

SZKŁA BIOAKTYWNE W INŻYNIERII TKANKOWEJ

BIOACTIVE GLASSES FOR TISSUE ENGINEERING

Michał Dziadek^{1*}, Justyna Pawlik¹, Katarzyna Cholewa-Kowalska¹

¹ Akademia Górniczo-Hutnicza im. St. Staszica w Krakowie, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, Katedra Technologii Szkła i Powłok Amorficznych, 30-059 Kraków, al. A. Mickiewicza 30

* e-mail: dziadek@agh.edu.pl

STRESZCZENIE

Ceramika jest materiałem implantacyjnym powszechnie stosowanym w ortopedii oraz stomatologii. W ostatnich latach szczególną uwagę zwrócono na wykorzystanie materiałów bioaktywnych, do których należą między innymi bioaktywne szkła i szkło-ceramika. W obszarze kontaktu mają one zdolność wywołania specyficznej odpowiedzi biologicznej, która prowadzi do tworzenia trwałego wiązania pomiędzy tkanką i materiałem. Bioaktywność szkieł w dużej mierze zależy od ich składu chemicznego, procesu wytwarzania (proces wysokotemperaturowy lub zol-żel) oraz obróbki termicznej. Uwalniane z powierzchni szkła jony mogą wpływać na odpowiedź wewnątrz- i zewnątrzkomórkową. Jednoczesne aktywowanie odpowiednich genów osteoblastów prowadzi do ich proliferacji oraz produkcji macierzy zewnątrzkomórkowej. W opracowaniu przedstawiono podział ceramiki ze względu na sposób oddziaływania z tkankami, opisano mechanizm bioaktywności szkieł w kontakcie z płynem fizjologicznym, a także możliwości badania tego zjawiska w warunkach *in vitro*. Ponadto, dokonano porównania właściwości bioaktywnych szkieł wytwarzanych tradycyjną metodą topienia oraz metodą zol-żel.

Słowa kluczowe: bioaktywność, bioceramika, szkła bioaktywne, szkło-ceramika, ceramika resorbowalna, szkła topione, szkła pochodzenia żelowego

ABSTRACT

Ceramic materials are widely used in a variety of orthopaedic and dental applications. Over the last few years considerable attention has been directed towards the use of bioactive materials i.e. bioactive glasses and glass-ceramics. They have the ability to elicit a specific biological response at the interface of the material, which results in the formation of a bond between the tissues and the material. Bioactivity of glass mainly depends on the chemical composition, manufacturing process (melt and sol-gel derived glasses) and thermal treatment. The ions released from the glass surface can induce extracellular and intracellular response. Simultaneous activation of the numerous genes leads to proliferation of osteoblasts and expression of extracellular matrix components. The classification of ceramic materials based on the type of material-tissue interaction, the mechanism of glass bioactivity in physiological media, and the possibility of investigation of this phenomenon were presented. Furthermore, the properties comparison of melt-derived glasses and sol-gel-derived glasses was carried out.

Keywords: bioactivity, bioceramic materials, bioactive glasses, glass-ceramics, resorbable ceramic materials, melt-derived glasses, sol-gel-derived glasses

1. Wprowadzenie

Ze względu na oddziaływanie z tkankami, bioceramikę można podzielić na trzy grupy (p. tab. 1). Do pierwszej z nich zalicza się ceramikę inertną, do której należy korund oraz tlenek cyrkonu. W kontakcie z tkanką ceramika ta powoduje powstanie torebki łącznotkankowej otaczającej wszczep. Jest to reakcja obronna organizmu, pozwalająca na odizolowanie ciała obcego od otaczających tkanek. Miarą inertności materiałów jest grubość powstałej torebki łącznotkankowej. Drugą grupę materiałów stanowi ceramika bioaktywna, do której zaliczyć można bioaktywne szkła (BG, ang. *bioactive glass*), tworzywa szklano-ceramiczne (BG-C, ang. *bioactive glass-ceramic*) oraz hydroksyapatyt (HAp, ang. *hydroksyapatite*). Ostatnia grupa to ceramika bioresorbowalna, do której należą głównie fosforany wapnia. Materiały ceramiczne należące do drugiej oraz trzeciej grupy, w postaci porowatych rusztowań, litych kształtek, proszków oraz granulatów z powodzeniem stosowane są jako implanty wspomagające regenerację tkanki kostnej [1, 2].

Tabela 1. Podział ceramiki ze względu na rodzaj tworzonego połączenia z tkanką [2]

Rodzaj ceramiki	Rodzaj połączenia z tkanką	Przykłady
Inertna	Mechaniczne osadzenie (fiksacja morfologiczna)	ZrO ₂ , Al ₂ O ₃
Bioaktywna	Powierzchniowa fiksacja chemiczna tkanki i implantu	Bioaktywne szkła i tworzywa szklano-ceramiczne, HAp
Bioresorbowalna	Zastąpienie materiału przez tkankę	Trójfosforany wapnia, bioaktywne szkła

2. Szkła bioaktywne

W 1969 roku Hench odkrył, że szkła zawierające w składzie tlenki SiO₂, CaO, Na₂O oraz P₂O₅ w odpowiednich proporcjach, wykazują doskonałą biogodność, a także zdolność do trwałego wiązania z tkanką kostną. Zjawisko to nazwano bioaktywnością. W kontakcie z płynami ustrojowymi, w wyniku przemian chemicznych oraz strukturalnych, na powierzchni materiału powstaje warstwa hydroksyapatytu węglanowego (HCA) analogicznego do fazy mineralnej kości [1, 3, 4]. Ponadto do warstwy tej włączone zostają cząsteczki kolagenu, dzięki czemu może dojść do fiksacji chemicznej oraz biologicznej materiału z tkanką. Włókna kolagenu przyłączane są do porowatej warstwy za pomocą oddziaływań elektrostatycznych, a także wiązań jonowych oraz wodorowych [5]. Późniejsze badania wykazały, iż można również osiągnąć fiksację materiału z tkankami miękkimi jednak pod warunkiem, że szybkość krystalizacji apatytu na powierzchni szkła będzie wystarczająco duża [4, 5].

