



BIULETYN  
Wydziału Farmaceutycznego  
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Biul. Wydz. Farm. WUM, 2016, 1, 1-6  
<http://biuletynfarmacji.wum.edu.pl/>

## NOWOCZESNE SYSTEMY DOSTARCZANIA ANTYBIOTYKÓW DO KOŚCI NA BAZIE HYDROKSYAPATYTU

Aleksandra Laskus\*, Joanna Kolmas

Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Wydział Farmaceutyczny  
z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

\* autorka korespondująca, tel: +48 22 572 0755, e-mail: [aleksandralaskus@gmail.com](mailto:aleksandralaskus@gmail.com)  
Koło naukowe „Spectrum” przy Katedrze i Zakładzie Chemii Nieorganicznej i Analitycznej

Otrzymano 26.01.2016, zaakceptowany 8.03.2016, zamieszczony 8.04.2016

### STRESZCZENIE

Wśród nowoczesnych materiałów stosowanych w implantologii i medycynie regeneracyjnej szczególne miejsce zajmuje hydroksyapatyt. Wykorzystuje się go m. in. jako materiał kośćcozastępczy, powłokę metalicznych implantów oraz składnik dokostnych biomateriałów kompozytowych. W ostatnich latach poszukuje się możliwości tworzenia na jego bazie implantów wielofunkcyjnych, które oprócz roli wypełniającej ubytek kostny mają za zadanie uwalniać substancję leczniczą bezpośrednio w miejscu implantacji. Celem tej pracy jest podsumowanie aktualnej wiedzy w zakresie otrzymywania i możliwości wykorzystania nowoczesnych apatytowych systemów dostarczających antybiotyki do kości.

**SŁOWA KLUCZOWE:** hydroksyapatyt, implantologia, biomateriały, infekcje tkanki kostnej, kontrolowane uwalnianie leku, rusztowanie, antybiotyki

### ABSTRACT

#### NOVEL HYDROXYAPATITE-BASED ANTIBIOTIC DELIVERY SYSTEMS TARGETING BONES

Among modern materials used in implantology and regenerative medicine, hydroxyapatite occupies a special place. Hydroxyapatite is employed as a bone substitute, as a coating for metallic implants, and as a component of bone-compatible composite biomaterials. Recently, attempts have been made to design hydroxyapatite-based multifunctional implants which, in addition to repairing bone loss, would release medication directly at the site of implantation. The purpose of this review is to summarize the current knowledge in the area of generation and use of modern hydroxyapatite-based systems for antibiotic delivery to bone.

**KEYWORDS:** hydroxyapatite, implantology, biomaterials, bone tissue infections, controlled drug release, scaffold, antibiotics

### Wprowadzenie

#### *Bakteryjne zakażenia tkanki kostnej - wady i zalety standardowych metod terapii*

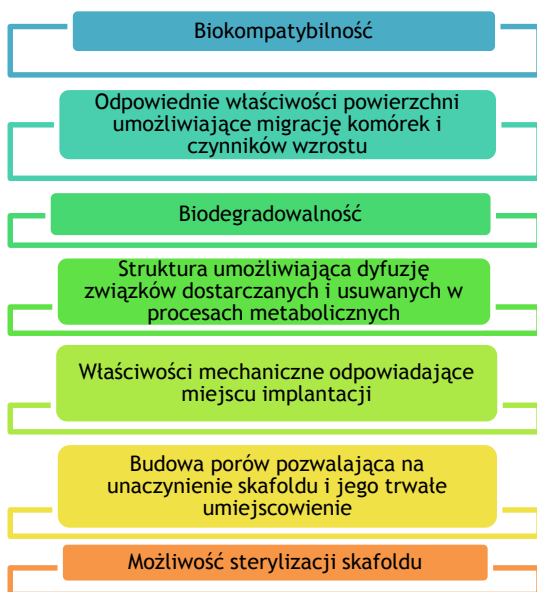
Postępowaniem z wyboru w profilaktyce i leczeniu infekcji bakteryjnych kości jest antybiotykoterapia. Szczególnie często wykorzystuje się ją w chirurgii ortopedycznej, implantologii oraz stomatologii. Warunkiem powodzenia operacji implantacji protez i przeszczepów kości, zaopatrzenia złamań wymagających interwencji chirurgicznej jest zapobieżenie wtórnym zakażeniom bakteryjnym, które mogą doprowadzić do poważnych komplikacji. Nieoponowana infekcja może zakończyć się koniecznością usunięcia protezy lub nawet amputacji kończyny. Standardowym postępowaniem w omawianych wyżej sytuacjach jest dożylnie podawanie antybiotyków [1-2], lokalna implantacja mikrosfer wykonanych na bazie polimetylometakrylanu (PMMA) [1-4] zawierających zawieszony w matrycy cząsteczki leku oraz bezpośrednie pokrywanie metalowych implantów polimerowym materiałem z inkorporowanym farmaceutykiem [1]. Żadna z tych metod nie jest jednak wolna od wad.

