

Proiectarea optimală și caracterizarea unei vitroceramici bioactive utilizată în medicina modernă reparatorie

CLAUDIU MAZILU^{1*}, DOREL RADU², EMIL ROȚIU¹, LAURA IONESCU¹

¹Institutul Național de Sticlă, Str. Th.Pallady, Nr.47, 032258, București, România

²Universitatea "Politehnica" București, Facultatea de Chimie Aplicată și Știința Materialelor, Catedra Știința și Ingineria Materialelor Oxidice și Nanomateriale, Str.Polizu, Nr.1, 011061, București, România

Biocompatible and bioactive vitroceramic materials have low mechanical properties, thus they can only be used for manufacturing implants that can support low stress forces. The best way for an implant to meet all requirements (biocompatibility, bioactivity and high mechanical properties) is the covering of a biocompatible and bioinert metallic material (titan or special steels) with a biocompatible and bioactive vitroceramic material. The greatest problem that appears when obtaining such a metal-covering couple is achieving an adherence that is as good as possible, thing that presents great difficulty in the case of a metal-vitroceramic system because of the great difference between the properties of the two materials. That is why an optimal projecting of the vitroceramic material is imposed, so that the final composition insures the best values from the point of view of adherence and bioproperties. The work present hereby proposes the optimal projecting, obtaining and characterisation of such a vitroceramic within the $\text{SiO}_2\text{-B}_2\text{O}_3\text{-P}_2\text{O}_5\text{-CaO-MgO-Li}_2\text{O-Na}_2\text{O-K}_2\text{O-TiO}_2$ oxidic system. In a primary stage, a mathematical model of calculating the oxidic composition of the vitroceramic was elaborated. This minds a series of thechnological conditionings which are specific to bioactive materials. On the basis of the results obtained after the resolving of this mathematical model, the vitroceramic was processed. The obtained vitroceramic material was tested from the point of view of the physico-chemical properties and for the bioteste that present interest. Non-citotoxicity and pH dynamics tests have also been effectuated using a solution that imitates the human blood plasma (SBF) and also biotests of cellular proliferation using osteoblaste cells cultures.

Keywords: biovitroceramic, optimal projecting, obtaining and characterization

Problema implanturilor de țesuturi dure este de mare interes deoarece un număr foarte mare de oameni necesită astfel de implanturi. Un implant de țesut dur este ideal când îndeplinește trei condiții: este biocompatibil, bioactiv și are proprietăți mecanice asemănătoare osului. Câteva metale (Ti, Zr, Nb) și aliajele lor, precum și oțeluri speciale cu conținut ridicat de Cr și Ni sunt cele mai utilizate materiale pentru implanturile artificiale de țesuturi dure. Acestea, însă, nu sunt biocompatibile și bioactive. Din punct de vedere al reactivității biochimice, aceste materiale sunt aproape inerte pentru că nu se pot lega biologic și chimic cu țesutul dur de la locul implantului, fiind doar înconjurate cu țesut conjunctiv care în timp provoacă o incorectă distribuție a stresului care duce la pierderea implantului. Soluția pentru această problemă este de a găsi compoziții de sticle și ceramici [1,2] care să fie biocompatibile și bioactive. Principala caracteristică a acestor sticle și ceramici, când vin în contact cu fluidele din corp, este reactivitatea superficială. Ca rezultat al proceselor complexe ca solubilizarea, dizolvare parțială și schimbul ionic între suprafața sticlei și fluidele din corp, începe să se formeze un film subțire de apatită sau hidroxiapatită la interfața dintre implant și os. Acest strat, având compoziția osului, asigură o legătură foarte bună între implant și os. Dacă se intenționează folosirea acestor materiale pentru realizarea de implanturi mari care să suporte presiuni ridicate, cum ar fi protezele de șold, atunci soluția este de a acoperi materialele metalice biocompatibile (titan, oțeluri speciale) cu straturi biocompatibile și bioactive, structura metalică asigurând proprietățile mecanice ridicate [3-5].

Privind din punct de vedere al proprietăților acido-bazice, sticlele bioactive prezintă conform datelor din literatură, un caracter predominant bazic. Astfel, dacă considerăm ponderea bazicității (pB) o măsură a caracterului acido-bazic, atunci sticlele bioactive prezintă, conform studiilor realizate [6], $\text{pB} \geq 62\%$.