W celu określenia stopnia bioaktywności różnych materiałów Hench stworzył indeks bioaktywności (I_B ; ang. *bioactivity index*), określający czas, w którym 50% powierzchni implantu ulegnie związaniu z tkanką ($t_{0,5bb}$): $I_B = 100/t_{0,5bb}$ [4, 5, 6, 7].

Ze względu na stopień bioaktywności wyróżniono dwie klasy materiałów ceramicznych:

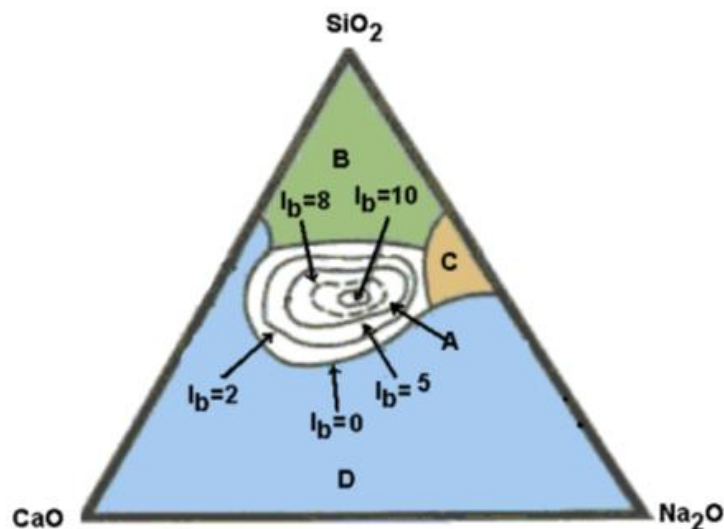
- Klasa A – biomateriały ceramiczne, których wartość indeksu bioaktywności osiąga wartości powyżej 8. Są to tak zwane materiały osteoinduktywne [5, 7]. Wywołują one zarówno wewnątrz- jak i zewnątrzkomórkową odpowiedź na wszczep [4]. Powierzchnia implantu sprzyja kolonizacji komórek macierzystych tkanki kostnej oraz indukuje ich proliferację oraz różnicowanie. Materiały tej klasy sprzyjają wiązaniu do swojej powierzchni zarówno kości, jak i tkanek miękkich. Przykładem bioceramiki klasy A są bioaktywne szkła oraz tworzywa szklano-ceramiczne [5].
- Klasa B – biomateriały ceramiczne, których wartość indeksu bioaktywności mieści się w zakresie od 0 do 8. Są to tak zwane materiały osteokonduktywne [5, 7]. Wywołują one jedynie zewnątrzkomórkową odpowiedź na wszczep. Stanowią rusztowanie dla nowopowstającej tkanki, która w tym przypadku może być tylko tkanką kostną. Przykładem bioceramiki klasy B jest HAp [4].

Bioaktywność ceramiki zależy od wielu czynników. Wydaje się, iż najważniejszym z nich jest jej skład chemiczny [3, 4, 8]. Na rysunku 1 przedstawiono zależność bioreaktywności szkieł oraz

szkło-ceramiki wytwarzanych metodą wysokotemperaturową od udziału wagowego poszczególnych tlenków $\text{CaO-SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$, przy czym udział wagowy P_2O_5 jest stały i wynosi 6%wag.

Obszar B (powyżej 60%wag. SiO_2) odpowiada ceramice inertnej. Obszar C stanowi skład odpowiadający ceramice resorbowalnej, która ulega resorpcji po 10–30 dniach od implantacji. W obszarze D nie dochodzi do formowania struktury szkła, a więc także do wiązania tkanki z materiałem. Obszar A (55–60%wag. SiO_2) reprezentuje szkła oraz tworzywa szkło-ceramiczne wykazujące bioaktywność w kontakcie z tkanką kostną. Ponadto ceramika o składzie reprezentowanym przez obszar wewnątrz linii przerywanej ($I_B = 8$; 45–52%wag. SiO_2) wykazuje bioaktywność również w kontakcie z tkankami miękkimi. Dzieje się tak dzięki zdolności powierzchni bioaktywnego szkła do silnej adhezji włókien kolagenu. Im bliżej granicy bioaktywności ($I_B = 0$) tym czas tworzenia wiązania z powierzchnią implantu wydłuża się, a grubość powstającej fazy łączącej implant z tkanką zmniejsza się [3, 4, 8].

Stosowane są także modyfikacje składu chemicznego bioaktywnych szkieł i szkło-ceramiki (p. tab. 3). Wykazano, iż częściowe zastąpienie CaO przez CaF_2 , nie wpływa znacząco na bioaktywność. Powoduje jednak zmniejszenie szybkości rozpuszczania szkła, co wpływa na przesunięcie granicy pomiędzy obszarami A i C na diagramie przedstawionym na rysunku 1. Wymiana MgO na CaO (do 5%wag.) bądź K_2O na Na_2O również ma niewielki wpływ na tworzenie połączenia implantu z kością. Obecność jonów multiwaleńnych wprowadzanych w postaci tlenków Al_2O_3 , B_2O_3 , Ta_2O_5 , ZrO_2 w ilości większej od 1,5–3%wag. powoduje znaczący spadek bioaktywności szkła. Ich negatywny wpływ na powstanie wiązania implantu z kością związany jest z obniżeniem zdolności powierzchni do wymiany jonów. Przyczyną jest mniejsza reaktywność chemiczna (stabilizacja struktury szkła) oraz tworzenie na powierzchni szkła warstwy tlenków, wodorotlenków oraz węglanów powstałych na skutek reakcji tych jonów z roztworem SBF (ang. *Simulated Body Fluid*), czy płynami fizjologicznymi [3, 4, 7].



