

P O L I M E R Y

MIESIĘCZNIK POŚWIĘCONY CHEMII, TECHNOLOGII I PRZETWÓRSTWU POLIMERÓW

GRZEGORZ GORCZYCA^{1),*)}, ROBERT TYLINGO²⁾

Biopolimery w konstrukcji nowoczesnych materiałów medycznych o aktywności antydrobnoustrojowej

Cz. I. BIOPOLIMEROWE MATERIAŁY MEDYCZNE – KOLAGEN, CHITOZAN

Streszczenie — Artykuł stanowi przegląd literatury dotyczącej możliwości wykorzystania biopolimerów do otrzymywania materiałów opatrunkowych o aktywności antydrobnoustrojowej. Opisano potencjał tkwiący w biopolimerach, takich jak kolagen i chitozan. Omówiono możliwości unieruchomienia w nich a następnie kontrolowanego uwalniania substancji aktywnych, nadających materiałom opatrunkowym właściwości bakteriobójcze, bakteriostatyczne oraz wspomagające gojenie się ran. Scharakteryzowano rodzaje zagrożeń, w stosunku do których materiały opatrunkowe powinny wykazywać aktywność oraz formy i rodzaje wyszczególnionych biopolimerów, wykorzystywanych w produkcji materiałów medycznych. Drugą część artykułu poświęcono przedstawieniu najważniejszych strategii stosowanych do nadawania aktywności antydrobnoustrojowej materiałom biopolimerowym.

Słowa kluczowe: biomateriały, kolagen, chitozan, opatrunki medyczne, infekcje skórne.

BIOPOLYMERS IN DESIGNING MODERN ANTIMICROBIAL MEDICAL MATERIALS. Part I. BIOPOLYMER MEDICAL MATERIALS — COLLAGEN, CHITOSAN

Summary — The article is a review of the literature concerning the possible use of biopolymers for the preparation of dressings with antimicrobial activity. Authors show the potential of biopolymers: collagen and chitosan — which have the ability to immobilize and control the release of various active compounds — for providing the appropriate antibacterial, bacteriostatic and wound healing properties. Types of threats, for which the dressing materials should exhibit activity, were discussed. Specific kinds of biopolymers used for the production of medical materials and forms of their application were characterized. The second part of the paper is devoted to detail the main strategies used to impart antimicrobial activity to biopolymer materials.

Keywords: biomaterials, collagen, chitosan, wound dressings, skin infections.

¹⁾ Politechnika Gdańska, Wydział Chemiczny, Katedra Technologii Leków i Biochemii, ul. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk.

²⁾ Politechnika Gdańska, Wydział Chemiczny, Katedra Chemii, Technologii i Biotechnologii Żywności, ul. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk.

*) Autor do korespondencji; e-mail: gregory.gorczyca@gmail.com

WPROWADZENIE

W ostatnich latach rynek materiałów opatrunkowych dynamicznie się rozwija, a co więcej nadal ma nieprzewidywalnie duży potencjał w odniesieniu zarówno do rozwoju stosowanych technologii, jak i wzrostu jego wartości. Szacuje się, że do roku 2012 osiągnie on wartość 12,5 miliardów dolarów, z czego większość to wartość rynków amerykańskiego i europejskiego [1]. Prognozy rozwoju dotyczą zarówno tradycyjnych, jak i nowoczesnych materiałów opatrunkowych. Prawie niemożliwe wydaje się zidentyfikowanie „korzeni” opatrunków tradycyjnych, zaawansowane opatrunki zaś, w tym także biomateriały, są wynikiem rozwoju technologii dwudziestego wieku i to one wyznaczają dalszy kierunek postępu w tej dziedzinie.

Tradycyjne materiały obejmują produkty włókniste, takie jak gazy, bandaże i podstawowe opatrunki samoprzylepne oraz wszelkiego rodzaju płyny do zastosowań miejscowych [2]. Głównym, pierwotnym celem ich wykorzystania było utrzymanie suchego środowiska rany, umożliwiającego odparowanie wydobywającego się z niej wysięku oraz zabezpieczenie przed inwazją drobnoustrojów ze środowiska zewnętrznego. Dopiero w latach sześćdziesiątych ubiegłego stulecia pojawiła się nowa koncepcja sposobu opatrywania rany, dowodząca szybszego i bardziej efektywnego leczenia w przypadku zachowania wilgotnych warunków [3]. Wykazano, że wilgotne, wolne od infekcji środowisko rany zapewnia podwyższoną obecność leukocytów, enzymów, cytokin oraz czynników wzrostu, znacznie przyspieszających proces jej leczenia [4]. Pomimo dowodów na istniejące korzyści wynikające ze zmiany koncepcji leczenia rany, rozwój technologii zaawansowanych materiałów opatrunkowych był możliwy wraz z postępowaniem technologicznym w dziedzinie materiałów polimerowych i obserwujemy go dopiero w ostatnich kilkunastu latach.