Lucrarea își propune obținerea unui nou material biovitroceramic, în sistemul oxidic $\text{SiO}_2\text{-B}_2\text{O}_3\text{-P}_2\text{O}_5\text{-CaO-MgO-Li}_2\text{O-Na}_2\text{O-K}_2\text{O-TiO}_2$, care să poată fi utilizat ca acoperire pentru protezele de titan. În realizarea acestui deziderat s-a elaborat un model matematic de calcul optimal al compoziției oxidice, plecând de la limitele compoziționale prezentate în literatură pentru astfel de materiale din sistemul oxidic amintit [7] și care să țină cont de valorile impuse pentru câteva proprietăți de interes. Astfel, pe baza soluției oferite de modelul matematic, s-a obținut un material care a fost caracterizat din punct de vedere al proprietăților fizico-chimice de interes (analiza chimică și termică, difracție de raze X, densitate).

Din punct de vedere biologic, au fost efectuate teste de citotoxicitate și dinamică de pH, utilizând o soluție care imită plasma sangvină umană (SBF) și bioteste de proliferare celulară folosind culturi de celule osteoblaste.

Partea experimentală

Baza teoretică

Un model matematic de calcul optimal al compoziției chimice pentru materiale oxidice este format dintr-un bloc de restricții și un altul al funcțiilor scop care urmează a fi optimizate [8].

Sub o formă sintetică un astfel de model este descris de relațiile:

* Tel.: (+40) 021 3452510/214

$$f_j(x_1, x_2, \dots, x_p, \dots, x_n) \geq 0; j = 1, m \quad (1)$$

$$x_i \geq 0; i = 1, n \quad (2)$$

$$(optim)F_k = (min./max.)F_k(x_1, x_2, \dots, x_p, \dots, x_n); k=1, p \quad (3)$$

în care:

x_i reprezintă variabila independentă i , respectiv concentrația oxidului i ;

n – numărul de oxizi componenți;

f_j – o funcție care redă cantitativ relațiile între diferiți oxizi sau/și o serie de restricții tehnologice referitoare la proprietățile materialului;

F_k – o funcție care urmează a fi optimizată prin minimizare sau maximizare, în raport cu scopul dorit;

p – numărul funcțiilor de optimizat.

Pentru obținerea materialului biovitroceramic de interes, la elaborarea modelului matematic de calcul a compoziției oxidice optime s-au avut în vedere următoarele elemente:

- grupul de restricții, de tipul relațiilor (1-3), se compune dintr-o serie de limitări compoziționale ale celor nouă oxizi componenți ($n = 9$), care se scriu sub forma:

$$a_i \leq x_i \leq b_i; \quad i = 1, 9 \quad (4)$$

în care:

a_i și b_i reprezintă limite compoziționale pentru oxidul i ;

x_i – concentrația, exprimată ca fracție gravimetrică a oxidului i ; rezultă că:

$$\sum_{i=1}^9 x_i = 1; \quad x_i \geq 0 \quad (5)$$

În mod concret, în lucrare au fost folosite următoarele limitări compoziționale, indicate de date din literatură, precum și de unele testări preliminare [7]: $44 \leq \text{SiO}_2 \leq 48$; $12 \leq \text{B}_2\text{O}_3 \leq 14$; $4 \leq \text{P}_2\text{O}_5 \leq 6$; $8 \leq \text{CaO} \leq 10$; $2 \leq \text{MgO} \leq 4$; $1 \leq \text{Li}_2\text{O} \leq 3$; $6 \leq \text{Na}_2\text{O} \leq 8$; $6 \leq \text{K}_2\text{O} \leq 8$; $0 \leq \text{TiO}_2 \leq 2$.

- tot în grupul de restricții este inclusă o relație care să descrie gradul de aderență între materialul vitroceramic și suportul de titan.

