

BIOMINERALIZACJA W ŚWIECIE ORGANIZMÓW ŻYWYCH. BIOMIMETYZM

ANNA STOCH

AGH, WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI
AL. MICKIEWICZ 30; 30-059 KRAKÓW, POLSKA

[*Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 188-192*]

Wprowadzenie

Liczne organizmy żywe: rośliny, zwierzęta i ludzie, wytwarzają swoje biomineralne szkielety kostne będące ceramicznymi kompozytami zbudowanymi w warunkach naturalnych. Do ich budowy wykorzystywane są materiały dostępne w najbliższym otoczeniu, środowisko wodne i temperatura otoczenia. Prostim przykładem może być muszla perłowa małży, skorupki jaj ptasich czy też nasze kości i zęby (zębina i emalia zębowa). Biominerały składają się z elastycznej matrycy organicznej, głównie z włóknistych protein i/lub polisacharydów, wewnątrz których indukowany jest wzrost fazy mineralnej. Biomineralizacja nie jest procesem jednostkowym. Każdy organizm żywy był zmuszony przyjmując określoną ilość prawideł reguł przyrodniczych dla optymalizacji specyficznych funkcji, jakie musi wypełniać szkielet, muszla, czy ząb w szczególnym środowisku, w którym dany organizm przebywa. Organizmy żywe budują swoje ceramiczno-organiczne struktury kompozytowe poprzez powolne, starannie realizowane, powtarzające się procedury. W układach biologicznych, największy wpływ na właściwości kompozytu bioceramicznego, silniejszy aniżeli chemizm użytych materiałów wyjściowych, zdaje się posiadać monitorowanie mikrostruktury kompozytu, wynikające ze złożonych procedur, kontrolowanych genetycznie, odbywających się za pośrednictwem komórek na poziomie molekularnym. Organizmy żywe są zdolne wytwarzać ponad 60 różnych minerałów, jednakże nie wszystkie służą do budowy szkieletów; np. pojedyncze domeny krystaliczne magnetytu, magnetyczne nanocząstki, kreujące nawigacyjne właściwości bakterii. Najbardziej rozpowszechnionymi i najlepiej zbadanymi biominerałami są węglany wapniowe, fosforany wapniowe i biokrzemiany [1-3].

Twarde biominerały wykazujące lepsze właściwości mechaniczne inspirują do tworzenia nowych materiałów. W nauce ma miejsce stała dążność do udoskonalania, a w inżynierii materiałowej niewielka grupa badaczy, analizując biominerały produkowane przez żywe organizmy dąży do otrzymania nowych materiałów metodami obserwowanymi w przyrodzie. Procedury znane z systemów biologiczne bywają naśladowane i użyte przy wytwarzaniu nowych materiałów kompozytowych, które wówczas uzyskują oczekiwane właściwości fizyczne, elektryczne lub mechaniczne, nieosiągalne przez technologie konwencjonalne. Takie wytwarzanie materiałów syntetycznych nazywa się mimetycznym, ponieważ naśladuje ono podstawowe schematy procedur biologicznych, mimo, że odbywa się poza naturalnym środowiskiem biologicznym.

Obecnie obserwuje się wzrost zainteresowania biomimetycznym sposobem wytwarzania powłok fosforanowych na implantach. Takie powłoki można otrzymać przez zanurzenie implantu w syntetycznym osoczu (SBF) w temperaturze 37°C w celu naśladowania naturalnego procesu wzrostu apatyty.

BIOMINERALIZATION IN LIVING ORGANISMS. BIOMIMETISM

ANNA STOCH

AGH-UST, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS
AL. MICKIEWICZA 30; 30-050 CRACOW, POLAND

[*Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 188-192*]

Introduction

Many organisms, including plants, animals and human beings, construct skeletons, which are biomineral ceramic composites from readily available materials, usually in aqueous media and at ambient conditions. The plainest examples are nacreous shell formation, egg-shells or our bones, dentine and enamel. They consist of a pliant matrix of biological macromolecules, mainly fibrous proteins and/or polysaccharides, inside which mineral particles are induced to grow [1-3].

