerwieni potwierdzają obserwacje mikroskopowe (rys. 10). Widoczny jest na nich rozrost ziaren apatytowych na nanocząstkach HA oraz na włóknach kolagenowych. Dla czystego PGLA obserwuje się przerastanie implantu głównie przez tkankę łączną (rys. 11).



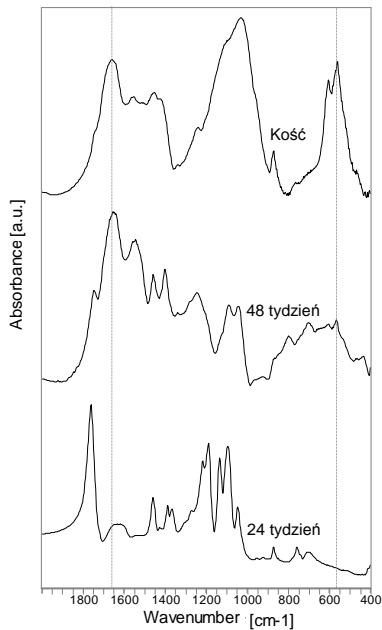
Rys. 7. Widma FTIR implantów PGLA+HA w kości żuchwy po 24 i 48 tygodniach od implantacji oraz widmo kości żuchwy jako odniesienie (zakres 400÷2000 cm⁻¹)

Fig. 7. The FTIR spectra for PGLA+HA implants in submaxilla bone after 24 and 48 weeks of implantation



Rys. 8. Widma FTIR implantów PGLA+CF w kości żuchwy oraz widmo kości żuchwy jako odniesienie (zakres 400÷2000 cm⁻¹)

Fig. 8. The FTIR spectra for PGLA+CF implants in submaxilla bone: from the top - bone, PGLA+CF after 48 weeks of implantation, PGLA+CF after 24 weeks from implantation

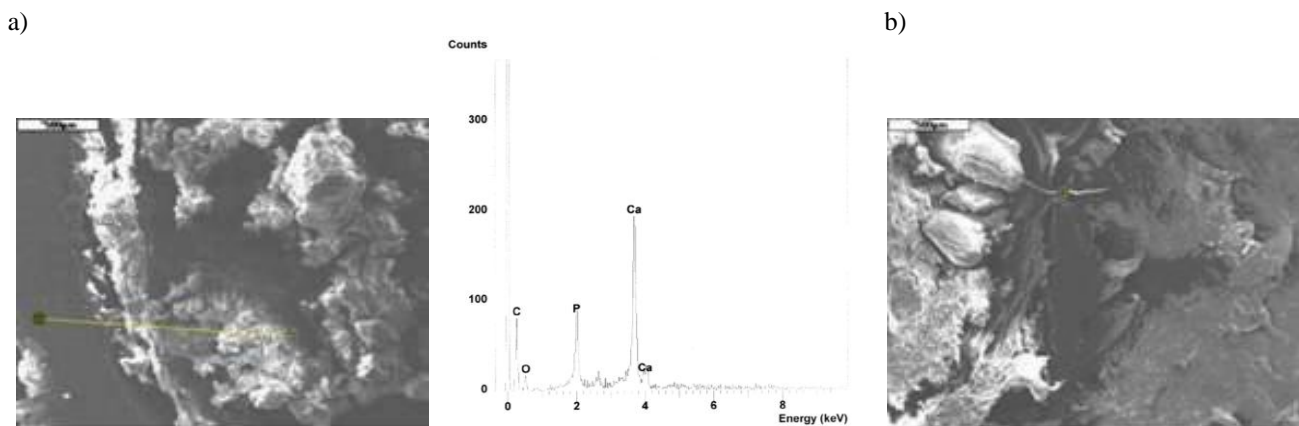


Rys. 9. Widma FTIR implantów PGLA w kości żuchwy oraz widmo kości żuchwy jako odniesienie (zakres 400+2000 cm^{-1})

Fig. 9. The FTIR spectra for PGLA implants in submaxilla bone: from the top - bone, PGLA after 48 weeks of implantation, PGLA after 24 weeks from implantation

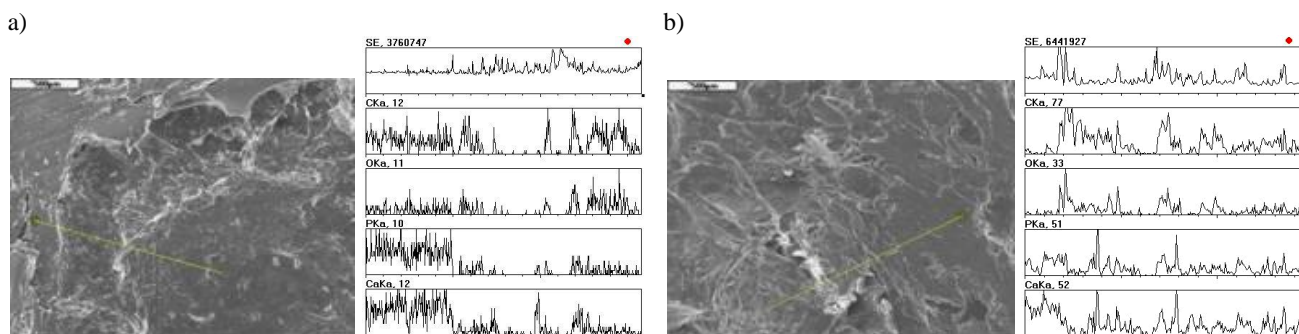
Kolejną ważną cechą implantów powinna być zdolność do wiązania z tkanką kostną. Zdolność do osteointegracji można ocenić poprzez pomiar wytrzymałości granicy kość-implant na międzywarstwowe ścinanie w teście push-out (rys. 12). Z przeprowadzonych badań wynika, że modyfikatory zdecydowanie zwiększają zdolność implantu do osteointegracji w całym okresie obserwacji. Dodatek cząstek HA poprawia wytrzymałość granicy w początkowych tygodniach, jednak najlepsza osteointegracja jest widoczna dla kompozytu zawierającego włókna węglowe już od 6 tygodnia od implantacji. Obniżenie wytrzymałości po 24 tygodniu od implantacji jest związane z ubytkami polimeru powstałymi w wyniku jego degradacji. Niska wartość wytrzymałości granicy jest obserwowana dla polimeru niemodyfikowanego, co uzasadnia zastosowanie materiału kompozytowego.

Na proces odbudowy tkanki kostnej ma również wpływ przestrzenne rozmieszczenie fazy modyfikującej (mikrostruktura). Modyfikator pozostały po procesie degradacji osnowy polimerowej stanowi rusztowanie dla regenerowanej tkanki kostnej, a poprzez jego odpowiednie ułożenie możliwe jest sterowanie procesami odbudowy kości.



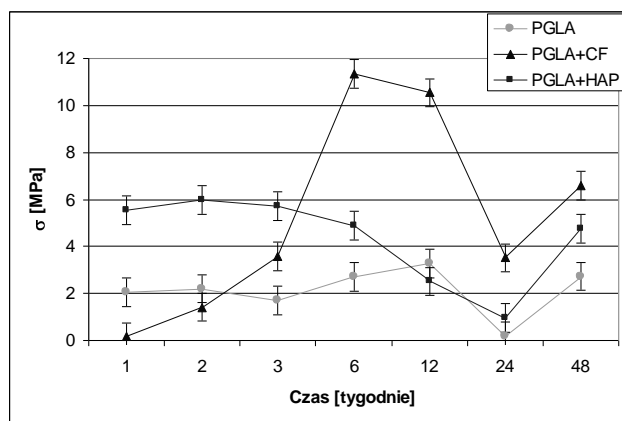
Rys. 10. Mikrografie SEM z analizą EDS implantu PGLA+HA po: a) 24 i b) 48 tygodniach od implantacji

Fig. 10. SEM microphotographs with EDS analysis for PGLA+HA implant: a) after 24, b) after 48 weeks from implantation



Rys. 11. Mikrografie SEM z analizą EDS implantu PGLA po: a) 24 i b) 48 tygodniach od implantacji

Fig. 11. SEM microphotographs with EDS analysis for PGLA implant: a) after 24, b) after 48 weeks from implantation