Coefficientul de dilatare pentru titan este $\alpha(\text{Ti}) \approx 90 \cdot 10^{-7} \text{K}^{-1}$, astfel încât pentru materialul vitroceramic propus, coeficientul de dilatare $\alpha(v)$ trebuie să se plaseze în intervalul (0,9-1,1) $\alpha(\text{Ti})$ pentru a se asigura o bună aderență suport-acoperire. Ținând cont de tipul relației de dependență coeficient de dilatare-compoziție oxidică la sisteme vitroase oxidice, condiționarea tehnologică respectivă se scrie sub forma:

$$0,9 \alpha(\text{Ti}) \leq \sum_{i=1}^9 \alpha_i x_i \leq 1,1 \alpha(\text{Ti}) \quad (6)$$

în care:

α_i este coeficientul (tabelat [4]) oxidului i în raport cu dilatarea.

- în blocul funcțiilor de optimizat s-a considerat o singură funcție scop ($p=1$), cu care se corelează majoritatea proprietăților sistemelor oxidice vitroase [9], precum și gradul de bioactivitate al vitroceramicilor, și anume ponderea bazicității, pB , care se calculează cu relația:

$$pB = \sum_{i=1}^9 pB_i \cdot x_i \quad (7)$$

în care pB_i este ponderea bazicității oxidului i [10];

Relațiile (4-6), împreună cu condiția dată de relația (7) scrisă sub forma $(opt)pB = (min)pB(x_1, x_2, \dots, x_n)$ au format modelul de proiectare optimală a compoziției oxidice pentru materialul vitroceramic cercetat. El a fost rezolvat utilizând programul MATLAB 7.1. În final s-au obținut următoarele rezultate (%grv.): 48 SiO_2 ; 14 B_2O_3 ; 6 P_2O_5 ; 1 CaO ; 4 MgO ; 3 Li_2O ; 7 Na_2O ; 6 K_2O ; 2 TiO_2 , compoziție rezultată prezentând o valoare a ponderii bazicității $pB_{\text{min}} = 62.1\%$.

Mod de lucru

Plecând de la compoziția chimică optimă, obținută cu ajutorul modelului matematic, s-a sintetizat biovitroceramul de acoperire prin procedeul clasic de topire folosind un cuptor electric de superkanthal și materii prime de puritate analitică. Topirea a avut loc la 1300°C în creuzet de alumină, pierderile prin volatilizare fiind compensate folosind materii prime în exces. Pentru efectuarea de analize s-au obținut atât probe prismatice care au fost recoapte la 400°C timp de 3 h cât și sticlă sub formă de frittă. Coeficientul de dilatare termică în domeniul de temperatură 20 - 300°C și temperatura tranziției vitroase (Tg) s-au obținut utilizând un dilatometru de tip LINSEI cu un factor de amplificare $A=1000$, proba ($l_0 = 40,12$) fiind încălzită cu $4^\circ\text{C} / \text{min}$. S-a realizat o analiză chimică completă pentru determinarea compoziției reale rezultate în urma topirii precum și o difracție de raze X, cu un difractometru Shimadzu XRD6000, pentru identificarea eventualelor faze cristaline. Din punct de vedere biologic s-au testat modificările de pH produse într-o soluție care imită plasma sangvină umană (SBF), în prezența vitroceramului sintetizat. Soluția SBF a fost preparată utilizând rețeta propusă de T. Kokubo [11], ea având concentrația ionică aproximativ egală cu plasma umană și $\text{pH}=7,4$. S-a vizualizat aspectul suprafeței vitroceramului după interacția cu soluția SBF, utilizând un microscop optic digital de tip MOTIC®. De asemenea, s-au efectuat teste de non-citotoxicitate și de proliferare celulară [12-13] folosind culturi de celule osteoblaste.

Rezultate și discuții

Analiza chimică a materialului obținut a arătat o compoziție reală apropiată de cea propusă, respectiv (%grv.): 48 SiO_2 ; 13.2 B_2O_3 ; 6 P_2O_5 ; 10 CaO ; 3.3 MgO ; 2.9 Li_2O ; 7 Na_2O ; 7.5 K_2O ; 1.3 TiO_2 și un conținut neglijabil de Al_2O_3 , de $5 \cdot 10^{-3}$ - $1 \cdot 10^{-2}\%$, datorat difuziei Al_2O_3 din creuzetul utilizat la topire. În tabelul 1 sunt prezentate datele obținute din termograma probei de vitroceram sintetizat.

