

BIOMATERIÁLY: HODNOTENIE BIOAKTIVITY *IN VITRO* V STATICKOM A DYNAMICKOM REŽIME

Lutišanová G. , Palou M.

Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, SR

Úvod

Biomateriály možno interpretovať rôznymi spôsobmi, všeobecne však biomateriálmi označujeme všetky organické a anorganické, syntetické alebo prírodné materiály použité v medicíne na náhradu alebo obnovu mäkkých a tvrdých tkanív, formou trvalých implantátov v ortopédii, kožnej chirurgii, stomatológii a pod. [1]. Rozvoj biomateriálov vyplynul z potrieb súčasného vysokého životného tempa, prinášajúceho situácie, pri ktorých dochádza k ťažkým nehodám alebo úrazom spojených s vážnym poškodením určitej časti organizmu (napr. rozdrvením určitých častí kostí a pod.). Podstatou biomateriálov tak môžu byť kovy, polyméry, keramika a sklo a kompozity.

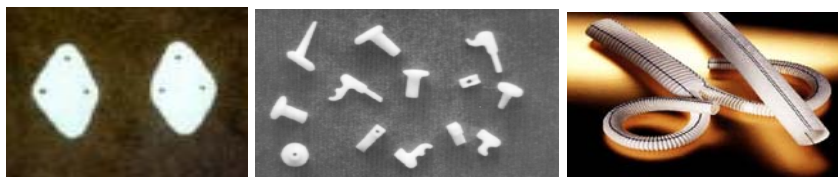
Vlastnosti biomateriálov úzko súvisia s ich aplikáciou a funkciami, ktoré majú splniť v organizme po implantácii. Podľa toho ako pôsobí implantát na živé tkanivo, rozdeľujeme biomateriály na:

- 1) inertné** (sú charakterizované priamym kontaktom medzi implantátom a okolitým kostným tkanivom) (Obr. 1) [2],



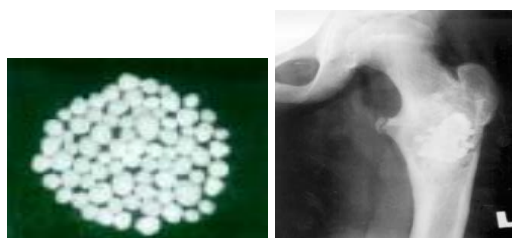
Obr. 1

- 2) bioaktívne** (majú schopnosť vytvárať pevnú chemickú väzbu so živým tkanivom priamo, nie prostredníctvom väziva) (Obr. 2) [3],



Obr. 2

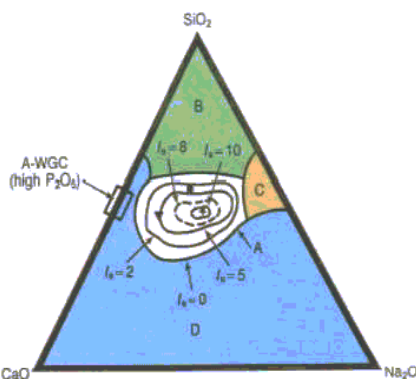
3) resorbovateľné (slúžia ako dočasná náhrada kostí, kedy sa pri obnovovaní kostného tkaniva implantovaný materiál postupne vstrebáva) (Obr. 3) [4].



Obr. 3

Podmienkou je, aby bol každý biomateriál (implantát), ktorý bude vložený do živého tkaniva *biokompatibilný* (t.j. dlhodobá znášateľnosť biomateriálu s okolitým mäkkým tkanivom organizmu), *netoxický* (nesmie vyvolať zmenu reakcie tkaniva, ktorá by viedla k alergii), *nekarcinogénny* (vývoj zhubného nádoru) a *odolný voči korózii*.

V 70-tych rokoch minulého storočia vyvinul Larry Hench povrchovo bioaktívne sklá na báze sodno-vápenato-kremičitých skiel s prídavkom oxidu fosforečného, ktoré sa v určitom rozsahu zloženia môžu chemicky viazať nielen na kostné tkanivo, ale vytvárajú aj väzbu s mäkkým tkanivom (Obr. 4) [5].



Obr. 4: Zobrazenie schopnosti bioaktívnych skiel viazať sa ku kosti a k mäkkému tkanivu v závislosti od zloženia (v hm.%).