PMMA, choć pozwala na bezpośrednią implantację w miejscu zakażenia i gwarantuje przedłużone uwalnianie leku, jest materiałem niebiodegradowalnym, co wiąże się z koniecznością reoperacji celem jego usunięcia. Ponadto egzotermiczna reakcja jego polimeryzacji w miejscu aplikacji ogranicza zakres koniugowanych z nim leków do substancji termostabilnych. Przyczynia się również do zwiększonego ryzyka rozwoju reakcji zapalnej. Wadą tego systemu jest również niecałkowita dyfuzja antybiotyku z matrycy. Niebiodegradowalny PMMA próbowano zastąpić, m. in., bezwodnym siarczanem wapnia, jednakże peletki wykonywane na jego bazie charakteryzują się wysoką cytotoksycznością [5]. Nasycanie powłok implantów antybiotykami nie pozwala z kolei na równomierną dystrybucję i kontrolowanie uwalniania dawki leku. Ubogie unaczynienie tkanki kostnej, utrudnione przenikanie przez bariery biologiczne, niska biodostępność i nasilone efekty niepożądane stanowią zaś tylko niektóre niedogodności, które towarzyszą ogólnoustrojowemu podawaniu leków antybakteryjnych.

### Hydroksyapatyt w systemach dostarczania antybiotyków do kości

Obecnie prowadzone są intensywne badania nad nowymi systemami dostarczania antybiotyków bezpośrednio do miejsca infekcji, co ma doprowadzić do maksymalizacji ich stężenia w ognisku zakażenia oraz minimalizacji ogólnoustrojowych efektów ubocznych ich działania. Ze względu na swoją unikalną, wysoką bioaktywność, resorbowalność, a także przyspieszanie regeneracji tkanki kostnej i korzystny wpływ na przeżywalność osteoblastów, dużym zainteresowaniem w omawianej dziedzinie cieszą się kostniwa na bazie krystalicznych fosforanów wapnia (ang. Calcium Phosphate Cements, CPC), a głównie hydroksyapatyt. Hydroksyapatyt o sumarycznym wzorze chemicznym  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , dzięki swojej naturalnej porowatej mikrostrukturze, dużej powierzchni właściwej i osteokonduktywności umożliwia wydajną inkorporację leku. Co więcej, charakteryzuje się wysokim podobieństwem do minerału tkanki kostnej, a tym samym wysoką biogodnością. Wymagania stawiane hydroksyapatytowym systemom dostarczania leków przedstawia Ryc. 1.

Warto zaznaczyć, że w badaniach wykorzystuje się spoiwa wykonane z czystego hydroksyapatytu oraz opartych na nim materiałach kompozytowych i powłokotwórczych. Mogą mieć one postać granulek, proszku, cementu dwu- lub wieloskładnikowego, a także porowatej kształtki (tzw. skafoldu, ang. scaffold, czyli rusztowania dla nowo tworzonej tkanki kostnej).



Ryc. 1. Wymagania stawiane hydroksyapatytowym systemom dostarczania leków.

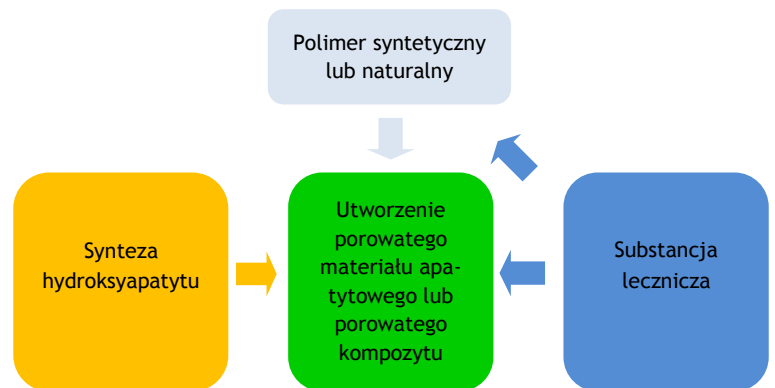
Podczas projektowania systemów dostarczania leków do kości wykorzystuje się substancje modelowe, które stanowią antybiotyki najczęściej stosowane w zakażeniach zmineralizowanych tkanek organizmu, a więc: cefalosporyny, penicyliny, glikopeptydy, aminoglikozydy i fluorochinolony.

W związku z wysoką skutecznością antybakteryjną wobec drobnoustrojów wywołujących wymienione wyżej infekcje, największym zainteresowaniem wśród badaczy cie-

szą się wankomycyna [4-13] oraz gentamycyna [5,12,14-22].

### 1. Otrzymywanie apatytowych systemów dostarczania substancji leczniczych - metody i etapy

Istnieje wiele metod tworzenia porowatej ceramiki apatytowej odpowiedniej do zastosowań farmaceutycznych. Każda metoda obejmuje etap otrzymywania syntetycznego hydroksyapatytu (lub pozyskania apatytu ze źródeł naturalnych), następnie utworzenie z niego materiału o porowatej strukturze i wprowadzenie substancji leczniczej (Ryc. 2). Należy zaznaczyć, że porowata struktura może być utworzona zarówno z samego apatytu, jak i kompozytu polimerowo/hydroksyapatytowego [23]. W przypadku kompozytu, substancja lecznicza może być połączona z polimerem lub też związana (najczęściej fizycznie) z fazą ceramiczną. Oczywiście, od miejsca i sposobu połączenia substancji leczniczej z kompozytową matrycą będzie zależeć kinetyka uwalniania.