Coefficientul de dilatare termică (α_{27}^{307}) de $95.09 \cdot 10^{-7}$, apropiat de al titanului (89,49 – 90,16) $\cdot 10^{-7}$ face ca acest biovitroceram să se preteze a fi folosit ca acoperire pentru protezele din titan. Ca aspect, materialul obținut este opac, de culoare albă. Difracția de raze X a arătat o serie de maxime (fig.1) care au fost atribuite unor soluții solide, ele fiind ușor deplasate față de maximele corespunzătoare unor compuși cristalini ca: K_2TiO_3 , Ca_2SiO_4 , Ca_3SiO_5 ,

Tabelul 1

TEMPERATURA INFERIOARĂ ȘI SUPERIOARĂ DE RECOACERE, TEMPERATURA TRANZIȚIEI VITROASE, TEMPERATURA DE ÎNMUIERE DILATOMETRICĂ ȘI COEFICIENTUL DE DILATAȚIE TERMICĂ PENTRU VITROCERAMUL SINTETIZAT

Sample	T_r (°C)	T_c (°C)	T_m (°C)	T_D (°C)	$\alpha_{27}^{307} \times 10^{-7} (\text{°C}^{-1})$
1	430	470	480	510	95.09

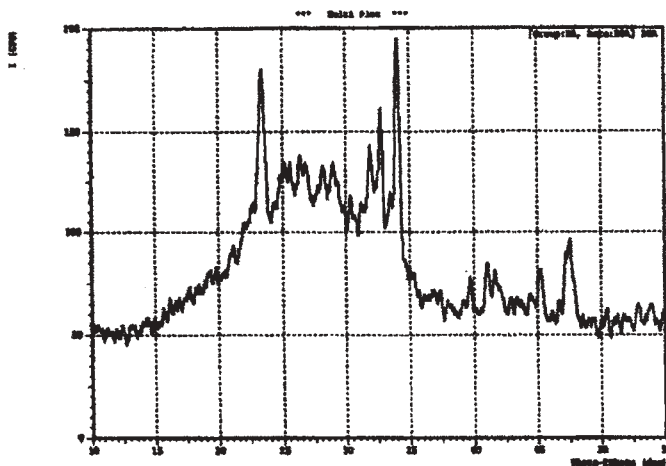


Fig.1. Difractograma probei de vitroceram obținută

$Ca_3Si_2O_7$, $Ca_7(PO_4)_2(SiO_4)_2$. Acest lucru confirma faptul că materialul obținut este, de fapt, un vitroceram.

Din punct de vedere al testelor de biocompatibilitate și bioactivitate, interacția vitroceramului cu soluția SBF a arătat creșterea cristalelor de hidroxiapatită în formă carbonată (HCA) la suprafața probelor, așa cum se poate vedea și din pozele de microscopie optică din figurile 2-5, precum și variația pH-ului soluției SBF pe parcursul unui interval de incubare de 30 zile, la 37°C (fig.6).

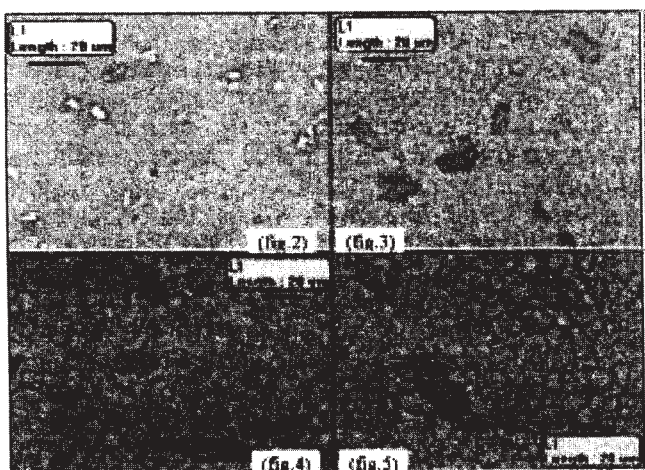


Fig. 2-5. Imaginea cristalelor de HCA la suprafața probelor de vitroceram, după interacția cu soluția SBF, după 0 zile (fig.2), 8 zile (fig.3), 15 zile (fig.4) și respectiv 23 zile (fig.5)