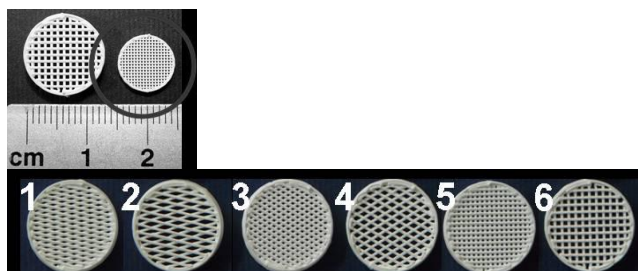


Rys. 12. Wytrzymałość granicy kość zuchwy-implant na międzywarstwowe ścinanie w funkcji czasu implantacji

Fig. 12. Strength of submaxilla bone-implant interface as a function of implantation time

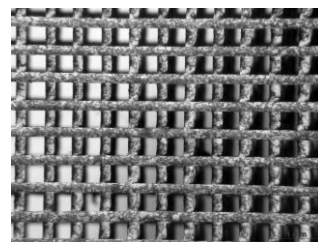
Wpływ ten obserwowano dla podłoży hydroksyapatytowych otrzymanych metodą „rapid prototyping” - Robocasting® [34, 35]. Zbadano adhezję fibroblastów na podłożach o różnej mikrostrukturze (rys. 13). Po 10 dniach inkubacji komórki adherowały i uległy proliferacji na powierzchni podłoża zbudowanego z ziaren hydroksyapatytu (rys. 14). Poprzez modelowanie struktury możliwe jest stworzenie mostków międzykomórkowych ułatwiających proces adsorpcji komórek. Z porównania stopnia adhezji komórek na podłożach o różnej mikrostrukturze przedstawionych na rysunku 13 wynika, że najlepsze rezultaty uzyskuje się dla podłoża o najmniejszych porach (podłoże nr 3) (rys. 15). Efekt ten może być związany z orientacją ziaren i odległością między poszczególnymi elementami siatki. Najbardziej dogodne warunki dla adhezji komórek są wtedy, gdy rozmiar elementów siatki jest zbliżony do rozmiaru komórek, a odległości między nimi umożliwiają stworzenie mostków międzykomórkowych. Wpływ geometrii i gęstości włókien kolagenowych na adhezję białek i reakcje komórkowe obserwuje się również w strukturach naturalnych zawierających kolagen [36].

Podobny efekt obserwowano dla materiałów włóknistych o różnej orientacji włókien węglowych stanowiących podłoża tkankowe. Ułożenie włókien wpływa na różną adhezję komórek na powierzchni rusztowania (rys. 16) [37].

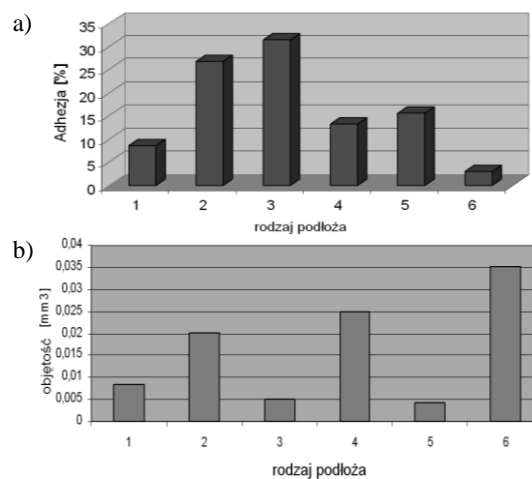


Rys. 13. Przykłady rusztowań hydroksyapatytowych wykonanych metodą „rapid prototyping” - Robocasting®

Fig. 13. Hydroxyapatite scaffolds obtained by „rapid prototyping” method - Robocasting®

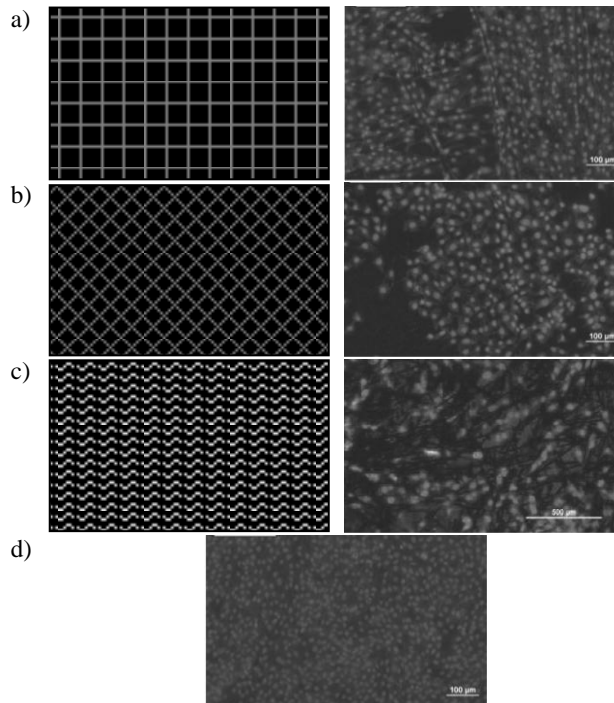


Rys. 14. Adhezja komórek na siatce z hydroksyapatytu
Fig. 14. Cells adhesion on hydroxyapatite scaffold



Rys. 15. Wpływ geometrii podłoża na adhezję komórek (a) oraz objętość porów w podłożach o różnej geometrii (b)

Fig. 15. The influence of scaffolds' geometry on cells adhesion (a) and pores volume of different scaffolds geometry (b)



Rys. 16. Wpływ orientacji włókien węglowych na wzrost osteoblastów: a) włókna węglowe, 2D - ułożenie regularne, b) włókna węglowe, 2D - ułożenie diagonalne, c) włókna węglowe MD, d) referencja (Osteoblasty linii MG-63 po 3 dniach kontaktu)

Fig. 16. Effect of carbon fibers orientation on osteoblasts adhesion: a) carbon fibres, 2D - regular roving system, b) carbon fibres, 2D - diagonal roving system, c) carbon fibres MD, d) reference sample TC PS (tissue culture polystyrene) (MG-63 osteoblast-like cells (ECACC) after 3 days contacted with surface of samples)

TRWAŁOŚĆ MATERIAŁÓW KOMPOZYTOWYCH

Jednym z ważnych czynników decydujących o zastosowaniu medycznym kompozytów jest ich trwałość w środowisku biologicznym. Dotyczy to głównie materiałów biostabilnych, spełniających rolę implantów długotrwałych. Taka funkcja wymaga spojrzenia na mechanizm ich oddziaływania ze środowiskiem biologicznym, szczególnie z uwagi na obecność silnie rozwiniętych granic fazowych modyfikator-osnowa [38, 39]. Granice te mogą mieć także wpływ na szybkość resorpcji w przypadku modyfikowanych polimerów resorbowalnych.

Trwałość materiałów kompozytowych oceniono na podstawie ich czasów życia określonych w teście pełzania. Badania przeprowadzono dla biostabilnego polisulfonu (PSU) modyfikowanego włóknami węglowymi. Dodatek włókien węglowych stanowi skuteczne wzmocnienie osnowy polimerowej przy zachowaniu niskiego modułu Younga (tab. 3). Równocześnie włókna węglowe wydłużają jego czas życia (tabele 4 i 5) i podnoszą poziom dopuszczalnych naprężeń, o czym świadczy rodzina krzywych pełzania otrzymana dla czystego PSU i jego kompozytu PGLA+CF (rys. rys. 17, 18). Jednakże symulowane środowisko biologiczne obniża w znacznie większym stopniu poziom dopuszczalnych naprężeń w przypadku materiału kompozytowego niż dla czystego polisulfonu. Dla materiału kompozytowego wartość ta wynosi 50 MPa dla pełzania na sucho i obniża się do 30 MPa po pełzaniu *in vitro*, natomiast w przypadku czystego PSU wynosi 35 MPa dla pełzania na sucho i ulega obniżeniu zaledwie o 10 MPa dla pełzania *in vitro*, wynosząc 25 MPa. Wpływ włókien węglowych na obniżenie poziomu dopuszczalnych naprężeń w warunkach *in vitro* można wyjaśnić lepszą penetracją płynu po granicach rozdziału faz włókna-polisulfon (rys. 19).