Ryc. 2. Schemat otrzymywania apatytowych systemów dostarczania substancji leczniczych.

#### 1.1. Otrzymywanie wyjściowych proszków apatytowych

##### 1.1.1. Metody mokre

Opracowano wiele metod otrzymywania wyjściowego proszku hydroksyapatytu. Do najbardziej popularnych należy grupa metod mokrych, tzn. syntez przeprowadzonych w roztworach wodnych [24]. Jako źródła jonów wapnia wykorzystuje się najczęściej  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  czy  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Ca}$ ; z kolei źródłem jonów ortofosforanowych są  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  lub  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . Reakcję wytrącania przeprowadza się w środowisku zasadowym ( $\text{pH} > 8$ ). Na kształt i wielkość otrzymanych kryształów ma wpływ wiele czynników, takich jak temperatura i czas wytrącania, temperatura i czas starzenia, stężenie reagentów. Reakcje w roztworach wodnych można także przeprowadzać w autoklawach, przy podwyższonej temperaturze i ciśnieniu (metody hydrotermalne).

##### 1.1.2. Metody suche

Inną grupą metod otrzymywania hydroksyapatytu są metody suche. Reakcję zachodzą w tym przypadku w ciele stałym w bardzo wysokiej temperaturze (ok.  $1000^\circ\text{C}$ ) lub na drodze mechanosyntezy. Reagentami stanowiącymi źródła wapnia i fosforu mogą być np.  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  i  $\text{CaCO}_3$  lub  $\text{NH}_4\text{HPO}_4$  i  $\text{CaCO}_3$ . Niezmiernie ważny jest wybór metody syntezy hydroksyapatytu, która wpływać będzie na jego stopień krystaliczności, wielkość kryształów, a także obec-

ność zanieczyszczeń w istotnym stopniu determinująca jego właściwości.

Hydroksyapatyt można także pozyskać ze źródeł naturalnych, np. podczas hydrotermalnej przemiany węgla wapnia budującego koralowce lub ze zwierzęcej tkanki kostnej [25]. Warto podkreślić, że w ostatnim przypadku uzyskany apatyt (tzw. apatyt biologiczny) będzie tak naprawdę hydroksyapatytem węglanowym o znacznie obniżonej zawartości grup hydroksylowych, zawierającym szereg jonowych „zanieczyszczeń”. Będzie także charakteryzował się większą biokompatybilnością oraz bioresorbowalnością od syntetycznego, czystego hydroksyapatytu.

## 1.2. Otrzymywanie porowatej bioceramiki apatytowej

Z hydroksyapatytu w postaci proszku można otrzymać tzw. bioceramikę o charakterze gęstej, litej masy lub też o różnym stopniu porowatości. Bioceramika gęsta cechuje się większą wytrzymałością mechaniczną. Natomiast w przypadku zastosowań hydroksyapatytu jako nośnika substancji leczniczej kluczowym parametrem będzie jego odpowiednia porowatość [26].

### 1.2.1. Technika wypalania dodatków

Bioceramikę porowatą otrzymuje się kilkoma sposobami. Jednym z nich jest technika wypalania dodatków [26,27]. Polega ona na wymieszaniu hydroksyapatytu z odpowiednią substancją organiczną, sprasowaniu w grubszą pastylkę, wysuszeniu a następnie wypaleniu organicznego dodatku w temperaturze zazwyczaj do 600 °C. Odpowiednim dodatkiem jest np. parafina lub polibutylometakrylan, czyli substancje dające małe ilości popiołu po spalaniu. Można także prasować proszek hydroksyapatytowy z dodatkami sublimującymi (np. naftalenem). Do otrzymywania porowatych kształtek stosuje się także metodę pianową. Polega ona na łączeniu zawiesiny wodnej hydroksyapatytu z substancją, która podczas suszenia/wypalania rozkłada się, a wydzielany w tym procesie gaz odpowiedzialny jest za tworzenie porów.

### 1.2.2. Zastosowanie matryc polimerowych

Ciekawym sposobem wytwarzania porowatych struktur jest zastosowanie matryc polimerowych (zbudowanych z drobnych perełek polimeru), które wypełnia się zawiesiną wodną hydroksyapatytu, a następnie wypala w wysokiej temperaturze w celu całkowitego pozbycia się polimeru [28]. Warto zauważyć, że w tym przypadku struktura porów oraz ich wielkość będzie zdeterminowana przez wielkość zastosowanych perełek polimeru. W literaturze coraz częściej można odnaleźć wzmianki o technice gel - casting. Polega ona na wymieszaniu wodnej zawiesiny hydroksyapatytu z monomerem organicznym, który w trakcie tego procesu ulega polimeryzacji. Tak utwardzona masa jest następnie suszona i wypalana w wysokiej temperaturze.