Analizând graficul din fig. 6 se observă trecerea pH-ului soluției de SBF către valori mai bazice odată cu creșterea timpului de imersie a probei. Acest fenomen are o rată mai mare de evoluție în stadii incipiente de până la 3 zile de imersie, după care urmează o decelerare a procesului cu tendințe de saturație. Variația în timp a pH-ului soluției de SBF demonstrează că materialul vitroceramic sintetizat are capacitatea de a elibera în zona de implant ioni acceleranți ai procesului de osteosinteză (Na^+ , Ca^{2+} , P^{5+}) ceea ce conferă vitroceramului proprietăți de osteoinducție. Variația de pH poate fi, totodată, pusă și pe seama

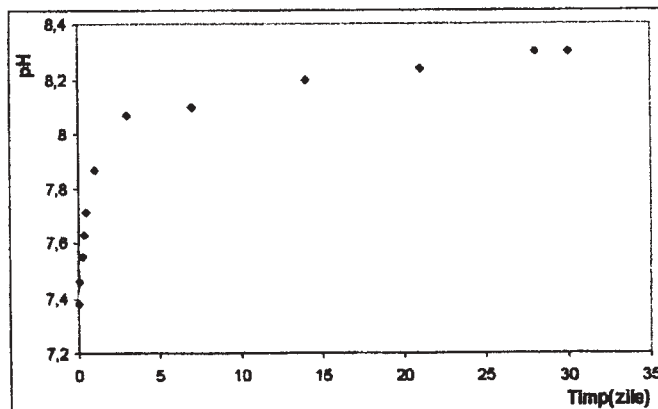


Fig. 6. Variația pH-ului soluției de SBF în funcție de perioada de incubare, la interacția cu proba de vitroceram

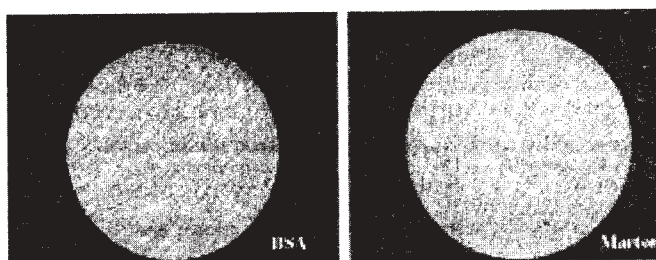


Fig. 7-8. Poze MOD, în contrast de fază, a osteoblastelor în cultură pe proba martor, respectiv materialul vitroceramic de acoperire (BSA) (x100)

capacității de biointeracție a materialului cu țesutul viu, și poate fi o măsură a gradului de bioactivitate asociat.

Osteoblastele și osteoclastele sunt celule specializate responsabile pentru formarea și resorbția oaselor. Pentru a testa biocompatibilitatea vitroceramicii de acoperire sintetizate, cu țesutul osos, s-au introdus fragmente sterile obținute din aceasta în cultură de celule osteoblaste. Proliferarea celulelor osteoblaste embrionare umane pe piesele de biomaterial s-a evaluat prin analiza de Microscopie Optică Digitală (MOD) în contrast de fază.

Se remarcă proliferarea la suprafața probelor a celulelor osteoblaste cu aspect tipic fusiform, elongat (fig.7) asemănătoare cu celulele osteoblaste de pe proba martor (fig.8), prezentată comparativ.

Citotoxicitatea probelor s-a evaluat indirect prin determinarea numărului de celule (osteoblaste embrionare umane) supraviețuitoare după expunerea la o entitate toxică. Numărul de celule supraviețuitoare s-a obținut prin reducerea colorantului MTT-formazan și determinarea densității optice la 570nm față de izopropanol.

Viabilitatea procentuală a osteoblastelor embrionare umane, în prezența probelor de material vitroceramic, este prezentată în tabelul 2 în comparație cu a probei martor.

Se observă că materialul vitroceramic prezintă o foarte bună biocompatibilitate cu țesutul osos și chiar stimulează formarea celulelor osteoblaste. Datele microscopice pentru această probă (fig.7-8) se corelează foarte bine cu cele de citotoxicitate (tabelul 2).