TABELA 3. Właściwości mechaniczne kompozytów
TABLE 3. Mechanical properties of composites

	Wytrzymałość na rozciąganie σ_r , MPa	Moduł Younga E , GPa $\Delta E = 3\%$
PSU	73,1 ± 2,6	2,3
PSU+CF MD 15%	95,4 ± 3,7	6,4
PGLA	51,4 ± 3,6	3,4
PGLA+CF MD 15%	88,7 ± 6,2	6,7

Obecność granic fazowych wpływa również na szybkość degradacji kompozytów o osnowie z polimerów resorbowalnych [23, 40, 41]. Widoczne jest to na przykładzie kompozytu PGLA modyfikowanego włóknami węglowymi. Na intensywniejszą degradację kompozytu wskazuje szybszy spadek pH płynu Ringera po inkubacji kompozytu PGLA+CF i obniżenie jego wytrzymałości mechanicznej w porównaniu do czystego PGLA (rys. rys. 20, 21). Penetrację granic fazowych w kompozycie potwierdza obraz mikroskopowy otrzymany dla kompozytu PGLA+CF po 12 tygodniach inkubacji, gdzie degradacja przebiega poprzez wymywanie granic (rys. 22).

Degradacja czystego kopolimeru przebiega w odmienny sposób, przez złuszczenie się polimeru.

TABELA 4. Wartości odkształceń natychmiastowych (ϵ_0), prędkości pełzania w stanie ustalonym (ν) i czasy zniszczenia (t_z) dla poszczególnych poziomów obciążenia (σ) podczas pełzania *in vitro* czystego PSU

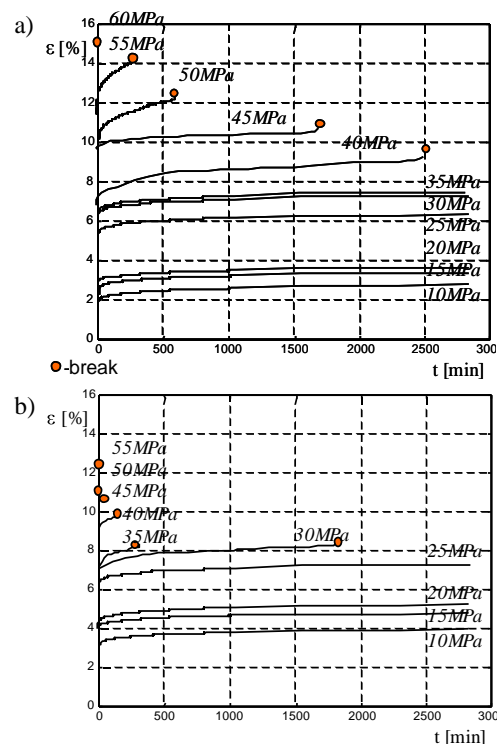
TABLE 4. The value of elongation (ϵ_0), elongation rate in steady state conditions (ν) and life-time (t_z) at various stress levels (σ) during *in vitro* creep of PSU

σ [MPa]	ϵ_0 [%]	ν [%/min]	t_z [min]
60	14.8±0.91	-	przewężenie
55	11.8±0.80	-	przewężenie
50	10.9±0.11	2.8·10 ⁻³	2.3±0.5
45	10.1±0.87	2.1·10 ⁻³	13.5±2.1
40	9.0±0.63	1.1·10 ⁻³	126.5±8.1
35	7.5±0.34	1.6·10 ⁻⁴	283.0±25.8
30	6.9±0.80	1.4·10 ⁻⁴	1880.0±98.1
25	6.4±0.60	6.8·10 ⁻⁵	brak zerwania
20	4.7±0.72	3.3·10 ⁻⁵	brak zerwania
15	4.2±0.81	2.3·10 ⁻⁵	brak zerwania
10	3.5±0.42	6.4·10 ⁻⁶	brak zerwania

TABELA 5. Wartości odkształceń natychmiastowych (ϵ_0), prędkości pełzania w stanie ustalonym (ν) i czasy zniszczenia (t_z) dla poszczególnych poziomów obciążenia (σ) podczas pełzania *in vitro* kompozytu PSU+CF MD

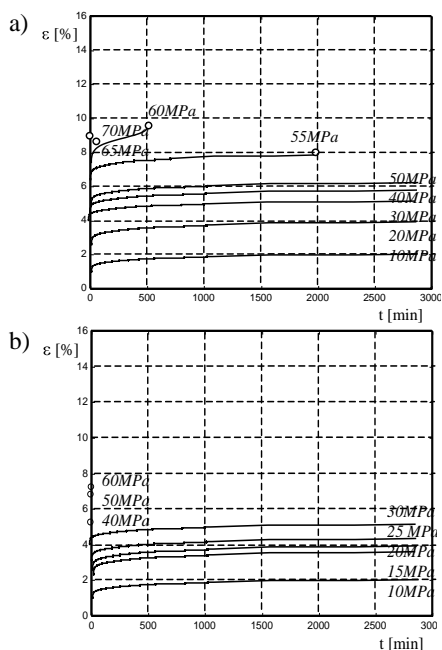
TABLE 5. The value of elongation (ϵ_0), elongation rate in steady state conditions (ν) and life-time (t_z) at various stress levels (σ) during *in vitro* creep of PSU+CF MD

σ [MPa]	ϵ_0 [%]	ν [%/min]	t_z [min]
60	7.5±0.37	3.2·10 ⁻³	2.7±1.2
50	7.3±0.42	9.1·10 ⁻⁴	16.0±7.6
40	5.1±0.51	6.4·10 ⁻⁴	264.3±19.9
30	5.0±0.31	2.5·10 ⁻⁴	brak zerwania
25	4.2±0.25	9.9·10 ⁻⁵	brak zerwania
20	3.8±0.26	7.7·10 ⁻⁵	brak zerwania
15	2.8±0.19	5.3·10 ⁻⁵	brak zerwania
10	2.7±0.09	7.3·10 ⁻⁵	brak zerwania



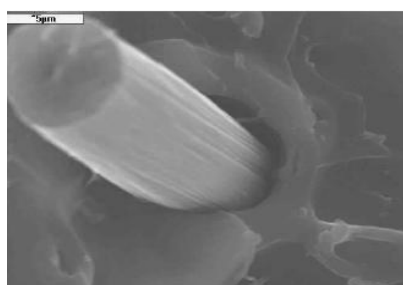
Rys. 17. Krzywe pełzania PSU przy różnym poziomie naprężeń: a) na sucho, $T = 20^\circ\text{C}$, b) w warunkach *in vitro*, $T = 37^\circ\text{C}$

Fig. 17. Creep curves for PSU at various stress levels: a) dry, $T = 20^\circ\text{C}$, b) under *in vitro* conditions, $T = 37^\circ\text{C}$



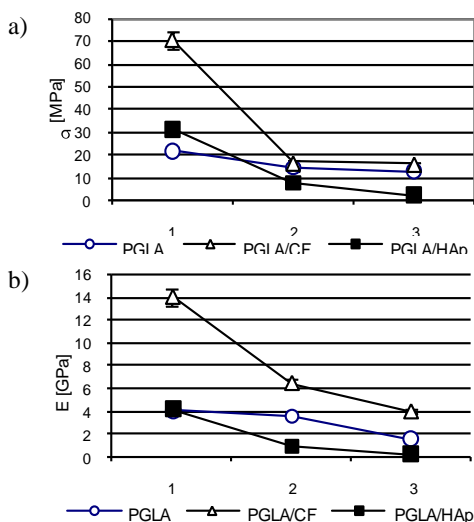
Rys. 18. Krzywe pełzania PSU+CF przy różnym poziomie naprężeń: a) na sucho, $T = 20^{\circ}\text{C}$, b) w warunkach *in vitro*, $T = 37^{\circ}\text{C}$

Fig. 18. Creep curves for PSU+CF at various stress levels: a) dry, $T = 20^{\circ}\text{C}$, b) under *in vitro* conditions, $T = 37^{\circ}\text{C}$



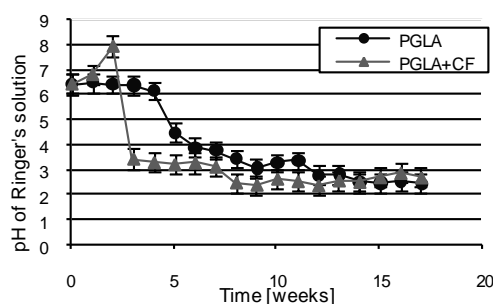
Rys. 19. Mikrofotografia SEM kompozytu PSU+CF po 48 godzinach inkubacji w płynie Ringera

