

# P O L I M E R Y

MIESIĘCZNIK POŚWIĘCONY CHEMII, TECHNOLOGII I PRZETWÓRSTWU POLIMERÓW

JAN ŁUKASZCZYK<sup>\*)</sup>, MONIKA ŚMIGA-MATUSZOWICZ

Politechnika Śląska

Katedra Fizykochemii i Technologii Polimerów

ul. M. Strzody 9, 44-100 Gliwice

## Polimerowe i kompozytowe cementy kostne oraz materiały pokrewne

### Cz. II. KOMPOZYCJE RESORBOWALNE I WYKAZUJĄCE AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNĄ<sup>\*\*)</sup>

**Streszczenie** — Artykuł stanowi przegląd literatury (112 poz. lit.) dotyczący bioaktywnych cementów kostnych oraz biodegradowalnych kompozycji cementowych. Przedstawiono materiały wykazujące bioaktywność dzięki zawartości nieorganicznych napełniaczy nadających im właściwości osteokondukcyjne oraz cementy o właściwościach bakteriobójczych z udziałem różnego rodzaju antybiotyków. Opisano także różne metody otrzymywania biodegradowalnych cementów kostnych, mające na celu uzyskanie optymalnego materiału do tymczasowego wypełniania ubytków tkanki kostnej i jej wzmocnienia w miejscach uszkodzeń mechanicznych lub wywołanych czynnikami chorobowymi. Scharakteryzowano skład i właściwości biodegradowalnych kompozycji opartych na poli(fumaranie 1,2-propylenu) (PPF) lub metakrylanowanych polibezwodnikach.

**Słowa kluczowe:** cementy kostne, aktywność biologiczna, biodegradowalne kompozycje cementowe.

POLYMER AND COMPOSITE BONE CEMENTS AND RELATED MATERIALS. PART II. RESORBABLE AND BIOACTIVE COMPOSITIONS

**Summary** — This literature review (112 references) concerns bioactive bone cements and biodegradable cement compositions. The materials showing biological activity due to inorganic fillers giving them osteoconductive properties, and the cements with antibacterial properties containing various antibiotics were presented. Various methods of biodegradable bone cements preparation to reach the optimal materials for either temporary filling of bone tissue losses or bone tissue reinforcement at the places of mechanical or pathological injuries were described. The compositions and properties of biodegradable systems based on poly(1,2-propylene fumarate) (PPF) or methacrylated polyanhydrides have been characterized.

**Key words:** bone cements, biological activity, biodegradable cement compositions.

Klasyczne, handlowe cementy kostne stanowią dwuskładnikowe układy typu płyn/proszek, które po zmieszaniu składników zestalają się w ciągu kilku do kilku-

nastu minut w wyniku polimeryzacji rodnikowej monomeru [zwykle metakrylanu metylu (MMA)] zawartego w składniku ciekłym. Tego typu utwardzalne *in situ* biomateriały wprowadzono do użytku w latach sześćdziesiątych ubiegłego wieku [1] jako materiał do mocowania protez stawu biodrowego w otworach wydrążonych

<sup>\*)</sup> Autor do korespondencji; e-mail: Jan.Lukaszczyk@polsl.pl

<sup>\*\*)</sup> Cz. I. por. [4].

w kości. Współcześnie na świecie wykonuje się rocznie już ok. miliona operacji wymiany stawów biodrowego oraz kolanowego [2], w czasie których implant jest unieruchamiany w kości często przy użyciu cementu kostnego, jednak opinie na temat artroplastyki cementowej i bezcementowej są różne [3]. Od chwili wprowadzenia do praktyki klinicznej materiały tego typu oraz technika ich użycia ulegały ciągłej ewolucji zmierzającej do ograniczenia wad, a także zwiększenia zakresu ich wykorzystania [4] na drodze dostosowywania ich właściwości do określonych zastosowań. W wyniku stałego rozwoju technologii wytwarzania oraz zróżnicowania właściwości, obecnie na rynku dostępnych jest już ponad 70 rodzajów cementów akrylanowych [5].

Jedną z cech metakrylanowych cementów kostnych, która, w zależności od przeznaczenia, może stanowić ich zaletę lub wadę jest stosunkowo duża trwałość wchodzących w ich skład polimerów typu polimetakrylanowego w warunkach fizjologicznych. Właściwość ta jest zaletą, gdy cement wykorzystuje się do trwałego unieruchomienia endoprotezy stawowej w kości, w przypadku, zaś gdy cement służy do wypełniania ubytków tkanki kostnej, np. w kompresyjnym złamaniu kręgu, trwałość wypełnienia wyklucza odtworzenie tej tkanki, co byłoby możliwe a także z różnych względów korzystne u młodych pacjentów. Większa sztywność i wytrzymałość mechaniczna implantu niż otaczającej kości powoduje niekorzystne zmiany tkanki kostnej opisane tzw. prawem Wolffa [6]. Według tego prawa, im mniejsze są naprężenia przenoszone przez kość, tym mniejsza jest jej gęstość, a zatem i wytrzymałość. Mocny i sztywny implant odciąża kość, co prowadzi do osłabienia otaczającej tkanki kostnej i zwiększa ryzyko ponownego jej uszkodzenia. Z tego względu byłoby korzystne, aby implant w postaci cementu kostnego nie wykluczał odtwarzania tkanki kostnej, ale wspomagał ten proces.

Zrozumienie wspomnianych problemów oraz rozszerzenie zakresu stosowania utwardzalnych *in situ* biomateriałów poza tradycyjną artroplastykę zaowocowało pojawieniem się koncepcji tzw. cementów bioaktywnych oraz cementów biodegradowalnych, a więc resorbowalnych. Pomimo to, że bioaktywność cementów może być w pełni wykorzystana jedynie w przypadku cementów resorbowalnych, badania nad cementami wykazującymi obydwie cechy są prowadzone niezależnie i w tej publikacji omówione zostaną oddzielnie.

#### CEMENTY BIOAKTYWNE

Pojęcie cementu bioaktywnego w obszernej literaturze tematu jest kojarzone z jego osteoindukcyjnością, a więc zdolnością do wspomagania odbudowy tkanki kostnej wynikającą z udziału tzw. bioaktywnych napełniaczy. W praktyce klinicznej jednak często stosuje się cementy bioaktywne wykazujące innego rodzaju aktywność biologiczną, mianowicie właściwości bakterio-bójcze zapewniające duże lokalne stężenie antybiotyku

w ciągu kilku dni po operacji. Te ostatnie produkuje się przemysłowo jako specjalne wersje innych cementów, bądź przygotowuje bezpośrednio przed operacją w wyniku dodania antybiotyku do składnika proszkowego klasycznego cementu metakrylanowego. Ze względu na praktyczne znaczenie tego typu cementów również omówiono je w niniejszym artykule.

#### Cementy z napełniaczami bioaktywnymi

Do wad powszechnie wykorzystywanych klasycznych cementów metakrylanowych zalicza się m.in. powodowanie powstawania warstwy martwiczej wokół implantu głównie w wyniku efektu termicznego polimeryzacji. Po wchłonięciu martwej tkanki w jej miejsce tworzy się słaba mechanicznie tkanka łączna [4–7], która przyczynia się do minimalnej ruchliwości implantu oraz akumuluje cząstki materiału uwalniane w procesie ścierania współpracujących powierzchni. Wywołany w ten sposób odczyn zapalny może w rezultacie prowadzić do osteolizy, zwiększenia luzu i konieczności operacji rewizyjnej. Koncepcja rozwiązania tego problemu polegała na nadaniu odpowiednich właściwości implantowi, dzięki którym następowało pobudzenie otaczającej tkanki kostnej do wypełnienia ewentualnej szczeliny na styku faz kość/implant. Cementy o takich właściwościach nazwano bioaktywnymi.

Pobudzanie kości otaczającej implant do przebudowy i wypełniania pustych miejsc jest ważne nie tylko w procesie unieruchamiania części sztucznych stawów, ale również w przypadku wypełniania chorobowych lub urazowych ubytków tkanki kostnej przez specjalnie do tego celu opracowane cementy określone jako wypełniacze dziur w kości (*bone void fillers*). Biomateriały tego rodzaju zestawiające się w implant w miejscu przeznaczenia, mogą mieć charakter nieorganiczny, glass-jonomerowy lub charakter cementu akrylanowego zawierającego bioaktywny napełniacz.