Biomineralization is not a single process. Every organism adapted certain strategic principles to optimize the specific functions of its hard tissue to the specific environment in which it lives. Living systems construct functional ceramic-polymer composite structures by slow, carefully engineered, repetitive processing. In these biological systems, the control of composite microstructure, arising from complex, genetically controlled, cell mediated procedures operating at molecular level, appear to have greater influence on ceramic functional properties than chemistry of the starting materials involved. Organisms control the deposition of more than sixty different minerals, not all of which are used for skeletal support; the single domain crystals of magnetite that impart to magnetotactic bacteria their navigational ability are accurately programmed and assembled magnetic nanoparticles. The most common and best studied biominerals are calcium carbonates, calcium phosphates and biosilicates.

Biological and hard materials have been thus regarded as an inspiration for novel materials with superior mechanical properties. It is a constant refinement in materials science and engineering and a small group of scientists have been analysing natural materials produced by living organisms attempting to obtain novel materials by adapting biological principles. The processing strategies used by biological systems should be mimicked to fabricate the composite materials that could provide desired physical, electrical and mechanical properties, not currently available by conventional technologies. Such fabrication of synthetic materials is referred to as mimetic because they mimic the basic biological processing schemes, though they are practised outside of the natural biological context [4-6]. There is an increasing interest in biomimetic preparation of phosphate coatings on implanted materials. Such coatings can be produced on implants by their immersion in simulated body fluid (SBF) at low temperatures 37°C, pH=7,2 to mimic the natural processes of apatite formation.

In our Laboratory of Coatings we investigate the biomimetic coating of apatite on metallic and carbon biomaterials. These materials used as implant devices have excellent mechanical properties and not satisfying biological activity. It means that after implantation these materials are not able to form a strong chemical bond with natural bone. Biomimetic strat-

W naszym Laboratorium Powłok pracujemy nad biomimetycznym wytwarzaniem powłok apatytowych na biomateriałach metalicznych i węglowych. Materiały te stosowane jako implanty mają dobre właściwości mechaniczne i niską aktywność biologiczną. Oznacza to, że po implantacji materiały te nie są zdolne wytworzyć mocnego wiązania chemicznego z żywą kością. Metoda biomimetyczna pozwala na otrzymanie biologicznie równoważnego apatytu (węglanowego) na biomateriałach metalicznych i węglowych podwyższając w ten sposób ich aktywność biologiczną [7-9].

Biokrzemiany

Powstawanie w przyrodzie biokrzemianów i ich synteza metodą zol-żel w laboratorium chemicznym są podobne; obydwa procesy przebiegają w temperaturze otoczenia i opierają się na polikondensacji kwasu krzemowego z wytworzeniem cząstek koloidalnych. Uwodniona, amorficzna krzemionka jest obecna jako materiał strukturalny nadający zwężność w liściach, blaszkach, łuskach, strąkach, łodygach i korzeniach wielu roślin, np. w ryżu, pszenicy, owsie, skrzypie, jęczmieniu i trawach. Taka krzemionka występuje również w organizmach wodnych jak np. w pięknie ukształtowanych skorupkach okrzemek i radiolari, w igłowych wypustkach niektórych gąbek oraz w zębach niektórych małż. Wymienione biokrzemiany składają się przede wszystkim z krzemionki żelowej, o specyficznym rozmiarze i kształcie cząstek połączonych w agregaty z przyłączonymi aminokwasami w formie anionowej i z grupami hydroksylowymi. Przypuszcza się, że w obszarach wzrostu biokrzemianów organiczne polimery wpływają na kinetykę polikondensacji krzemionki, na rozmiar i kształt cząstek, na ich agregację i makroskopową architekturę. Biokrzemiany rosną w przestrzeniach zamkniętych w postaci aglomeratów w obszarach wewnątrz-komórkowych jak i zewnątrz-komórkowych.