### 1.2.3. Odwzorowanie tekstury

Kolejną metodą jest odwzorowanie tekstury (gąbki poliuretanowej, celulozy lub też spreparowanego koralowca) [29]. Materiał porowaty impregnowany jest zawiesiną hydroksyapatytu, suszony i wypalany w odpowiedniej temperaturze. Warto także wspomnieć, że coraz więcej doniesień literaturowych dotyczy wykorzystania techniki drukowania 3D do otrzymywania porowatych materiałów ceramicznych. Nie należy także zapominać o ich otrzymywaniu

ze źródeł naturalnych, np. kości wołowej. Kość jako naturalnie porowata struktura, po odbiałczeniu i poddaniu procesowi wypalania w wysokiej temperaturze staje się porowatą bioceramiką o odpowiednim kształcie i wielkości porów. Porowatość jest jednym z istotnych czynników wpływających na efektywność uwalniania substancji leczniczej z ceramicznego systemu. Pory powinny być małe (< 10 µm) i otwarte, ponieważ zapewnia to stopniowe i powolne uwalnianie substancji. Z drugiej strony, chcąc uzyskać nowotworzenie kości na implantowanym skafoldzie należy zapewnić także obecność znacznie większych porów (> 100 µm) umożliwiających wzrost komórek kostnych i ich proliferację [26,27].

## 1.3. Wprowadzanie substancji leczniczej

Przygotowanie systemu dostarczania substancji leczniczej do kości na bazie porowatego materiału hydroksyapatytowego może odbywać się na kilka sposobów. Bardzo popularnym jest moczenie porowatego materiału w roztworze substancji leczniczej, które bazuje na zjawisku sorpcji [26]. Aktywnym miejscem odpowiedzialnym za adsorpcję poprzez tworzenie wiązań wodorowych są powierzchniowe, strukturalne grupy hydroksylowe. Substancje lecznicze mogą ulegać adsorpcji zarówno na nanocząstkach hydroksyapatytu, granulkach oraz porowatych kształtkach [26,30]. Oczywiście, adsorpcja zależy będzie od wielu czynników, między innymi od struktury związku adsorbowanego, powierzchni właściwej hydroksyapatytu, porowatości, pH, obecności innych jonów/substancji adsorbowanych.

Innym sposobem wprowadzania substancji leczniczej do porowatego materiału apatytowego jest impregnacja hydroksyapatytu substancją leczniczą bądź mechaniczne wprowadzanie do wnętrza porów roztworu z substancją leczniczą. Wykorzystanie próżni lub zmniejszonego ciśnienia podczas impregnacji daje możliwość kontroli ilości wprowadzanej substancji leczniczej. W obydwu metodach problemem może być nagły wyrzut dużej ilości substancji leczniczej w początkowej fazie uwalniania. Aby zniwelować to zjawisko, porowaty impregnowany materiał (np. mikrosfery z hydroksyapatytu) pokrywa się polimerem tworzącym swoistą membranę uwalniającą stopniowo substancję leczniczą.

Systemy uwalniania substancji leczniczych mogą być utworzone nie tylko z nieorganicznego hydroksyapatytu, ale także z kompozytów z polimerami [30]. W takich przypadkach można często wykorzystywać obecność różnych grup funkcyjnych polimerów do utworzenia wiązań chemicznych z wprowadzaną substancją leczniczą. Zaletą takich systemów jest powolne, stopniowe uwalnianie substancji leczniczej.

## 2. Parametry systemów dostarczania antybiotyków do kości

Kolejne modyfikacje procedur otrzymywania lokalnych systemów dostarczania antybiotyków do kości są wyrazem dążenia do optymalizacji ich właściwości fizykochemicznych, biologicznych i farmakokinetycznych, a w konsekwencji osiągnięcia maksymalnej skuteczności terapeutycznej.

### 2.1. Plastyczność

Wiele z badań dotyczy tworzenia plastycznych past, granulek lub kształtek, których składnikiem jest hydroksya-

patyt i zawierających inkorporowane antybiotyki. Takie materiały potencjalnie przeznaczone są do bezpośredniej implantacji w miejscu zakażenia [7,9,12,19,31,32]. Aplikacja past (cementów) jest możliwa dzięki hydraulicznym właściwościom fosforanów wapnia i ich twardnieniu w warunkach *in vivo*. W celu zwiększenia plastyczności i adhezji cementu do kości, materiały łączy się m. in. z żelatyną i alginianem sodu [7,21], a także wysokocząsteczkowym  $\beta$ -1,3 - glukanem [17]. W badaniach *in vitro* nad matrycami modyfikowanymi solami kwasu alginowego udowodniono wzrost przeżywalności osteoblastów w stosunku do biomateriałów niemodyfikowanych [21]. W przypadku połączenia z żelatyną, potwierdzono jej stymulujący wpływ na różnicowanie i ekspresję genów komórek kostnych [10].