Opisano już wiele substancji lub mieszanin nieorganicznych wykazujących tego typu aktywność biologiczną [8] oraz możliwości ich wykorzystania w cementach hydraulicznych i glass-jonomerowych. Niektóre z nich zastosowano również jako napełniacze lub, podobnie jak sproszkowane kości oraz ludzki hormon wzrostu (hGH), jako dodatki do cementów akrylanowych [6]. Bioaktywne napełniacze, poza tymi ostatnimi, zalicza się do grupy fosforanów wapnia lub szkieł bioaktywnych. Tkanka kostna natomiast stanowi skomplikowany układ nieorganiczno-organiczny zbudowany głównie z hydroksyapatytu i kolagenu. Tworzenie, odtwarzanie oraz przebudowa kości wiąże się z krystalizacją, rozpuszczaniem i rekrystalizacją hydroksyapatytu wokół mikrowłókien kolagenu. Obecność fosforanów wapnia blisko miejsca uszkodzenia tkanki kostnej jest więc czynnikiem sprzyjającym jej odbudowie, jednak stymulacja tych procesów jest bardziej złożona gdyż wywołują ją różne czynniki. Stymulujące działanie w przypadku

cementów akrylanowych uzyskuje się zazwyczaj w wyniku dodania do składnika proszkowego cementu cząstek hydroksyapatytu oraz szkieł bioaktywnych, np. apatytowo-wolastonitowych ( $\text{MgO-CaO-SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-CaF}_2$ ), ewentualnie w mieszaninie z chitozaniem [2] lub innym biodegradowalnym polimerem generującym porowatość utwardzonego cementu, co umożliwia wytrącanie się fosforanów wapnia [9]. Bioaktywność kompozycji cementowej bez udziału napełniaczy bioaktywnych stwierdzono również po wprowadzeniu do niej rozpuszczalnych związków wapnia, przede wszystkim  $\text{CaCl}_2$  oraz alkoksylanów, które w warunkach fizjologicznych generowały grupy hydroksylowe a jak wiadomo obecność zarówno jonów  $\text{Ca}^{2+}$ , jak i grup OH sprzyja tworzeniu warstwy apatytu na powierzchni kształtek pozostających w kontakcie z naturalnymi lub sztucznymi płynami ustrojowymi [2, 10].

Specyficzne wymagania stawiane materiałom używanym w wertebroplastyce i kyfoplastyce, tj. przede wszystkim ich bioaktywność (uzyskiwana dzięki wprowadzeniu hydroksyapatytu) a także właściwości silnie kontrastujące z zachowaniem niewielkiej lepkości skierowały zainteresowanie badaczy na napełniacze hydroksyapatytowe zawierające stront [11–14]. Związki strontu bowiem wykazują zdolność do kontrastowania, a jednocześnie korzystnie wpływają na osseointegrację. Zastąpienie, w ilości 10 % mas. tradycyjnych środków kontrastujących, takich jak  $\text{BaSO}_4$  lub  $\text{ZrO}_2$  hydroksyapatytem z udziałem strontu pozwala na uzyskanie właściwości dostatecznie kontrastujących bez niepożądanego pogorszenia charakterystyki reologicznej płynnej kompozycji [15].

### Cementy o właściwościach bakteriobójczych

Stosowanie cementów wykazujących działanie antybakteryjne jest podyktowane koniecznością zapobiegania, trudnej do późniejszego leczenia, infekcji zarówno urazowej, jak i — zdarzającej się niekiedy — operacyjnej. Cementy tego typu wykorzystywane w praktyce klinicznej już ok. 30 lat i opisywane w literaturze są typowymi cementami metakrylanowymi z udziałem antybiotyku lub innego środka bakteriobójczego [16]. Dodawany do nieutwardzonej kompozycji stały antybiotyk bądź jego roztwór wodny powoduje jednak pogorszenie właściwości mechanicznych utwardzonego cementu [17].

Często używanym środkiem bakteriobójczym jest gentamycyna [18–21], która ma nie tylko szerokie spektrum działania (bakterie gram-dodatnie i gram-ujemne), ale również stosunkowo dobrze uwalnia się z utwardzonego cementu, co przez kilka dni zapewnia wysokie lokalne stężenie leku. Skuteczność działania antybiotyku wiąże się z szybkością jego uwalniania z utwardzonego cementu, stąd też wiele uwagi poświęcono opracowaniu metod oznaczania uwolnionej gentamycyny [22] oraz możliwości wpływania na szybkość tego procesu

poprzez wprowadzanie do cementu różnych dodatków [23, 24] lub zewnętrznej stymulacji ultradźwiękami [25–27]. Stwierdzono, że substancje obojętne, takie jak laktoza lub hydroksypropyloceluloza [20] przyspieszają wydzielanie gentamycyny, natomiast wpływ innych dodatków biologicznie aktywnych zależy od ich charakteru. Obecność w cemencie drugiego antybiotyku, np. klindamycyny nie zmienia dynamiki uwalniania gentamycyny, poprawia jednak efektywność przeciwdziałania tworzeniu biofilmu [28].

Te dwa antybiotyki wykorzystano w antybakteryjnych cementach firmy Biomet Merck: Refobacin<sup>®</sup>-Palacos<sup>®</sup> R i Palamed<sup>®</sup>G (zawierające gentamycynę wersje cementów Palacos<sup>®</sup> i Palamed<sup>®</sup>) oraz Copal<sup>®</sup> (Refobacin<sup>®</sup>-Palacos<sup>®</sup> R z dodatkiem klindamycyny) [29]. Zaobserwowano, że wzrost porowatości i chropowatości powierzchni zwiększa szybkość uwalniania leku [30], która rośnie również w warunkach cyklicznego obciążania utwardzonego cementu, tzn. w przypadku jego zastosowania przy wymianie stawów [31], w szczególności stawu biodrowego lub kolanowego.

W USA stałą postacią antybiotyku miesza się ręcznie ze składnikiem proszkowym cementu, w Europie natomiast używa się mieszanek przygotowanych fabrycznie, w związku z tym wykonano również badania dotyczące wpływu sposobu mieszania na charakterystykę fizyczną, mechaniczną i termiczną cementu. Stwierdzono, że sposób mieszania (ręczny lub przy użyciu miksera) statystycznie nie zmienia ocenianych właściwości, natomiast ich powtarzalność jest lepsza w przypadku mieszania mechanicznego [32].

Poza gentamycyną, do metakrylanowych cementów kostnych wprowadzano także inne antybiotyki, mianowicie wspomniane już klindamycynę [24], tobramycynę z wankomycyną (55:45) [33, 34], samą tobramycynę [35], wankomycynę z meropenem [36], linezolid z gentamycyną [37] oraz ciprofloxacynę indywidualnie lub z wankomycyną [38]. W charakterze modelowego leku w kompozycjach cementowych zawierających bioaktywne szkliwo A-W GC użyto również Cephalexinu [39]. Pomimo szerokiego spektrum działania wymienionych antybiotyków w infekcjach wywołanych przez niektóre szczepy bakteryjne nie są one skuteczne. W takich przypadkach efektywna okazała się nanodispersja srebra (*NanoSilver*) dodana do cementu w ilości 1 % mas. [40]. Opisano też próby wykorzystania bakteriostatycznego działania czwartorzędowych soli amoniowych polegające na wprowadzaniu do cementu odpowiednich monomerów zastępujących część metakrylanu metylu [41, 42]. Jako antybakteryjny napełniacz cementu akrylanowego posłużyły również mikrosfery chitozanu, w którym grupy aminowe poddano czwartorzędowaniu [43]. W publikacji [44] omówiono efekt zastąpienia dimetylo-*p*-toluidyny w klasycznym układzie inicjującym 4,4'-bis-dimetyloaminobenzhydrolem wykazującym właściwości antyseptyczne. Działanie przeciwdziałające i równocześnie przeciwbólne cementu próbowano uzyskać



w wyniku dodania do układu tzw. fosfosalu (2-fosfonosybenzoesu sodu) [45].

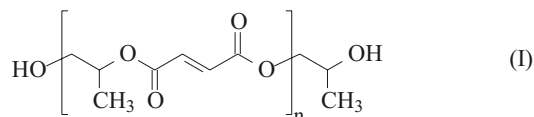
Do cementów kostnych wprowadzano również substancje czynne o działaniu wykraczającym poza bakteriostatyczne lub bakteriobójcze, np. metothreksate traktowany najczęściej jako lek przeciwnowotworowy [46]. Wiele doniesień literaturowych dotyczy także zastąpienia tradycyjnych środków kontrastujących, dopuszczonym przez FDA do stosowania jako lek, salicylanem bizmutu, który równocześnie okazał się efektywnym kontrastem [2, 38, 47, 48].