Chociaż u człowieka nie ma wydzielenia się krzemianów, to rola krzemionki i krzemu obecnego w organizmie ludzkim przyciągają uwagę naukowców. Np. kwas krzemowy jest niezbędnym czynnikiem zapewniającym zdrowy wzrost kości i tkanki łącznej. Są też teorie uzasadniające hamujący wpływ kwasu krzemowego względem fizjologicznej absorpcji toksycznego glinu dzięki powierzchniowej adsorpcji cząsteczek kwasu krzemowego na cząstkach tlenku glinu, uniemożliwiającej jego wchłonięcie przez komórki [10, 11]. Biokrzemiany w coraz większym stopniu są wykorzystywane jako niedrogie prekursorzy krzemu. Np. ziemia okrzemkowa (diatomit) jest stosowana do syntezy zeolitów jak również azotku krzemu. Łuski ryżowe, tani odpad rolniczy, stanowią wysoce jednorodny kompozyt krzemu i węgla o wysokiej powierzchni. Poddając pirolizie łuski ryżowe otrzymuje się węgiel krzemu w temperaturze niższej (1500°C) niż w tradycyjnej syntezie (1800-2400°C), co daje czystszy produkt z mniejszym rozmiarem cząstek. Sukcesem metody pirolizy cząstek ryżowych jest uzyskanie węgla krzemu o rozwiniętej powierzchni nadającego się jako nośnik katalityczny. Metoda inspirowana do zastosowania innych kompozytów metalo-organicznych jako prekursorów dla otrzymywania materiałów ceramicznych.

Biowęglany

Znane są trzy krystaliczne formy węglanu wapniowego: kalcyt, aragonit i wateryt i wszystkie występują w zmineralizowanych tkankach. Badanie mineralizacji węglanu wapniowego jest bardzo ułatwione przez występowanie dużych kryształów z dobrze zdefiniowanymi płaszczyznami. Dlatego też sposób wzrostu kryształu i jego orientację można łatwo określić metodą mikroskopii skaningowej. Biomineralizację węglanów badano w takich organicznych systemach jak: masa perłowa, dentyne, emalia, kość, skorupki jaja ptasich.

egy allowed us to produce the biological type of apatite (carbonate apatite) on metallic or carbon biomaterials and thus to enhance their biological activity [7-9].

Biosilicates

Biosilicate formation resembles the laboratory sol-gel process; both occur at ambient temperatures and both involve the polymerization of silicic acid $[\text{Si}(\text{OH})_4]$ to form colloidal particles. Hydrated amorphous silica is present as a compression resistant structural material in the leaves, blades, husks, hulls, stems and roots of many terrestrial plants including rice, wheat, oats, horsetails, barley and grasses. Such a silica also occurs in aquatic organisms as the intricately sculpted shells of unicellular diatoms and radiolarians, the basket-shape skeletons of unicellular choanoflagellates, the protruding spicules of certain sponges, and the teeth of certain molluscs. These biosilicates are made up of particulate of solid-gel silica with species-specific sizes, shapes and aggregate arrangements which are associated with anionic and hydroxylated amino acids.

Within biosilicate growth spaces, it is suspected that biopolymers affect the kinetics of silica polymerization, the size and shape of silica particles, particle aggregation and macroscopic architecture. Biosilicates grow in spaces enclosed by either intracellular membrane-bound vesicles or extracellular macromolecular assemblies.

Although humans are not known to deposit silicates, silica and silicon in humans are attracting increasing interest. For example, the silicic acid is essential for the healthy growth of bone and connective tissue. It exists a theory on the mechanism that silicic acid inhibits the physiological absorption of toxic aluminum through the overgrowth of silica on alumina particles which restricts their size [10, 11].