Fig. 19. SEM microphotographs of PSU+CF composite after 48 hours of incubation in Ringer's solution



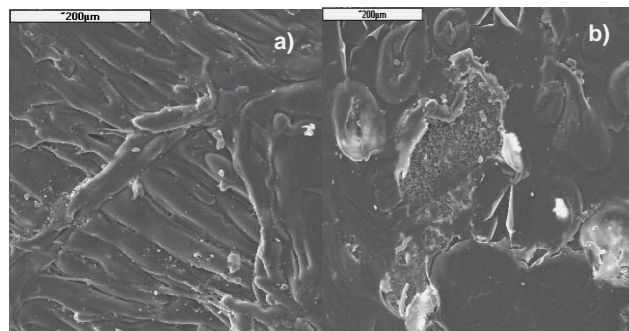
Rys. 20. Zmiany właściwości mechanicznych materiałów PGLA, PGLA/CF i PGLA/HA: a) wytrzymałość na rozciąganie, b) moduł Younga - 1 - materiały wyjściowe, 2 - po 4 tygodniach inkubacji, 3 - po 8 tygodniach inkubacji

Fig. 20. Changes of mechanical properties of PGLA, PGLA/CF and PGLA/HA samples: a) bending strength, b) Young's modulus - 1 - initial, 2 - after 4 weeks incubation, 3 - after 8 weeks incubation



Rys. 21. Zmiany pH płynu Ringera w funkcji czasu inkubacji PGLA i PGLA+CF

Fig. 21. pH changes of Ringer's solution after incubation of PGLA and PGLA+CF



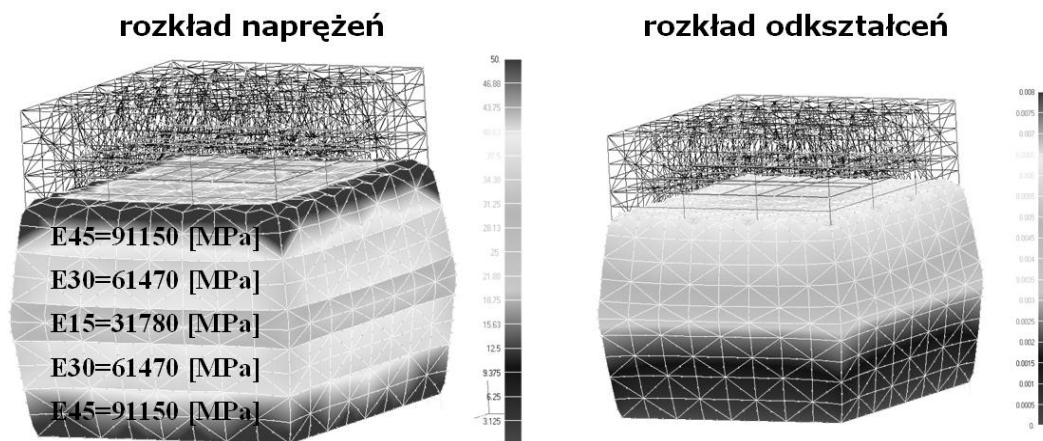
Rys. 22. Mikrofotografie SEM: a) PGLA+CF, b) PGLA po 12 tygodniach inkubacji w płynie Ringera

Fig. 22. SEM microphotographs: a) PGLA+CF, b) PGLA after 12 weeks of incubation in Ringer's solution

KOMPOZYTOWE MATERIAŁY GRADIENTOWE

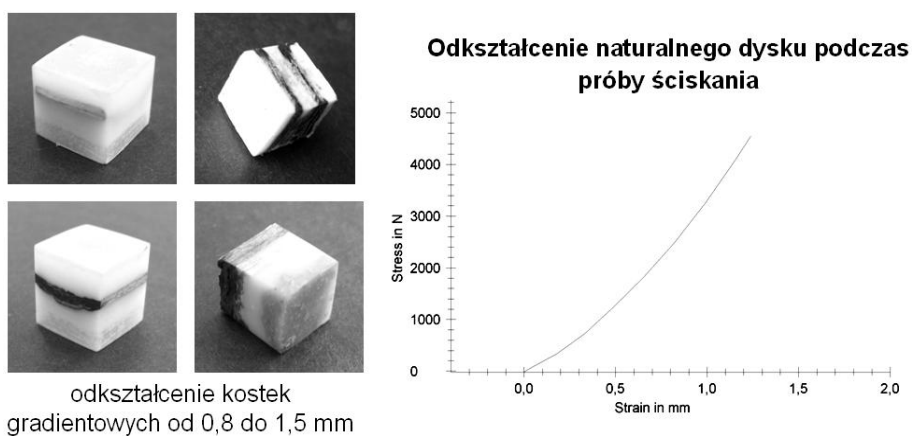
Biomimetyczne kompozyty o budowie gradientowej mogą stanowić nową grupę materiałów implantacyjnych. Większość naturalnych tkanek wykazuje taką budowę i charakteryzuje się zmiennymi właściwościami w określonych kierunkach. Z punktu widzenia zastosowań biomedycznych do najważniejszych gradientów możemy zaliczyć: gradient modułu Younga, porowatości i szybkości resorpcji [42-44]. Pierwszy decyduje o rozkładzie naprężeń pomiędzy implantem a tkanką, drugi odpowiada za łączenie i przerastanie tkanką kostną, trzeci natomiast może ułatwiać proces regeneracji i sprzyjać rekonstrukcji odpowiednio zorientowanych naczyń krwionośnych. Do otrzymania takich materiałów gradientowych można wykorzystać zarówno fazy włókniste, jak i proszki i granulaty wykonane głównie z polimerów oraz materiałów ceramicznych. Kompozyty z gradientem modułu Younga mogą być otrzymywane drogą łączenia warstw o różnym module Younga. Zróżnicowanie to można osiągnąć poprzez zmianę udziału objętościowego włókien lub poprzez ich różne ułożenie przestrzenne. Rysunek 23 pokazuje taką strukturę oraz rozkłady naprężeń i odkształceń otrzymanych metodami symulacji komputerowej.

Znając charakterystyki mechaniczne niektórych tkanek, można tak zaprojektować materiał gradientowy, aby odpowiadał charakterystyce tkanki. Przykłady takich materiałów stosowanych w leczeniu kręgosłupa przedstawia rysunek 24.



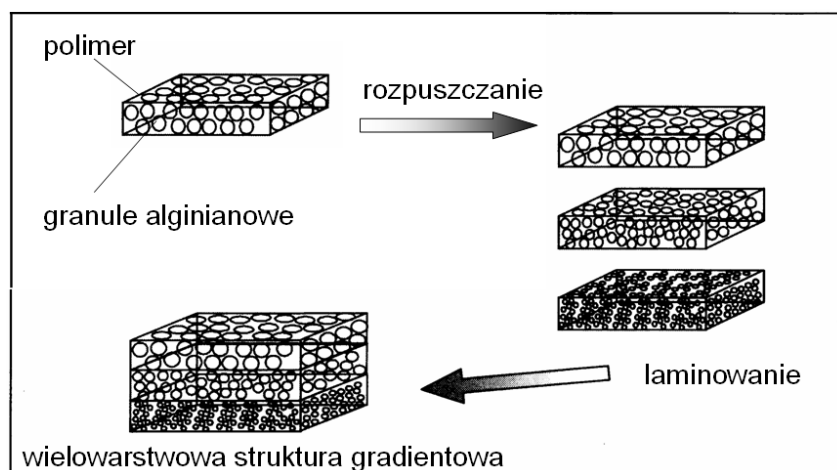
Rys. 23. Rozkład naprężeń i odkształceń w kompozycie z gradientem modułu Younga

Fig. 23. Stress and strain distribution in composite with Young modulus gradient



Rys. 24. Podejście biomimetyczne - dopasowanie charakterystyki mechanicznej dysku naturalnego do syntetycznych kostek gradientowych

Fig. 24. Biomimetic approach - matching of mechanical characteristics of natural disc to synthetic graded cube