Všetky vzorky skiel na príslušnom obrázku obsahujú konštantných 6 hm.% P_2O_5 . Zloženia v strede diagramu (*oblasť A*) tvoria väzbu s kosťou. Hranica oblasti A je preto označovaná ako medza bioaktívneho viazania sa s kosťou. V jej strede je prerušovanou čiarou vyznačená *oblasť E* (viazanie s mäkkým tkanivom). Kremičité sklá z *oblasti B* (napríklad okenné alebo fľaškové sklo či mikroskopické sklíčka) sa správajú ako takmer inertné materiály a na medzifázovom rozhraní implantátu s tkanivom vyvolávajú tvorbu fibrózneho púzdra. Sklá z *oblasti C* sú resorbovateľné, sklá z *oblasti D* nemajú technické využitie, a preto neboli testované ako implantáty

Na rozhraní kosť/implantát však vzniká pomerne veľká koncentrácia napätia, ktorá vedie k opakovanému mikropohybu medzi implantátom a kosťou. Bioaktívne sklá však majú nízku mechanickú pevnosť, čiže nedosahujú optimálne hodnoty potrebné pre ich využiteľnosť v mechanicky zaťažených oblastiach organizmu, a preto sa príliš nehodia pre klinické využitie. Riešenie nevyhovujúcich mechanických vlastností bioaktívnych skiel predstavujú bioaktívne kompozity. A práve tieto kompozity už niekoľko rokov priťahujú záujem vedeckej komunity.

Aj predmetom našich štúdií sú kompozity, konkrétne biosklokeramika v systéme $Li_2O-SiO_2-CaO-P_2O_5-CaF_2$. V tomto systéme vznikajú dikremičitan dilitný a fluorapatit, u ktorých boli demonštrované bioaktívne vlastnosti. FA je prirodzenou zložkou zubnej skloviny a kostí, podporuje tvorbu fosforečnanu vápenatého v procese tvorby kosti a znižuje tvorbu zubného kazu. Vlastnosti materiálu umožňujú prípravu tvarovaných implantátov presne podľa požiadaviek, napr. presných rozmerov, ďalej oplývajú požadovanými mechanickými a optickými vlastnosťami, tepelnou a chemickou stabilitou. Donedávna boli tieto materiály využívané ako inertné biomateriály, avšak demonštrácia ich bioaktívnych vlastností otvára cestu pre nové aplikácie. Z už spomínaných požadovaných vlastností, dané materiály tak oplývajú nielen vysokou tvrdosťou, ale z hľadiska farby a opalescencie vyhovujú aj pre dentálne aplikácie, konkrétne na výrobu zubných koruniek, mostíkov a umelej skloviny (Obr. 5) [6].



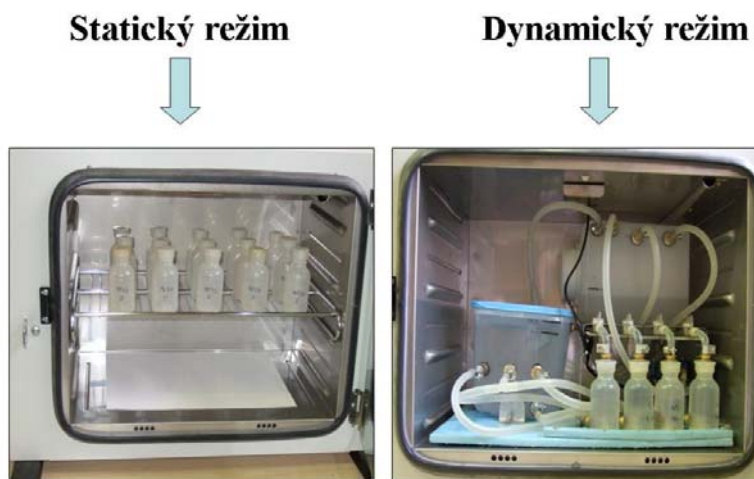
Obr. 5

Materiál a metódy

Zmesi na tavenie vzoriek bioskla sa pripravili zmiešaním sklárskeho piesku, uhličitanu lítneho, fluoridu vápenatého a fosforečnanu vápenatého. Návažky surovín sa vo všetkých prípadoch zvolili tak, aby po zreagovaní zodpovedali stechiometrickému zloženiu dikremičitanu dilítneho a fluorapatitu. Ako referenčná vzorka sa pripravilo aj čisté biosklo bez obsahu fluorapatitu. Po homogenizácii reakčné zmesi kalcinovali, aby sa odstránili prchavé zložky. Nakoniec sa zmesi tavili v platinovej miske pri teplote 1400°C v elevátorovej superkantalovej peci a odlievali do kovovej formy. Takto vytavené vzorky skla sa nechali vychladnúť (kvôli pnutiu skla) vo vopred vytemperovanej muflovej peci na teplotu 460°C.

Biosklokeramické vzorky sa pripravili tepelným spracovaním materských bioskiel v muflovej peci pri teplote 750°C s izotermickou výdržou 6 h.

U takto pripravených vzoriek sa študovala bioaktivita *in vitro* v simulovanej telovej tekutine (SBF – Simulated Body Fluid; iónová koncentrácia SBF je takmer identická s koncentráciou anorganických iónov v ľudskej krvnej plazme.) nielen v statickom, ale aj dynamickom režime (Obr. 6). Pri testovaní bioaktivity sa sledovala schopnosť materiálu tvoriť v styku s Kokubovým roztokom simulujúcim telovú tekutinu (SBF) na svojom povrchu apatit.



