

ANNA LASKA

POLITECHNIKA ŁÓDZKA
WYDZIAŁ MECHANICZNY, INSTYTUT INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ
E-MAIL: ANNA.LASKA@DOKT.P.LODZ.PL

Biomateriały stosowane w inżynierii tkankowej do regeneracji tkanek

STRESZCZENIE

Inżynieria tkankowa jest interdyscyplinarną dziedziną nauki, rozwijającą się bardzo intensywnie w ostatnich kilkunastu latach. Nowe sposoby leczenia uszkodzonych tkanek i narządów są nieustannie poszukiwane. Rusztowania tkankowe do hodowli komórki pacjenta wydają się przełomowym rozwiązaniem, mającym ogromne możliwości wdrożeniowe w medycynie regeneracyjnej. Aktualnie bada się różnorodne porowate struktury wspierające adhezję, różnicowanie i proliferację komórek. Dobór odpowiedniego biomateriału, na którym będzie się rozwijać nowa tkanka pacjenta, jest jednym z kluczowych zagadnień w trakcie projektowania nowoczesnego rusztowania tkankowego i całego procesu leczenia. Spośród licznej grupy biomateriałów stosowanych do wytwarzania trójwymiarowych skafoldów na szczególną uwagę zasługują biodegradowalne polimery, takie jak polilaktyd (PLA), poliglikolid (PGA), kopolimer polilaktyd-glikolid (PLGA), polikaprolakton (PCL), chityna, kolagen oraz bioaktywna ceramika – trójfosforan wapnia (TCP) i hydroksyapatyt (HAp). Celem niniejszej pracy jest przedstawienie przeglądu literaturowego dotyczącego biomateriałów wykorzystywanych do wytwarzania trójwymiarowych rusztowań tkankowych do hodowli komórkowej. Stosowane materiały podzielono na trzy grupy – polimery, ceramikę i metale – z uwzględnieniem aktualnie panujących trendów.

SŁOWA KLUCZOWE

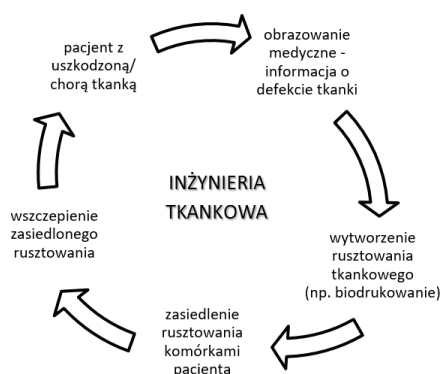
inżynieria tkankowa, biomateriały, polimery biodegradowalne, rusztowania tkankowe, regeneracja tkanek

Wprowadzenie

Inżynieria tkankowa (TE, *tissue engineering*) jest interdyscyplinarną dziedziną nauki, łączącą wiedzę z zakresu biologii (szczególnie biologii komórek), medycyny klinicznej oraz nauk technicznych, takich jak biofizyka, bioche-

nia, biomechanika, a także inżynieria materiałowa i biomedyczna. Jej głównym celem jest regeneracja uszkodzonych tkanek i narządów wewnętrznych oraz wytworzenie nowych tkanek w przypadku całkowicie usuniętych struktur. W inżynierii tkankowej wyróżnia się trzy kluczowe elementy: komórki biologiczne, matrycę strukturalną umożliwiającą zasiedlenie komórek (wykonaną z odpowiednich biomateriałów) oraz czynniki wzrostu¹.

Leczenie ubytków tkanek z wykorzystaniem produktów inżynierii tkankowej (rusztowań tkankowych) jest stosunkowo nowym rozwiązaniem, w którym pokładane są ogromne nadzieje medycyny regeneracyjnej, dążącej do odtwarzania struktur i funkcji uszkodzonych struktur organizmu². Inżynieria tkankowa zakłada wykorzystanie macierzystych komórek pacjenta (pозyskanych na przykład ze szpiku kostnego lub tkanki tłuszczowej), zasiedlenie nimi wytworzonego rusztowania (stanowiącego szkielet dla namnażających się komórek) i wszczepienie całej struktury (rusztowania porośniętego komórkami) w miejsce zmienionej chorobowo lub usuniętej tkanki (Ryc. 1).