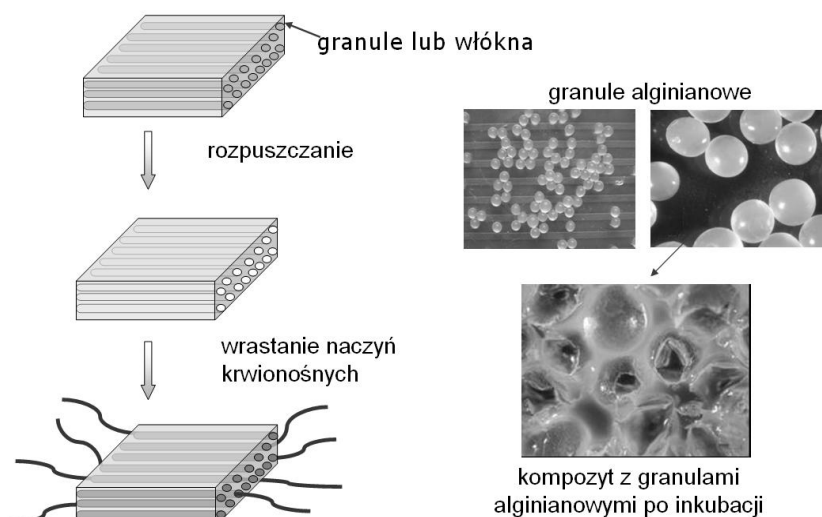


Rys. 25. Schemat otrzymywania kompozytu z gradientem porowatości

Fig. 25. Manufacturing of composite with pore size gradient

Na rysunku 25 przedstawiono schemat otrzymywania kompozytów z gradientem porowatości. W tym przypadku wykorzystano materiał kompozytowy złożony z osnowy polimerowej i rozpuszczalnego granulatu z alginianu sodu. Sterując wielkością rozpuszczalnych

granul i ich udziałem objętościowym, można otrzymać wielowarstwowe kompozyty o zadanym gradientie porowatości sprzyjającym procesowi przerastania implantu tkanką kostną.



Rys. 26. Wielofazowy system o kontrolowanym czasie resorpcji

Fig. 26. Multiphase system with controlled resorption time

Kompozyty z gradientem szybkości resorpcji mogą być realizowane w układzie resorbowalny polimer-resorbowalne włókno polimerowe. Takie systemy mogą być wykorzystane do regeneracji uszkodzonych nerwów oraz do rekonstrukcji naczyń krwionośnych. W tym ostatnim przypadku, jak ilustruje to rysunek 26, faza włóknista ulega szybszej degradacji i otwiera kanały do wrastania naczyń krwionośnych.

NANOKOMPOZYTY

Nanokompozyty stanowią nową klasę biomateriałów cieszącą się dużym zainteresowaniem i popularnością w ostatnich latach, co jest związane z ich unikatowymi właściwościami nieosiągalnymi w przypadku konwencjonalnych tworzyw. Odpowiednie zaprojektowanie nanokompozytu pozwala na otrzymanie biomateriału wielofunkcyjnego, który obok korzystnych właściwości mechanicznych może zmieniać zachowanie biologiczne wszczepu poprzez wprowadzenie modyfikatora o właściwościach osteokonduktywnych, osteoinduktywnych lub komórek osteogenicznych. Dzięki temu nanokompozyty mogą odgrywać znaczącą rolę jako implanty przeznaczone dla chirurgii kostnej. Termin nanokompozyty można zdefiniować jako heterogeniczną kombinację dwóch lub więcej faz, z których co najmniej jedna powinna mieć rozmiar nanometryczny. Nanomateriały są traktowane jako nowa klasa materiałów, o właściwościach odmiennych niż ich odpowiedniki w mikroskali. Dla przykładu, nanokrystaliczny hydroksyapatyt wykazuje lepszą adhezję osteoblastów (ich różnicowanie i proliferacji), a także osteointegrację i bioaktywność niż mikrokrystaliczny HA [45, 46]. W związku z tym odbudowa nowej tkanki kostnej odbywa się w krótszym czasie w przypadku nanomateriału.

Największe zmiany parametrów fizykomechanicznych można uzyskać poprzez modyfikację nanocząstkami osnów polimerowych. Modyfikacja osnów ceramicz-

nych i metalicznych nie powoduje już aż tak efektywnych zmian wyjściowych właściwości tych materiałów. Faza modyfikująca może występować w postaci nanowłókien, nanorurek (nanorurki węglowe) i nanocząstek (hydroksyapatyt, TCP) [3, 16, 47, 48].

Aby uzyskać zadowalającą poprawę właściwości mechanicznych, nanododatek musi być przede wszystkim dobrze zdyspergowany w matrycy polimerowej, tak aby powierzchnia kontaktu obu faz była jak największa. Nanocząstki posiadają silną tendencję do aglomeracji i jej przeciwdziałanie stanowi główny problem technologiczny. Właściwa homogenizacja nanododatku powoduje znaczne zwiększenie powierzchni właściwej, a tym samym silniejsze oddziaływanie z matrycą w porównaniu do konwencjonalnych modyfikatorów. Dzięki temu już przy niewielkim udziale nanododatku możliwa jest efektywna poprawa wytrzymałości osnowy polimerowej. Siłę wiązania matrycy polimerowej z nanomodyfikatorem można dodatkowo wzmocnić poprzez wytworzenie grup funkcyjnych na jego powierzchni (funkcjonalizacja). Na właściwości mechaniczne nanokompozytów wpływają ponadto takie czynniki, jak udział objętościowy wzmocnienia i jego orientacja. Ukierunkowanie włókien może ułatwiać blokowanie propagacji pęknięć.

Zagadnieniem budzącym wiele kontrowersji jest biouzgodność nanokompozytów. Przede wszystkim znaczne rozbieżności literaturowe dotyczą nanowłókien i nanorurek węglowych i związane są z dużą ilością czynników wpływających na ich biozgodność [49, 50]. Jednym z nich jest długość włókien i jej relacja do średnicy. Włókna powyżej pewnej krytycznej długości są nieprzyswajalne dla makrofagów i przez to są toksyczne. Literatura podaje, że włókna szklane o długości powyżej 17 μm utrudniają fagocytozę, indukują uwalnianie mediatorów stanu zapalnego i udział zwłóknienia. Podobnie jest w przypadku nanorurek węglowych, których toksyczność również zależy między innymi od ich długości. Innym czynnikiem decydującymi o biozgodności nanorurek jest

technologia ich otrzymywania. Stosowane katalizatory są przeważnie toksyczne dla tkanek biologicznych i konieczne jest niejednokrotnie oczyszczanie nanorurek przed zastosowaniem biomedycznym. Znaczną rolę na odpowiedź tkankową i komórkowa odgrywa chemiczna budowa powierzchni nanorurek, tzn. rodzaj i ilość obecnych na niej grup funkcyjnych. Z doniesień literaturowych wynika, że funkcjonalizacja nanorurek węglowych zdecydowanie poprawia ich biogodność. Kolejnym czynnikiem decydującym o biogodności tego materiału jest stopień jego zdyspergowania w osnowie, co niejednokrotnie stanowi duży problem ze względu na silną tendencję do aglomeracji. Z reguły bywa tak, że nanorurki niefunkcjonalizowane mają większą tendencję do aglomeracji, natomiast funkcjonalizacja ułatwia dyspersję i równocześnie sprzyja tworzeniu wiązań międzyfazowych.

Do wciąż nierozwiązanych problemów związanych z zastosowaniem nanododatku należą:

- optymalizacja warunków otrzymywania nanokompozytów,
- optymalizacja oddziaływań międzyfazowych na poziomie nano i przez to efektywniejsza poprawa właściwości mechanicznych,
- dopasowanie szybkości resorpcji do szybkości odbudowy tkanki kostnej,
- wyjaśnienie mechanizmu wzajemnych interakcji między komórkami i osnową nanokompozytu prowadzących do regeneracji kości.

W badaniach własnych oceniano wpływ nanododatków na właściwości mechaniczne i szybkość degradacji resorbowalnej osnowy polimerowej. Jako osnowę zastosowano kopolimer L-laktydu z glikolidem (PGLA) (16% PGA : 84% PLA). Otrzymano kompozyt PGLA+HA, zawierający 10% wag. nanocząstek hydroksyapatytu (HA) pochodzenia naturalnego (rozwinięcie powierzchni $79,7 \text{ m}^2/\text{g}$, gęstość $3,15 \text{ g}/\text{cm}^3$) oraz PGLA+CNT, zawierający 10% wag. nanorurek węglowych wielościennych (CNT - średnica zewnętrzna $10 \div 15 \text{ nm}$, średnica wewnętrzna $2 \div 5 \text{ nm}$).