Biosilicates are increasingly being explored as inexpensive precursors for silicon-containing materials. For example, ancient diatom shells in the form of diatomaceous earth are used as silicon sources for the synthesis of zeolites as well as silicon nitride. Rice husk, an abundant agricultural waste, is a high surface area, intimately mixed composite of silica and carbon. Having these properties, the synthesis of silicon carbide by pyrolyzing rice husks requires lower reaction temperatures (about 1500°C) than traditional synthesis (1800-2400°C) and results in greater product purity and smaller particle sizes. Advances in the rice husk method have resulted in highly abrasive and high surface area silicon carbide for catalytic supports. The success of the rice husk method is inspiring the use of synthetic, intimately mixed metal-organic composites as precursors for other ceramic materials.

Biocarbonates

The three crystalline forms of calcium carbonate that have been described: calcite, aragonite and vaterite- all occur in mineralized tissues. The study of calcium carbonate mineralization is greatly facilitated by the presence of large crystals with well defined faces. Therefore crystal growth habit and orientation can easily be determined by scanning electron microscopy.

Biomineralization of biocarbonates was investigated in such systems as: nacre, dentin, enamel, bone, avian eggshells. The basic principles of the biomineralization can be illustrated for two extreme cases: nacre from mollusk shells and avian eggshells. Nacre (mother-of-pearl) from mollusk shells have an aesthetic decoration, smooth surface finish, high strength and remarkable fracture toughness. The rates at which the calcium carbonate structures in nacre and in egg shell are deposited differ drastically: nacre production is very slow (a few grams per year) whereas the egg shell deposition is 100-1000 times faster (5 grams per day). These

Podstawowe zasady biomineralizacji węglanów można zilustrować na dwóch skrajnych przykładach: masy perłowej z muszli małża i skorupki jaja ptasiego. Masa perłowa z muszli małża posiada estetyczną dekorację, jest gładka, połyskująca, ma wysoką mechaniczną odporność i jest gęsta. Skorupka jaja ptasiego jest krucha i delikatna. Szybkość, z jaką następuje budowa węglanu wapniowego w masie perłowej i w skorupce jaja ptasiego jest drastycznie różna; produkcja masy perłowej jest bardzo wolna (parę gramów na rok), podczas gdy budowa skorupki jaja ptasiego jest 100-1000 krotnie szybsza (5 gramów na dobę). Podczas bardzo wolnej syntezy biowęglanu w masie perłowej (bardzo powszechny w przyrodzie przypadek), powstaje warstwowy biokompozyt w którym cegiełki ceramiczne aragonitu, osadzone w organicznej matrycy, układają się równolegle do powierzchni, tworząc warstwową, trójwymiarową strukturę o wysokiej gęstości. Grubość cegiełek aragonitowych wynosi 0,4-0,5 mm, a długość 5-10 mm. Płaszczyzny aragonitowe rozdzielone są przez matrycę organiczną (lepiszcze).

Kryształki kalcytu w skorupkach jaj ptasich to duże pryzmy o długości ok. 200 μm tworzące struktury kolumnowe, zbudowane z minerału i matrycy organicznej, rosnące prostopadle do powierzchni. Zarodkowanie kalcytu z płaszczyzną (001) wpływa na obserwowaną orientację kryształu. Matryca organiczna decyduje o architekturze i tempie zabudowy przestrzeni przez daną formę mineralną. W przypadku masy perłowej małża, matryca organiczna zakreśla granice dużych komór, wewnątrz których faza mineralna jest ciągła, tworząc wydłużone krystaliczne agregaty [12, 13].

Masa perłowa jest biokompatybilna, posiada właściwości osteoindukcyjne i może inicjować wzrost kości przez ludzkie osteoblasty in vitro. Stosowano ją jako naturalny materiał uzupełniający kość i jako kostny substytut u owiec. Z literatury wiadomo, że Indianie Maya w Hondurasie stosowali już 2000 lat temu masę perłową jako implant dentystryczny. Badania wykazały również, że dodatek wyprażonych muszelek ostryg i wodorostów do diety ludzi starszych (65-96 lat) zwiększa gęstość mineralną kości lędźwiowego odcinka kręgosłupa.