Ryc. 1. Idea inżynierii tkankowej – schemat
Źródło: opracowanie własne.

Ogromne zainteresowanie inżynierią tkankową i rusztowaniami tkankowymi bierze się z ograniczeń aktualnie stosowanych sposobów leczenia – przeszczepiania tkanek (auto- i alloprzeszczepy) i całkowicie sztucznych implantów, których zadaniem jest wspieranie odbudowy uszkodzonej struk-

¹ S. Gogolewski, *Biomateriały polimerowe*, [w]: *Biocybernetyka i Inżynieria Biomedyczna 2000. Biomateriały*, red. M. Nałęcz, Warszawa 2003.

² A. Atala, *Regenerative Medicine Strategies*, "Journal of Pediatric Surgery" 2012, No. 47 (1).

tury (na przykład płytki łączące, śruby). Główne problemy wynikają z niedostatecznej podaży tkanek i narządów oraz niedopasowania w zakresie zgodności tkankowej oraz geometrycznej. Inżynieria tkankowa ma dostarczać zindywidualizowane wszczepy wytworzone na bazie komórek pacjenta, co zapewnia lepszą reakcję organizmu na terapię i skuteczniejsze leczenie.

Biomateriały w inżynierii tkankowej

Biomateriał jest materiałem biozgodnym, mogącym podlegać długotrwałemu kontaktowi z żywymi tkankami oraz płynami ustrojowymi bez negatywnej reakcji organizmu³. Zadaniem biomateriału jest częściowe lub całkowite zastępowanie tkanki lub organu i przejmowanie ich funkcji w organizmie. Do niezbędnych właściwości biomateriałów stosowanych w inżynierii materiałowej zalicza się między innymi:

- biokompatybilność,
- biozgodność,
- bioaktywność,
- biofunkcyjność,
- brak reakcji toksycznych,
- brak reakcji alergicznych,
- odpowiednie cechy powierzchni (wspieranie adhezji komórek),
- odpowiednia wytrzymałość mechaniczna i zmęczeniowa dostosowana do zastosowania,
- biodegradowalność/bioresorbowalność (opcjonalnie).

Biomateriały stosowane w inżynierii tkankowej można klasyfikować według klasycznego podziału materiałów inżynierskich. Wyróżniamy zatem metale, ceramikę, polimery i biomateriały kompozytowe. TE jest zdominowana przez biomateriały polimerowe, zwłaszcza biodegradowalne i bioresorbowalne oraz bioaktywną ceramikę. Obecnie kompozyty polimer-ceramika są szczególnie rozwijane w celu zwiększenia mechanicznej stabilności rusztowań komórkowych i poprawy interakcji tkankowej⁴.

³ S. Gogolewski, op. cit.; H. Leda, *Materiały inżynierskie w zastosowaniach biomedycznych*, Poznań 2012.

⁴ K. Rezwan et al., *Biodegradable and Bioactive Porous Polymer/Inorganic Composite Scaffolds for Bone Tissue Engineering*, "Biomaterials" 2006, No. 27 (18).

Materiały polimerowe

Materiały polimerowe wykorzystywane w inżynierii tkankowej można podzielić ze względu na ich pochodzenie na polimery naturalne i syntetyczne. Do pierwszej grupy, tak zwanych biopolimerów, zalicza się polisacharydy (skrobia, chityna, pochodne kwasu hialuronowego) i białka (kolagen, elastyna) oraz różnego rodzaju włókna pełniące funkcję wzmacniającą (na przykład naturalne włókna lignocelulozowe). Do drugiej kategorii należą poliestry alifatyczne (polilaktyd PLA, poliglikolid PGA i ich kopolimery oraz polikaprolakton PCL), polimery z grupy krzemooorganicznej, na przykład polidimetylosiloksan PDMS, polihydroksyalkanolany PHA, fumaran poli-propyleny PPF i polihydroksymaśłany PHB. Zarówno syntetyczne polimery biodegradowalne, jak i te nieulegające degradacji wytwarzane są w kontrolowanych warunkach, dzięki czemu posiadają przewidywalne i powtarzalne właściwości fizyczne i mechaniczne, takie jak moduł Younga czy wytrzymałość na ściskanie i rozciąganie. Dodatkową zaletą syntetycznie wytwarzanych biomateriałów jest kontrola ich składu chemicznego i zanieczyszczeń w nich występujących.