Kompozyty inkubowano w płynie Ringera w temperaturze 37°C przez okres 8 tygodni, a następnie przeprowadzono pomiary wytrzymałości kompozytów i pH płynu Ringera. Dodatkowo przeprowadzono obserwacje mikrostruktury.

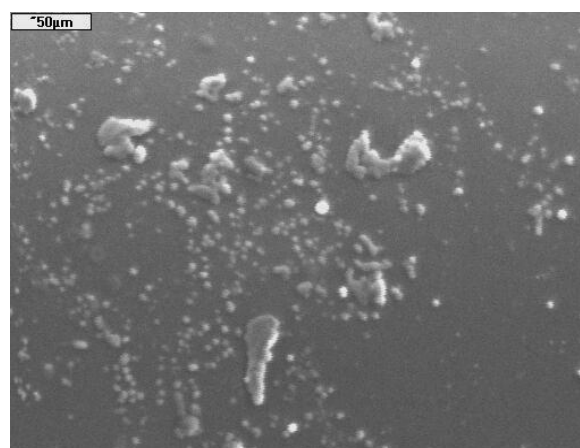
W badanych kompozytach nie uzyskano poprawy wytrzymałości osnowy polimerowej (tab. 6), najprawdopodobniej w wyniku ich aglomeracji (rys. 27). Nanorurki w większym stopniu przyspieszają degradację kopolimeru w porównaniu do nanocząstek HA, na co wskazuje większy spadek wytrzymałości w wyniku inkubacji (rys. 28) i najszybszy spadek pH płynu Ringera (rys. 29). Na powierzchni kompozytu PGLA+CNT w wyniku degradacji tworzą się liczne wgłębienia i spękania, które znacznie obniżają jego wytrzymałość mechaniczną (rys. 30). Degradacja czystego kopolimeru PGLA przebiega

w odmienny sposób, poprzez pęcznienie i złuszczenie powierzchni materiału (rys. 31). Kompozyt PGLA+HA ulega stopniowej degradacji, o czym świadczy obniżanie jego wytrzymałości. Nie obserwuje się jednak zmian pH w przypadku tego materiału, co można tłumaczyć równoczesnym rozpuszczaniem i wytrącaniem ziaren hydroksyapatytu. Potwierdzają to zdjęcia mikroskopowe, gdzie po 6 tygodniach widoczne są liczne pory pozostałe po rozpuszczeniu HA, natomiast po 12 tygodniu na powierzchni kompozytu wyraźnie widoczne są powtórnie wytrącone wydzielenia apatytowe (rys. rys. 32 i 33).

Przeprowadzono również badania odpowiedzi komórkowej na kompozyt o osnowie z polisulfonu (PSU) modyfikowanej nanorurkami węglowymi. Wykazały one wyraźny wpływ nanorurek na zwiększenie produkcji kolagenu typu I (rys. 34). Jest to szczególnie istotne, jeśli chodzi o zastosowanie nanorurek węglowych w inżynierii tkankowej. Intensywniejsza synteza kolagenu sprzyja regeneracji tkanki miękkiej i tkanki kostnej, dzięki czemu nanorurki mogą stanowić skuteczne podłoże do jej wzrostu. Równocześnie dodatek nanorurek nie powoduje zwiększonego uwalniania cytokin, co wskazuje na brak negatywnej odpowiedzi ze strony układu odpornościowego organizmu, nie wpływa również na uwalnianie osteokalcyn (rys. rys. 35 i 36).

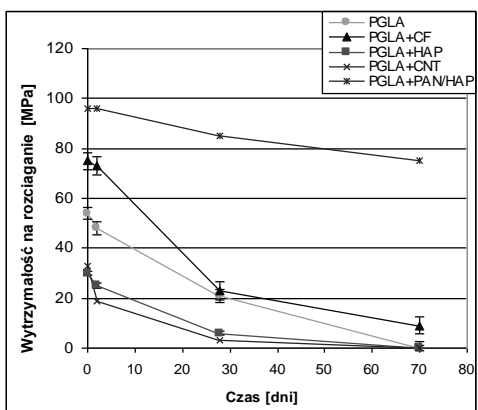
TABELA 6. Właściwości mechaniczne badanych materiałów
TABLE 6. Mechanical properties of composites

	Wytrzymałość na rozciąganie σ , MPa	Moduł Younga E GPa
PGLA	53,7±1.5	3,4±0.2
PGLA+HA	30,4±2.4	4,2±0.3
PGLA+CNT	32,9±2.5	3,0±0.3

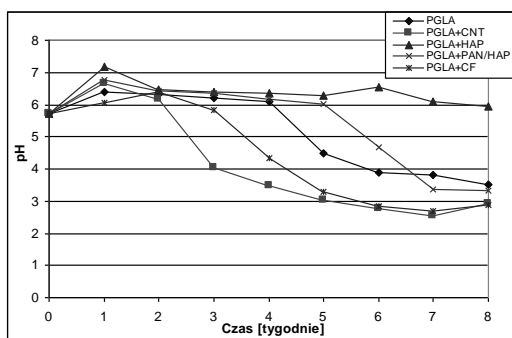


Rys. 27. Mikrofotografia SEM próbki PGLA+CNT po 6 tygodniach inkubacji w płynie Ringera

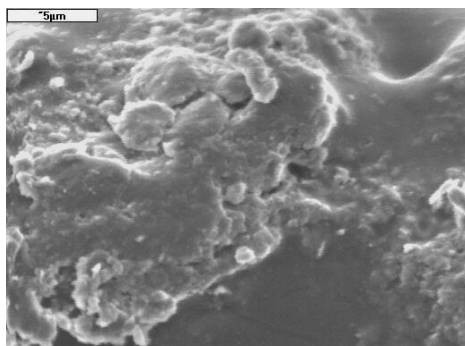
Rys. 27. SEM microphotographs of PGLA+CNT samples after 6 weeks of incubation in Ringer's solution



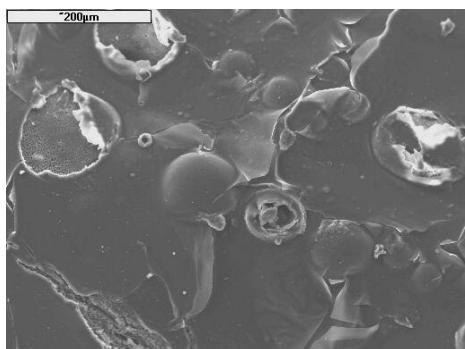
Rys. 28. Zmiany wytrzymałości na rozciąganie w funkcji czasu inkubacji
 Fig. 28. Tension strength of samples before and after incubation in Ringer's solution



Rys. 29. Zmiany pH płynu Ringera w funkcji czasu inkubacji badanych materiałów
 Fig. 29. pH changes of Ringer's solution as a function of incubation time



Rys. 30. Mikrofotografia SEM próbki PGLA+CNT po 8 tygodniach inkubacji w płynie Ringera
 Fig. 30. SEM microphotographs of PGLA+CNT samples after 8 weeks of incubation in Ringer's solution



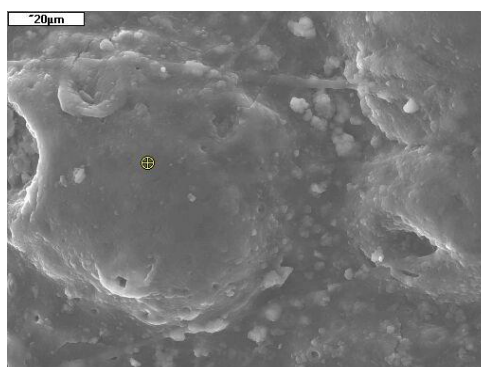
Rys. 31. Mikrofotografia SEM próbki PGLA po 6 tygodniach inkubacji w płynie Ringera

Fig. 31. SEM microphotographs of PGLA samples after 6 weeks of incubation in Ringer's solution



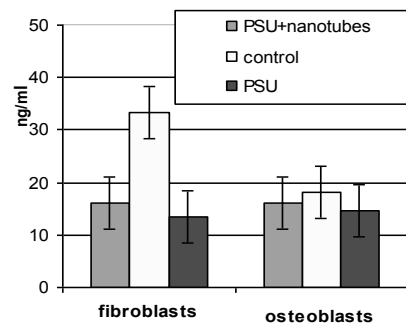
Rys. 32. Mikrofotografia SEM próbki PGLA+HA po 6 tygodniach inkubacji w płynie Ringera