Tabelul 2
VIABILITATEA PROCENTUALĂ A OSTEOLASTELOR EMBRIONARE UMANE ÎN PREZENȚA PROBELOR DE MATERIAL VITROCERAMIC, ÎN COMPARAȚIE CU A PROBEI MARTOR

Proba	DO _{570nm}	viabilitatea raportată la proba martor (%)
Martor	0.856	100
BSA	0.909	106

Concluzii

Lucrarea și-a propus obținerea unui material biovitro-ceramic care poate fi utilizat în medicina modernă reparatorie ca acoperire biocompatibilă și bioactivă a protezelor metalice. Cu ajutorul unui model matematic, s-a calculat compoziția chimică optimă a vitroceramului ținând cont de o serie de restricții compoziționale și din punct de vedere al aderenței dintre vitroceram și suportul de titan folosit. Ca funcție de optimizat s-a considerat ponderea bazicității, pB , care se corelează cu majoritatea proprietăților sistemelor oxidice vitroase, precum și cu gradul de bioactivitate al materialelor oxidice.

Materialul vitroceramic sintetizat se încadrează în sistemul oxidic $SiO_2-B_2O_3-P_2O_5-CaO-MgO-Li_2O-Na_2O-K_2O-TiO_2$, și a fost testat din punct de vedere al proprietăților fizico-chimice de interes (analiză chimică, dilatare termică, difracție de raze X, etc).

Din punct de vedere al biotestelor s-a arătat modul de interacție cu o soluție SBF (care imită plasma sanguină umană) evidențiindu-se: creșterea cristalelor de hidroxiapatită, sub formă carbonată, la suprafața probelor și evoluția pH-ului soluției de SBF, în timp, la interacția cu proba vitroceramică.

De asemenea, folosind culturi de celule osteoblaste, s-a arătat proliferarea acestora la suprafața probelor și s-a evaluat indirect citotoxicitatea vitroceramului prin determinarea numărului de celule (osteoblaste embrionare umane) supraviețuitoare după expunerea la o entitate toxică.

În concluzie, materialul vitroceramic obținut prezintă o foarte bună biocompatibilitate cu țesutul osos fiind în același timp și bioactiv.

Bibliografie

1. HENCH, L.L., J. Am. Ceram. Soc., **74**, Nr.7, 1991, p.1487
2. HÖLAND, W., J. of Non-Crystalline Solids, 219, 1997, p.192
3. JALLOT, E., BENHAYOUNE, H., KILLIAN, L., IRIGARAY, J.L., BALOSSIER, G., BONHOMME, P., J. Phys. D: Appl. Phys., 33, 2000, p. 2775
4. BRITCHI, M., OLTEANU, M., JITIANU, G., BRÂNZEI, M., GHEORGHE, D., NIȚĂ, P., Surface Engineering, **17**, Nr. 4, 2001, p. 313
5. BRITCHI, M., JITIANU, G., OLTEANU, M., CRIȘAN, D., MARCU, A., NIȚĂ, P., Surface Modification Technology XV, Edited by SUNDARHAM, T.S., STGLICH, J.J., JEANDIN, M., ASM International Materials, Park Ohio and IOM Communications Ltd., UK, 2002, p.299
6. BALTĂ, P., RADU, D., Revue Roumaine de Chimie, **40**, Nr. 10, 1995, p. 977
7. *** Brevet
8. RADU, D., VOLCEANOV, A., JINGA, S., Proiectarea optimală a materialelor oxidice, asistată de calculator, Editura Printech, București, 2000, p.96
9. RADU, D., MAZILU, C., CĂPĂȚĂNĂ, C., Rev. Chim. (București), **56**, Nr. 4, 2005, p. 399
10. BALTĂ, P., Tehnologia sticlei, Editia a-II-a, Editura Didactica și Pedagogica, București, 1984, p. 399
11. KOKUBO, T., KUSHITANI, H., SAKKA, S., KITSUGI, T., YAMAMURO, T., Journal of Biomedical Materials Research, **24**, Nr. 6, 1990, p.721
12. AUBIN, J.E., TRIFFITT, J.T., Mesenchymal Stem Cells and Osteoblast Differentiation. In: BILEZIKIAN, J.P., RAISZ, L.G., RODAN, G.A., eds. Principles of Bone Biology, 2nd edn. Academic Press: San Diego, 2002, p. 59
13. REDDI, A.H., J.Bone Joint Surg. Am. 83-A, Suppl 1 (Pt1):S1-S6, 2001

Intrat în redacție: 28.08.2006