Zaawansowane materiały, często nazywane opatrunkami nowej generacji, dzieli się głównie ze względu na surowce z jakich zostały wyprodukowane, na grupy takie jak: hydrokoloidowe, alginianowe oraz hydrożele, które zasadniczo występują w postaci żeli, cienkich filmów bądź struktur gąbczastych [2, 5, 6]. Ze względu na przeznaczenie wyróżnia się z kolei te, które zapewniają jedynie wilgotne środowisko rany i te, które dodatkowo zawierają czynnik aktywny [5]. Czynnikami aktywnymi są przede wszystkim związki antydnoboustrojowe, czynniki wzrostu komórek oraz żywe komórki [7]. Aktywne wyroby opatrunkowe stanowią obecnie główny kierunek rozwoju tej gałęzi rynku wyrobów medycznych. Z roku na rok obserwuje się coraz większą liczbę takich opatrunków, wprowadzanych do standardowych metod leczenia, a badania nad nowymi materiałami opatrunkowymi intensyfikuje dodatkowo brak pojedynczego produktu, idealnego dla każdego rodzaju rany, na wszystkich etapach jej leczenia [8]. Ze względu na znaczne różnice między poszczególnymi fazami procesu

leczenia rany, w tym przede wszystkim różne ilości wydobywającego się z niej wysięku, a także odmienny stan zdrowia poszczególnych pacjentów, nie jest możliwe zaprojektowanie idealnego opatrunku medycznego. Wykorzystanie polimerów naturalnych, takich jak kolagen lub chitozan pozwala na otrzymywanie materiałów o właściwościach zbliżonych do matrycy pozakomórkowej — miękkiej, mocnej i elastycznej sieci zbudowanej z glikoprotein, zapewniającej stabilność mechaniczną i integralność strukturalną tkanek i narządów ciała [6, 9]. Zaletą tego rodzaju materiałów jest dodatkowo ich biokompatybilność, brak toksyczności i mała skłonność do wywołania odczynów alergicznych [10, 11]. Często materiały te odgrywają także bardzo specyficzną rolę w procesie odbudowywania tkanek skóry, m.in. stanowiąc miejsce adhezji komórek [12]. Taka charakterystyka, a ponadto stosunkowo niska cena czyni polimery naturalne atrakcyjnymi surowcami uwzględnianymi w projektowaniu nowoczesnych materiałów opatrunkowych. Dostępność i cena surowców niezbędnych do produkcji danego wyrobu jest, z punktu widzenia ekonomicznego, jednym z bardziej istotnych czynników decydujących o zainteresowaniu nowo wprowadzonym produktem. W tabeli 1 przedstawiono nowoczesne materiały opatrunkowe dostępne obecnie na polskim rynku wyrobów medycznych.

BIOPOLIMEROWE STRUKTURY GĄBCZASTE I HYDROŻELOWE WYKORZYSTYWANE W MEDYCYNIE

Struktury gąbczaste na ogół powstają w wyniku zawieszenia biopolimeru w rozpuszczalniku, homogenizacji roztworu, a następnie wysuszenia. Najczęściej, w celu uzyskania struktur gąbczastych wykorzystuje się kolagen oraz chitozany. Dzięki zastosowaniu liofilizacji w trakcie suszenia, struktura trzeciorzędowa biopolimerów nie ulega zniszczeniu. Na parametry fizyczne liofilizowanego kolagenu można wpływać poprzez zmianę stężenia kolagenu w rozpuszczalniku lub w wyniku tworzenia wielowarstwowych struktur, których obecność wydłuża drogę transportu immobilizowanego w ich wnętrzu czynnika aktywnego [13]. Większość z dostępnych obecnie preparatów jest wykonywana z kolagenu w izolowanym ze skór bydłowych [14] lub ze ścięgna Achillesa konia [15]. Taki sposób pozyskiwania kolagenu budzi jednak wiele kontrowersji ze względu na możliwość zanieczyszczenia materiałów infekcyjnymi białkami prionowymi, dlatego też obserwuje się wzrost zainteresowania kolagenem pochodzącym ze zwierząt zmienocieplnych [16]. Kolagen wykorzystywany w preparacie może być także łączony z innymi substancjami, takimi jak: elastyna, fibronektyna, może być również poddany usieciowaniu, np. aldehydem glutarowym. Aldehyd glutarowy to toksyczny czynnik sieciujący. Toksyczność zarówno aldehydu, jak i innych związków sieciujących jest eliminowana na drodze wypłukiwania jego nieprzereagowanego nadmiaru. Połączenie kolagenu z innymi polimerami, takimi jak silikon, pozwala na osiągnięcie stabil-



T a b e l a 1. Charakterystyka głównych typów opatrunków nowej generacji dostępnych na polskim rynku wyrobów medycznych
T a b l e 1. Characteristics of the main types of new generation wound dressings available on the Polish medical devices market