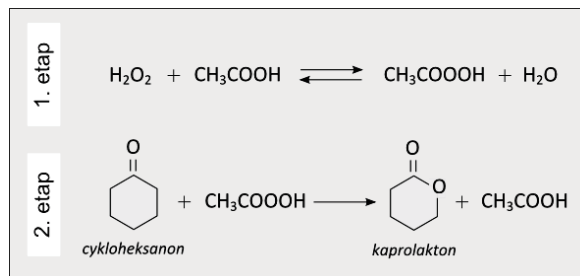
Do najczęściej wykorzystywanych materiałów polimerowych na rusztowania tkankowe zalicza się alifatyczne poliestry – polilaktyd (PLA), poliglikolid (PGA) i polikaprolakton (PCL), które cechują się łatwością przetwarzania i bioresorbują do nietoksycznych substancji, takich jak na przykład dwutlenek węgla i woda⁵. Ryc. 2 przedstawia przykładowy proces syntezy dla PCL⁶. W pierwszym etapie syntezy monomeru kaprolaktonu tworzy się kwas nadooctowy podczas reakcji kwasu octowego z ditlenkiem wodoru. Następnie kwas nadooctowy reaguje z cykloheksanem i powstaje monomer.

Degradacja do nietoksycznych produktów następuje przez hydrolizę i zajmuje sporo czasu ze względu na wysoką masę cząsteczkową⁷. Szybkość degradacji w alifatycznych poliestrach kształtuje się w następującej kolejności: najszybciej degraduje PGA, następnie PLA, a najdłużej – PCL. Wśród czynników wpływających na kinetykę degradacji znajdują się między innymi: skład chemiczny, konfiguracja struktury, sposób przetwarzania materiału, masa molowa, czynniki środowiskowe, naprężenia, odkształcenia, krystaliczność oraz różne dodatki i wypełniacze. Kontrolowany proces degradacji materiału wszczepianego do żywego organizmu jest jednym z najważniejszych zagadnień, nad którym ciągle prowadzone są prace badawcze.

⁵ W. Szlezzynger et al., *Tworzywa sztuczne. Polimery specjalne i inżynierskie*, t. 2, Rzeszów 2012.

⁶ T. Patrício et al., *Characterisation of PCL and PCL/PLA Scaffolds for Tissue Engineering*, "Procedia CIRP" 2013, No. 5.

⁷ K. Rezwan et al., op. cit.



Ryc. 2. Proces syntezy monomeru kaprolaktanu
Źródło: opracowanie własne.

W tabeli 1 zaprezentowano najważniejsze cechy PCL z punktu widzenia jego zastosowania w inżynierii tkankowej.

Tab. 1. Cechy polikaprolaktonu PCL

Moduł Younga	0,4 GPa
Granica plastyczności	4–25 MPa
Czas degradacji całkowitej	>2–3 lat
Temperatura topnienia T_m	55–65°C
Temperatura zeszklenia T_g	-60°C
Wykazuje charakter hydrofobowy	
Wysoka rozpuszczalność w rozpuszczalnikach organicznych w temperaturze pokojowej	
Zdolność do tworzenia mieszanin z różnymi polimerami	

Źródło: opracowanie własne na podstawie: W. Szlezynger et al., op. cit.; M. A. Woodruff et al., *The Return of a Forgotten Polymer – Polycaprolactone in the 21st Century*, "Progress in Polymer Science" 2010, No. 35., s. 1217–1256.