### CEMENTY RESORBOWALNE

Zadaniem cementów kostnych zarówno resorbowalnych, jak i niedegradowalnych w organizmie człowieka jest wypełnianie ubytków tkanki kostnej i wzmacnianie jej w miejscach uszkodzeń mechanicznych lub spowodowanych czynnikami chorobowymi, takimi jak np. nowotwory. Różnica polega na tym, że materiał biodegradowalny ma jedynie tymczasowo spełniać funkcje wzmacniające, gdyż dzięki swej podatności na degradację w warunkach fizjologicznych ulega resorpcji, umożliwiając tym samym regenerację tkanki kostnej. Prace dotyczące biodegradowalnych biomateriałów utwardzalnych *in situ* trwają od 1996 r., w którym A. Domb rozpoczął badania nad materiałami opartymi na poli(fumaranie 1,2-propyleny) [49].

#### Cementy na podstawie poli(fumaranu 1,2-propyleny)

Poli(fumaran 1,2-propyleny) (PPF) jest liniowym nienasyconym poliestrem, a zawarte w jego łańcuchu głównym wiązania podwójne mogą być wykorzystane do sieciowania w procesie homopolimeryzacji lub kopolimeryzacji z różnego typu monomerami winylowymi [wzór (I)]. PPF o niewielkim ciężarze cząsteczkowym (do 2000) syntezowano różnymi sposobami [50–52], przy czym najdogodniejszą metodą otrzymywania PPF



o szerokim zakresie ciężarów cząsteczkowych ( $M_n = 700\text{--}12\,000$ ,  $MWD = 1,5\text{--}3$ ) okazała się prowadzona pod obniżonym ciśnieniem (<1 mmHg), transestryfikacja fumaranu bis(2-hydroksypropyly) glikolem 1,2-propylenowym [49, 53–56].

W warunkach fizjologicznych PPF ulega degradacji do nietoksycznych związków małej cząsteczkowej, takich jak glikol propylenowy oraz kwas fumarowy obecny w organizmie człowieka i biorący udział w przemianach biochemicznych (cykl Krebsa) [57, 58].

Oligofumarany o ciężarze cząsteczkowym  $M_n = 700\text{--}1800$ , w mieszaninie z monomerami o małej lep-

kości {metakrylanem metyly (MMA) [49, 53, 59] lub *N*-winylopirolidonem (VP) [49, 60–68]}, jak również z biodegradowalnymi makromonomerami [67–71], w obecności odpowiednich systemów inicjujących {zwykle układu nadtlenuk benzoilu/*N,N'*-dimetylo-*p*-toluidyna (BPO/DMPT) [49, 53, 59–69, 71, 72]} lub fotoinicjatorów [70, 71, 73–79] tworzą materiał usieciowany. Właściwości mechaniczne takich utwardzonych materiałów zależą od składu kompozycji cementowej oraz od rodzaju zastosowanego monomeru sieciującego. W celu poprawienia wytrzymałości mechanicznej wprowadzano do cementów bioaktywne napełniacze mineralne, takie jak trifosforan wapnia ( $\beta$ -TCP), węglan wapnia lub hydroksyapatyt (HA) [49, 53, 59–67, 72].

Pionierem w pracach nad otrzymywaniem usieciowanych materiałów opartych na PPF był zespół A. Domba [49, 53], który prowadził badania trzech grup materiałów na podstawie oligomerów fumaranu propyleny ( $M_n = 750$ ,  $MWD = 2,4$ ) zakończonych grupami hydroksylowymi (PPF-diol), akrylowymi (PPF-diwinyl) lub epoksydowymi (PPF-diepoksyd). Kompozycje o konsystencji pasty sieciowane układem BPO/DMPT sporządzano przez zmieszanie oligomeru, układu inicjującego, monomeru oraz węglanu wapnia i  $\beta$ -TCP (70 % mas.). Jako monomery zastosowano: MMA, VP lub ich mieszaninę w stosunku masowym 1:1. Do niektórych układów w charakterze rozcieńczalnika ułatwiającego homogenizację dodawano *N*-metylopirolidonu (MP) lub mleczanu etylu (EL). Wykazano, że zarówno właściwości mechaniczne, jak i szybkość degradacji hydrolytycznej tych kompozytów zależą od rodzaju grup końcowych użytego PPF. Materiałami charakteryzującymi się największą wytrzymałością na ściskanie były kompozycje uzyskane z PPF-diwinylu współsieciowanego z mieszaniną MMA i VP (129,7 MPa) lub samym MMA (60,4 MPa). Najslabszy okazał się cement bez dodatku monomeru zawierający wyłącznie PPF-diol.

Wprowadzenie MP lub EL do kompozycji cementowej przed utwardzeniem w celu poprawienia jej homogeniczności, znacznie pogarsza wytrzymałość na ściskanie rozpatrywanych cementów po utwardzeniu. Najkorzystniejszy ze względu na wytrzymałość mechaniczną i podatność na biodegradację okazał się kompozyt PPF-diwinyl utwardzany bez udziału monomerów (wytrzymałość na ściskanie wynosiła 43,4 MPa).

W badaniach degradacji hydrolytycznej wyróżniono dwie grupy materiałów: I — kompozyty zawierające MMA o większej gęstości usieciowania ograniczającej dostęp wody (chłonność wody 3 % mas.) oraz II — kompozyty sieciowane bez udziału monomerów o luźnej sieci polimerowej, do wnętrza której woda ma łatwiejszy dostęp (chłonność wody 5–10 % mas.). Ubytek masy kompozytów pierwszej grupy po 4 tygodniach przechowywania w buforze wynosi zaledwie 15 %, natomiast kompozytów grupy II sięga 35 %.

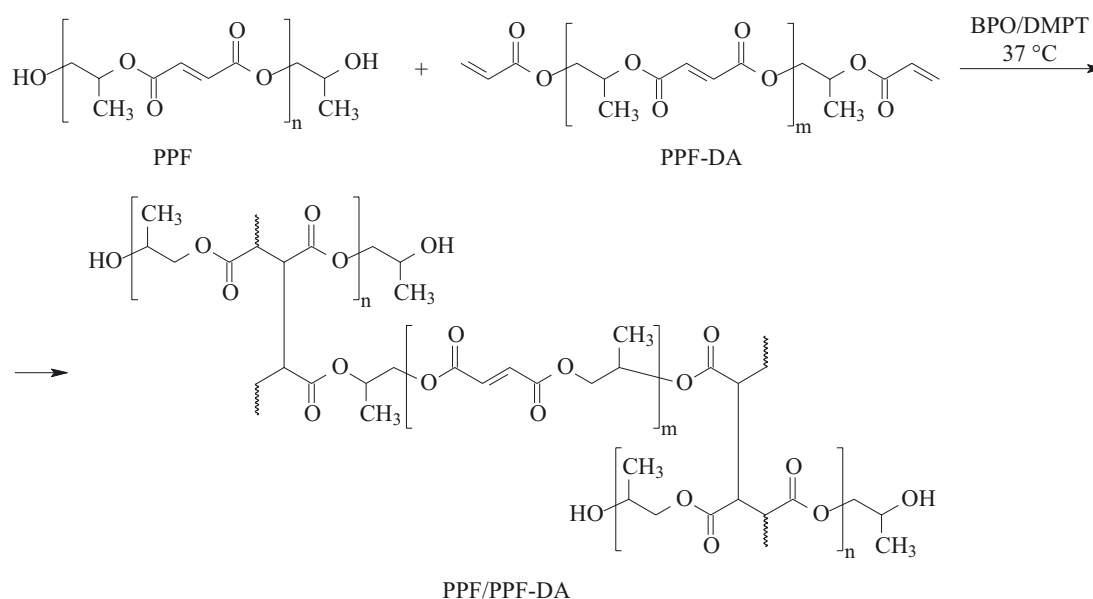
Materiałami na podstawie PPF przez wiele lat zajmowały się zespoły badawcze D. Trantolo [60, 66, 67] oraz