Naturalny koral, mający głównie strukturę aragonitu, jest również stosowany jako substytut kości w chirurgii kostnej. Zawartości wapnia w koralu: 38% i w hydroksyapatycie: 40% są bardzo zbliżone, koral posiada ponadto naturalną porowatość otwartą, co skutkuje w jego dobrej resorpcji i we wzroście kości po implantacji.

Biofosforany i biomimetyczne wytwarzanie węglanowego hydroksyapatytu.

Sposób biomineralizacji fosforanu wapniowego znajduje się w interesującym kontraście ze sposobem mineralizacji węglanu wapniowego; jedynie hydroksyapatyt, najbardziej trwała faza fosforanu wapniowego, występuje w zmineralizowanej materii żywej. Chociaż krystalograficzne aspekty mineralizacji fosforanu wapniowego są gorzej zbadane niż węglanu wapniowego (z powodu małych rozmiarów i nieregularnego kształtu kryształów hydroksyapatytu) to matryca organiczna jest dość dobrze poznana. Zostały uszeregowane wszystkie główne proteiny kości, dentyny i emalii. Oś c kryształu hydroksyapatytu w kości i dentynie jest równoległa do długiej osi włókien kolagenu I. Jest to ogólna cecha biomineralizacji fosforanu wapniowego. Kolagen jest głównym składnikiem skóry i jednym z głównych składników kości kręgosłupa, kości długich i ścięgien. Molekuły kolagenu łączą się we włókienka, które następnie ulegają agregacji do włókien. Włókna są zorganizowane w układ złożony, ultrastrukturalny, który prawdopodobnie zarządza specyficznymi właściwościami materii tkankowej. Sugerowano udział licznych składników matrycy organicz-

materials processing rates are achieved through contrasting assembly strategies. When biocarbonate like nacre is slowly synthesized (the most common case), lamellar composites are produced in which thin ceramic bricks (aragonite) embedded in an organic matrix are stacked parallel to the surface of the structure, giving a lamellar, 3 dimensional structure with high density. The thickness of aragonite bricks is 0,4-0,5 mm and the length 5-10 mm. Aragonite sheets are separated by organic matrix.

The calcite crystals of avian egg shell are large prisms of about 200 μm in length forming the columnar structures composed of mineral and organic matrix, which grow perpendicular to the surface. Nucleation of calcite from the (001) basal plane is responsible for the observed orientation.

The organic matrix is the structural component that either spatially or temporally defines the space that is to be mineralized and the space available to mineral grains. In nacre, the organic matrix forms the boundaries of large compartments within which the mineral phase is continuous, forming the accretions of elongated crystal aggregates [12, 13]. Nacre is biocompatible, has osteoinductive properties and can initiate the bone formation by human osteoblasts in vitro. It has been used as a natural material for bone replacement and as a bone substitute in sheep. It was reported also, that the Maya Indians of Honduras used nacre as a dental implant 2000 years ago. Recent studies show that adding heated oyster shell and seaweed to the diet of elderly patients (65-96 years) appears to increase the bone mineral density of the lumbar spine.

Natural coral, mainly with aragonite structure, is also used as a bone substitute in bone grafts. The calcium concentrations in coral - 38% and in hydroxyapatite - 40% are very similar and coral yields the natural, interconnected porosity, which results in its good resorption and ossification after implantation.

Biophosphates and biomimetic formation of carbonated apatite.

