

Abstract

The aim of this project was to develop SMART, cheap and easy to manufacture materials that are: 1) Simple to mix and snap setting to prevent leakage from site of application; 2) Mechanically a match to surrounding bone to reduce adjacent fracture risk; 3) Antibacterial against resistant bacteria; 4) Release minerals to promote bone integration; 5) Therapeutic to enable surrounding bone repair. The OBJECTIVES were: 1) development of systematically varying materials and testing of setting and mechanical properties in addition to kinetics of antibacterial, remineralising and therapeutic component release (UK laboratory) 2) investigation of how mechanical properties and component releases affects cell

With 1:1 UDMA/PDGGMA ratio, adding polylysine (PLS) (2-4 wt%) in the experimental composites significantly reduced biaxial flexural strength (BFS) from 140 to 110 MPa, modulus of elasticity from 3.6 to 2.7 GPa and mean surface contact angles from 75 to 60 degrees. The effect of monocalcium phosphate monohydrate (MCPM) level on these properties was negligible, but composites containing 10 wt% of MCPM clearly promoted surface apatite precipitation. Both PLS and MCPM markedly increased protein adsorption capability of the experimental composites by 2-15 folds, which was up to 8 folds greater than that of the commercial cement. Experimental bone composites with high MCPM possessed better initial hydrophilicity compared with the others

Cytotoxicity of these formulations was initially tested using L929 cells following ISO 10993-5, and all the composite formulations were only mildly reactive which met the requirement of the ISO standard. Extracts of experimental bone composites differentially influenced proliferation of mesenchymal stem cells (MSCs) and monocyte/macrophage RAW 264.7 cells, with the extracts derived from each of the first 5 days (*i.e.*, elutions derived from incubating the experimental bone cements in culture medium for every 24 h consecutively until Day 5) highly suppressing the growth of these cells under the standard culture condition. However, MSCs proliferated normally in the extracts collected after Day 5, which in contrast inhibited the growth of RAW 264.7 cells. This may suggest an anti-inflammatory effect of the bone composites, possibly via a previously reported anti-inflammatory role of PLS. The number of viable MSCs on experimental bone composites with high MCPM surfaces at 2 h and 5 days were highest among all the experimental composites and were comparable to that of commercial sample Cortoss. All formulations allowed normal MSC mineralization under osteogenic stimulation. Moreover, following immersion in SBF for 28 days, only formulations containing MCPM had precipitation of apatite on the surface. This indicates the apatite precipitate-inducing property of MCPM contained in bone composites.

Since treatment of osteoporotic bone fracture involving the use of PMMA cement can lead to multiple complications, a range of non-cytotoxic new materials that have the potential

to help solve PMMA problems and possess enhanced apatite precipitation with antibacterial activity were tested in the present study. Currently tested composites possessed favorable properties, including snap setting, comparable mechanical properties to bone, apatite precipitation induction and improved cytocompatibility with allowing MSC mineralization, suggesting their potential application in the treatment of vertebral bone fracture *in vivo*.

Keywords

Osteoporosis; Vertebral fracture; Bone composite; Antibacterial; Apatite precipitation; Cytocompatibility; Bone repair

บทคัดย่อ

เป้าหมายของโครงการนี้คือการพัฒนาวัสดุ SMART ที่ราคาถูกลงและง่ายต่อการผลิตโดยมีคุณสมบัติ: 1) การผสมง่ายและการแข็งตัวเหมาะสมเพื่อป้องกันการรั่วไหลจากการใช้งาน 2) มีสมบัติเชิงกลใกล้เคียงกับกระดูกโดยรอบเพื่อลดความเสี่ยงต่อการแตกหักของชิ้นกระดูกที่อยู่ติดกัน 3) ด้านเชื้อแบคทีเรีย 4) ปลดปล่อยธาตุเพื่อส่งเสริมการเชื่อมยึดของกระดูก และ 5) ส่งเสริมการซ่อมแซมกระดูกโดยรอบ โดยมีวัตถุประสงค์คือ: 1) การพัฒนาสูตรวัสดุที่แตกต่างกันอย่างเป็นระบบและการทดสอบการแข็งตัวและคุณสมบัติทางกลรวมทั้ง จลนพลศาสตร์ของการปล่อยส่วนประกอบของสารต้านแบคทีเรีย (ห้องปฏิบัติการในสหราชอาณาจักร) และ 2) การทดสอบการตอบสนองของเซลล์ต่อสูตรวัสดุที่แตกต่างกัน

ในวัสดุทดลองคอมโพสิตที่มีสัดส่วน UDMA/PDGGMA เท่ากับ 1:1 นั้น โพลีไอสีนปริมาณ 2-4 wt% ลดความต้านทานแรงดัดโค้งแบบสองแกน (biaxial flexural strength) จาก 140 MPa เหลือ 110 MPa ลดโมดูลัสความยืดหยุ่น (modulus of elasticity) จาก 3.6 GPa เหลือ 2.7 GPa และ ค่าเฉลี่ยมุมสัมผัสพื้นผิวจาก 75 องศา เหลือ 60 องศา อย่างไรก็ตาม ปริมาณโมโนแคลเซียมฟอสเฟตโมโนไฮเดรต (monocalcium phosphate monohydrate) ไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญกับปัจจัยเหล่านี้ วัสดุทดลองคอมโพสิตที่มีปริมาณโมโนแคลเซียมฟอสเฟตโมโนไฮเดรต เท่ากับ 10 wt% ส่งเสริมการตกผลึกของอะพาไทต์ นอกจากนี้ยังพบว่าทั้งโพลีไอสีน และ โมโนแคลเซียมฟอสเฟตโมโนไฮเดรตช่วยเพิ่มการดูดซับโปรตีนของวัสดุทดลองคอมโพสิต ได้มากถึง 2-15 เท่า และมากกว่าวัสดุโบนซีเมนต์ในท้องตลาดถึง 8 เท่า นอกจากนี้ วัสดุทดลองคอมโพสิต ที่มีโมโนแคลเซียมฟอสเฟตโมโนไฮเดรตปริมาณสูงจะมีพื้นผิวที่มีความชอบน้ำ (surface hydrophilicity) สูงขึ้นเมื่อเทียบกับวัสดุทดลองคอมโพสิตสูตรอื่นๆ