Producent	Produkt	Charakterystyka
Kikgel	Aqua-Gel	opatrunek hydrożelowy, membrana (poliwinylpirolidon, glikol polietylenowy, agar)
	Aqua-Gel Ratunkowy	opatrunki Aqua-Gel o większych wymiarach oraz maski w kształcie twarzy
	Algivon	opatrunek antybakteryjny, absorpcyjny na bazie alginianu wapnia, nasączony miodem Manuka
	Advazorb Plus	opatrunek gąbczasty z pianki poliuretanowej
	Eclipse	opatrunek z warstwą chłonną wyposażoną w absorpcyjny system Xu-lock™, z zewnętrzną warstwą celulozy
	Episil Absorbent	opatrunek absorpcyjny z adhezyjną warstwą miękkiego silikonu
	BurnTec	opatrunek hydrożelowy, membrana, przeznaczony do leczenia oparzeń
	Neoheal	opatrunek hydrożelowy, przezroczysty
Convatec	Granuflex	opatrunek absorpcyjny z karboksymetylocelulozy, żelatyny i pektyny
	Aquacel®	opatrunek absorpcyjny z włókien karboksymetylocelulozy
	Aquacel® Ag	opatrunek antybakteryjny z włókien karboksymetylocelulozy z dodatkiem 1,2 % jonów srebra
	Kaltostat	opatrunek z włókien alginianu wapnia
Hartmann	Atrauman AG	opatrunek antybakteryjny z maścią zawierającą srebro metaliczne
	Hydrocoll	opatrunek hydrokoloidowy
	Hydrosorb Gel	amorficzny opatrunek hydrożelowy
	Hydrotul	hydroaktywny opatrunek z maścią
	TenderWet	opatrunek absorpcyjny aktywowany roztworem Ringera
	Hydrosorb	opatrunek hydrożelowy
	Sorbalgon	opatrunek z włókien alginianu wapnia
	Comfeel	opatrunek z włókien karboksymetylocelulozy
Coloplast	Biatain	opatrunek poliuretanowy (struktura gąbczasta)
	Biatain Ag	opatrunek antybakteryjny, poliuretanowy (struktura gąbczasta) nasycony roztworem srebra
Genexo	Prel Red	opatrunek hydrożelowy, membrana, na bazie salicylanu glikolu z unieruchomioną kapsaicyną (opatrunek rozgrzewający, nie jest przeznaczony do opatrywania ran skórnych)
	Prel Blue	opatrunek hydrożelowy, membrana, na bazie salicylanu glikolu z unieruchomionym mentolem (opatrunek chłodzący, nie jest przeznaczony do opatrywania ran skórnych)
Toruńskie Zakłady Materiałów Opatrunkowych S.A.	Medisorb A	opatrunek z włókien alginianu wapnia
	Medisorb F	poliuretanowy opatrunek foliowy
	Medisorb H	opatrunek hydrokoloidowy z cienką warstwą pianki poliuretanowej
	Medisorb G	amorficzny opatrunek hydrożelowy
	Medisorb P	opatrunek wielowarstwowy, hydrożelowy z cienką warstwą pianki poliuretanowej
3M	Tegaderm™ Absorbent Clear Acrylic Dressing	opatrunek absorpcyjny na bazie pochodnych kwasu akrylowego
	Tegaderm™ High Gelling Alginate Dressing	opatrunek hydrokoloidowy z alginianu wapnia
	3M™ Tegaderm™ Alginate Dressing	opatrunek hydrożelowy z alginianu wapnia z ochronną warstwą włóknistą
	3M™ Tegaderm™ Hydrocolloid Dressing	opatrunek hydrokoloidowy
	3M™ Tegaderm™ Hydrogel	amorficzny opatrunek hydrożelowy
3M™ Tegaderm™ Ag	opatrunek antybakteryjny nasycony siarczanem srebra	
Johnson & Johnson	NU-GEL®	amorficzny opatrunek hydrożelowy na bazie alginianu wapnia
	Actisorb Plus®	opatrunek antybakteryjny, włóknisty, na bazie czystego węgla aktywnego impregnowanego srebrem
	Inadine®	opatrunek antybakteryjny poliwinyljodowy (nasycony jodopowidonem)
	Tielle®	opatrunek hydropolimerowy, samoprzylepny



ności układu i stopniowe uwalnianie włączonego do matrycy związku [12]. Tego typu struktury gąbczaste są materiałem preferowanym w leczeniu ciężkich oparzeń oraz ran, takich jak odleżyny lub owrzodzenia. Głównym atutem materiałów na bazie kolagenu jest zdolność do łatwej absorpcji dużej ilości wydzielin tkanki oraz duża, przylegająca do rany powierzchnia, zachowująca wilgotny mikroklimat i dzięki temu stanowiąca dogodne rusztowanie dla komórek odbudowującej się tkanki skórnej. Poza dodatkową osłoną rany przed mechanicznym urazem, kolagenowe gąbki są również fizyczną barierą zapobiegającą wtórnym zakażeniom bakteryjnym [12]. Oprócz zalet wynikających z typowo fizycznych właściwości, kolagen stymuluje także rozwój i wzrost komórek. Pozwala to na tworzenie bardzo unaczynionego ziarnistego fundamentu dla komórek, wspomagającego odbudowę naskórka [12]. Kolagenowe matryce można zatem uznać za opatrunki aktywne, przyspieszające proces leczenia. W związku ze specyficznymi właściwościami rusztowania i pozytywnym wpływem na aktywność komórkową, kolagenowe materiały gąbczaste odgrywają istotną rolę w inżynierii tkankowej oraz jako nośnik czynników wzrostu [12]. Materiały najczęściej używane do konstrukcji rusztowań dla białek morfogenetycznych kości (BMP) są oparte na fosforanie wapnia i kolagenie. Kombinację obu tych materiałów sprawdzano w roli układu wspierającego proces regeneracji kości [17].