Forms of biomineralization involving calcium phosphate phases present some interesting contrasts with those involving biocarbonates: only the most stable calcium phosphate phase, hydroxyapatite, occurs in mineralized tissues. Although the crystallographic aspects of calcium phosphate mineralization are much less well understood than those involving calcium carbonate (because of the small size and irregular shape of hydroxyapatite crystals) the organic matrix is relatively well characterized. All of the major proteins of bone, dentin and enamel have been sequenced. The crystal c-axis of hydroxyapatite in bone and dentin is parallel to the long axis of the type I collagen fibrils. This appears to be a general feature of calcium phosphate mineralization. Collagen is the main component in skin and one of the main components in vertebrate bone, tendon and dentin. The collagen molecules assemble into fibrils that aggregate into fibres. The fibres are organized in complex, ultrastructural designs that eventually govern specific tissue properties [14-16].

Numerous components of the organic matrix of bone have been suggested to function in the initiation of hydroxyapatite formation: macromolecules of bone sialoprotein in bone and phosphophoryn in dentin. Phosphophoryn is known to have a high capacity for binding calcium ions and a strong affinity for collagen monomers. Other interactive proteins in bone, such as osteopontin and osteocalcin have cell attachment properties or chemically mediated cell attraction properties. The final part of mineralizing system delivers the mineral-phase ions to sustain crystal growth. These ion transport systems are only poorly understood. In less complex systems it may be that the ions accumulate in the re-

nej kości w inicjowaniu tworzenia się hydroksyapatytu; są to np. makromolekuły sialoprotein znajdujących się w kości jak również fosforyny w dentyne. Fosforyny znane są ze zdolności wiązania jonów wapnia jak również z dużego powinowactwa do monomerów kolagenu. Inne interaktywne proteiny w kości takie jak osteopontin i osteocalcin cechuje właściwość przyciągania (wiązania) komórek. Ostatni element systemu prowadzącego do biomineralizacji to ciekła faza zawierająca jony, zapewniające wzrost kryształu. System transportu jonów jest znany bardzo słabo. W mniej złożonych układach może być tak, że jony gromadzą się w obszarze frontu mineralizacji na drodze prostej dyfuzji. Jednakże w tworzeniu zmineralizowanej tkanki takiej, jaką jest kość może być tak, że w przemieszczaniu się jonów biorą również udział procesy wymagające pewnego nakładu energii [14-16].

Węglany i fosforany to materiały najczęściej stosowane przez żywe organizmy do budowy szkieletu. Ludzkość, która chce chronić swoje zdrowie, jako główny problem do rozwiązania podjęła badania nad mechanizmem mineralizacji kości jak również badania nad nowymi biomateriałami dla chirurgii kostnej. Kondycja układu mięśniowo-szkieletowego to najczęściej występujący problem medyczny, mający istotny wpływ na zdrowie i na jakość życia ludzkości. W chirurgii rekonstrukcyjnej, naprawa dużych defektów kostnych stanowi główny problem naprawczy. Dlatego znaczną uwagę kieruje się na zastosowanie implantów z metali, szkła, ceramiki i węgla. Reakcje, prowadzące do związania się implantu z kością mają miejsce głównie na granicy implant-kość. Przyjmuje się, że podstawowym warunkiem wytworzenia się wiązania pomiędzy kością a implantem jest wytworzenie biologicznie aktywnego apatytu, który jest hydroksyapatytem węglanowym podobnym do tego, który znajduje się w kości. Tę ważną właściwość posiadają: hydroksyapatyt syntetyczny, ceramika fosforanowa, bioszklą i szkło-ceramika a, nie posiadają jej metaliczne implanty. Jednakże duża kruchość i niska odporność na zginanie wymienionej ceramiki bioaktywnej uniemożliwiają jej bezpośrednie zastosowanie w rekonstrukcji np. stawu biodrowego lub kolanowego.