Rys. 1. Zależność bioreaktywności szkieł oraz szkło-ceramiki wytwarzanych metodą wysokotemperaturową od udziału wagowego poszczególnych tlenków, przy czym udział wagowy P_2O_5 jest stały i wynosi 6%wag. [8]

Na podstawie przedstawionego diagramu (p. rys. 1) można wyróżnić trzy podstawowe cechy odróżniające bioaktywne szkło otrzymane metodą topienia od tradycyjnego szkła sodowo-wapniowo-krzemianowego:

- zawartość $\text{SiO}_2 < 60\%$ wag.,
- wysoka zawartość $\text{CaO} (> 10\%$ mol.) i Na_2O ,
- wysoki stosunek molowy $\text{CaO:P}_2\text{O}_5$ [9].

Tworzywa szklano-ceramiczne, wytwarzane są przez kierowaną krystalizację szkieł zarówno topionych, jak również pochodzenia żelowego. Ze względu na obecność fazy krystalicznej, materiały te posiadają lepsze właściwości mechaniczne w porównaniu do bioaktywnych szkieł. Aktualnie

otrzymywane są głównie bioaktywne tworzywa szklano-ceramiczne apatytowe, apatytowo-mulitowe oraz apatytowo-wollastonitowe. Właściwości tych tworzyw można modyfikować kontrolując między innymi rodzaj i zawartość poszczególnych faz (szklistej i krystalicznych). Dzięki modyfikacji składu bioaktywnego szkła i zawartości faz krystalicznych można otrzymać materiały zarówno bioaktywne, jak również bioresorbowalne [10].

3. Ceramika bioresorbowalna

Do grupy ceramiki bioresorbowalnej należą przede wszystkim fosforany wapnia w stosunku Ca:P < 1,5, na przykład α -fosforan trójwapniowy (α -TCP, ang. *α -tricalcium phosphate*), β -fosforan trójwapniowy (β -TCP, ang. *β -tricalcium phosphate*) oraz ceramika dwufazowa fosforanowo-wapniowa (BCP, ang. *biphasic calcium phosphate*) w skład, której wchodzi HAp oraz β -TCP w różnych proporcjach [1, 11, 12]. Do materiałów resorbowalnych należą również szkła fosforanowe z układu Na₂O/K₂O–CaO–P₂O₅ oraz wspomniane tworzywa szklano-krystaliczne uzyskane na bazie tych szkieł. Czas resorpcji kontrolowany jest zarówno składem chemicznym (stosunek CaO:Na₂O:K₂O), jak i fazowym (Ca₂KNa(PO₄)₂) [13]. Materiały z grupy fosforanów wapnia cechuje bardzo dobra biogodność, co wynika z dużego podobieństwa ich składu chemicznego oraz fazowego do mineralnych składników tkanki kostnej. Fosforany wapnia wykazują zdolność do wiązania z tkanką kostną i należą do materiałów osteokonduktywnych [11, 12]. Badania dowodzą, iż niezależnie od postaci (lite lub porowate kształtki, granule, proszek, pokrycia) oraz fazy (krystaliczna, amorficzna) materiały CaP zawsze wykazują bioaktywność. Największą zdolność do trwałego wiązania z tkanką kostną, spośród grupy fosforanów wapnia, wykazuje HAp. Krystaliczne fosforany wapnia mają długi czas resorpcji w warunkach *in vivo* sięgający kilku miesięcy, a nawet kilku lat. Szybkość ta zależy między innymi od pH i stopnia nasycenia otaczającego środowiska, rozwinięcia powierzchni, porowatości, stopnia krystaliczności oraz zdefektowania struktury materiału. Szybkość resorpcji zmniejsza się w obrębie opisywanej grupy fosforanów wapnia w następujący sposób: α -TCP >> β -TCP >> HAp [11]. Szybkość resorpcji ceramiki dwufazowej BCP może być kontrolowana przez stosunek zawartości HAp: β -TCP [14]. Właściwości mechaniczne fosforanów wapnia zależą głównie od stopnia ich krystaliczności, zdefektowania struktury, wielkości ziaren, stechiometrii związku oraz porowatości. Głównym ograniczeniem stosowania jest kruchość materiałów fosforanowo-wapniowych oraz ich niewystarczające parametry mechaniczne [11, 12].

4. Mechanizm bioaktywności szkieł krzemianowych w kontakcie ze środowiskiem biologicznym

Powierzchnia bioaktywnego szkła krzemianowego w kontakcie z płynami fizjologicznymi podlega szeregowi przemian chemicznych, a także strukturalnych. Przemiany te zależą, oprócz właściwości materiałowych szkła, również od środowiska w jakim znajduje się wszczep. Procesy zachodzące na powierzchni szkła w kontakcie z płynami fizjologicznymi można podzielić na trzy etapy: wymywanie, rozpuszczanie oraz wytrącanie. W wyniku tych przemian na powierzchni materiału powstaje warstwa apatytowa łącząca implant z kością [3, 5, 7, 15]. Można wyróżnić 10 faz zjawiska zachodzącego na granicy bioaktywnego szkła krzemianowego i środowiska biologicznego:

- Wymiana jonów Na⁺, K⁺ oraz Ca²⁺ pochodzących ze szkła na jony H⁺ lub H₃O⁺ z płynu fizjologicznego, czego skutkiem jest wzrost jego pH. Następuje hydroliza wiązań niemozkowych Si–O–Na/K/Ca, w wyniku czego powstają grupy silanolowe (Si–OH).
- Dalsza wymiana kationów, która sprzyja wzrostowi koncentracji grup hydroksylowych w otaczającym środowisku, atakujących sieć szkła. Powoduje to zrywanie wiązań mostkowych Si–O–Si. W rezultacie niewielkie ilości krzemionki przechodzą do roztworu w postaci kwasu ortokrzemowego Si(OH)₄, co nadal prowadzi do powstawania grup silanolowych Si–OH w obszarze kontaktu szkła i środowiska biologicznego.
- Kondensacja i przebudowa (repolimeryzacja) powierzchniowej warstwy żelu krzemionkowego na warstwie szkła ubogiej w kationy zasadowe; obecne w żelu krzemionkowym ugrupowania Si–OH stanowią miejsca sprzyjające nukleacji HCA.
- Tworzenie na powierzchni i wewnątrz żelu krzemionkowego warstwy bogatej w CaO i P₂O₅

poprzez inkorporację jonów wapniowych i fosforanowych obecnych w płynie fizjologicznym; chemisorpcji jonów Ca^{2+} i grup PO_4^{3-} sprzyja ujemny ładunek powierzchni żelu krzemionkowego.