## 2.2. Porowatość

Jak już wcześniej wspomniano, niebagatelny wpływ na inkorporację i kinetykę uwalniania leku z biomateriału ma jego porowatość [12,14,15,33,34]. Modyfikacja morfologii i dystrybucji porów w apatycie odgrywa kluczową rolę w sterowaniu biodostępnością inkorporowanego antybiotyku. W pracy [34] zaprojektowano eksperyment, który jednoznacznie potwierdził przewagę wpływu rozmiaru porów i ich dystrybucji nad oddziaływaniem ilości zaadsorbowanego antybiotyku na kinetykę uwalniania leku z matrycy hydroksyapatytowej. Badania Chai i in. [33] udowodniły natomiast znacznie większą pojemność adsorpcyjną mikroporowatego HA w porównaniu z jego odpowiednikiem o litej strukturze. Dowiodły one również bezpośredniego związku wydłużenia czasu uwalniania antybiotyku ze wzrostem stopnia porowatości materiału.

Warto wspomnieć, że wpływ na morfologię matrycy mogą wywierać izomorficzne podstawienia w jej siatce krystalicznej. W badaniu opisanym w [32] hydroksyapatyt domieszczony jonami  $Sr^{2+}$  charakteryzował się zwiększoną wielkością porów, wydajnością adsorpcji i uwalniania w stosunku do materiału niemodyfikowanego. Wpływ kształtu i wielkości porów na kinetykę uwalniania leku antybakteryjnego potwierdzono również w badaniach nad nową metodą otrzymywania apatytowych mikrosfer uwalniających antybiotyków, gdzie morfologią porów sterowano za pomocą doboru substratów i ich stężeń do syntezy matrycowej postaci leku [14,15].

Prowadzone testy wskazują na wielofazowy charakter dyfuzji leku z matrycy nośnika [4,7,11,12,15,17,32,35]. Migracja farmaceutyku do płynu pozakomórkowego odbywa się zarówno z zewnętrznej, jak i wewnętrznej powierzchni porowatej materiału. Silniejszy i dłuższy efekt antybakteryjny zaś wiąże się ze wzrostem porowatości matrycy.

## 3. Strategie projektowania systemów dostarczania antybiotyków do kości. Znaczenie przedłużonego uwalniania leku

Skuteczna profilaktyka zakażeń okołoperacyjnych opiera się na przedłużonym uwalnianiu antybiotyku i utrzymaniu jego stężenia w zagrożonej infekcją tkance na poziomie kilkukrotnie przekraczającym MIC (ang. Minimal Inhibitory Concentration). Oprócz kontrolowania porowatości, w tym celu projektuje się również materiały kompozytowe, w których apatyt modyfikowany jest najczęściej polimerami kwasu mlekowego (PLA) [6,31], jego kopolimerami z kwasem glikolowym (PLGA) [18], a także chitozanem [8], cyklodekstrynami [9,35], żelatyną [22],  $\beta$ -1,3-glukanem [17] czy też kopolimerami hydroksylowanych po-

chodnych kwasów masłowego i walerianowego (PHBV) [16]. Taka modyfikacja wydłuża czas działania antybiotyku oraz poprawia kontrolę jego uwalniania. Dodatek tych związków indukuje również makroporowatość struktury biomateriału, która ułatwia jego waskularyzację i kolonizację przez komórki kostne. Dodatkową korzyścią zastosowania PLA jest skrócenie czasu trwałej implantacji systemu po aplikacji, a także przyspieszenie degradacji matrycy przez kwaśne produkty jego hydrolizy [6]. Niewielką, naturalną makroporowatość struktury bioceramiki można również poprawić, stosując podczas syntezy nośnika związki powierzchniowo czynne, np. Tween 80 (Polysorbat 80) [36]. W ten sposób otrzymuje się systemy dostarczania leków o strukturze niewielkiej pianki.

Ciekawym sposobem na przedłużenie uwalniania antybiotyku okazała się jego elektroforetyczne łączenie z chitozanem oraz pokrycie takim połączeniem tytanowego implantu [8]. Zewnętrzną powierzchnię tak otrzymanego materiału pokryto dodatkowo warstwą hydroksyapatytu, powstającym *in situ* pod wpływem przyłożonego napięcia. Dyfuzja leku ograniczona była deprotonacją wiązań wodorowych pomiędzy lekiem a chitozanem oraz ich dostępnością dla wody, którą ograniczała obecność porowatej warstwy HA.

Na przedłużenie uwalniania antybiotyku ma również wpływ jego budowa chemiczna [37]. Dowiedziono, że leki antybakteryjne posiadające grupę karboksylową (np. cefalotyna, karbenicylina) silniej łączą się z hydroksyapatytem (wiązanie przez jony wapnia). Bezpośrednim skutkiem takiego oddziaływania jest zwiększenie ilości inkorporowanego leku i przedłużenie jego uwalniania w stosunku do gen-tamycyny czy tobramycyny.

Porównuje się także różne techniki powlekania tytanowych implantów warstwą hydroksyapatytu i ich wpływ na inkorporację antybiotyku. Badania Stigter i in. [38,39] udowodniły większą wydajność adsorpcji leku w przypadku koprecypitacji HA i antybiotyku po zanurzeniu protezy w ich roztworze. Ilość inkorporowanego w powłoce leku, w przypadku powlekania protezy techniką „plasma spray” była 10-krotnie niższa.