Aby ominąć tę trudność, implanty metaliczne po modyfikacji powierzchni i pokryciu jej metodą sol-żel, zanurzano w syntetycznym osoczu (SBF). Następuje wtedy biomimetyczne wytworzenie się na powierzchni metalu biologicznie równoważnego hydroksyapatytu w warunkach in vitro przy zastosowaniu syntetycznego płynu fizjologicznego o składzie jonowym typowym dla naturalnego osocza. Stwierdzono, że w syntetycznym osoczu, na wszystkich badanych powierzchniach metalicznych, pokrytych powłoką podkładową sol-gel (tytan i jego stopy, stal nierdzewna, stopy kobaltowe, biowęgiel) następuje biomimetyczna (czyli podobna jak w kości) nukleacja i wzrost apatytu węglanowego. Hydroksyapatyt węglanowy ułatwia wzrost kości jak również przyspiesza tworzenie się naturalnego wiązania chemicznego pomiędzy implantem i kością. Biomimetyczne formowanie węglanowego apatytu na metalach może być istotnym etapem w dobrym przygotowaniu implantu do zabiegów chirurgicznych.

Podziękowania

Praca finansowana przez Komitet Badań Naukowych w ramach Projektu PKZ-KBN-082-T082-T08/2002

gion of the mineralization front by simple diffusion. But in the formation of mineralized tissue such as bone, it is likely that the movement of mineral ions also is regulated by energy requiring processes.

Carbonates and phosphates are the biomaterials more often adapted by living organisms for the construction their skeletons. Humanity who wanted to protect his health, as a main scientific problem to solve have taken the studies on the mechanisms of bone mineralization and the studies on the development of new biomaterials for bone surgery. Musculoskeletal conditions are among the most frequently occurring medical conditions and they have a substantial impact on the health and quality of life of the population. In reconstructive surgery, repair of large bone defects is a major reparative problem. Therefore, considerable attention has been directed towards the use of implants from metals, glass, ceramics or carbon. Events leading to integration of an implant into bone, take place largely at the bone-implant interface. It is believed that essential requirement of artificial material to bond to living bone is the formation of a layer of a biologically active apatite, which is a carbonate containing hydroxyapatite similar to bone apatite. Such important property possesses hydroxyapatite, phosphate ceramics, bioglass and glass ceramics but not the metallic implants. However, high brittleness and low tensile strength of all these bioactive ceramic materials inhibit their direct use in the reconstruction of the hip and knee joints.

To overcome the difficulties, metallic implants, after simple modification of the surface by sol-gel method, are immersed in simulated body fluid (SBF). Formation of a biologically equivalent apatitic surface, a common characteristic of bioactive materials can be reproduced in vitro by immersion experiments using a simulated physiologic solution that mimics the typical ion concentrations in natural body fluids. It was found that in SBF solution, at the all precoated metallic surfaces (titanium and its alloy, stainless steel, carbon, cobalt alloys) biomimetic nucleation and growth of the apatite containing carbonate easily took place. Beside enhancing the bone formation it accelerates the bonding between the implant surface and the surrounding tissues when implanted. Biomimetic formation of carbonated apatite on biologically inactive materials can be the important step towards good implant preparation.

Acknowledgements

This work was supported by the Polish State Committee for Scientific Research. Project PKZ-KBN-082-T082-T08/2002.

- [1] G.K. Hunter, Curr. Opinion Solid. State Mater. Sci. 1 (1996) 430-435.
 [2] S. Mann, J. Mater. Chem. 5 (1995) 935-946.
 [3] K.E. Healy, Curr. Opinion Solid State Mater. Sci. 4(1999) 381-387.
 [4] R. Pampuch, Engineering of Biomaterials, No 9 (2000) 3-8.
 [5] A.H.Heuer, D. J. Fink, V. J. Lariaia et coop., Science, 225 (1992) 1098-1105.
 [6] G. M. Whitesides, J. P. Mathias, C. T. Seto, Science, 254 (1991) 1312-1319.
 [7] A. Stoch, A. Brożek, J. Stoch, W. Jastrzębski, E. Długoń, M. Sitko, Engineering of Biomaterials Nr 10 (2000) 23-29.
 [8] A. Stoch, W. Jastrzębski, A. Brożek, J. Stoch, J. Szaraniec, B. Trybalska, G. Kmita, J. Molecular Structure 555 (2000) 375-382.