A. Mikosa [61—65, 68—80]. Pierwsze ich prace dotyczyły właściwości materiałów kompozytowych, w skład których oprócz PPF ( $M_n = 2500$  lub  $M_n = 5000$ ) wchodziły VP,  $\beta$ -TCP oraz ewentualnie chlorek sodu (NaCl, uziarnienie 300—500  $\mu\text{m}$ ) wprowadzany w charakterze porogenu. Badano wpływ ciężaru cząsteczkowego PPF, zawartości VP, BPO a także NaCl na maksymalną temperaturę i czas utwardzania, wytrzymałość oraz moduł przy ścisaniu [64], oceniano również zależność wytrzymałości mechanicznej od procesu degradacji hydrolytycznej kompozytu [61, 62]. Maksymalna temperatura utwardzania tych materiałów mieściła się w zakresie 38—48 °C i spadała wraz ze wzrostem ciężaru cząsteczkowego PPF i zmniejszeniem stosunku VP/PPF. Czas utwardzania określony głównie ilością użytego inicjatora wynosił 1—121 min. Wytrzymałość (1—12 MPa) i moduł przy ścisaniu (23—265 MPa) rosły wraz z malejącym udziałem VP i zwiększającą się zawartością BPO. Na podstawie badań degradacji hydrolytycznej prowadzonej *in vitro* stwierdzono, że zmiany wytrzymałości i sztywności degradowanych materiałów zależą od zawartości w kompozycji VP i  $\beta$ -TCP. Wytrzymałość i moduł przy ścisaniu na pierwszym etapie degradacji (do 12 tygodni) nie zmieniają się lub rosną, co, według autorów, wynika z przebiegu reakcji końcowych grup karboksylowych oligofumaranu oraz powstającego podczas degradacji kwasu fumarowego z kationami wapnia.

Materiały o opisywanym składzie poddano również badaniom biologicznym [63, 65, 66, 68]. Wstępna ocena biokompatybilności wykonywana *in vivo* na szczurach wykazała, że obecność kompozytu wywołuje takie zjawiska jak obserwowane podczas naprawy niewielkich uszkodzeń tkanki kostnej. Po 1 dobie od implantacji występuje łagodny, charakteryzujący się krwawieniem i wysiękiem płynu stan zapalny, po którym następuje wy-

tworzenie otoczki implantu w postaci cienkiej warstwy tkanki włóknistej (do 12 tygodni). Zdaniem autorów stan zapalny jest efektem zakłócenia lokalnej równowagi elektrolitowej przez wymywający się z implantu NaCl oraz resztkowy monomer, jak również samego zabiegu chirurgicznego. Enkapsulacja implantu włóknistą tkanką jest natomiast typową reakcją organizmu na implantację biomateriału. Dalsze testy biologiczne prowadzone *in vitro* na szczurzych komórkach macierzystych szpiku kostnego dowiodły, że kompozyty PPF/VP/ $\beta$ -TCP wykazują działanie osteokondukcyjne, gdyż zaobserwowano kolonizację komórek, ich proliferację oraz różnicowanie w osteoblasty na powierzchni implantów.

Zastosowanie biodegradowalnego, opartego na PPF makromonomeru, zawierającego na końcach łańcucha reaktywne grupy akrylanowe (PPF-DA) pozwoliło na wyeliminowanie ze składu kompozycji cementowych małowielkościowych monomerów sieciujących [57, 69—73]. Do sieciowania PPF ( $M_n = 1700$ ,  $MWD = 1,98$ ) wykorzystano dwa typy makromonomerów PPF-DA z udziałem jednej ( $m = 1$ ) lub dwóch ( $m = 2$ ) jednostek fumaranowych (schemat A). Właściwości mechaniczne tych materiałów zależą od stosunku liczby wiązań podwójnych znajdujących się w PPF i PPF-DA (PPF/PPF-DA) oraz od ciężaru cząsteczkowego makromonomerów. Naprężenie ścisające przy zniszczeniu kompozycji usieciowanych za pomocą PPF-DA ( $m = 1$ ) rosło od 11,2 do 66,2 MPa wraz ze zmniejszeniem stosunku wiązań podwójnych PPF/PPF-DA z 4 do 0,5. W odniesieniu do tych samych kompozycji obserwowany był również wzrost modułu przy ścisaniu od 19,4 do 340,2 MPa. Rezultatem zwiększenia ciężaru cząsteczkowego sieciującego makromonomeru PPF-DA ( $m = 2$ ) było większe naprężenie ścisające przy zniszczeniu (z 14,4 do 88,2 MPa), a także moduł przy ścisaniu (z 28,0 do 480,4 MPa).



Schemat A. Reakcja sieciowania PPF z udziałem PPF-DA [57]

Scheme A. Crosslinking reaction of PPF with PPF-DA [57]

Wśród produktów przyspieszonej degradacji hydrolytycznej utwardzonych materiałów stwierdzono obecność glikolu propylenowego i kwasu fumarowego oraz kopolimeru kwasu akrylowego i kwasu fumarowego o  $M_n = 2340$  (wyznaczonej metodą GPC). Badania postępu degradacji hydrolytycznej kompozytów otrzymanych z PPF/PPF-DA zawierających 33 % mas.  $\beta$ -TCP, w ciągu 52 tygodni przebywania w buforze o pH = 7,41 i w temp. 37 °C wykazały jednak powolny ubytek masy degradowanych próbek. Po 1 roku maksymalny ubytek masy wyniósł 17 %. Autorzy sugerują, że za tę słabą podatność materiału na degradację odpowiada niewielka chłonność wody (1,5 % mas.). Wytrzymałość na ściskanie a także moduł kompozytu rosną w ciągu pierwszych 12 tygodni degradacji, a następnie powoli spadają do wartości początkowych.

Badania nad materiałami PPF/PPF-DA dotyczyły również wpływu rodzaju inicjatora i metody sieciowania na właściwości otrzymanych utwardzonych materiałów [71]. Porównywano właściwości mechaniczne kompozytów sieciowanych za pomocą układu inicjującego BPO/DMPT lub promieniowania UV w obecności tlenku bis(2,4,6-trimetylobenzoilo)fenylofosfiny (BAPO). Stwierdzono, że niezależnie od stężenia BAPO, kompozycje utwardzane pod wpływem UV charakteryzowały się większym modułem przy ścisaniu (310—1270 MPa) i wytrzymałością na ściskanie (58—129 MPa) niż sieciowane w wyniku inicjacji układem BPO/DMPT (odpowiednio 75—332 MPa i 31—105 MPa). Zjawisko to jest konsekwencją wyższego stopnia przereagowania wiązań podwójnych zarówno fumarowych, jak i akrylowych, a co za tym idzie większej gęstości sieci tworzących się w procesie fotopolimeryzacji. Wobec uzyskanych wyników dalsze badania dotyczyły wyłącznie kompozycji PPF/PPF-DA utwardzanych promieniowaniem UV.

W przypadku uszkodzeń kości jest możliwe przeprowadzenie zabiegu operacyjnego, w toku którego do utwardzenia wprowadzonego materiału wykorzystuje się promieniowanie UV. W tym celu w uszkodzonym miejscu (ubytku kostnym) umieszcza się przewód dostarczający kompozycję cementową zawierającą fotoinicjator a równolegle prowadzonym światłowodem przesyła się promieniowanie laserowe. Przebieg zabiegu kontroluje się za pomocą aparatu rentgenowskiego, co umożliwia bardzo dokładną warstwową fotopolimeryzację. Taką samą metodą można łączyć złamane kości [81]. Światłoutwardzalny materiał może być zatem zastosowany jako wstrzykiwalny, utwardzalny w miejscu aplikacji cement do wypełniania ubytków o niewielkiej objętości, a także w inżynierii tkankowej jako prefabrykowany implant (porowate rusztowanie — *scaffold*) [67, 73, 76—79, 82], zawierający czynniki wzrostu tkanki kostnej (BMP, TGF- $\beta$ ) [79, 83]. Użyteczną metodą produkcji tego typu matryc, o ściśle określonym kształcie i wymiarach jest stereolitografia [84—87]. Pewną modyfikacją polifumaranowych porowatych rusztowań było

wprowadzenie do nich mikrocząstek poli(laktydu-ko-glikolidu) (PLGA), zawierających czynniki wzrostu [88—90]. Degradacja hydrolytyczna tych rusztowań, pomimo obserwowanej degradacji mikrocząstek PLGA nie zachodziła szybciej niż rusztowań z samego PPF. Ponadto, nie zaobserwowano wyraźnego wpływu ilości PLGA i zawartości wymywalnego porogenu (NaCl) na degradację prowadzoną *in vitro* przez 26 tygodni. Badania degradacji prowadzonej *in vivo* w ciągu 18 tygodni (kość promieniowa królika, 15 mm ubytek) również wykazały jedynie nieznaczny ubytek masy wszczepionego implantu.