ความเป็นพิษต่อเซลล์ของสูตรเหล่านี้ถูกทดสอบเบื้องต้นโดยใช้เซลล์ L929 ตามมาตรฐาน ISO 10993-5 และสูตรคอมโพสิตทั้งหมดมีปฏิกิริยาเพียงเล็กน้อยเท่านั้นซึ่งเป็นไปตามข้อกำหนดของมาตรฐาน ISO สารสกัดของวัสดุทดลองคอมโพสิตมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ (mesenchymal stem cells) และ เซลล์ RAW 264.7 โดยมีสารสกัดที่ได้จากการบ่มวัสดุทดลองคอมโพสิตในอาหารเหลวเลี้ยงเซลล์นาน 24 ชั่วโมงติดต่อกันจนถึงวันที่ 5 ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์เหล่านี้ อย่างมาก อย่างไรก็ตาม เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์สามารถเจริญเติบโตตามปกติในสารสกัดที่ได้จากการบ่ม วัสดุทดลองคอมโพสิต ในอาหารเหลวเลี้ยงเซลล์ที่รวบรวมหลังจากวันที่ 5 ในทางตรงกันข้าม สารสกัดที่ได้จากการบ่มวัสดุทดลองคอมโพสิต ในอาหารเหลวเลี้ยงเซลล์เหล่านี้มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ RAW 264.7 ซึ่งชี้ให้เห็นว่า วัสดุทดลองคอมโพสิตเหล่านี้อาจมีฤทธิ์ด้านการอักเสบ ตามที่ได้มีการรายงานถึงความสามารถในการต้านการอักเสบของโพลีไอสีน จากการศึกษาการเกาะตัวของเซลล์ที่เวลา 2 ชั่วโมงและ 5 วันพบว่า วัสดุทดลองคอมโพสิตที่มีองค์ประกอบของโมโนแคลเซียมฟอสเฟตโมโนไฮเดรตสูงส่งเสริมการยึดเกาะของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์เมื่อเทียบกับวัสดุทดลองคอมโพสิตสูตรอื่นๆ และเทียบเคียงได้กับวัสดุตัว อย่างเชิงพาณิชย์ชื่อ Cortoss นอกจากนี้ยังพบว่า วัสดุทดลองคอมโพสิตสูตรต่างๆ ไม่ขัดขวางการสร้างตะกอนแร่ธาตุคล้ายกระดูกจากเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ภายใต้การกระตุ้นให้เกิดการสร้างกระดูกในห้องปฏิบัติการ และ วัสดุทดลองคอมโพสิตสูตรที่มีส่วนประกอบของโมโนแคลเซียมฟอสเฟตโมโนไฮเดรตสามารถ กระตุ้นการตกผลึกอะพาไทต์ที่ผิววัสดุหลังจากที่แช่ในสารที่จำลองของเหลวในร่างกายนาน 28 วัน ซึ่งบ่งชี้ถึงความสามารถในการกระตุ้นการตกผลึกอะพาไทต์ของวัสดุทดลองคอมโพสิตสูตรที่มีโมโนแคลเซียมฟอสเฟตโมโนไฮเดรตเป็นองค์ประกอบ

เนื่องจากการรักษากระดูกหักในผู้ป่วยที่มีภาวะกระดูกพรุนโดยใช้ซีเมนต์ชนิด PMMA สามารถนำไปสู่ภาวะแทรกซ้อนหลาย คณะผู้วิจัยจึงได้ทดสอบ วัสดุใหม่ที่ไม่เป็นพิษที่มีศักยภาพที่จะช่วยแก้ปัญหาต่างๆ

ของ PMMA และสามารถกระตุ้นการตกผลึกอะพาไทต์ และมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยวัสดุคอมโพสิตที่ผ่านการทดสอบในการศึกษานี้มีคุณสมบัติเป็นที่น่าสนใจ มีการแข็งตัวทันทีเมื่อถึงเวลาที่เหมาะสม มีคุณสมบัติเชิงกลที่เทียบเท่ากับกระดูก ชักนำให้เกิดอะพาไทต์ ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ และไม่ขัดขวางเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ ในการสร้างเนื้อเยื่อคล้ายกระดูกในห้องปฏิบัติการ ซึ่งบ่งชี้ว่าวัสดุเหล่านี้มีศักยภาพในการใช้รักษากระดูกสันหลังหักในผู้ป่วยต่อไป

คำสำคัญ

ภาวะกระดูกพรุน; กระดูกสันหลังหัก; วัสดุคอมโพสิตสำหรับกระดูก; ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย; การเกิดผลึกอะพาไทต์; การเข้ากันได้ระดับเซลล์; การซ่อมแซมกระดูก