W ostatniej dekadzie coraz ważniejszą rolę zaczynają odgrywać materiały hydrożelowe, które mogą być zrobione zarówno z naturalnych, jak i syntetycznych polimerów usieciowanych przez kowalencyjne lub niekowalencyjne wiązania chemiczne⁸. Hydrożele wykazują strukturę podobną do mi-

⁸ B. Dhandayuthapani et al., *Polymeric Scaffolds in Tissue Engineering Application: A Review*, "International Journal of Polymer Science" 2011, Vol. 2011.

kromolekularnych komponentów naszego organizmu, są biodegradowalne oraz wspierają formowanie się nowej tkanki. Obecnie używa się ich do regeneracji kości, w leczeniu uszkodzonej chrząstki, a także jako nośniki leków. Do wytworzenia hydrożeli stosuje się między innymi kolagen, alginian, chitozan, PLA i kopolimery PPF.

Materiały ceramiczne

Kolejną grupą materiałów w inżynierii tkankowej jest bioaktywna ceramika. Materiały ceramiczne łatwo tworzą połączenie z tkanką o charakterze chemicznym. Fosforany wapnia cechują się doskonałą biogodnością ze względu na swoje chemiczne podobieństwo do kości⁹. Posiadają one właściwości osteokonduktywne, czyli wspomagają proces tworzenia się nowej tkanki kostnej. Fosforany wapnia mogą się krystalizować w sole, takie jak hydroksyapatyt (HAp) lub trójfosforan wapnia (TCP), w zależności od stosunku Ca:P. Hydroksyapatyt (HAp) jest chemicznie podobny do naturalnego składnika kości i tkanek twardych u ssaków. Naturalnie występuje w formie minerału $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$, a idealny stosunek Ca:P wynosi 10:6. Wśród trójfosforanów wapnia (TCP) wyróżnia się odmiany wysokotemperaturową (α -TCP) i niskotemperaturową (β -TCP). Pomimo bardzo dobrych właściwości biologicznych HAp i TCP, ich zastosowanie jest ograniczone. Wynika to z powolnej degradacji (w przypadku HAp) i szczególnie niskiej wytrzymałości mechanicznej, niższej niż naturalna kość. Szybkość rozpuszczania tych materiałów zmniejsza się w następującej kolejności: *amorficzny HAp* » α - TCP » β - TCP » *krystaliczny HAp*.

Właściwości syntetycznych fosforanów wapnia zmieniają się wraz ze zmianą ich stopnia krystaliczności, wielkości ziaren, porowatości i składu chemicznego¹⁰. Pogorszenie właściwości mechanicznych odnotowuje się przy wzroście udziału fazy amorficznej, mikroporowatości i wielkości ziarna.

Bioaktywne szkła są powierzchniowo bioaktywną ceramiką, która po implantacji prowadzi do silnej osteointegracji z tkanką gospodarza. Do wad bioaktywnych szkieł zalicza się niskie właściwości mechaniczne i słabą odporność na pękanie, szczególnie form porowatych. Są to materiały, które nie sprawdzają się w elementach przenoszących znaczące obciążenie.

⁹ K. Rezwan et al., op. cit.

¹⁰ J. Kundu et al., *Biomaterials for Biofabrication of 3D Tissue Scaffolds*, [w]: *Biofabrication. Micro- and Nano-fabrication, Printing, Patterning and Assemblies*, eds. G. Forgacs, W. Sun, Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo 2013.

Tab. 2. Właściwości mechaniczne HAp, bioszklę i kości gąbczastej

	Wytrzymałość na ściskanie	Moduł Younga
Hydroksyapatyt HAp	>400 MPa	~100 GPa
Porowaty HAp 82–86%	0,21 – 0,41 MPa	0,83–1,6×10 ⁻³ GPa
Bioszklę (Bioglass®)	~500 MPa	35 GPa
Kość gąbczasta	4–12 MPa	0,1–0,5 GPa

Źródło: opracowanie własne na podstawie: K. Rezwani et al., op. cit.