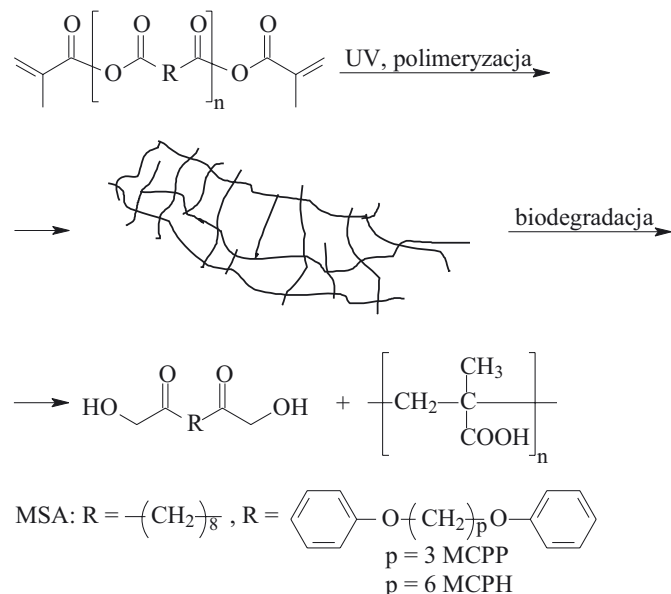
Najnowsze doniesienia literaturowe odnoszą się do próby wykorzystania implantów z PPF w charakterze resorbowalnych matryc do kontrolowanego uwalniania leków przeciwzapalnych (w tym kortykosteroidów) [91—93] a także uzyskiwania nanokompozytowych matryc polifumaranowych napełnianych nanocząstkami hydroksyapatytu [94, 95].

### Cementy na podstawie metakrylanowanych polibezwodników

Polibezwodniki to grupa polimerów, która znalazła już zastosowanie w medycynie w charakterze polimerowych matryc w systemach kontrolowanego uwalniania leków, została też zaakceptowana przez amerykański Federalny Urząd Żywności i Leków (FDA) do użytku w leczeniu raka mózgu [96, 97]. Polibezwodniki łatwiej ulegają degradacji hydrolytycznej niż poliestry. Połączenie hydrofobowego charakteru z dużą podatnością ugrupowań bezwodnikowych na hydrolizę prowadzi do zjawiska erozji powierzchniowej [98]. Mechanizm ten pozwala na utrzymanie mechanicznej i strukturalnej integralności podczas procesu degradacji.

Zastosowanie polibezwodników w charakterze biomateriałów utwardzalnych *in situ* było możliwe po wprowadzeniu do ich cząsteczek, reaktywnych w polimeryzacji rodnikowej, grup metakrylanowych [99—109]. Metakrylanowane polibezwodniki pod wpływem promieniowania UV [99—103, 105—107] lub VIS [99, 104, 108], w obecności odpowiednich fotoinicjatorów, tworzą sieci polimerowe o dużej gęstości, które w środowisku wodnym degradują do małych cząsteczkowych wyjściowych dikwasów oraz poli(kwasu metakrylowego), powstającego podczas polimeryzacji rodnikowej grup metakrylanowych i następnej hydrolizy. Polibezwodnikowe, światłoutwardzalne *in situ* biomateriały otrzymywano głównie na podstawie metakrylanowanego oligomerowego kwasu sebacynowego (MSA), 1,3-bis(*p*-karboksyfenoksy)propanu (MCPP) lub 1,6-bis(*p*-karboksyfenoksy)heksanu (MCPH) (schemat B). Toksyczność wymienionych dikwasów intensywnie badano, gdyż były one głównymi substratami do syntezy polibezwodników stosowanych jako nośniki leków w chemioterapii raka mózgu [110, 111]. Stwierdzono, że omawiane dikwasy nie wykazują mutagenności ani cytoto-





*Schemat B. Polimeryzacja i degradacja usieciowanych materiałów otrzymanych z metakrylanowanych polibezwodników: kwasu sebacynowego (MSA), 1,3-bis(p-karboksyfenoksy)propanu (MCPP) lub 1,6-bis(p-karboksyfenoksy)heksanu (MCPH) [102]*

*Scheme B. Polymerization and degradation of crosslinked materials based on methacrylated polyanhydrides of: sebacic acid (MSA), 1,3-bis-(p-carboxyphenoxy) propane (MCPP) or 1,6-bis-(p-carboxyphenoxy) hexane (MCPH) [102]*

ksyczości [112], natomiast biokompatybilny i rozpuszczalny w środowisku wodnym poli(kwas metakrylowy) [którego ciężar cząsteczkowy wyznaczony za pomocą MALDI-TOF mieścił się w zakresie 500—3500 [105]] może zostać wydalony z organizmu przez nerki.

Fotopolimeryzacja przy użyciu promieniowania UV/VIS ma wiele zalet w porównaniu z polimeryzacją inicjowaną termicznie lub układami redoks, w przypadku wykorzystania metakrylanowanych polibezwodników w ortopedii. Fotopolimeryzacja pozwala bowiem na przestrzenną i czasową kontrolę procesu utwardzania, oraz dostosowanie jego szybkości do warunków fizjologicznych a także na jednorodną enkapsulację substancji biologicznie aktywnych i czynników wzrostu, które następnie uwalniają się podczas degradacji [104, 106].

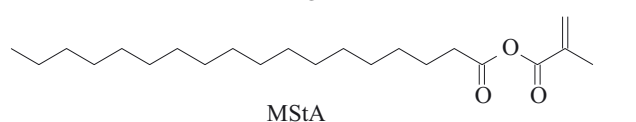
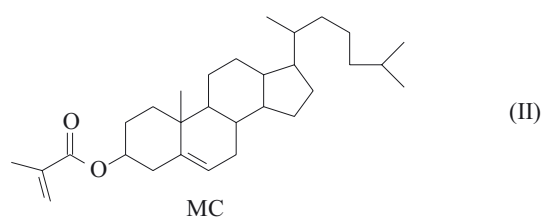
Wadą fotopolimeryzacji jest jednak fakt, że absorpcja światła przy powierzchni powoduje osłabienie jego natężenia w głębszych warstwach próbki, a to prowadzi do spadku szybkości inicjowania, a tym samym do zmniejszenia szybkości polimeryzacji i konwersji w głębszych warstwach próbek o większej objętości. Skutkiem zmniejszonej konwersji może być z kolei osłabienie stabilności mechanicznej implantu [106].

Badaniami nad otrzymywaniem i właściwościami biomateriałów opartych na metakrylanowanych polibezwodnikach zajmował się głównie zespół K. Anseth

[99—109]. Pierwsze doniesienia [99, 100] dotyczyły przebiegu procesu polimeryzacji, czasu utwardzania i maksymalnej konwersji wiązań podwójnych. Polimeryzację MSA i MCPH inicjowano promieniowaniem UV ( $\lambda = 365$  nm) w obecności 2,2-dimetoksy-2-fenylacetofenonu (DMP) lub VIS ( $\lambda = 470$ — $490$  nm) w układzie z kamforchinon/4-*N,N*-dimetyloaminobenzoetanem etylu (CQ/4EDMAB). Badania metodą skaningowej kalorymetrii różnicowej i spektroskopii w podczerwieni miały na celu określenie wpływu ilości inicjatora oraz rodzaju i natężenia promieniowania inicjującego polimeryzację na wymienione wyżej parametry. Wykazano, że czas utwardzania materiałów sieciowanych za pomocą UV wynosił mniej niż 2 minuty, a konwersja wiązań podwójnych przekraczała 95 %. W przypadku polimeryzacji inicjowanej VIS czasy utwardzania ulegały wydłużeniu, co autorzy przypisali mniejszej efektywności układu inicjującego. Wzrost zarówno stężenia fotoinicjatorów, jak i natężenia zastosowanego promieniowania powoduje znaczne przyspieszenie polimeryzacji i zwiększenie konwersji wiązań podwójnych, przy czym pierwszy z wymienionych czynników wywiera zdecydowanie większy wpływ. Autorzy wykazali, że w odniesieniu do sieciowania próbek większej grubości korzystny jest układ inicjujący CQ/4EDMAB, w obecności którego obserwowano większą konwersję również w głębszych warstwach próbek wszystkich badanych kompozycji.