- e. Krystalizacja hydroksyapatytu węglanowego HCA dzięki wbudowywaniu się w amorficzną warstwę fosforanu wapnia anionów OH^- oraz CO_3^{2-} pochodzących z płynu fizjologicznego.
- f. Adsorpcja czynników wzrostu na powierzchni warstwy HCA oraz aktywacja procesów różnicowania komórek macierzystych kości.
- g. Działanie makrofagów oczyszczających powierzchnię HCA.
- h. Przyłączanie do powierzchni HCA komórek macierzystych oraz ich proliferacja.
- i. Różnicowanie komórek macierzystych w kierunku osteoblastów.
- j. Formowanie macierzy zewnątrzkomórkowej ECM przez osteoblasty oraz jej mineralizacja.

Pierwsze 5 faz (a–e) zjawiska bioaktywności stanowi chemiczny etap przemian. Mechanizm bioaktywności w tym przypadku można dość dokładnie poznać przeprowadzając badanie w warunkach *in vitro* – test SBF. Kolejne 5 faz (f–j) stanowi biologiczny etap przemian, których badanie wymaga środowiska *in vivo*.

5. Ocena bioaktywności szkieł w warunkach *in vitro* – test SBF

Do grupy badań bioaktywności w warunkach *in vitro* należą badania prowadzone w oparciu o inkubację biomateriału w sztucznym osoczu krwi (SBF, ang. *simulated body fluid*). Roztwór SBF zawiera wszystkie niezbędne składniki nieorganiczne osocza ludzkiej krwi. Inkubacja materiałów przeprowadzana jest w temperaturze zbliżonej do fizjologicznej temperatury ludzkiego ciała (37 °C). Wartość pH roztworu SBF (7,25 lub 7,4) również zbliżona jest do wartości fizjologicznego pH ludzkiej krwi. Porównanie składu jonowego oraz pH sztucznego oraz fizjologicznego osocza krwi przedstawiono w tabeli 2 [16].

Tabela 2. Skład jonowy sztucznego oraz fizjologicznego osocza krwi [16]

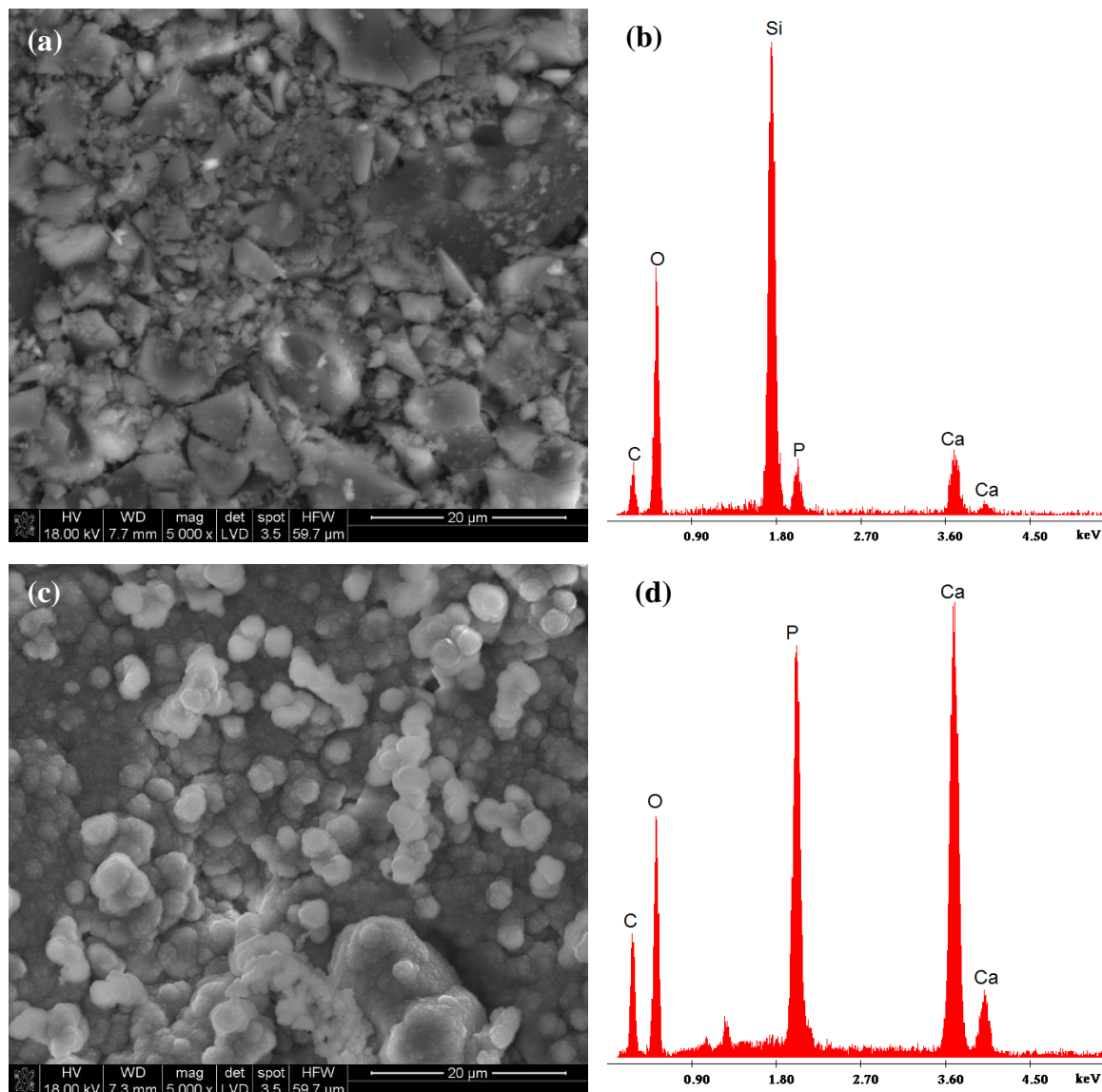
Jon		Na^+	K^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Cl^-	HCO_3^-	HPO_4^{2-}	SO_4^{2-}	pH
Stężenie [mmol/dm ³]	SBF	142	5,0	1,5	2,5	147,8	4,2	1	0,5	7,25–7,4
	Osocze krwi	142	5,0	1,5	2,5	103	27	1	0,5	7,2–7,4