## 4. Wpływ inkorporacji antybiotyku na właściwości mechaniczne apatytowego skafoldu

Badania nad systemami dostarczania antybiotyków do kości podejmowały również problem wpływu adsorbowanych farmaceutyków na morfologię i właściwości mechaniczne materiałów hydroksyapatytowych. Udowodniono m. in. wydłużenie czasu precypitacji apatytu w miejscu aplikacji oraz spadek wytrzymałości mechanicznej kostniwa wraz ze wzrostem stężenia antybiotyku w matrycy [40]. Podobne wnioski wysnuł Ratier i in. [41,42], którzy za newralgiczne uznali łączenie fosforanów wapnia z tetracyklinami, które kompleksują jony wapnia. Właściwość ta powodowała opóźnienie konwersji CPC do HA po implantacji matryc łączonych z tymi antybiotykami [41,42]. Ci sami badacze zaproponowali także sposób usunięcia tej niedogodności, który polegał na poddawaniu tetracykliny reakcji z  $CaSO_4$  tuż przed jej adsorpcją na nośniku. Działanie to okazało się skuteczne, jednak nie na tyle, aby całkowicie wyeliminować wpływ antybiotyku na obniżenie wytrzymałości mechanicznej kostniwa i wydłużenie czasu jego implantacji.

Pomimo wspomnianych wyżej doniesień nie zaniechano badań nad łączeniem fosforanów wapnia z tetracyklinami.

Jednym z powodów były przesłanki co do ich potencjalnych właściwości hamujących resorpcję kości [43,44]. W pracach [36,45] opisano łączenie CPC z doksycykliną. Antybiotyk okazał się wydajnym zarodkiem nukleacji kryształów apatytowych, zapewniającym otrzymanie biomateriału o wysoko homogennej mikrostrukturze. Także i w tych pracach potwierdzono negatywny wpływ antybiotyku na wytrzymałość mechaniczną CPC. Okazało się również, że doksycyklina w podwyższonych stężeniach ogranicza makroporowość matrycy. Podobne wnioski w odniesieniu do zmian wytrzymałości mechanicznej i implantacji apatytowej matrycy pod wpływem inkorporacji antybiotyku, wysnuto podczas badań nad adsorpcją gentamycyny [21] i wankomycyny [12]. Należy jednak podkreślić, że pomimo oczywistego, negatywnego wpływu na właściwości mechaniczne i hydrauliczne nośnika, adsorpcja antybiotyku nie przeszkodziła w uzyskaniu skutecznego systemu o odpowiednich parametrach.

## 5. Podsumowanie

Hydroksyapatyt stanowi obiecujący materiał w dziedzinie projektowania lokalnych systemów dostarczania antybiotyków do kości. Badania potwierdzają wysoką wydajność adsorpcji i pożądane, przedłużone uwalnianie leku z matryc otrzymywanych na ich bazie. Pojemność adsorpcyjna i kinetyka uwalniania determinowane są przez architekturę struktury porowatej materiału. Liczne źródła dowodzą wysokiej skuteczności antybakteryjnej badanych systemów lokalnego uwalniania, obejmującej również szczepy wielolekooporne MRSA [4]. Przyszłością pozostaje rozwój poszukiwań matryc inkorporujących więcej niż jeden antybiotyk w celu zwiększenia ich skuteczności antybakteryjnej [35].

## 6. Wykaz skrótów

PMMA	polimetylometakrylan, ang. <i>poly(methylmethacrylate)</i>
CPC	cementy fosforanowo - wapińowe, ang. <i>calcium phosphate cements</i>
MIC	minimalne stężenie hamujące, ang. <i>minimal inhibitory concentration</i>
PLA	polilaktyd, ang. <i>polylactid acid</i>
PLGA	kopolimer glikolidu z laktydem, ang. <i>poly(lactic-co-glycolic acid)</i>
PHBV	kopolimer kwasu masłowego I walerianowego, ang. <i>poly(hydroxybutyrate - valerate)</i>
MRSA	gronkowiec złocisty oporny na metycylinę, ang. <i>methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i>