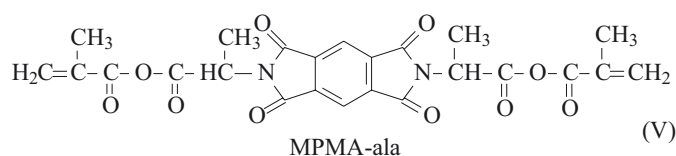
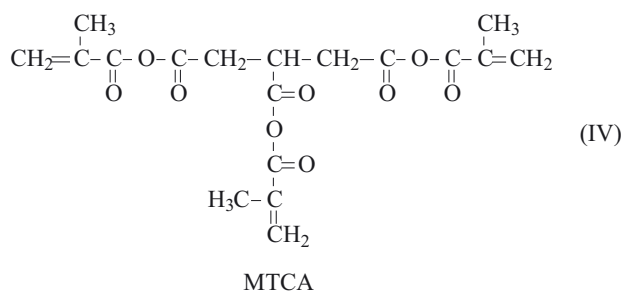
Badania degradacji hydrolytycznej omawianych materiałów [101] przebiegającej w temp. 37 °C, w środowisku buforu o pH = 7,4 dowiodły liniowej zależności ubytku masy degradowanych próbek od czasu trwania procesu, co potwierdza powierzchniowy charakter postępującej degradacji. Całkowity czas degradacji (100 % ubytku masy) jest funkcją m.in. rodzaju degradowanego materiału. W przypadku usieciowanego polibezwodnika na podstawie MSA, całkowita degradacja trwała zaledwie 50 h, natomiast bardziej hydrofobowy materiał otrzymany z MCPH degradował wolniej a po 90 dniach ubytek masy wynosił tylko 30 %. Można wydłużać czas degradacji materiałów w kierunku pożądaných wartości (od 2 dni do 1 roku) wytwarzając je w wyniku kopolimeryzacji różnych ilości bardziej (MCPH) i mniej hydrofobowych (MSA) makromonomerów. Na przykład, usieciowany poli(MSA:MCPH), w którym MSA stanowi 40 % mas., ulegał całkowitej degradacji w ciągu 79 dni. Wykazano, że utwardzone polibezwodniki charakteryzują się znacznie większą wytrzymałością i sztywnością niż ich liniowe odpowiedniki. Wyznaczone wartości wytrzymałości i modułu przy ściskaniu mieszczą się między odpowiednimi wartościami charakteryzującymi tkankę kostną gąbczastą i zbitą. W przeciwieństwie do poliestrów ulegających degradacji w całej masie, degradujące od powierzchni materiały polibezwodnikowe zachowują w ponad 70 % swoje początkowe właściwości mechaniczne, nawet wówczas gdy ubytek masy przekracza 50 %.

Zwiększenie hydrofobowości poli(MSA) uzyskano także wprowadzając do kompozycji 25 % mas. monowinylowych pochodnych cholesterolu [MC, wzór (II)] oraz kwasu stearynowego [MStA, wzór (III)] [100, 104]. Cholesterol występuje w organizmie ludzkim w membranach komórkowych, a kwas stearynowy jest składnikiem wielu hydrofobowych lipidów. Monowinylowe pochodne powodują spowolnienie degradacji usieciowanego poli(MSA), nie ulega jednak zmianie jej charakter, tzn. materiały nadal ulegają erozji powierzchniowej i zależność ubytku masy od czasu degradacji pozostaje



liniowa. Całkowita degradacja kompozytu poli(MSA) zawierającego 25 % mas. MStA następuje po 15 dniach przechowywania w buforze, natomiast materiał zawierający taką samą ilość MC degraduje wolniej. Po 7 dniach degradacji ubytek masy wynosi tylko 7 %.

Inną koncepcją otrzymywania polibezwodników przeznaczonych dla ortopedii było zastosowanie, oprócz MSA, MCPP i MCPH także bezwodnika metakrylowego (MAAH) [103, 104], metakrylanowanego kwasu trikarballilowego [MTCA, wzór (IV)] lub pirometyloimidoalaniny [MPMA-ala, wzór (V)]. Ocena właściwości materiałów uzyskanych w wyniku sieciowania MTCA lub MPMA-ala z udziałem 30, 50 lub 70 % mas. MAAH polegała na wyznaczeniu czasu potrzebnego do ich utwardzenia i oznaczeniu stopnia konwersji wiązań



podwójnych, obejmowała również badanie właściwości mechanicznych oraz przebiegu ich degradacji hydrolytycznej po utwardzeniu. Stwierdzono, że polimeryzacja tych monomerów pod wpływem UV w obecności DMPA trwa od 20 s do 1 min, przy czym zdecydowanie szybciej przebiega polimeryzacja kompozycji zawierających trifunkcyjny MTCA. Moduł przy rozciąganiu usieciowanych materiałów mieścił się w przedziale 0,8—2,1 GPa. Największe wartości modułu (1,8—2,1 GPa) wykazywały kompozycje z udziałem MTCA, a najmniejsze (0,8—1,2) — zawierające MPMA-ala. Degradację hydrolytyczną prowadzono w temp. 37 °C, w środowisku buforu o pH = 7,4. Stwierdzono, że materiały, w skład których wchodzi MTCA lub MPMA-ala nie degradują w sposób typowy dla polibezwodników, gdyż po początkowej fazie degradacji (z liniową zależnością ubytku masy od czasu), następuje radykalny spadek masy związany ze zmianą charakteru degradacji z powierzchniowej na degradację w całej objętości. Powodem tego zjawiska jest większa niż pozostałych monomerów hydrofilowość MTCA i MPMA-ala.

Oceniano także biokompatybilność biomateriałów polibezwodnikowych w kontakcie z tkanką podskórną [105]. W wyniku typowej odpowiedzi organizmu na ciało obce wytwarza się gęsta warstwa tkanki łącznej odgradzającej implant, w przypadku polibezwodnikowych implantów następowała większa integracja z otaczającą tkanką. Po 28 dniach wygląd tkanki otaczającej wszczep nie różnił się od wyglądu tkanki zdrowej, a na powierzchni degradującego implantu obecne były duże ilości fibroblastów i luźna sieć kolagenowa. We wstępnych badaniach polimeryzacji *in vivo* do 2,3 milimetrowego ubytku w kości piszczelowej szczura wprowadzano materiał MSA zawierający 25 % mas. MC i sieciowano za pomocą światła widzialnego (30 mW/cm<sup>2</sup>/300 s) w obecności układu CQ/trietanoloamina [109]. Obserwacje makroskopowe wykazały dobre przyleganie i wypełnienie ubytku przez polimer. W pierwszych dniach po implantacji następowało otoczenie implantu tkanką łączną, a w 7 dniu widoczne już były obszary tworzenia nowej tkanki kostnej. Ponadto okazało się, że ani reakcja fotopolimeryzacji, ani sam implant nie hamują procesów przemodelowania i regeneracji tkanki kostnej.

## PODSUMOWANIE

Zaprezentowano nowe kierunki badań w dziedzinie cementów kostnych, zwłaszcza zaś cementów wykazujących bioaktywność oraz cementów resorbowalnych. Metakrylanowe cementy kostne znalazły już zastosowanie w praktyce klinicznej, jednak nadal prowadzi się prace zmierzające do udoskonalenia ich receptury. Pomimo wieloletnich działań, nie opracowano jeszcze resorbowalnego cementu kostnego spełniającego wszystkie wymagania formułowane w odniesieniu do tego typu biomateriałów. Obecnie zainteresowanie jest skierowane w stronę resorbowalnych materiałów utwar-



dzalnych *in situ* zawierających czynniki wzrostu lub substancje bioaktywne, sprzyjające odbudowie tkanki kostnej i/lub wykazujące działanie przeciwbakteryjne.