Biopolimerowe gąbczaste systemy kontrolowanego dostarczania chemoterapeutyków

Systemy trójwymiarowych matryc kolagenowych zawierających antybiotyki opracowano w celu zastosowania ich w lokalnym leczeniu i w profilaktyce zakażeń tkanek miękkich [12]. W chirurgii ortopedyczno-urazowej, pomimo zmniejszenia ryzyka zanieczyszczenia uzyskanego w wyniku poprawy sterylności implantów, a także przedoperacyjnej profilaktyki antybiotykowej, nadal występują komplikacje pozabiegowe. W leczeniu zakażeń już istniejących, aplikacja dużych dawek antybiotyków niesie za sobą ryzyko wystąpienia działań niepożądanych. Nie bez znaczenia pozostaje także toksyczność oraz zdolność do akumulacji wielu stosowanych obecnie antybiotyków. Bardzo ważna jest więc odpowiednia modyfikacja biopolimerowego materiału w celu uzyskania właściwej szybkości uwalniania substancji aktywnej. Ważne jest także, aby używane chemoterapeutyki charakteryzowały się niskim stopniem alergenicności, stabilnością w temperaturze ciała ludzkiego, aktywnością bakteriobójczą, niskim poziomem oporności bakterii oraz szerokim spektrum działania na drobnoustroje [12].

Większość powyższych wymagań spełnia gentamycyna. Wykazuje ona bowiem działanie bakteriobójcze w odniesieniu do szerokiego spektrum mikroorganizmów, m.in. bakterii *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* i *Enterobacteriaceae*. Sierczan gentamycyny charakteryzuje się znaczną rozpuszczalnością w wodzie

(> 1 g/cm³), ale niewielką w rozpuszczalnikach organicznych (0,678 mg/cm³ chloroformu, 0,2 mg/cm³ w metanolu, 0,04 mg/cm³ w acetonie). Jej hydrofilowy charakter powoduje, że penetracja i resorpcja do tkanki jest mniejsza niż do osocza [15]. W niektórych, stosowanych obecnie rozwiązaniach, antybiotyki, w tym także gentamycyna, są kapsułkowane w cemencie kostnym lub w koralikach polimetakrylanowych. Muszą one jednak być usunięte w kolejnym zabiegu chirurgicznym, co stwarza dodatkowe zagrożenie zakażeniem wtórnym. Kolagenowe implanty gentamycyny umieszczone w strefie podskórnej wykazują działanie krótkotrwałe (3–7 dni) w porównaniu z czasem działania zawierających antybiotyków koralików polimetakrylanu, a ponadto po kilku dniach ulegają całkowitemu wchłonięciu. Trójwymiarowe kolagenowe gąbki gwarantują uzyskanie początkowo, przez krótki okres, wysokiego poziomu gentamycyny i następną, utrzymującą się przez kilka dni, stabilizację lokalnego stężenia antybiotyku powyżej minimalnego stężenia hamującego wzrost drobnoustrojów. Ostatecznie ilość antybiotyku w tkance stopniowo ulega zmniejszeniu. Trójwymiarowa struktura matrycy narzuca odległości między usieciowanymi cząsteczkami leku, a wolne przestrzenie w sieci wpływają na większą penetrację komórek w implancie, co z kolei ułatwia odnowę tkanki. Badania przeprowadzone w równoległych grupach pacjentów wykazały skrócenie czasu hospitalizacji o 15 % i 22 %, w przypadku wspomagania standardowego leczenia gąbczastymi implantami kolagenowymi z gentamycyną [15]. Innym rodzajem materiału otrzymanego na bazie kolagenu, o aktywności antydrobnoustrojowej, są tarcze kolagenowe, wprowadzone w okulistyce jako preparaty do podawania antybiotyków: gentamycyny oraz, szeroko wykorzystywanej w leczeniu zakażeń oka, wankomycyny. W tym przypadku stwierdzono, że zastosowanie gąbczastego kolagenu nasączonego roztworem leku nie powoduje wydłużenia czasu działania antybiotyku, w porównaniu z czasem jego działania w leczeniu miejscowym, polegającym na podawaniu kropeł roztworu gentamycyny w ciągu 24 h, w dawce co 30 min. Dodatkowo kolagen przyspiesza różnicowanie komórek nabłonka i zmniejsza obrzęk zębów po operacji zaćmy [18].