Materiały metalowe

Metale prezentują najkorzystniejsze właściwości mechaniczne i wytrzymałościowe spośród wcześniej omawianych biomateriałów. Dzięki temu można je zastosować w ortopedii i protetyce jako elementy narażone na działanie dużych sił ściskających. Wymagane jest, by implanty kości miały właściwości mechaniczne porównywalne do kości naturalnej, ponieważ może to doprowadzić do zaniku naturalnej tkanki. Metale wykazują wyższe parametry mechaniczne (między innymi sztywność i twardość) niż naturalna struktura, stąd często dochodzi do przejścia przenoszonych obciążeń przez implant i redukcji gęstości kości (*stress shielding*).

Niewątpliwymi zaletami materiałów metalowych są ich właściwości mechaniczne, umożliwiające implantom przenoszenie znaczących obciążeń¹¹. Niestety medyczne użycie metali jest wciąż ograniczone czasowo ze względu na niską bioaktywność i uwalnianie toksycznych substancji do ludzkiego organizmu. Główne zalety i problemy związane z biomateriałami metalicznymi w zastosowaniach medycznych zostały zestawione w tabeli 3.

Tab. 3. Zalety i wady biomateriałów metalicznych

ZALETY	WADY I PROBLEMY
korzystne właściwości mechaniczne i wytrzymałościowe	biotolerancja
odporność na zużycie ścierne	zjawisko metalozy

¹¹ X. Zhang et al., *Preparation and Mechanical Property of a Novel 3D Porous Magnesium Scaffold for Bone Tissue Engineering*, "Materials Science and Engineering: C" 2014, No. 42.

wysoka twardość	odporność korozyjna
brak tendencji do tworzenia zakrzepów	
odpowiednie własności elektryczne	
dobra jakość metalurgiczna i jednorodność	

Źródło: opracowanie własne na podstawie: M. Ashby et al., *Materiały inżynierskie. Kształtowanie struktury i właściwości, dobór materiałów*, Warszawa 1996; J. Marciniak, *Biomateriały*, Gliwice 2002.

Do grupy metali mających potencjał w zastosowaniach ortopedycznych w inżynierii tkankowej można zaliczyć:

- tytan i jego stopy,
- stal austenityczną,
- magnez i jego stopy¹².

Ze względu na unikatowe właściwości najbardziej pożądanym materiałem metalicznym wśród biomateriałów jest tytan. Rusztowania tkankowe z jego stopów można wytworzyć metodą drukowania 3D lub selektywnym topieniem wiązką lasera (SLM – *Selective Laser Melting*). Tytan jest materiałem biogodnym, jednakże nie jest bioaktywny i nie wpływa pozytywnie na przyczepianie się komórek i ich szybki rozwój. Modyfikacja powierzchni stanowi dobre rozwiązanie tego problemu, na przykład pokrywając rusztowanie tkankowe powłoką ceramiczną, hydroksyapatytem.

Ostatnio wiele prac badawczych poświęcono magnezowi i jego stopom¹³. Unikatowe właściwości magnezu, takie jak biogodność, biodegradowalność i właściwości mechaniczne porównywalne do tych prezentowanych przez ludzką kość gąbczastą, stwarzają możliwość zastosowania go jako rusztowania tkankowego do regeneracji tkanki kostnej. Tabela 4 zawiera zestawienie wybranych parametrów dla magnezu i kości gąbczastej.

Tab. 4. Wybrane właściwości mechaniczne magnezu i kości gąbczastej

	Wytrzymałość na ściskanie [MPa]	Moduł Younga [GPa]
Magnez	11,1–30,3	0,1–0,37
Kość gąbczasta	4–12	0,1–0,5

Źródło: opracowanie własne na podstawie: K. Rezwan et al., op. cit.; X. Zhang et al., op. cit.

¹² Ibidem.

¹³ Ibidem.

Podsumowanie

Inżynieria tkankowa jest skuteczną alternatywą dla tradycyjnych metod leczenia uszkodzonych tkanek i narządów. Powszechnie znane sposoby, takie jak transplantologia czy wykorzystanie sztucznych organów, okazują się dość problematyczne, głównie ze względu na możliwość odrzutu przeszczepu przez organizm, brak integracji z tkanką biorcy czy ograniczony czas użytkowania. Zastosowanie rusztowań tkankowych wytworzonych z odpowiednich biomateriałów umożliwia regenerację wielu zdefektowanych tkanek (między innymi tkanki kostnej i chrzęstnej, skóry, tkanki nerwowej, naczyń krwionośnych).