## LITERATURA

- [1] Charnley J.: *J. Bone Joint Surg.* 1960, **42B**, 28. [2] Lewis G.: *J. Biomed. Mater. Res. Part B* 2008, **84B**, 301. [3] Huo M. H., Osier C. J.: *J. Arthroplasty* 2008, **23**, 51. [4] Łukaszczyk J.: *Polimery* 2004, **49**, 79. [5] Madigan S., Towler M. R., Lewis G.: *J. Mater. Sci. — Mater. Med.* 2006, **17**, 307. [6] Ramakrishna S., Mayer J., Wintermantel E., Leong K. W.: *Compos. Sci. Technol.* 2001, **61**, 1189. [7] Harper E. J.: *Proc. Inst. Mech. Eng.* 1998, **212H**, 113. [8] Kenny S. M., Buggy M.: *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2003, **14**, 923. [9] Boesel L. F., Reis R. L.: *Prog. Polym. Sci.* 2008, **33**, 180. [10] Miyazaki T., Ohtsuki C., Kyomoto M., Tanihara M., Mori A., Kuramoto K.-I.: *J. Biomed. Mater. Res. Part A* 2003, **67**, 1417.
- [11] Lewis G.: *J. Biomed. Mater. Res. Part B* 2006, **76B**, 456. [12] Lewis G., Xu J., Madigan S., Towler M. R.: *Acta Biomater.* 2007, **3**, 970. [13] Li Z. Y., Yang C., Lu W. W., Xu B., Lam W. M., Ni G. X., Abbah S. A., Yang F., Cheung K. M. C., Luk K. D. K.: *J. Biomed. Mater. Res. Part B* 2007, **83B**, 464. [14] Zheng Z. M., Luk K. D. K., Kuang G. M., Li Z. Y., Lin J., Lam W. M., Cheung K. M. C., Lu W. W.: *Spine* 2007, **32**, 2076. [15] Hernandez L., Parra J., Vasquez B., Lopez Bravo A., Collia F., Goni I., Gurruchaga M., San Roman J.: *J. Biomed. Mater. Res. Part B* 2009, **88B**, 103. [16] Hendriks J. G. E., van Horn J. R., van der Mei H. C., Busscher H. J.: *Biomaterials* 2004, **25**, 546. [17] Lautenschlager E. P., Marshall G. W., Marks K. E., Schwartz J., Nelson C. L.: *J. Biomed. Mater. Res.* 1976, **10**, 837. [18] Balint L., Kocsis B., Szanto Z., Szabo G.: *Chemotherapy* 2004, **50**, 302. [19] Stevens C. M., Tetsworth K. D., Calhoun J. H., Mader J. T.: *J. Orthopaedic Res.* 2005, **23**, 27. [20] Langlais F.: *Bull. Academ. Nationale Medecine* 2004, **188**, 1011.
- [21] Poelstra K. A., Busscher H. J., Schenk W., van Horn J. R., van der Mei H. C.: *Biofouling* 1999, **14**, 249. [22] Merkhani I. K., Hasenwinkel J. M., Gilbert J. L.: *J. Biomed. Mater. Res. Part A* 2004, **69A**, 577. [23] Virto M. R., Frutos P., Torrado S., Frutos G.: *Biomaterials* 2003, **24**, 79. [24] Faber C., Hoogendorn R. J. W., Lyaruu D. M., Stalman H. P., van Marle J., Amerongen A. V., Smit T. H., Wuisman P. U. M.: *Biomaterials* 2005, **26**, 5717. [25] Hendriks J. G. E., Ensing G. T., van Horn J. R., Lubbers J., van der Mei H. C., Busscher H. J.: *J. Controlled Release* 2003, **92**, 369. [26] Ensing G. T., Hendriks J. G. E., Jongsma J. E., van Horn J. R., van der Mei H. C., Busscher H. J.: *J. Biomed. Mater. Res. Part B* 2005, **75B**, 1. [27] Yan S., Cai X., Yan W., Dai X., Wu H.: *J. Biomed. Mater. Res. Part B* 2007, **82B**, 57. [28] Neut D., de Groot E. P., Kowalski R. S. Z., van Horn J. R., van der Mei H. C., Busscher H. J.: *J. Biomed. Mater. Res. Part A* 2005, **73A**, 165. [29] <http://www.biomet.com>, akces 5.12.2008. [30] Van de Belt H., Neut D., Uges D. R. A., Schenk W., van Horn J. R., van der Mei H. C., Busscher H. J.: *Biomaterials* 2000, **21**, 1981.
- [31] Hendriks J. G. E., Neut D., Hazenberg J. G., Verkerke G. J., van Horn J. R., van der Mei H. C., Busscher H. J.: *J. Biomechanics* 2005, **38**, 953. [32] Lewis G., Janna S., Bhattaram A.: *Biomaterials* 2005, **26**, 4317. [33] Stevens C. M., Tetsworth K. D., Calhoun J. H., Mader J. T.: *J. Orthopaedic Res.* 2005, **23**, 27. [34] Klekamp J., Dawson J. M., Haas D. W., DeBoer D. C. M.: *J. Arthroplasty* 1999, **14**, 339. [35] [www.stryker.com/en-us/products/index.htm](http://www.stryker.com/en-us/products/index.htm), akces 5.12.2008. [36] Person C., Baleani M., Guandalini L., Tigani D., Viceconti M.: *Acta Orthopaedica* 2006, **77**, 617. [37] Anagnostakos K. I., Kelm J., Grün S., Schmitt E., Jung W., Swoboda S.: *J. Biomed. Mater. Res. Part B* 2008, **87B**, 173. [38] Hernandez L., Muñoz M. E., Goñi I., Gurruchaga M.: *J. Biomed. Mater. Res. Part B* 2008, **87B**, 312. [39] Otsuka M., Sawada M., Matsuda Y., Nakamura T., Kokubo T.: *Biomaterials* 1997, **18**, 1559. [40] Alt V., Bechert I., Steinrucke P., Wagener M., Seidel P., Dingeldein E., Scheddin D., Domann E., Schnettler R.: *Orthopaede* 2004, **33**, 885.
- [41] Punyani S., Deb S., Singh H.: *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.* 2007, **18**, 131. [42] Deb S., Doiron R., DiSilvio L., Punyani S., Singh H.: *J. Biomed. Mater. Res. Part B* 2008, **85B**, 130. [43] Shi Z., Neoh K. G., Kang E. T., Wang W.: *Biomaterials* 2006, **27**, 2440. [44] De La Torre B., Salvado M., Corchon M. A. G., Vazquez B., Collia F., De Pedro J. A., San Roman J.: *J. Mater. Sci. — Mater. Med.* 2007, **18**, 933. [45] Mendez J. A., Fernandez M., Gonzales-Corchon A., Salvado M., Collia F., de Pedro J. A., Levenfeld B. L., Lopez-Bravo A., Vasquez B., San Roman J.: *Biomaterials* 2004, **25**, 2381. [46] Maccauro G., Cittadini A., Casarci M., Muratori F., De Angelis D., Piconi C., Rosa M. A., Spadoni A., Braden M., Sgambato A.: *J. Mater. Sci. — Mater. Med.* 2007, **18**, 839. [47] Hernandez L., Fernandez M., Collia F., Gurruchaga M., Goni I.: *Biomaterials* 2006, **27**, 100. [48] Hernandez L., Vazquez B., Lopez-Bravo A., Parra J., Goni I., Gurruchaga M.: *J. Biomed. Mater. Res. Part A* 2007, **80A**, 321. [49] Domb A. J., Manor N., Elmalak O.: *Biomaterials* 1996, **17**, 411. [50] *Pat. USA* 4 722 984 (1988).
- [51] *Pat. USA* 4 843 112 (1989). [52] *Pat. USA* 4 888 413 (1989). [53] Domb A. J., Laurencin C. T., Israeli O., Gerhart T. N., Langer R.: *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* 1990, **28**, 973. [54] Kharas G. K., Kamenetsky M., Simantirakis J., Beinlich K. C., Rizzo A.-M. T., Caywood G. A., Watson K.: *J. Appl. Polym. Sci.* 1997, **66**, 1123. [55] Peter S. J., Suggs L. J., Yaszemski M. J., Engel P. S., Mikos A. G.: *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.* 1999, **10**, 363. [56] Shung A. K., Timmer M. D., Seongbong J., Engel P. S., Mikos A. G.: *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.* 2002, **13**, 95. [57] He S., Timmer M. D., Yaszemski M. J., Yasko A. W., Engel P. S., Mikos A. G.: *Polymer* 2001, **42**, 1251. [58] Homes B. D., Hooper N. M., Houghton J. D.: „Biochemia. Krótkie wykłady”, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2000, str. 335. [59] Frazier D. D., Lahti V. K., Gerhart T. N., Hayes W. C.: *J. Biomed. Mater. Res. Part A* 1997, **35A**, 383. [60] Gresser J.