Choroby przyzębia są bardzo częstym zjawiskiem. Około 70–90 % ludności na świecie powyżej 35 roku życia traci z tego powodu zęby. Najłagodniejsze przypadki kliniczne określa się jako zapalenia dziąseł, cięższe zaś jako stany zapalne przyzębia. Są to choroby wywołane kolonizacją patogennych szczepów bakteryjnych atakujących tkanki dziąseł, zęby i kości otaczające ząb. Antyseptyki przeciwbakteryjne, takie jak chlorheksydyna i czwartorzędowe sole amoniowe, w postaci płukanki jamy ustnej, wykazują dużą skuteczność w profilaktyce chorób przyzębia. Leki w postaci płynnej nie są jednak w stanie hamować rozwoju flory poddziąsłowej, ponieważ mają ograniczoną możliwość penetracji przestrzeni międzyzębowych. W związku z tym nie stosuje się ich w leczeniu chorób przyzębia. Pewne nadzieje w tym

względnie są wiązane z systemami kontrolowanego uwalniania substancji przeciwdrobnoustrojowych, w tym m.in. z matrycami przygotowanymi przez zmieszanie 1-proc. roztworu kolagenu bydłęcego z roztworem tetracykliny o stężeniu 5–10 mg/cm³. Otrzymane błony po wysuszeniu sieciuje się chemicznie przez zanurzenie w 2-proc. roztworze aldehydu glutarowego. W wyniku takiej procedury uzyskuje się materiał matrycy wolniej uwalniający lek. Terapeutyczna dawka antybiotyku utrzymuje się do 10 dni. Badania potwierdziły, że proces zwalczania bakterii przebiega sprawniej. Zastosowanie znalazł także, opatentowany w 2003 roku, PerioChip[®] wspierający leczenie paradontozy u osób dorosłych. W skład tego materiału wchodzi 2,5 mg D-glukonianu chlorheksydyny unieruchomionego w żelatynie sieciowanej aldehydem glutarowym. Produkt, poddziałowo wydziela chlorheksydynę i ulega całkowitej enzymatycznej degradacji po 7–10 dniach [19]. Skuteczna dawka leku na stabilnym poziomie utrzymuje się przez okres tygodnia.

Istotne znaczenie ma sposób unieruchamiania leku w macierzy kolagenowej – w wyniku zanurzenia gąbki w roztworze antybiotyku przed implantacją bądź zanurzenia a następnie wysuszenia lub wreszcie wprowadzenia leku do struktury gąbki w toku jej produkcji. Badania porównawcze czterech różnych antybiotyków (siarczan gentamycyny, cefotaxim, kwas fusydowy i wankomycyna) unieruchomionych przez namoczenie uprzednio przygotowanej gąbki kolagenowej wykazały, że lek na ogół uwalnia się całkowicie po 3–4 dniach. Tylko w przypadku siarczanu gentamycyny, stężenie leku hamujące wzrost bakterii utrzymywało się w ciągu 7 dni, bez względu na sposób przygotowania preparatu. Istnieją rozbieżności w wyjaśnieniach przyczyny zwolnionego uwalniania substancji unieruchomionej w kolagenie. Efekt ten może być spowodowany znaczną lepkością preparatu białka, co zmniejsza szybkość dyfuzji leku do układu krążenia, bądź też może wynikać z obecności wiązań powstających pomiędzy cząsteczkami leku a kolagenem. W celu poznania kinetyki uwalniania czynnika unieruchomionego w macierzy kolagenowej, Rosenblatt i Singh [20] badali efekt oddziaływań między kolagenem a lizozymem, jako białkiem modelowym. Modyfikowali oni rozkład ładunku na powierzchni cząsteczki kolagenu, w celu uzyskania fragmentów obdarzonych ładunkiem ujemnym, które wiązałyby się z cząsteczkami dodatnio naładowanego lizozymu. W badanym procesie lizozym uwalniał się z macierzy kolagenowej wolniej niż wynikałoby to z teoretycznych obliczeń, na podstawie drugiego prawa Ficka profilu dyfuzji. Wpływ na to miały elektrostatyczne i hydrofobowe oddziaływania pomiędzy enzymem a matrycą. Szybkość desorpcji zmniejszała się ze wzrostem stężenia kolagenu. Decydującą rolę w zdolności adsorpcyjnej, ze względu na różnice w składzie aminokwasowym, odgrywa pochodzenie kolagenu.

Hydrożelowe systemy kontrolowanego dostarczania chemoterapeutyków

Hydrożele mają postać trójwymiarowej sieci łańcuchów polimerowych zdolnej do pochłaniania dużej ilości wody. Właściwość tę zawdzięczają dużej liczbie grup hydrofilowych wchodzących w skład ich struktury. Znałe są przykłady materiałów zdolnych do absorpcji 1000 g wody na każdy gram własnej suchej masy [21]. Materiały do wytwarzania hydrożeli uzyskuje się na drodze syntezy chemicznej (np. monomerów winylowych, diwinylowych, kwasu akrylowego, choliny oraz ich pochodnych), jak również z surowców pochodzenia naturalnego, m.in. polisacharydów, takich jak: chitozan, alginian, karagen lub celuloza oraz białek zwierzęcych – kolagenu bądź fibrynogenu. Polimery naturalne są coraz powszechniej wykorzystywane ze względu na ich niski koszt oraz łatwą dostępność. Często są to też produkty uboczne lub odpadowe, powstające podczas przetwarzania surowców żywnościowych [22]. Duża popularność hydrożeli wynika również z wielu innych korzystnych właściwości. Najważniejsze z nich to elastyczność, znaczna pojemność absorpcji, duża szybkość chłonięcia płynów w sposób odwracalny, wytrzymałość termiczna i chemiczna, biodegradowalność oraz nietoksyczność zarówno otrzymanych absorbentów, jak i produktów ich rozpadu [23]. Dzięki takiej różnorodnej charakterystyce trójwymiarowych struktur żelowych znajdują one szerokie zastosowanie w różnych dziedzinach, m.in. w medycynie, inżynierii tkankowej, rolnictwie oraz w przemyśle spożywczym [24, 25].