Spośród kilku grup biomateriałów stosowanych w inżynierii tkankowej polimery biodegradowalne posiadają największy potencjał użytkowy. Rusztowanie wykonane z takiego materiału degradowane w określony sposób, w czasie dostosowanym do tempa namnażania się komórek. Eliminuje to konieczność usuwania implantu z organizmu pod koniec procesu leczenia, co zwiększa prawdopodobieństwo powodzenia zastosowanej terapii.

BIOMATERIALS USED IN TISSUE ENGINEERING FOR TISSUE REGENERATION

ABSTRACT

Tissue engineering is an interdisciplinary field of science that develops very intensively in recent years. New ways of treatment of damaged tissues and organs are constantly sought. Scaffolds for cell culture appear to be a breakthrough solution with great implementation possibilities in regenerative medicine. Currently, various porous structures supporting adhesion, cell differentiation and cell proliferation are investigated and developed. Choosing the right biomaterial for tissue regeneration is one of the key issues in designing scaffolds and entire treatment process. There is a numerous group of biomaterials used in scaffold production. It is worth listing such as polylactide (PLA), polyglycolide (PGA), polylactide-glycolide (PLGA), polycaprolactone (PCL), chitin, collagen, bioactive calcium phosphate (TCP) and hydroxyapatite (HAp). The purpose of this paper is to present a literature review of the biomaterials used for the production of three-dimensional scaffolds for cell culture. Discussed materials are divided into three groups, i.e. polymers, ceramics and metals.

KEYWORDS

tissue engineering, biomaterials, biodegradable polymers, scaffolds, tissue regeneration

BIBLIOGRAFIA

1. Gogolewski S., *Biomateriały polimerowe*, [w]: *Biocybernetyka i Inżynieria Biomedyczna 2000. Biomateriały*, red. M. Nałęcz, Warszawa 2003.
2. Atala A., *Regenerative Medicine Strategies*, "Journal of Pediatric Surgery" 2012, No. 47 (1).
3. Leda H., *Materiały inżynierskie w zastosowaniach biomedycznych*, Poznań 2012.
4. Rezwan K. et al., *Biodegradable and Bioactive Porous Polymer/Inorganic Composite Scaffolds for Bone Tissue Engineering*, "Biomaterials" 2006, No. 27 (18).
5. Patrício T. et al., *Characterisation of PCL and PCL/PLA Scaffolds for Tissue Engineering*, "Procedia CIRP" 2013, No. 5.
6. Szlezzynger W. et al., *Tworzywa sztuczne. Polimery specjalne i inżynierskie*, t. 2, Rzeszów 2012.
7. Woodruff M. A. et al., *The Return of a Forgotten Polymer – Polycaprolactone in the 21st Century*, "Progress in Polymer Science" 2010, No. 35.
8. Dhandayuthapani B. et al., *Polymeric Scaffolds in Tissue Engineering Application: A Review*, "International Journal of Polymer Science" 2011, Vol. 2011.
9. Kundu J. et al., *Biomaterials for Biofabrication of 3D Tissue Scaffolds*, [w]: *Biofabrication. Micro- and Nano-fabrication, Printing, Patterning and Assemblies*, eds. G. Forgacs, W. Sun, Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo 2013.
10. Zhang X. et al., *Preparation and Mechanical Property of a Novel 3D Porous Magnesium Scaffold for Bone Tissue Engineering*, "Materials Science and Engineering: C" 2014, No. 42.
11. Ashby M. et al., *Materiały inżynierskie. Kształtowanie struktury i właściwości, dobór materiałów*, Warszawa 1996.
12. Marciniak J., *Biomateriały*, Gliwice 2002.

DATA PRZEKAZANIA TEKSTU: 14.01.2017

DATA ZAACEPTOWANIA TEKSTU: 3.04.2017