Pierwotny skład SBF zaproponował w 1990 roku Kokubo. Na przestrzeni lat został on zweryfikowany do postaci przedstawionej w tabeli 2. Skład ten różni się od fizjologicznego osocza krwi stężeniem niektórych jonów. Problem ten starali się rozwiązać inni badacze, którzy zaproponowali alternatywny skład w postaci r-SBF, w którym stężenie jonów Cl^- a także HCO_3^- są zgodne z fizjologicznym. Jednak przy zaproponowanym składzie dochodzi do szybkiego wytrącenia węglanu wapnia z roztworu [16].

Przeprowadzając inkubację materiału w sztucznym osoczu krwi można badać zmiany morfologiczne oraz chemiczne powierzchni bioaktywnego szkła, wskazujące na powstawanie fosforanowo-wapniowych form związanych z bioaktywnością materiału. Na rysunku 2 przedstawiono mikrofotografię SEM powierzchni zaprasowanego proszku bioaktywnego szkła wysokokrzemionkowego S2 (80 mol% SiO_2 – 16 mol% CaO – 4 mol% P_2O_5) pochodzenia żelowego przed (p. rys. 2a) oraz po 7 dniach inkubacji w SBF (p. rys. 2c). Powierzchnia materiału po inkubacji w sztucznym osoczu wykazuje wyraźne zmiany morfologii oraz składu chemicznego. Pokryta jest kalafiorowatymi formami fosforanów wapnia, co potwierdza średnia analiza EDX (wyraźny wzrost intensywności pików pochodzących od Ca oraz P, a także brak pików pochodzących od Si występujących w szkłe) (p. rys. 2d). Powstałe formy, pod względem morfologicznym, charakterystyczne są dla krystalicznego hydroksyapatytu [17].

Biorąc pod uwagę opisane zjawiska, mechanizmy bioaktywności materiału można również badać, obserwując zmiany pH i koncentracji jonów w roztworze SBF. W początkowej fazie obserwuje się wzrost pH roztworu i koncentracji jonów uwalnianych ze szkła do roztworu. Ponieważ bioaktywność

szkła zwykle jest związana z powstaniem na jego powierzchni warstwy fosforanów wapnia, w dalszym etapie może następować spadek stężenia jonów fosforu oraz wapnia w roztworze.



Rys. 2. Mikrofotografie SEM oraz średnie analizy EDX zaprasowanego proszku bioaktywnego szkła wysokokrzemionkowego S2 przed (a) oraz po (b) 7 dniach inkubacji w SBF

6. Metody wytwarzania bioaktywnych szkieł

W zależności od procesu wytwarzania, można wyróżnić szkła bioaktywne wytwarzane tradycyjną metodą topienia oraz metodą zol-żel.

Pierwszym badanym bioaktywnym szkłem był Bioglass[®] 45S5. Zostało ono wytworzone przez Hencha w 1971 roku tradycyjną metodą wysokotemperaturową i do dziś ma szerokie zastosowanie kliniczne w leczeniu ubytków kostnych. Symbol 45S5 pochodzi od zawartości 45%wag. SiO₂ oraz stosunku molowego Ca:P, który wynosi 5 [2]. Do lat 90. XX wieku powstało wiele modyfikacji składu tego szkła. Przykłady, skład tlenkowy oraz indeks bioaktywności przedstawiono w tabeli 3 [4].

Skład tlenkowy bioaktywnych szkieł przedstawionych w tabeli 3 można umiejscowić w trójkącie kompozycji przedstawionym na rysunku 2. Indeks bioaktywności $I_B = 12,5$ szkła 45S5 Bioglass[®] kwalifikuje je do klasy bioaktywności A. Skład szkła 45S5.4F Bioglass[®] oraz identyczny indeks bioaktywności $I_B = 12,5$ potwierdza wspomniany brak wpływu częściowego zastąpienia CaO przez CaF₂ na bioaktywność szkła.

Tabela 3. Skład oraz indeks bioaktywności szkieł z rodziny Bioglass® [4]

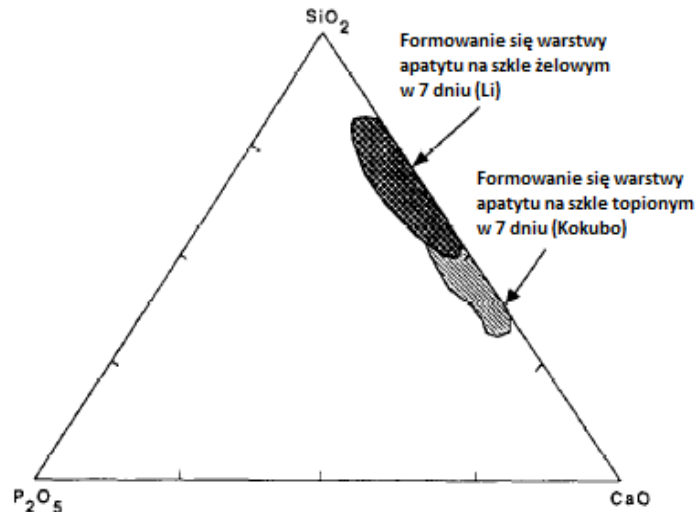
Rodzaj szkła	Skład tlenkowy [%wag.]						Indeks bioaktywności I _B
	SiO ₂	P ₂ O ₅	CaO	Na ₂ O	CaF ₂	B ₂ O ₃	
45S5	45	6	24,5	24,5	–	–	12,5
45S5.4F	45	6	14,7	24,5	9,8	–	12,5
45B15S5	30	6	24,5	24,5	–	15	> 8
52S4.6	52	6	21	21	–	–	10,5
55S4.3	55	6	19,5	19,5	–	–	3,5