## 7. Bibliografia

- Diefenbeck M., Mückley T., Hofmann G. O. Prophylaxis and treatment of implant-related infections by local application of antibiotics. *Injury* 2006, 37(2), 95 - 104.
- ter Boo G.-J. A., Grijpma D. W., Moriarty T. F., Richards R. G., Eglin D. Antimicrobial delivery systems for local infection prophylaxis in orthopedic - and trauma surgery. *Biomaterials* 2015, 52, 113 - 125.
- Klekamp J., Dawson J. The use of vancomycin and tobramycin in acrylic bone cement. *J Arthroplasty* 1999, 14 (3), 339 - 346.
- Joosten U., Joist A., Gosheger G., Liljenqvist U., Brandt B., von Eiff Ch. Effectiveness of hydroxyapatite - vancomycin bone cement in the treatment of *Staphylococcus aureus* induced chronic osteomyelitis. *Biomaterials* 2005, 26 (25), 5251 - 5258.
- Rauschmann M. A., Wichelhaus T. A., Stiral V., Dingeldein E., Zichner L., Schnettler R., Alt V. Nanocrystalline hydroxyapatite and calcium sulphate as biodegradable composite carrier material for local delivery of antibiotics in bone infections. *Biomaterials* 2005, 26 (15), 2677-2684.
- Loca D., Sokolova M., Locs J., Smirnova A., Irbe Z. Calcium phosphate bone cements for local vancomycin delivery. *Mater Sci Eng: C* 2015, 49, 106 - 113.
- Yu J., Chu X., Cai Y., Tong P., Yao J. Preparation and characterization of antimicrobial nano - hydroxyapatite composites. *Mater Sci Eng: C* 2014, 37, 54 - 59.
- Yang C. - C, Lin C. - C, Liao J. - W., Yen S. - K. Vancomycin - chitosan composite deposited on post porous hydroxyapatite coated Ti6Al4V implant for drug controlled release. *Mater Sci Eng: C* 2013, 33 (4), 2203 - 2212.
- Leprêtre S., Chai F., Hornez J. - Ch., Vermet G., Neut Ch., Descamps M., Hildebrand H. F., Martel B. Prolonged local antibiotics delivery from hydroxyapatite functionalised with cyclodextrin polymers. *Biomaterials* 2009, 30 (30), 6086 - 6093.
- Martínez - Vázquez F.J., Cabañas M.V., Paris J. L., Lozano D., Vallet - Regí M. Fabrication of novel Si - doped hydroxyapatite/gelatine scaffolds by rapid prototyping for drug delivery and bone regeneration. *Acta Biomater* 2015, 15, 200 - 209.
- Lian X., Liu H., Wang X., Xu S., Cui F., Bai F. Antibacterial and biocompatible properties of vancomycin - loaded nano - hydroxyapatite/collagen/poly (lactic acid) bone substitute. *Prog Nat Sci: Materials International* 2013, 23 (6), 549 - 556.
- Vorndran E., Geffers M., Ewald A., Lemm M., Nies B., Gbureck U. Ready - to - use injectable calcium phosphate bone cement paste as drug carrier. *Acta Biomater* 2013, 9 (12), 9558 - 9567.
- Makarov C., Cohen V., Raz - Pasteur A., Gotman I. In vitro elution of vancomycin from biodegradable osteoconductive calcium phosphate - polycaprolactone composite beads for treatment of osteomyelitis. *Eur J Pharm Sci* 2014, 62, 49 - 56.
- Yu M., Zhou K., Zhang F., Zhang D. Porous HA microspheres as drug delivery: Effects of porosity and pore structure on drug loading and in vitro release. *Ceram Int* 2014, 40 (8), 12617 - 12621.
- Yu M., Zhou K., Li Z., Zhang D. Preparation, characterization and in vitro gentamicin release of porous HA microspheres, *Mater Sci Eng: C* 2014, 45, 306 - 312.
- Wang Y., Wang X., Wei K., Zhao N., Zhang S., Chen J. Fabrication, characterization and long - term in vitro release of hydrophilic drug using PHBV/HA composite microspheres. *Mater Lett* 2007, 61 (4-5), 1071 - 1076.
- Belcarz A., Zima A., Ginalska G. Biphasic mode of antibacterial action of aminoglycoside antibiotics - loaded elastic hydroxyapatite - glucan composite. *Int J Pharm* 2013, 454 (1), 285 - 295.
- Schnieders J., Gbureck U., Thull R., Kissel T. Controlled release of gentamicin from calcium phosphate - poly (lactic acid - co - glycolic acid) composite bone cement. *Biomaterials* 2006, 27 (23), 4239 - 4249.
- Joosten U., Joist A., Frebel T., Brandt B., Diederichs S., von Eiff C. Evaluation of an in situ setting injectable calcium phosphate as a new carrier material for gentamicin in the treatment of chronic osteomyelitis: Studies in vitro and in vivo. *Biomaterials* 2004, 25 (18), 4287 - 4295.
- Padilla S., del Real R. P., Vallet - Regí M. In vitro release of gentamicin from OHAp/PEMA/PMMA samples. *J Control Release* 2002, 83 (3), 343 - 352.
- Chen C. - H. D., Chen C. - C., Shie M. - Y., Huang C. - H., Ding S. - J. Controlled release of gentamicin from calcium phosphate/alginate bone cement. *Mater Sci Eng: C* 2011, 31 (2), 334 - 341.
- Zamoune O., Thibault S., Regnié G., Mechéri M. O., Fiallo M., Sharrock P. Macroporous calcium phosphate ceramic implants for sustained drug delivery. *Mater Sci Eng: C* 2011, 31 (7), 1352 - 1356.
- Sun F., Zhou H., Lee J. Various preparation methods of highly porous hydroxyapatite/polymer nanoscale biocomposites for bone regeneration. *Acta Biomater* 2011, 7, 3813 - 3828.