Wodochłonne opatrunki hydrożelowe, zaliczane do opatrunków trzeciej generacji, otrzymuje się z mieszaniny polimerów naturalnych, takich jak: agar, żelatyna, pektyna i syntetycznych, m.in. z poli(tlenku etylenu). Dzięki dużej elastyczności mogą one okrywać rany urazowe, oparzenia, odleżyny, owrzodzenia. Znaczna chłonność opatrunku wpływa na higienę i estetykę gojenia rany. Wydzieliny, wraz z nieprzyjemnym zapachem są wchłaniane. Zastosowanie hydrożeli umożliwia wprowadzenie do wnętrza struktury rany substancji bakteriobójczych i przyspieszających gojenie. Proces regeneracji i odnowy skóry w trakcie leczenia może wówczas przebiegać szybciej, niż w przypadku użycia opatrunków tradycyjnych [26]. Prowadzi się badania zmierzające do opracowania nietoksycznych hydrożeli polisacharydowych, które tworzyłyby się po wstrzyknięciu do organizmu roztworu, żelującego w wolnych przestrzeniach organizmu [27]. Znałe są trzy metody tworzenia żelu *in vitro*. Pierwszy sposób polega na polimeryzacji monomerów funkcjonalnych i tu przykładem jest klej cyjanoakrylowy. Druga metoda opiera się na wykorzystaniu „inteligentnych” polimerów, które żelują po aplikacji reagując na zmiany temperatury i pH [28]. Zdolności takie wykazują naturalne polimery, np. żelatyna, lub syntetyczne, np. poli(tlenek etylenu)/poli(tlenek propylenu). W trzeciej metodzie stosuje się promieniowanie UV, jako



inicjator fotosieciowania małowcząsteczkowych polimerów [29]. Chen i współpr. wykazali, że enzymy tyrozynaza i transglutaminaza mogą także inicjować żelowanie mieszanki żelatyny i chitozanu [30]. Okazało się, że hydrożele żelatynowo-chitozanowe sieciowane tyrozynazą są dobrym materiałem opatrunkowym na oparzenia i rany. Natychmiast po aplikacji żele nabywają odpowiednią wytrzymałość mechaniczną, dzięki szybkiemu procesowi żelowania mieszaniny polimerów. Można ponadto wpływać na ich odporność na degradację poprzez zmianę stężenia żelatyny i chitozanu. Mimo wielu zalet takie materiały wykazują jednak jedynie okresową przydatność, pękając nieodwracalnie po określonym czasie użytkowania. Niewielka wytrzymałość modyfikowanej struktury wynika z małej ilości, wchodzących w skład żelatyny, reszt tyrozyny. Ważne, że chitozan jest w tym przypadku niezbędny w procesie żelowania. Utlenione reszty tyrozyny w łańcuchach białka reagują bowiem z chitozaniem tworząc wiązania kowalencyjne. Właściwości żelatyny i chitozanu decydują o ich przydatności do zastosowań biomedycznych. Żelatyna ułatwia proliferację i wzrost komórek nabłonka, a więc przyspiesza proces gojenia ran. Chitozan, natomiast wykazuje zdolności ściągające oraz wpływa na właściwą wytrzymałość mechaniczną nabłonka [31], a ponadto wykazuje unikatowe właściwości antybakteryjne [32].

Hydrożele są coraz częściej wykorzystywane w inżynierii tkankowej, dzięki swoim właściwościom fizycznym, upodabniającym je do tkanek miękkich. Odpowiednio przygotowane matryce stanowią idealne podłoże do rozwoju komórek. Wyróżniają się one znaczną wytrzymałością mechaniczną, ale jednocześnie dobrą przepuszczalnością tlenu i rozpuszczalnych w wodzie metabolitów. Dzięki swobodnemu dostarczaniu gazów i substancji odżywczych, a jednocześnie usuwaniu zbędnych produktów metabolizmu, inteligentne żele stwarzają bardziej dogodne warunki wzrostu komórek niż dotychczas stosowane materiały [33]. Dodatkową zaletą hydrożeli stanowią stosunkowo łagodne warunki ich modyfikacji oraz nieinwazyjny dla organizmu sposób aplikacji. Materiały użyte do tworzenia żeli wykorzystywanych w inżynierii tkankowej muszą wspierać pożądane funkcje komórkowe (np. proliferację, różnicowanie) oraz rozwój tkanek, nie wywołując jednocześnie poważnych reakcji zapalnych. Chociaż większość hydrożeli jest uważana za matryce nietoksyczne, nieindukujące przewlekłej odpowiedzi immunologicznej, to niestety komórki nie ulegają łatwo adhezji na ich powierzchni. Tego problemu nie obserwuje się w przypadku użycia materiałów z kolagenu oraz kwasu hialuronowego, gdyż oba te biopolimery stanowią ważne strukturalne elementy macierzy międzykomórkowej tkanek miękkich [14]. Lee i współpr. zaprojektowali matrycę, powstałą w wyniku połączenia β -chityny i kolagenu [34]. Chitynę użyto w charakterze osnowy matrycy ze względu na łatwość formowania kształtu rusztowania. Kolagen poprawił właściwości adhezyjne matrycy oraz stworzył przyjazne środowisko