D., Hsu S.-H., Nagaoka H., Lyons C. M., Nieratko D. P., Wise D. L., Barabino G. A., Trantolo D. J.: *J. Biomed. Mater. Res.* 1995, **29**, 1241.

[61] Yaszemski M. J., Payne R. G., Hayes W. C., Langer R., Mikos A. G.: *Biomaterials* 1996, **17**, 2127. [62] Peter S. J., Nolley J. A., Widmer M. S., Merwin J. E., Yaszemski M. J., Yasko A. W., Engel P. S., Mikos A. G.: *Tissue Eng.* 1997, **3**, 207. [63] Peter S. J., Miller S. T., Zhu G., Yasko A. W., Mikos A. G.: *J. Biomed. Mater. Res. Part A* 1998, **41A**, 1. [64] Peter S. J., Kim P., Yasko A. W., Yaszemski M. J., Mikos A. G.: *J. Biomed. Mater. Res. Part A* 1999, **44A**, 314. [65] Peter S. J., Lu L., Kim D. J., Mikos A. G.: *Biomaterials* 2000, **21**, 1207. [66] Lewandrowski K.-U., Gresser J. D., Wise D. L., White R. L., Trantolo D. J.: *Biomaterials* 2000, **21**, 293. [67] Hile D. D., Kirker-Head C., Doherty S. A., Kowaleski M. P., McCool J., Wise D. L., Trantolo D. J.: *J. Biomed. Mater. Res. Part B* 2003, **66B**, 311. [68] Yaszemski M. J., Payne R. G., Hayes W. C., Langer R., Aufdemorte T. B., Mikos A. G.: *Tissue Eng.* 1995, **1**, 41. [69] Timmer M. D., Jo S., Wang C., Ambrose C. G., Mikos A. G.: *Macromolecules* 2002, **35**, 4373. [70] Timmer M. D., Ambrose C. G., Mikos A. G.: *Biomaterials* 2003, **24**, 571.

[71] Timmer M. D., Ambrose C. G., Mikos A. G.: *J. Biomed. Mater. Res. Part A* 2003, **66A**, 811. [72] He S., Yaszemski M. J., Yasko A. W., Engel P. S., Mikos A. G.: *Biomaterials* 2000, **21**, 2389. [73] Timmer M. D., Carter C., Ambrose C. G., Mikos A. G.: *Biomaterials* 2003, **24**, 4707. [74] Fisher J. P., Dean D., Mikos A. G.: *Biomaterials* 2000, **21**, 4333. [75] Fisher J. P., Holland T. A., Dean D., Engel P. S., Mikos A. G.: *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 2001, **12**, 673. [76] Fisher J. P., Timmer M. D., Holland T. A., Dean D., Engel P. S., Mikos A. G.: *Biomacromolecules* 2003, **4**, 1327. [77] Fisher J. P., Holland T. A., Dean D., Mikos A. G.: *Biomacromolecules* 2003, **4**, 1335. [78] Timmer M. D., Shin H., Horch R. A., Ambrose C. G., Mikos A. G.: *Biomacromolecules* 2003, **4**, 1026. [79] Vehof J. W. M., Fisher J. P., Dean D., van der Waerden J.-P. C. M., Spauwen P. H. M., Mikos A. G., Jansen J. A.: *J. Biomed. Mater. Res. Part A* 2002, **60A**, 241. [80] Kretlow J. D., Mikos A. G.: *AICHE J.* 2008, **54**, 3048.

[81] Castle P. M., Sathir R. K.: w pracy zbiorowej „Lasers in Polymer Science and Technology: Applications” (red. Fouassier J. P., Rabek J. F.), vol. III, CRC, Boca Raton, 1990, str. 37. [82] Kim C. W., Talac R., Lu L., Moore M. J., Currier B. L., Yaszemski M. J.: *J. Biomed. Mater. Res. Part A* 2008, **85A**, 1114. [83] Chu T.-M. G., Warden S. J., Turner C. H., Stewart R. L.: *Biomaterials* 2007, **28**, 459. [84] Cooke M. N., Fisher J. P., Dean D., Rinnac C., Mikos A. G.: *J. Biomed. Mater. Res. Part B* 2002, **64B**, 65. [85] Lee J. W., Lan P. X., Kim B., Lim G., Cho D.-W.: *Microelectronic Eng.* 2007, **84**, 1702. [86] Jin W. L., Phung X. L., Kim B., Lim G., Cho D.-W.: *J. Biomed. Mater. Res. Part B* 2008, **87B**,

1. [87] Lan P. X., Xuan P., Lee J. W., Seol Y.-J., Cho D.-W.: *J. Mater. Sci. — Mater. Med.* 2009, **20**, 271. [88] Kempen D. H. R., Lu L., Zhu X., Kim C., Jabbari E., Dhert W. J. A., Currier B. L., Yaszemski M. J.: *J. Biomed. Mater. Res. Part A* 2006, **77A**, 103. [89] Hedberg E. L., Shih C. K., Lemoine J. J., Timmer M. D., Liebschner M. A. K., Jansen J. A., Mikos A. G.: *Biomaterials* 2005, **26**, 3215. [90] Hedberg E. L., Kroese-Deutman H. C., Shih C. K., Crowther R. S., Carney D. H., Mikos A. G., Jansen J. A.: *Biomaterials* 2005, **26**, 4616.

[91] Haesslein A., Ueda H., Hacker M. C., Jo S., Ammon D. M., Borazjani R. N., Kunzler J. F., Salamone J. C., Mikos A. G.: *J. Controlled Release* 2006, **114**, 251. [92] Haesslein A., Hacker M. C., Mikos A. G.: *Acta Biomater.* 2008, **4**, 1. [93] Haesslein A., Hacker M. C., Ueda H., Ammon D. M., Borazjani R. N., Kunzler J. F., Salamone J. C., Mikos A. G.: *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.* 2009, **20**, 49. [94] Lee K.-W., Wang S., Yaszemski M. J., Lu L.: *Biomaterials* 2008, **29**, 2839. [95] Mitha M. K., Jayabalan M.: *J. Mater. Sci. — Mater. Med.* 2008, on line: www.springerlink.com, akces 27.03.2009. [96] Kumar N., Langer R. S., Domb A. J.: *Adv. Drug Delivery Rev.* 2002, **54**, 889. [97] Wang P. P., Frazier J., Brem H.: *Adv. Drug Delivery Rev.* 2002, **54**, 987. [98] Göpferich A., Langer R.: *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* 1993, **31**, 2445. [99] Muggli D. S., Burkoth A. K., Keyser S. A., Lee H. R., Anseth K. S.: *Macromolecules* 1998, **31**, 4120. [100] Burkoth A. K., Burdick J., Anseth K. S.: *J. Biomed. Mater. Res. Part A* 2000, **51A**, 352.

[101] Muggli D. S., Burkoth A. K., Anseth K. S.: *J. Biomed. Mater. Res. Part A* 1999, **46A**, 271. [102] Young J. S., Gonzales K. D., Anseth K. S.: *Biomaterials* 2000, **21**, 1181. [103] Watkins A. W., Anseth K. S.: *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 2003, **14**, 267. [104] Burkoth A. K., Anseth K. S.: *Biomaterials* 2000, **21**, 2395. [105] Burkoth A. K., Anseth K. S.: *Macromolecules* 1999, **32**, 1438. [106] Burdick J., Peterson A. J., Anseth K. S.: *Biomaterials* 2001, **22**, 1779. [107] Burdick J. A., Lovestead T. M., Anseth K. S.: *Biomacromolecules* 2003, **4**, 149. [108] Poshusta A. K., Burdick J., Mortisen D. J., Padera R. F., Ruehlman D., Yaszemski M. J., Anseth K. S.: *J. Biomed. Mater. Res.* 2003, **64A**, 62. [109] Anseth K. S., Quick D. J.: *Macromol. Rapid Commun.* 2001, **22**, 564. [110] Brem H., Piantadozi S., Burger P. C., Walker M., Selker R., Vick N. A., Black K., Sisti M., Brem S., Mohr G., Muller P., Morawetz R., Schold S. C.: *Lancet* 1995, **345**, 1008.

[111] Laurencin C. T., Domb A. J., Morris C., Brown V., Chasin M., McConnel R., Lange N., Langer R.: *J. Biomed. Mater. Res.* 1990, **24**, 1463. [112] Leong K. W., D'Amore P., Marletta M., Langer R.: *J. Biomed. Mater. Res.* 1986, **20**, 51.

Otrzymano 26 I 2009 r.