24. Dorozhkin S.V. Nanosized and nanocrystalline calcium orthophosphates. *Acta Biomater* 2010, 6, 715 - 734.
25. Janus A. M., Faryna M., Haberko K., Rakowska A., Panz T. Chemical and microstructural characterization of natural hydroxyapatite derived from pig bones. *Microchim Acta* 2008, 161, 349 - 353.
26. Loca D., Locs J., Dubnika A., Zalite V., Berzina - Cimdirina L. Porous hydroxyapatite for drug delivery. w: Mucalo M. (ed.). *Hydroxyapatite for biomedical applications*. Elsevier, Cambridge, 2015.
27. Ślósarczyk A., Polesiński Z., Jaegermann Z., Karaś J., Stoch L., Cieczińska M., Łączka M. *Biomateriały ceramiczne*. w: Błażewicz S., Stoch L. *Biomateriały*, Akademicka Oficyna wydawnicza Exit, Warszawa, 2003.
28. Ramay H. R., Zhang M. Preparation of porous hydroxyapatite scaffolds by combination of the gel - casting and polymer - sponge methods. *Biomaterials* 2003, 24(19), 3293 - 3302.
29. Swain S. K., Bhattacharyya S., Sarkar D. Preparation of porous scaffold from hydroxyapatite powders. *Mater Sci Eng C* 2011, 31(6), 1240 - 1244.
30. Manzano M. *Ceramics for drug delivery*. w: Vallet - Regi M. (ed.). *Bioceramics with Clinical Applications*, Wiley and Sons, Chichester, 2014.
31. Ginebra M. - P., Canal C., Espanol M., Pastorino D., Montufar E. B. Calcium phosphate cements as drug delivery materials. *Adv Drug Deliver Rev* 2012, 64 (12), 1090 - 1110.
32. Hamdan Alkhraisat M., C. Rueda, Cabrejos - Azama J., Lucas - Aparicio J, Tamimi Mariño F., Torres García - Denche J., Blanco Jerez L., Gbureck U., Lopez Cabarcos E. Loading and release of doxycycline hyclate from strontium - substituted calcium phosphate cement. *Acta Biomater* 2010, 6 (4), 1522 - 1528.
33. Chai F., Hornez J. - C., Blanchemain N., Neut C., Descamps M., Hildebrand H.F. Antibacterial activation of hydroxyapatite (HA) with controlled porosity by different antibiotics. *Biomol. Eng.* 2007, 24 (5), 510 - 514.
34. Čolović B., Pašalić S., Jokanović V. Influence of hydroxyapatite pore geometry on tigeicycline release kinetics. *Ceram Int* 2012, 38 (8), 6181- 6189.
35. Taha M., Chai F., Blanchemain N., Goube M., Martel B., Hildebrand H.F. Validating the poly - cyclodextrins based local drug delivery system on plasma - sprayed hydroxyapatite coated orthopedic implant with toluidine blue O. *Mater Sci Eng: C* 2013, 33 (5), 2639 - 2647.
36. Taha M., Chai F., Blanchemain N., Neut Ch., Goube M., Maton M., Martel B., Hildebrand H. F. Evaluation of sorption capacity of antibiotics and antibacterial properties of a cyclodextrin - polymer functionalized hydroxyapatite - coated titanium hip prosthesis. *Int J Pharm* 2014, 477 (1-2), 380 - 389.
37. Pastorino D., Canal C., Ginebra M. - P. Drug delivery from injectable calcium phosphate foams by tailoring the macroporosity - drug interaction. *Acta Biomater* 2015, 12, 250 - 259.
38. Stigter M., Bezemer J., de Groot K., Layrolle P. Incorporation of different antibiotics into carbonated hydroxyapatite coatings on titanium implants, release and antibiotic efficacy. *J Control Release* 2004, 99 (1), 127 - 137.
39. Stigter M., de Groot K., Layrolle P. Incorporation of tobramycin into biomimetic hydroxyapatite coating on titanium. *Biomaterials* 2002, 23 (20), 4143 - 4153.
40. Ginebra M. P., Traykova T., Planell J. A. Calcium phosphate cements as bone drug delivery systems. *J Control Release* 2006, 113 (2), 102 - 110.
41. Ratier A., Gibson I. R., Best S. M., Freche M., Lacout J. L., Rodriguez F. Setting characteristics and mechanical behaviour of a calcium phosphate bone cement containing tetracycline. *Biomaterials* 2001, 22 (9), 897 - 901.
42. Ratier A., Freche M., Lacout J. L., Rodriguez F. Behaviour of an injectable calcium phosphate cement with added tetracycline. *Int J Pharm* 2004, 274 (1-2), 261 - 268.
43. Kallala R., Graham S. M., Nikkha D., Kyrkos M., Heliotis M., Mantalaris A., Tsiridis E. In vitro and in vivo effects of antibiotics on bone cell metabolism and fracture healing. *Expert Opin Drug Saf* 2012, 11 (1), 15 - 32.
44. Ong S. M., Taylor G. J. S. Doxycycline inhibits bone resorption by human interface membrane cells from aseptically loose hip replacements. *J Bone Joint Surg BR* 2003, 85, 456 - 461.
45. Canal C., Pastorino D., Mestres G., Schuler P., Ginebra M. - P. Relevance of microstructure for the early antibiotic release of fresh and pre - set calcium phosphate cement. *Acta Biomater* 2013, 9 (9), 8403 - 8412.