rozwoju i różnicowania się komórek. Zaobserwowano, że w początkowej fazie wzrostu fibroblasty pokrywają rusztowanie w miejscu wprowadzenia kolagenu pomiędzy łańcuchy chityny. Miejsca zbudowane z chityny nie adsorbują komórek. Po 14 dniach hodowli matryca charakteryzowała się jednakową morfologią. Potwierdziło to, że zarówno chityna, jak i kolagen mają zdolność wiązania niektórych składników surowicy, stymulując wspólnie proliferację komórek, a ponadto dzięki zastosowaniu chityny, koszt produkcji końcowego produktu uległ zmniejszeniu [34].

Obecnie nadal większość leków jest dawkowana pacjentom doustnie lub dożylnie, bez użycia nośników. Ze względu na enzymatyczną degradację większości substancji aktywnych w organizmie, aby osiągnąć pożądany efekt terapeutyczny stosuje się duże dawki. Jest to nie tylko kosztowne, ale również niesie za sobą wiele skutków ubocznych. Trójwymiarowa struktura żeli umożliwia swobodną adsorpcję aktywnych związków, które ulegają ciągiem lub kontrolowanemu uwalnianiu w miejscu aplikacji. Zasada działania takich systemów opiera się na założeniu, że uwolnienie cząsteczek leku następuje w wyniku spęcznienia hydrożelu oraz, że zachodzi zjawisko dyfuzji substancji do otoczenia z jednoczesną biodegradacją matrycy. Potwierdzają to badania nad czynnikiem wzrostu śródbłonna naczyń, włączonego do usieciowanej aldehydem glutarowym gąbki kolagenowej. Zaobserwowano uwalnianie białka zarówno na drodze dyfuzyjnej, jak i na drodze degradacji matrycy [33]. Taki mechanizm dostarczania leków ma ogromny potencjał, m.in. w terapii cukrzycy, jak również szeregu chorób związanych z defektami hormonalnymi bądź enzymatycznymi. Drury i Mooney opisali wykorzystanie hydrożeli alginianowych usieciowanych jonami Ca^{2+} lub Ba^{2+} , do syntezy mikrokapsulek [33]. Otrzymane struktury hydrożelowe zawierające insulinę utrzymywały w miejscu penetracji stały poziom glukozy. Z czasem włóknienie powierzchni mikrokapsulek powodowało zahamowanie dyfuzji hormonu i śmierć komórek. Prawdopodobnie, włóknienie było spowodowane zanieczyszczeniami alginianu, gdyż oczyszczenie materiału wpłynęło na wydłużenie funkcjonowania preparatu [35].

Lee i współpr. łączyli kolagen i poli(hydroksyetylo)metakrylan (PHEMA) w formę hydrożelu, unieruchamiając w nim lek przeciwnowotworowy 5-fluorouracyl. Otrzymany preparat okazał się stabilny, po 6. miesięcznej podskórnej implantacji u szczurów nie wykazywał żadnych negatywnych skutków, takich jak np. zwapnienia [14]. Mieszanina dwóch polimerów syntetycznych — poli(alkoholu winylowego) (PVA) i poli(kwasu akrylowego) (PAA) — z dwoma polimerami biologicznymi — kolagenem i kwasem hialuronowym — dała materiał o dużej wytrzymałości mechanicznej i biogodności. Mieszaninę uformowano w postać hydrożeli, filmów i gąbek, a następnie unieruchomiono w nich hormon wzrostu [36]. Wyniki prac wykazały, że hormon wzrostu może być uwalniany z takiego hydrożelu w sposób kontrolo-



wany. Szybkość uwalniania i wzrost ilości hormonu zależały głównie od zawartości kolagenu w preparacie.

PODSUMOWANIE

Ciągle rosnące zapotrzebowanie na biopolimerowe materiały opatrunkowe, mogące zastąpić opatrunki klasyczne, powoduje zainteresowanie kolagenem, chitozaniem i innymi biopolimerami, w których jest możliwe unieruchomienie substancji aktywnych, wspomagających gojenie się ran. Konstrukcja tzw. inteligentnych opatrunków jest złożona i uwarunkowana rodzajem ran oraz typem zagrożenia mikrobiologicznego, do którego jest ukierunkowana ich aktywność. Zakażenia spowodowane kolonizacją mikroorganizmów patogennych są jednym z głównych czynników wydłużających proces leczenia ran. Głównymi typami nowoczesnych opatrunków medycznych są różnego rodzaju gąbki polimerowe oraz hydrożele. Są one nadal projektowane i produkowane w celu przyspieszenia gojenia trudno gojących się ran, takich jak: rany pooparzeniowe, owrzodzenia lub rany związane ze stopą cukrzycową. Opatrunki takie okrywają powierzchnię rany, nie tylko chroniąc uszkodzoną tkankę, lecz także często aktywując proliferację komórek gospodarza i stymulując proces gojenia rany. Wykorzystanie w projektowaniu nowoczesnych materiałów opatrunkowych nowych czynników antydrobnoustrojowych mogłoby się przyczynić do zmniejszenia kosztów leczenia szpitalnego i do spadku śmiertelności wśród pacjentów z trudno gojącymi się ranami oraz stworzyłoby realną szansę na ograniczenie powstawania kolejnych wielolekoopornych patogenów.