Fig. 32. SEM microphotographs of PGLA+HA samples after 6 weeks of incubation in Ringer's solution



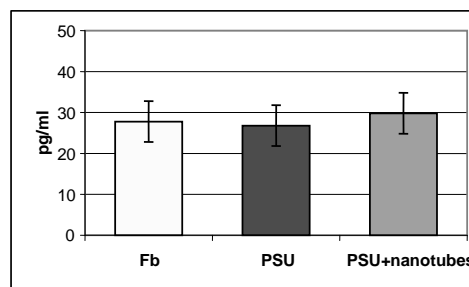
Rys. 33. Mikrofotografia SEM próbki PGLA+HA po 12 tygodniach inkubacji w płynie Ringera

Fig. 33. SEM microphotographs of PGLA+HA samples after 12 weeks of incubation in Ringer's solution



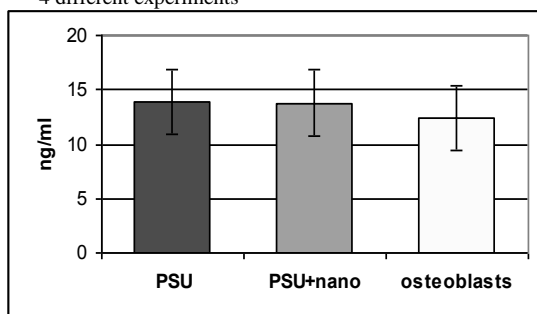
Rys. 34. Poziom kolagenu na PSU i PSU+nanturki. Wyniki stanowią średnią z 4 powtórzeń

Fig. 34. Production of collagen on PSU and PSU+nanturki. The results represent the average \pm SD of duplicates from 4 different experiments



Rys. 35. Uwalnianie IL-6 z hodowli fibroblastów na PSU i PSU+nanturki. Wyniki stanowią średnią z 4 powtórzeń

Fig. 35. IL-6 release from fibroblasts cultured on PSU and PSU+nano-tubes. The results represent the average \pm SD of duplicates from 4 different experiments



Rys. 36. Koncentracja osteokalcyn w hodowli osteoblastów na PSU i PSU+nanorurki. Wyniki stanowią średnią z 4 powtórzeń

Fig. 36. Osteocalcin concentrations in osteoblasts culture. The results represent the average \pm SD of duplicates from 4 different experiments

WNIOSKI

1. Materiały kompozytowe stanowią nową grupę materiałów implantacyjnych, które poprzez swoją wielofazową budowę mogą stanowić podstawę do opracowania implantów o korzystnych właściwościach mechanicznych i aktywności biologicznej. Zakresy tych właściwości dla materiałów kompozytowych przedstawia tabela 7.

TABELA 7. Właściwości mechaniczne i biologiczne wybranych materiałów kompozytowych

TABLE 7. Mechanical and biological properties of composite materials

Materiał	Moduł Younga GPa	Wytrzymałość na rozciąganie MPa	Zachowanie biologiczne
Polisulfon - włókna węglowe 1D	48	497	biostabilny
Polisulfon - włókna węglowe MD	2,5	94	biostabilny
Poli(L-laktyd) - włókna węglowe MD	2,3	80	częściowo resorbowalny
Poli(L-laktyd-ko-glikolid) - włókna węglowe MD	2,8	75	częściowo resorbowalny
Poli(L-laktyd-ko-glikolid) - bioszkle	1,9	31	resorbowalny, bioaktywny
Żywica epoksydowa - włókna węglowe 1D	100	500÷1500	biostabilny
Poli(eter-eter-ke-ton) - włókna węglowe 1D	125	1940	biostabilny
Poli(eter-eter-ke-ton) - włókna węglowe MD	10÷50	200÷400	biostabilny
Poli(eter-eter-ke-ton) - hydroksyapatyt	4	21	biostabilny, bioaktywny
Węgiel-węgiel 1D	175	1350	częściowo degradowalne
Węgiel-węgiel 3D	90	250	częściowo degradowalne
Stal 316L	210	1100	biostabilny

Kość zbita (w kierunku równoległym)	20	133	-
-------------------------------------	----	-----	---

2. Szeroka możliwość łączenia różnych faz, zmiany ich geometrii ułożenia oraz udziałów objętościowych pozwalają na dopasowanie budowy i właściwości implantów do naturalnych tkanek.
3. Obecność różnych faz i silnie rozwiniętych granic międzyfazowych wpływa na sposób oddziaływania ze środowiskiem biologicznym, co może zasadniczo zmieniać trwałość implantów kompozytowych, a w niektórych przypadkach przyspieszać proces degradacji polimeru.
4. Różna architektura faz modyfikujących może wpływać na reakcje komórkowe i tkankowe. Znajomość tych relacji może prowadzić do opracowania kompozytowych podłoży dla inżynierii tkankowej.
5. Układ wielowarstwowy w materiałach kompozytowych pozwala na konstruowanie biomimetycznych kompozytów gradientowych o gradientach istotnych dla zastosowań biomedycznych (moduł Younga, porowatość, szybkość resorpcji).
6. Nanokompozyty stwarzają nowe możliwości w zakresie modyfikacji właściwości fizykochemicznych oraz specyficznych oddziaływań biologicznych.

LITERATURA

- [1] Wang M., Developing bioactive composite materials for tissue replacement, *Biomaterials* 2003, 24, 2133-2151.
- [2] Vanderby R., Provenzano P.P., Collagen in connective tissue: from tendon to bone, *Journal of Biomechanics* 2003, 36, 1523-1527.
- [3] Murugan R., Ramakrishna S., Development of nanocomposites for bone grafting, *Composites Science and Technology* 2005, 65, 2385-2406.
- [4] Roether J.A., Boccaccini A.R., Hench L.L., Maquet V., Gautier S., Jérôme R., Development and in vitro characterisation of novel bioresorbable and bioactive composite materials based on polylactide foams and Bioglass® for tissue engineering applications, *Biomaterials* 2002, 23, 3871-3878.
- [5] Chłopek J., Bioactive carbon-ceramic composites, *Inżynieria Biomateriałów* 2004, 34, 3-5.
- [6] Mano J.F., Sousa R.A., Boesel L.F., Neves N.M., Reis R.L., Bioinert, biodegradable and injectable polymeric matrix composites for hard tissue replacement: state of the art and recent developments, *Composites Science and Technology* 2004, 64, 789-817.
- [7] Wang M., Yue C.Y., Chua B., Production and evaluation of hydroxyapatite reinforced polysulfone for tissue replacement, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2001, 12, 9, 821-826.
- [8] Deb S., Synthetic and Natural Degradable Polymeric Biomaterials, (in:) *Biomaterials Fabrication and Processing, Handbook*, Chu P.K., Liu X. (eds), CRC Press, Taylor & Francis Group 2008, 457-481.
- [9] Chłopek J., Kmita G., The study of lifetime of polymer and composite bone joint screws under cyclical loads and "in vitro" conditions, *Journal of Materials Science, Materials in Medicine* 2005, 16, 1051-1060.
- [10] Chłopek J., Kmita G., Non-metallic composite materials for bone surgery, *Rozprawy Inżynierskie* 2003, 51, 2-3.