Na początku lat 90. XX wieku topione szkła bioaktywne ustąpiły miejsca materiałom wytwarzanym metodą zol-żel. Metoda ta charakteryzuje się całkowitym pominięciem etapu ogniowego i opiera się głównie na reakcjach zachodzących równolegle w fazie ciekłej – hydrolizie i polikondensacji. Warunkują one przejście roztworu wyjściowego w żel, który w wyniku obróbki termicznej w temperaturach dużo niższych niż ma to miejsce w przypadku szkieł topionych, może stworzyć tlenkową więźbę szkła. Głównymi surowcami do produkcji są zwykle alkoholany, a także kombinacje związków organicznych i nieorganicznych (azotany, chlorki). Są one prekursorami pierwiastków szkłotwórczych oraz modyfikujących. W wyniku reakcji polikondensacji powstają wiązania mostkowe Si–O–Si oraz Si–O–pierwiastek modyfikujący, tworzące strukturę szkła [18].

Synteza zol-żel pozwala na uzyskanie szkieł o zróżnicowanych składach chemicznych, często trudnych lub niemożliwych do uzyskania na drodze topienia. Jest to proces niskotemperaturowy, co umożliwiło wyeliminowanie ze składu szkła tlenków Na₂O oraz K₂O, których dodatek w tradycyjnym procesie obniża temperaturę topienia zestawu surowcowego. W związku z tym, powstały zarówno kompozycje dwuskładnikowe (CaO–SiO₂), trójskładnikowe (SiO₂–CaO–P₂O₅), jak i czteroskładnikowe (SiO₂–CaO–P₂O₅–MgO) [19, 20]. Li, Clark oraz Hench wykazali, iż obecność tlenków Na₂O oraz K₂O nie jest niezbędna do uzyskania bioaktywności szkieł [5, 21]. Co prawda, tlenki te zwiększają rozpuszczalność szkła w środowisku wodnym, co stanowi ważny czynnik interakcji materiału z tkanką, jednak w przypadku szkieł pochodzenia żelowego, równoważone jest to przez wysokie rozwinięcie powierzchniowe, przez co może dochodzić do swobodnej migracji oraz wymiany jonów ze struktury szkła [21]. W przeciwieństwie do szkieł otrzymywanych metodą wysokotemperaturową, zawartość SiO₂ w składzie szkieł żelowych może wahać się od 0% (dla szkieł resorbowalnych, fosforanowych) do ponad 90% wag. (p. rys. 4.) [20, 22, 23, 24, 25]. Przykładem kompozycji, w której nie występuje SiO₂ jest szkło o składzie tlenkowym P₂O₅ (40–55 % mol.) – CaO (8–40% mol.) – Na₂O (15–47% mol.). Tlenkiem szkłotwórczym, tworzącym więźbę szkła w tym przypadku jest tlenek P₂O₅. Wyniki badań wykazały jednak pogorszenie stopnia bioaktywności tego rodzaju szkieł w stosunku do szkieł, których więźbę tworzy tlenek krzemu [23]. Specyfika strukturalna i teksturalna szkieł żelowych powoduje szybsze powstanie warstwy HCA na powierzchni materiału w porównaniu ze szkłem topionym. Związane jest to głównie z obecnością grup silanolowych w strukturze szkła żelowego, a także większym rozwinięciem powierzchniowym, niż ma to miejsce w przypadku szkieł topionych. Wyższa zawartość SiO₂ niż 60% wag. dla szkieł topionych skutecznie ogranicza wymianę jonów odpowiedzialnych za zjawisko bioaktywności [25].

Niskie temperatury procesu otrzymywania szkieł żelowych pozwalają na wprowadzanie do sieci szkła innych modyfikatorów na przykład magnezu, ceru, boru, srebra i strontu. Ma to na celu nadanie/modyfikację właściwości antybakteryjnych, bioaktywnych i chemicznych umożliwiających kontrolę resorpcji [26]. Metoda zol-żel pozwala na uzyskanie materiałów o bardzo wysokiej czystości chemicznej, co ma duże znaczenie w przypadku biomateriałów. Ponieważ roztwór sporządzany jest ze związków chemicznych w stanie ciekłym, cała synteza odbywa się w warunkach zapewniających jednorodność w skali molekularnej. Możliwość przeprowadzenia syntezy szkła w niskich temperaturach pozwala na kontrolowanie porowatości oraz mikrostruktury powierzchni. Ponieważ prekursorzy pierwiastków szkłotwórczych łatwo ulegają hydrolizie, a następnie polikondensacji, powstaje przestrzenna sieć złożona z tetraedrów [SiO₄]⁴⁻ będących monomerami tej sieci. Po obróbce termicznej szkło częściowo zachowuje strukturę sieci przestrzennej, posiadając liczne mezopory. Pory

te mogą być w różnym stopniu połączone lub całkowicie zamknięte oraz mieć zróżnicowaną wielkość (średnica 6,5–9,5 nm) w zależności od warunków obróbki temperaturowej. Porowatość, jak również średnia wielkość porów szkieł topionych, jest znacznie mniejsza (średnica 1,6–2,1 nm), rzędu wielkości chropowatości powierzchni szkła [27]. Duża porowatość oraz rozwinięcie powierzchni przyspieszają wymianę jonów na powierzchni szkła, sprzyjają przyłączeniu grup hydroksylowych – powstaniu silanoli, a także zwiększają szybkość adsorpcji jonów Ca^{2+} oraz PO_4^{2-} na powierzchni żelu krzemionkowego [21, 25, 28]. Dodatkowo dzięki mezoporowatej strukturze, implantowany materiał może adsorbować substancje biologiczne, takie jak białka, enzymy, czynniki wzrostu wspomagające proces regeneracji tkanki [28].



