

Streszczenie

Implantoprotetyka jest najdynamiczniej rozwijającą się dziedziną stomatologii. Zastosowanie najnowszych technologii we współczesnej rehabilitacji protetycznej braków zębowych zapewnia długotrwałe efekty i pozwala uniknąć wielu powikłań, nawet w przypadku występowania takich schorzeń jak cukrzyca czy osteoporoza. Jednak pomimo wysokiej skuteczności leczenia implantologicznego, wciąż dochodzi do niepowodzeń implantacji. Z tego względu nieustannie opracowywane są nowe rozwiązania konstrukcyjne i materiałowe w systemach implantacyjnych, by procedura implantacji stawała się jak najmniej inwazyjna, proces osteointegracji był przyspieszony a zagrożenia związane ze stanem zapalnym (*periimplantitis*) zniwelowane.

Na podstawie analizy literatury oraz własnych badań wstępnych w niniejszej pracy doktorskiej postawiono tezę, że modyfikacja powierzchni tytanowych implantów stomatologicznych poprzez wytworzenie hybrydowych powłok fosforanowo-polimerowych wpływa na poprawę ich biokompatybilności, bioaktywności, bakteriobójczości, zużycia tribologicznego i odporności na korozję wżerową w środowisku biologicznym, a otrzymane powłoki stanowią uniwersalny nośnik substancji leczniczych do zastosowań w inteligentnych systemach dostarczania leków. Głównym celem niniejszej pracy było opracowanie innowacyjnego sposobu wytwarzania multifunkcyjnych powłok hybrydowych na powierzchni komercyjnych implantów tytanowych, zbudowanych z podpowłoki amorficznego fosforanu wapnia i zewnętrznej powłoki włóknistego polimeru składającej się z kolagenu typu I i polikaprolaktonu. Zakres przeprowadzonych badań obejmował również charakterystykę fizyko-chemiczną otrzymanych powłok oraz ocenę ich kształtowanych właściwości.

Wieloetapowa modyfikacja powierzchni implantów tytanowych obejmowała piaskowanie przy użyciu ścierniwa w postaci szlachetnego korundu, sterylizację w autoklawie parowym, wytworzenie podpowłok amorficznego fosforanu wapnia z wykorzystaniem metody osadzania wspomaganego elektrochemicznie z nowo opracowanej kąpieli octanowej (Patent nr 233784) oraz wytworzenie włóknistych powłok polimerowych metodą rozdmuchu roztworu polimeru (Zgłoszenie patentowe nr P.439307). Podpowłoki fosforanowe otrzymano zgodnie z wieloetapowym mechanizmem osadzania, gdzie w pierwszym etapie zachodziła redukcja tlenu, w drugim - redukcja fosforanów, a trzeci etap związany był z redukcją wody. Lokalny wzrost pH przy powierzchni katody spowodowany był polaryzacją katodową, która prowadziła do powstania jonów wodorotlenkowych. Jony wapniowe migrowały z kąpieli do ujemnie naładowanej powierzchni katody i reagowały z jonami fosforanowymi, powodując syntezę amorficznego fosforanu wapnia na powierzchni tytanu.

Charakterystyka fizykochemiczna otrzymanych powłok fosforanowo-polimerowych obejmowała badania strukturalne przeprowadzone metodą rentgenowskiej jakościowej analizy fazowej i metodą stałego kąta padania, badania morfologii powierzchni metodą skaningowej mikroskopii elektronowej, analizę lokalnego składu chemicznego metodą spektroskopii dyspersji energii, badania grubości powłok metodą prądów wirowych czułych na amplitudę, badania chropowatości powierzchni metodą mikroskopii konfokalnej oraz metodą profilometryczną, analizę grup funkcyjnych metodą Fourierowskiej spektroskopii

osłabionego całkowitego odbicia w podczerwieni oraz analizę termiczną metodą skaningowej kalorymetrii różnicowej. Wykazano, że właściwości fizyko-chemiczne otrzymanych podpowłok fosforanowych zależne są od temperatury kąpeli oraz warunków prądowo-czasowych procesu osadzania. Porowatość i grubość włóknistej powłoki polimerowej kontrolowano za pomocą stężenia zastosowanych polimerów oraz parametrów procesu rozdmuchu roztworu polimeru. Na podstawie przeprowadzonych badań wytypowane zostały optymalne warunki wytwarzania podpowłoki fosforanowej i zewnętrznej powłoki polimerowej pod kątem zastosowań w leczeniu implantoprotetycznym.