Obr. 6: Vzorky sklokeramiky ponorené v SBF a uložené v inkubátore pri konšt. teplote 36,5 °C.

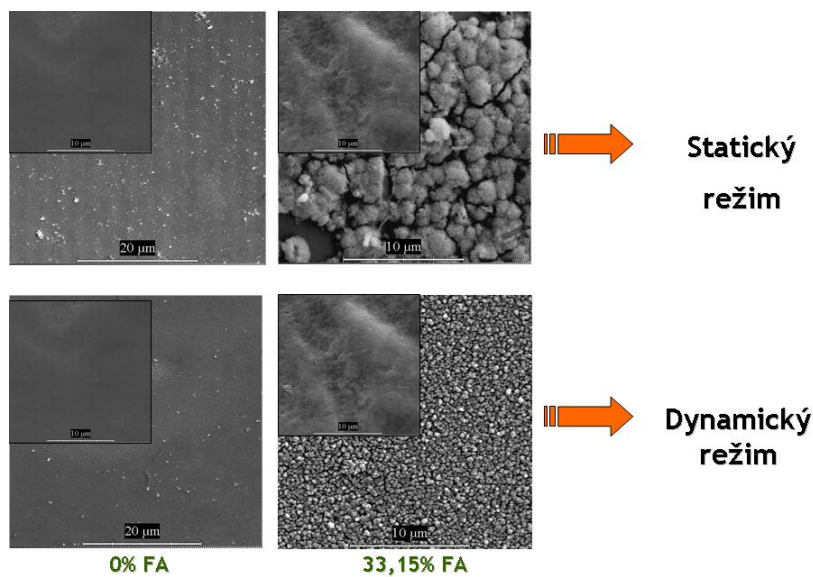
Na vyhodnotenie vzoriek boli použité tieto metódy:

1. Diferenčná termická analýza (DTA)

- na základe ktorej je možné získať informácie o kinetike kryštalizácie skiel.

2. Rastrovacia elektrónová mikroskopia (REM)
 - poskytne informácie o mikroštruktúre povrchu a rezu vzoriek pred a po expozícii v SBF.
3. Röntgenová fázová analýza (RTG)
 - určíme ňou fázové zloženie kryštalických látok.
4. Lokálna röntgenová mikroanalýza (EPMA)
 - získame informácie o kvalitatívnom a kvantitatívnom zložení povrchu vzoriek pred a po expozícii v SBF
5. Infračervená spektroskopia (IČ)
 - potvrdíme prítomnosť funkčných skupín.

Ukážka experimentálnych výsledkov



Obr. 7: Mikroštruktúra povrchu vzoriek biosklokeramiky pred (malé obrázky v rohoch) a po 4 týždňoch pôsobenia v SBF.

Záver

Na základe dosiahnutých výsledkov môžeme konštatovať, že REM výsledky mikroštruktúry povrchu vybraných vzoriek biosklokeramiky (bez obsahu FA a s obsahom 33,15 hm. % FA) sa pôsobením v statickom a dynamickom SBF líšia. Vzorky bez obsahu FA majú povrch po 4 týždňoch pôsobenia v SBF v oboch režimoch (v statickom a v dynamickom) iba jemne pokrytý dispergovanými oblasťami nových fáz. Naopak, vysoká *in vitro* bioaktivita u vzorky s obsahom 33,15 hm. % FA sa

v statickom režime výrazne líši od dynamického. V statickom režime sme zistili, že povrch vzorky biosklokeramiky je neúplne pokrytý masívnou vrstvou apatitu, v dynamickom režime sa povrch prejavuje rastom novej vrstvy apatitu nielen po celom povrchu, ale aj mikroštruktúra je poréznejšia a zdá sa byť bližšia štruktúre kostí.

Pod'akovanie

Táto práca bola realizovaná vďaka podpore VEGA č. 1/0571/08.

Použitá literatúra

- [1] Park, J.B., Bronzino, J.D.: Biomaterials: Principles and Applications. CRC Press, Boca Raton. 2002.
- [2] Majling, J., Plesch, G.: Technológia špeciálnych anorganických materiálov. Vydavateľstvo STU v Bratislave. Bratislava 2002.
- [3] Heness, G., Nissan-Ben, B.: Innovative bioceramics. Materials Forum, 27 (2004).
- [4] Søballe, K.: Acta Orthop. Scand. No. 64, 255 (1993).
- [5] Ondrejčovičová, I., Horejová, J., Hudecová, D., Kaszonyi, A., a kol: Spoločná budúcnosť chémie a biológie, Vydavateľstvo STU, Bratislava 2006.
- [6] Lutišanová G.: Štúdium biovlasností kompozitu apatit-bioskla s aktivovaným povrchom. Písomná práca k dizertačnej skúške, Bratislava 2010.