Rys. 3. Zależność bioaktywności szkieł topionych oraz żelowych od udziału procentowego tlenków SiO_2 , P_2O_5 i CaO [28]

Wprowadzenie jonów Ca^{2+} oraz Na^+ modyfikuje krzemianową strukturę sieci szkła, zmniejszając ilość mostków tlenowych na rzecz wiązań niemostkowych pomiędzy siecią i jonami modyfikującymi. Struktura szkła otrzymanego metodą zol-żel, wykazuje obecność większej ilości wiązań niemostkowych, pochodzących od grup Si-OH , w porównaniu do szkła otrzymanego metodą wysokotemperaturową. Otwarta struktura szkła żelowego sprzyja uwalnianiu jonów wapnia i sodu do środowiska biologicznego, oraz przyłączania jonów H_3O^+ [28].

Wszystkie wymienione cechy bioaktywnych szkieł otrzymywanych metodą zol-żel sprawiają, iż są one bardzo atrakcyjnym materiałem do zastosowania w inżynierii tkankowej.

7. Podsumowanie

Bioaktywne szkła oraz szkło-ceramika z powodzeniem stosowane są w praktyce klinicznej jako:

- implanty ucha środkowego (lite kształtki MEP[®] oraz Douek-MEDTM – Bioglass[®] 45S5, Cervital[®] – szkło-ceramika apatytowa),
- uzupełnienia po ekstrakcji zębów (lite kształtki REMI[®] – Bioglass[®] 45S5),
- wypełnienia ubytków kostnych (proszek lub granule PerioGlas[®], Biogran[®] – Bioglass[®] 45S5, proszek i granule BonAlive[®] – szkło S53P4, granule Cerabone[®] – szkło-ceramika apatytowo-wollastonitowa, Bioverit[®] – szkło-ceramika apatytowo-flogopitowa),
- implanty kręgow i dysków międzykręgowych (lite kształtki Cerabone[®]),
- implanty i wypełnienia w chirurgii twarzoczaszki (proszek NovaBone[®], lite kształtki Ilmaplant[®] – szkło-ceramika apatytowo-wollastonitowa),
- składnik past do zębów zapobiegających nadwrażliwości (proszek NovaMin[®] – Bioglass[®] 45S5),
- pokrycia implantów metalicznych (Bioverit[®], Bioglass[®] 45S5),
- porowate rusztowania dla inżynierii tkankowej,

- faza modyfikująca kompozytów (proszek, włókna) polimerowo-ceramicznych,
- systemy dostarczania leków [7, 29, 30, 31].

Coraz częściej bioaktywne szkła w postaci proszków, nanoproszków, a także włókien stosowane są jako faza modyfikująca polimerową matrycę kompozytowych rusztowań w inżynierii tkankowej. Połączenie elastyczności, bioresorbowalności oraz dużych możliwości formowania polimerów, jak i bioaktywności, sztywności i wytrzymałości ceramiki pozwalają na uzyskanie materiałów o pożądanych parametrach mechanicznych, fizykochemicznych, a także biologicznych. Dodatkowo bioaktywność takich materiałów, może być kontrolowana między innymi przez skład chemiczny bioaktywnego szkła oraz jego udział objętościowy w materiale [4, 29, 32, 33].

Możliwość modyfikacji składu chemicznego szkieł w szerokim zakresie, pozwala kontrolować ich czas resorpcji oraz wiązania implantu z tkanką. Dzięki temu można zaprojektować szkła dostosowane do konkretnego zastosowania. Bioaktywne szkła, oprócz zdolności do trwałego wiązania z tkanką, mogą aktywować odpowiednie sekwencje genów osteoblastów indukując ich proliferację oraz produkcję macierzy zewnątrzkomórkowej, mineralizującej w kierunku powstania kości.

Zastosowanie syntezy zol-żel w produkcji bioaktywnych szkieł, zamiast tradycyjnej metody topienia, pozwala na uzyskanie szkła o większym stopniu rozwinięcia powierzchni oraz zachowanie powierzchniowych grup silanolowych (Si-OH). Sprzyja to procesom wymiany jonów zachodzącej na powierzchni szkła, przyspiesza krystalizację HCA oraz indukuje absorpcje substancji biologicznych, takich jak białek, umożliwiających adhezję komórek.

PODZIĘKOWANIA

Praca została zrealizowana w ramach działalności statutowej Wydziału Inżynierii Materiałowej i Ceramiki AGH. Projekt nr 11.11.160.365.