Hybrydowe powłoki fosforanowo-polimerowe otrzymane w zoptymalizowanych warunkach wytwarzania poddane zostały ocenie właściwości tribologicznych i mikromechanicznych. Badania tribologiczne wykonano w ruchu posuwisto-zwrotnym w układzie typu kula–powierzchnia w środowisku sztucznej śliny. Analizę zużycia próbek po testach tribologicznych przeprowadzono na podstawie analizy profilometrycznej śladów zużycia. Analizę zużycia przeciwpróbki wykonano na podstawie pomiaru średnicy śladu wytarcia przy zastosowaniu mikroskopii optycznej. Ocenę właściwości mikromechanicznych osadzonych powłok przeprowadzono w badaniach mikrotwardości metodą Vickersa, a ocenę ich adhezji do podłoża tytanowego w teście zarysowania. Otrzymane powłoki hybrydowe poddano badaniom lokalnego napięcia kontaktowego metodą skanującej sondy Kelvina oraz badaniom zwilżalności powierzchni metodą siedzącej kropli w powietrzu. Ocena *in vitro* odporności korozyjnej badanych powłok przeprowadzona została w środowisku sztucznej śliny metodą potencjału obwodu otwartego i krzywych polaryzacji. W celu określenia mechanizmu i kinetyki korozji wżerowej oraz przeprowadzenia ilościowych badań absorpcji wody w otrzymanych powłokach zastosowano komplementarną metodę elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej. Badania bioaktywności otrzymanych biomateriałów określono w teście zanurzeniowym w bezkomórkowym symulowanym płynie ustrojowym. Ocena biologiczna *in vitro* obejmowała badania właściwości cytotoksycznych oraz badania właściwości bakteriobójczych otrzymanych powłok. Do oceny cytotoksyczności za pomocą testu aktywności metabolicznej komórek (test MTT) stosowano dwie linie komórkowe: ludzkich osteoblastów CRL-11372 (ATCC, CRL-11372, Lot: 63791506) oraz linię komórkową mysich fibroblastów L-929 (Sigma, L929, Lot: 10i019). Ocenie skuteczności bakteriobójczej poddane zostały hybrydowe powłoki, które nasycono antybiotykiem w postaci tetracykliny przy użyciu metody dyfuzyjno-krażkowej Kirby-Bauera. W badaniach bakteriobójczości uwzględniono również podłoże tytanu w stanie wyjściowym jako próbę kontrolną. System testowy stanowiły płytki z kulturą bakterii *Staphylococcus aureus* (ATCCR 6538) oraz szczep *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027). Kinetyka uwalniania tetracykliny zaimplementowanej w powłokach hybrydowych została określona za pomocą spektroskopii UV-VIS.

Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano, że opracowany sposób modyfikacji powierzchni tytanowych implantów śródkostnych pozwala zwiększyć ich odporność na zużycie tribologiczne oraz podwyższyć odporność korozyjną w środowisku sztucznej śliny. Podpowłoki fosforanowe wykazują większą bioaktywność w porównaniu z podłożem tytanowym, która wzrasta z temperaturą osadzania. Otrzymanie podpowłok fosforanu wapnia o składzie chemicznym zbliżonym do składu tkanek kostnych wnosi istotny wkład w rozwój inżynierii materiałowej dzięki zapewnieniu możliwości osadzania w temperaturze otoczenia i

fizjologicznym pH kąpiele o stosunku Ca:P wynoszącym 1,67, co pozwoli w przyszłości otrzymywać powłoki kompozytowe na bazie fosforanu wapnia, zawierające składniki nieorganiczne i/lub organiczne. Otrzymane podpowłoki fosforanowe mogą wpływać na przyspieszenie procesu osteointegracji i odbudowy tkanek kostnych otaczających implanty tytanowe, a tym samym na skrócenie czasu leczenia implantoprotetycznego. Wykazano, że mikrowłókniste powłoki polimerowe nie wykazują cytotoksyczności, a tetracyklina zaimplementowana do wnętrza mikrowłókien ulega stopniowemu uwalnianiu z powłoki. Otrzymane powłoki polimerowe po nasyceniu antybiotykiem wykazują właściwości bakteriobójcze, co pozwoli niwelować stany zapalne wokół szyjki implantów (*periimplantitis*).

Otrzymane w pracy hybrydowe powłoki fosforanowo-polimerowe o zwiększonych właściwościach osteoinduktywnych z możliwością inteligentnego i kontrolowanego dostarczania leków będą mogły znaleźć zastosowanie w leczeniu implantoprotetycznym. Opracowana innowacyjna technologia modyfikacji powierzchni implantów tytanowych pozwala na stosowanie polimerów naturalnie występujących w organizmie człowieka, co może wpływać na obniżenie powikłań poimplantacyjnych. Zastosowanie wytworzonych mikrowłókien polimerowych jako nośnika leków powodować będzie łagodniejszy przebieg leczenia u pacjentów i zmniejszenie ilości przyjmowanych przez nich leków przeciwzapalnych. Celowane dostarczanie leków wpływać będzie pozytywnie na odpowiedź immunologiczną organizmu maksymalizując stężenie leku w zainfekowanej tkance i ograniczając ogólnoustrojową toksyczność terapeutyku. Otrzymane powłoki mogą być źródłem pierwiastków tkankotwórczych oraz stanowić uniwersalny nośnik leków wychodząc naprzeciw wymaganiom postępującego rozwoju cywilizacji, który wymusza projektowanie biomateriałów najnowszej generacji o dużej trwałości i wspomagających proces regeneracji.