- [11] Błażewicz M., Węgiel jako biomateriał. Badania nad biogodnością włókien węglowych, Ceramika, Polski Biuletyn Ceramiczny, vol. 63, Kraków 2001.
- [12] Błażewicz M., Zamorska L., Papież M., Żołnierek M., Menażek E., Nowak B., Biogodność nisko-karbonizowanych włókien węglowych o modyfikowanej powierzchni z tkankami zwierzęcymi, V Ogólnopolska Konferencja Farmaceutyczna, Kraków 1998.
- [13] Ramakrishna R., Mayer J., Wintermantel E., Leong K.W., Biomedical applications of polymer composite materials: a review, Composites Science and Technology 2001, 61, 1189-1224.
- [14] Kim H.-W., Kim H.-E., Salih V., Stimulation of osteoblast responses to biomimetic nanocomposites of Gelatin-hydroxyapatite for tissue engineering scaffolds, Biomaterials 2005, 26, 5221-5230.
- [15] Liao S.S., Cui F.Z., Zhang W., Feng Q.L., Hierarchically biomimetic bone scaffold materials: nano-HA/collagen/PLA composite, J. Biomed. Mater. Res. Appl. Biomater. 2004, 69, 158-165.
- [16] Thostenson E.T., Li Ch., Chou T.-W., Nanocomposites in context, Composites Science and Technology 2005, 65, 491-516.
- [17] Oonishi H., Development and application of bioceramics in orthopaedic surgery, (in:) Biomaterials, Hard Tissue Repair and Replacement, D. Muster (ed.), Elsevier Science Publisher, The Netherlands 1992, 17-40.
- [18] Dubok V.A., Bioceramics - Yesterday, Today, Tomorrow, Powder Metallurgy and Metal Ceramics 2000, 39, 7-8, 381-394.
- [19] Kim H.-W., Lee H.-H., Chun G.-S., Bioactivity and osteoblast responses of novel biomedical nanocomposites of bioactive glass nanofiber filled poly(lactic acid), Journal of Biomedical Materials Research Part A 2008, 85A, 3, 651-663.
- [20] Cao W., Hench L.L., Bioactive Materials, Ceramics International 1996, 22, 493-507.
- [21] Kasuga T., Nakajima K., Uno T., Yoshida M., Preparation of zirconia-toughened bioactive glass-ceramic composite by sinter-hot isostatic pressing, J. Am. Ceram. Soc. 1992, 75, 1103-1107.
- [22] White A.A., Best S.M., Hydroxyapatite-carbon nanotube composites for biomedical applications: a review, Int. J. Appl. Ceram. Technol. 2007, 4, 1-13.
- [23] Chłopek J., Rosół P., Morawska-Chochół A., Durability of polymer-ceramics composite implants determined in creep tests, Composite Science and Technology 2006, 66, 1615-1622.
- [24] Rosół P., Chłopek J., Schweder C., Kompozyty z polimerów biostabilnych i bioresorbowalnych modyfikowane bioaktywną ceramiką, Kompozyty (Composites) 2005, 5, 4, 25-31.
- [25] Yang F., Cui W., Xiong Z., Liu L., Bei J., Wang S., Poly-(l,l-lactide-co-glycolide)/tricalcium phosphate composite scaffold and its various changes during degradation *in vitro*, Polymer Degradation and Stability 2006, 91, 12, 3065-3073.
- [26] Ślósarczyk A., Biomateriały ceramiczne, (w:) Biocybernetyka i Inżynieria Biomedyczna 2000, pod red. M. Nałęcz, Tom 4 - Biomateriały, redaktorzy tomu: S. Błażewicz, L. Stoch, Akademicka Oficyna Wydawnicza Exit, Warszawa 2003, 99-156.
- [27] Rapacz-Kmita A., Paluszkiwicz C., Ślósarczyk A., Paszkiewicz Z., FTIR and XRD investigations on the thermal stability of hydroxyapatite during hot pressing and pressureless sintering processes, Journal of Molecular Structure 2005, 744-747, 653-656.
- [28] Boccaccini A.R., Blaker J.J., Maquet V., Day R.M., Jérôme R., Preparation and characterisation of poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) and PLGA/BioglassR composite tubular foam scaffolds for tissue engineering applications, Materials Science and Engineering C 2005, 25, 23-31.
- [29] Teixeira S., Fernandes M.H., Ferraz M.P., Monteiro F., Adhesion and Proliferation of human bone marrow cells on hydroxyapatite and hydroxyapatite/collagen porous scaffolds for bone tissue engineering, 8th World Biomaterials Congress, Amsterdam, 28 May-1 June 2008, 1138.
- [30] Ijiri S., Nakamura T., Fujisawa Y., Hazama M., Komatsudani S., Ectopic bone induction in porous apatite-wollastonite-containing glass ceramic combined with bone morphogenic protein, J. Biomed. Mater. Res. 1997, 35, 421-32.
- [31] An Y.H., Woolf S.K., Friedman R.J., Pre-clinical in vivo evaluation of orthopaedic bioabsorbable devices, Biomaterials 2000, 21, 2635-2652.
- [32] Gogolewski S., Bioresorbable polymers in trauma and bone surgery, Injury 2000, 31, Supplement 4, D28-D32.
- [33] Bertoldi C., Zaffe D., Consolo U., Polylactide/polyglycolide copolymer in bone defect healing in humans, Biomaterials 2008, 29, 1817-1823.
- [34] Gryń K., Chłopek J., Rusztowania hydroksyapatytowe do zastosowań medycznych wykonane metodą „Robocasting” - wstępne testy / Hydroxyapatite scaffolds by „Robocasting” for medical applications - preliminary tests, Engineering of Biomaterials/Inżynieria Biomateriałów 2008, 76, 13-16.
- [35] Gryń K., Chłopek J., Saiz E., Tomsia A.P., Sposób wytwarzania materiałów o kontrolowanej porowatości z hydroksyapatytu przy wykorzystaniu metody robocasting, Inżynieria Biomateriałów 2007, 62, 26-29.
- [36] Gigante A., Cesari E., Busilacchi A., Manzotti S., Kyriakidou K., Greco F., Di Primio R., Mattioli-Belmonte M., Collagen I membranes for tendon repair: Effect of collagen fiber orientation on cell behavior, Journal of Orthopaedic Research, Published Online: 4 Dec 2008.
- [37] Stodolak E., Badania nad modyfikacją powierzchniową i wpływem włókien na materiał polimerowy i odpowiedź komórkową, Rozprawa doktorska, AGH, Kraków 2006.
- [38] Rosół P., Chłopek J., Schweder C., Kompozyty z polimerów biostabilnych i bioresorbowalnych modyfikowane bioaktywną ceramiką, Kompozyty (Composites) 2005, 4, 25-31.
- [39] Chłopek J., Kmita G., Rosół P., Lifetime prediction of polymer composite implants based on creep and fatigue tests, Annals of Transplantation 2004, 9, 1A suppl., 26-29.
- [40] Rosół P., Krzanowski W., Migacz K., Wpływ procesu pełzania w warunkach *in vitro* na czas życia poli(laktydo-koglikolidu) i jego kompozytów, Inżynieria Biomateriałów 2004, 38-42, 175-178.
- [41] Chłopek J., Kmita G., Dobrzyński P., Bero M., Właściwości zmęczeniowe śrub z kopolimeru P(LLA/GLA) oraz kopolimeru wzmocnianego włóknem węglowym, Inżynieria Biomateriałów 2002, 23, 24, 25, 88-90.
- [42] Chłopek J., Migacz K., Projektowanie biomateriałów gradientowych o założonych modułach Younga i ich analiza eksperymentalna, Inżynieria Biomateriałów 2008, 81-84, 12-16.
- [43] Kubair D.V., Bhanu-Chandar B., Mode-3 spontaneous crack propagation along functionally graded bimaterial interfaces, Journal of the Mechanics and Physics of Solids 2007, 55, 1145-1165.
- [44] Chłopek J., Szaraniec B., Michalska M., Bioaktywne kompozyty gradientowe, Inżynieria Biomateriałów 2006, 58-60, 94-97.
- [45] Liao S.S., Cui F.Z., Zhu X.D., Osteoblasts adherence and migration through three-dimensional porous mineralized

- collagen based composite: nHAC/PLA, *J. Bioactive Compat. Polym.* 2004, 19, 117-130.
- [46] Ginebra M.P., Driessens F.C., Planell J.A., Effect of the particle size on the micro and nanostructural features of a calcium phosphate cement: A kinetic analysis, *Biomaterials* 2004, 25, 3453-3462.
- [47] Li H.-Y., Chen Y.-F., Xie Y.-S., Nanocomposites of cross-linking polyanhydrides and hydroxyapatite needles: mechanical and degradable properties, *Materials Letters* 2004, 58, 2819-2823.
- [48] Chłopek J., Czajkowska B., Szaraniec B., Frackowiak E., Szostak K., Béguin F., In vitro studies of carbon nanotubes biocompatibility, *Carbon* 2006, 44, 1106-1111.
- [49] Ye J., Shi X., Jones W., Rojanasakul N., Cheng N., Cheng D., Critical role of glass fiber length in TNF-alpha production and transcription factor activation in macrophages, *Am. J. Physiol.* 1999, 276, 426-434.
- [50] Smart S.K., Cassady A.I., Lu G.Q., Martin D.J., The biocompatibility of carbon nanotubes, *Carbon* 2006, 44, 1034-1047.