LITERATURA

- [1] S. Yang, K. Leong, Z. Du, C. Chua: *The design of scaffolds for use in tissue engineering Part I. Traditional factors*, Tissue Engineering, vol. 7(6), 2001, s. 679–689.
- [2] L.L. Hench, R. J. Splinter, W. C. Allen, T. K. Greenlee: *Bonding mechanism at the interface of ceramic prosthetic materials*, Journal of Biomedical Materials Research, vol. 5(6), s. 117–141.
- [3] L. Hench, J. Wilson (red.): *An Introduction to Bioceramics, tom I: Advanced Series in Ceramics*, Singapur 1993.
- [4] W. Cao, L.L. Hench: *Bioactive Materials*, Ceramics International, vol. 22, 1996, s. 493–507.
- [5] J.M. Polak, L.L. Hench, P. Kemp (red.): *Future Strategies for Tissue and Organ Replacement*, London 2002.
- [6] J. Moura, L.N. Teixeira, C. Ravagnani, O. Peitl, E. D. Zanotto, M.M. Beloti, H. Panzeri, A.L. Rosa, P. Tambasco de Oliveira: *In vitro osteogenesis on a highly bioactive glass-ceramic (Biosilicate®)*, Journal of Biomedical Materials Research Part A, vol. 82A(3), 2007, s. 545–557.
- [7] P.N. De Aza, A.H. De Aza, P. Pena, S. De Aza: *Bioactive glasses and glass-ceramics*, Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio Artículo de Revisión, vol. 46(2), 2007, s. 45–55.
- [8] L.L. Hench: *Bioceramics*, Journal of the American Ceramic Society, vol. 81(7), 1998, s. 1705–1728.
- [9] H.A. El Batal, M.A. Azooz, E.M.A. Khalil, A. Soltan Monem, Y.M. Hamdy: *Characterization of some bioglass-ceramics*, Materials Chemistry and Physics, vol. 80(3), 2003, s. 599–609.
- [10] E. El-Meliegy, R. Van Noort: *Glasses and Glass Ceramics for Medical Applications*, London 2012.
- [11] K. Rezwan, Q. Chena, J. Blakera, A. Boccaccini: *Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering*, Biomaterials, vol. 27(18), 2006, s. 3413–3431.
- [12] D. Huttmacher, J. Schantz, C. Lam: *State of the art and future directions of scaffold-based bone engineering from a biomaterials perspective*, Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine, vol. 1(4), 2007, s. 245–260.
- [13] N. Jinlong, Z. Zhenxi, J. Dazong, Y. Shenghong, M. Guanglai, W. Keguang: *Preparation structure and solubility of Ca₂KNa(PO₄)₂*, Journal of Materials Science, vol. 36, 2001, s. 3805–3808.
- [14] M. Wang: *Materials selection and scaffold fabrication for tissue engineering in orthopaedics*, Advanced Bioimaging Technologies in Assessment of the Quality of Bone and Scaffold Materials, 2007, s. 259–288.
- [15] L. Gerhardt, A. R. Boccaccini: *Bioactive glass and glass-ceramic scaffolds for bone tissue engineering*, Materials, vol. 3, 2010, s. 3867–3910.
- [16] T. Kokubo, H. Takadama: *How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?*, Biomaterials, vol. 27(15), 2006, s. 2907–2915.
- [17] N. Barroca, A.L. Daniel-da-Silva, P.M. Vilarinho, M.H.V. Fernandes: *Tailoring the morphology of high molecular weight PLLA scaffolds through bioglass addition*, Acta Biomaterialia, vol. 6(9), 2010, s. 3611–3620.
- [18] M. Łączka, K. Cholewa-Kowalska, K. Kulgawczyk, M. Klisch, W. Mozgawa: *Structural examinations of gel-derived*

- materials of the CaO–P₂O₅–SiO₂ system*, Journal of Molecular Structure, vol. 511–512, 1999, s. 223–231.
- [19] A. Rámila, M. Vallet-Regí: *Static and dynamic in vitro study of a sol-gel glass bioactivity*, Biomaterials, vol. 22(16), 2001, s. 2301–2306.
- [20] M. Vallet-Regí, C.V. Ragel, A.J. Salinas: *Glasses with medical applications*, European Journal of Inorganic Chemistry, vol. 6, 2003, s. 1029–1042.
- [21] A. Lucas-Girot, F. Z. Mezahi, M. Mami, H. Oudadesse, A. Harabi, M. Le Floch: *Sol-gel synthesis of a new composition of bioactive glass in the quaternary system SiO₂–CaO–Na₂O–P₂O₅*, Journal of Non-Crystalline Solids, vol. 357(18), 2011, s. 3322–3327.
- [22] R.L. Siqueira, O. Peitl, E. D. Zanotto: *Gel-derived SiO₂–CaO–Na₂O–P₂O₅ bioactive powders: Synthesis and in vitro bioactivity*, Materials Science and Engineering: C, vol. 31(5), 2011, s. 983–991.
- [23] D. Carta, J.C. Knowles, M. E. Smith, R. J. Newport: *Synthesis and structural characterization of P₂O₅–CaO–Na₂O sol-gel materials*, Journal of Non-Crystalline Solids, vol. 353(11-12), 2007, s. 1141–1149.
- [24] L.L. Hench: *Sol-gel materials for bioceramic applications*, Current Opinion in Solid State and Materials Science, vol. 2(5), 1997, s. 604–610.
- [25] M. Mami, A. Lucas-Girot, H. Oudadesse, R. Dorbez-Sridi, F. Mezahi, E. Dietrich: *Investigation of the surface reactivity of a sol-gel derived-glass in the ternary system SiO₂–CaO–P₂O₅*, Applied Surface Science, vol. 254(22), 2008, s. 7386–7393.
- [26] A. Balamurugan, G. Balossier, S. Kannan, J. Michel, A. H. S. Rebelo, J. M. F. Ferreira: *Development and in vitro characterization of sol-gel derived CaO–P₂O₅–SiO₂–ZnO bioglass*, Acta Biomaterialia, vol. 3(2), 2007, s. 255–262.
- [27] P. Sepulveda, J.R. Jones, L.L. Hench: *Characterization of melt-derived 45S5 and sol-gel derived 58S bioactive glasses*, Journal of Biomedical Materials Research, vol. 58(6), 2001, s. 734–740.
- [28] L.L. Hench: *The challenge of orthopaedic materials*, Current Orthopaedics, vol. 14(1), 2000, s. 7–15.
- [29] J.R. Jones, *Review of bioactive glass: From Hench to hybrids*, Acta Biomaterialia, vol. 9(1), 2013, s. 4457–4486.
- [30] T. Kokubo (red.): *Bioceramics and Their Clinical Applications*, Boca Raton 2008.
- [31] E. Verne, M. Ferraris, C. Jana, L. Paracchini: *Bioverit[®] I base glass/Ti particulate biocomposite: “in situ” vacuum plasma spray deposition*, Journal of the European Ceramic Society, vol. 20(4), 2000, s. 473–479.
- [32] H. Yun, S. Kim, E. K. Park: *Bioactive glass-poly(ε-caprolactone) composite scaffolds with 3 dimensionally hierarchical pore networks*, Materials Science and Engineering: C, vol. 31(2), 2011, s. 198–205.
- [33] V. Cannillo, F. Chiellini, P. Fabbria, A. Sola: *Production of Bioglass[®] 45S5–Polycaprolactone composite scaffolds via salt-leaching*, Composite Structures, vol. 92(8), 2010, s. 1823–1832.

otrzymano / submitted: 12.03.2014

wersja poprawiona / revised version: 02.08.2014

zaakceptowano / accepted: 30.09.2014