Publikacja jest częścią projektu: „Otrzymywanie nowych polimerowych materiałów o aktywności antydrobnoustrojowej”, realizowanego w ramach programu VENTURES Fundacji na rzecz Nauki Polskiej, współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka.

LITERATURA

1. „The Global Market For Advanced Wound Care Products 2008”, Espicom Business Intelligence, London, 2008.
2. Stashak T. S., Farstvedt E., Othic A.: *Clinical Techniques in Equine Practice* 2004, **3**, 148.
3. Winter G. D.: *Nature* 1962, **193**, 293.
4. Jones V., Harding K. w: „Chronic Wound Care: A Clinical Source Book for Healthcare Professionals” (Eds. Krasner D. L., Rodeheaver G. T., Sibbald R. G.), Third Edition, Wayne, PA, HMP Communications 2001, str. 245–252.
5. Boateng J. S., Matthews K. H., Stevens H. N. E., Eccleston G. M.: *J. Pharm. Sci-us.* 2008, **97**, 8.
6. Olędzka E., Sobczak M., Kołodziejski W. L.: *Polimery* 2007, **52**, 793.
7. Stojadinovic A., Carlson J. W., Schultz G. S., Davis T. A., Elster E. A.: *Gynecol. Oncol.* 2008, **111**, 70.
8. Turner T. D.: *Vet. Dermatol.* 1997, **8**, 235.
9. Guo X. D., Zheng Q. X., Du J. Y., Yang S. H., Wang H., Shao Z. W., Sun E. J.: *J. Wuhan Univ. Technol.* 2002, **17**, 30.
10. Amidi M., Mastrobattista E., Jiskoot W., Hennink W. E.: *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2010, **62**, 59.
11. Friess W.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 1998, **45**, 113.
12. Wang C. C., Su C. H., Chen J. P., Chen C. C.: *Mater. Sci. Eng. C* 2009, **29**, 1715.
13. Ladet S., David L., Domard A.: *Nature* 2008, **452**, 76.
14. Lee Ch., Singla A., Lee Y.: *Int. J. Pharm.* 2001, **221**, 1.
15. Ruszczak Z., Friess W.: *Adv. Drug. Deliver. Rev.* 2003, **55**, 1679.
16. Sadowska M., Kołodziejska I.: *Food Chem.* 2005, **91**, 45.
17. Friess W.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 1998, **45**, 113.
18. Renard G., Bennani N., Lutai P., Richard C., Trinquand C.: *J. Cataract. Refract. Surg.* 1993, **19**, 1948.
19. *Pat. USA* 10 391 196 (2003).
20. Singh M., Lumpkin J., Rosenblatt J.: *Proc. Int. Symp. Control. Release. Bioact. Mater.* 1994, **21**, 300; Glados S., Maciejewski M.: *Wiadomości Chemiczne* 1998, **52**, 101.
21. Li X., Xu S., Wang J., Chen X., Feng S.: *Carbohydr. Polym.* 2009, **75**, 688.
22. Hoffman A.: *Adv. Drug. Deliver. Rev.* 2002, **54**, 3.
23. Sztuka K., Kołodziejska I.: *Polimery* 2008, **53**, 627.
24. Sztuka K., Kołodziejska I.: *Polimery* 2008, **53**, 725.
25. Tyliczszak B., Pielichowski K.: *Czasopismo Techniczne Chemia* 2007, **1**, 160.
26. Gutowska A., Jeong B., Jasionowski M.: *Anat. Rec.* 2001, **263**, 342.
27. Galaev I., Mattiasson B.: *Trends Biotechnol.* 1999, **17**, 335.
28. Elisseeff J., Anseth K., Sims D., McIntosh W., Randolph M., Langer R.: *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1999, **96**, 3104.
29. Chen T., Embree H., Brown E., Taylor M., Payne G.: *Biomaterials* 2003, **24**, 2831.
30. Rao S., Sharma P.: *J. Biomed. Mater. Res.* 1997, **34**, 21.
31. Raafat D., Sahl H. G.: *Microbiol. Biotechnol.* 2009, **2**, 186.
32. Drury J., Mooney D.: *Biomaterials* 2003, **24**, 4337.
33. Lee S., Kim Y., Chong M., Lee Y.: *Biomaterials* 2004, **25**, 2309.
34. Zhang W., Laue C. H., Hyder A., Schrezenmeir J.: *Transplant Proc.* 2001, **33**, 3517.
35. Cascone M., Sim B., Downes S.: *Biomaterials* 1995, **16**, 569.
36. Tharanathan R. N., Kittur F. S.: *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2003, **43**, 61.

Otrzymano 11 II 2010 r.