- [9] A. Stoch, Polish Ceram. Bull. Polish Acad.Sci.(Kraków), Ceramics No 61 (2000) 121-129.
 [10] Ch. M. Zaremba, Current Opinion in Solid State Mater. Sci., Vol.1, No 3 (1996) 425-428.
 [11] R.V. Krishnarao, M.M. Godkhindi, Ceramics International 18 (1992) 243-249.
 [12] A. Lucas-Girot, P. Langlois, J.C. Sangleboeuf, A. Oummaou, T. Rouxel, J. Gaude, Biomaterials Vol. 23 (2002) 503-510.
 [13] G. Guillemin, JL Patat, J. Biomed. Mater. Res. Vol. 21 (1987) 557-567.
 [14] F. JG Cuisinier, Current Opinion in Solid State and Mat. Sci., Vol.1, No3 (1996) 436-439.
 [15] P. Ducheyne, Q. Qiu, Biomaterials, 20 (1999) 2287-2303.
 [16] F.J.G. Cuisinier, P. Steuer, J.C. Voegel, F. Apfelbaum, I. Mayer, J. Mater. Sci.; Mater.Medic. 6 (1995) 85-89.

PROSZEK DIAMENTOWY JAKO INHIBITOR STRESU OKSYDACYJNEGO INDUKOWANEGO PRZEZ AAPH

K. BAĆOWICZ*, G.BARTOSZ**

*ZAKŁAD INŻYNIERII BIOMEDYCZNEJ,
INSTYTUT INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ POLITECHNIKI ŁÓDZKIEJ
**INSTYTUT BIOFIZYKI MOLEKULARNEJ
UNIwersytetu ŁÓDZKIEGO

Słowa kluczowe: proszek diamentowy, wolnorod-
nikowa reakcja łańcuchowa, AAPH, ABTS.
[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 192-193]

Proszek diamentowy ma bardzo wysoką bioaktywność w organizmie żywym. Proszek diamentowy hamuje peroksydację lipidów w surowicy krwi [1]. Peroksydacja lipidów jest jedną z wolnorodnikowych reakcji łańcuchowych [3]. Produkty peroksydacji lipidów zmieniają właściwości błony komórkowej i wpływają na transport jonów i wody z wnętrza komórki do przestrzeni zewnątrzkomórkowej. Jest to przyczyną uszkodzenia jądra komórkowego, a w następstwie rozwoju wielu chorób: np.: choroby Alzheimera, nowotworów.

Wykonane doświadczenie potwierdza tezę, że diament wykazuje specyficzną, biologiczną aktywność w organizmie żywym [2, 4]. Przeprowadzono reakcję nanokrystalicznego diamentu z AAPH [5] jako induktorem stresu oksydacyjnego została. Mieszanina reakcyjna zawierała: 20mM AAPH w buforze fosforanowym, zawiesiny proszków diamentowych (D1,D2,D3) w ilości 1 mg/1 ml oraz 5mM ABTS [6]. Mieszaninę inkubowano w 37 stopniach Celsjusza a pomiaru absorbancji dokonano przy długości fali 414 nm po 0, 60, i 120 minutach.

Wyniki wskazują na udział nanokrystalicznego diamentu w reakcji z wolnymi rodnikami.

DIAMOND POWDER PARTICLES AS AN INHIBITOR OF OXIDATIVE STRESS INDUCED BY FREE RADICAL INITIATOR AAPH

K. BAĆOWICZ*, G.BARTOSZ**

*BIOMEDICAL ENGINEERING DIVISION,
INSTITUTE OF MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING,
TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ, POLAND
**DEPARTMENT OF MOLECULAR BIOPHYSICS,
UNIVERSITY OF LODZ, POLAND

Key words: Diamond Powder Particles, free radical chain reaction, AAPH, ABTS
[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 192-193]

Diamond Powder Particles has very high bioactivity in living organism. Diamond Powder Particles inhibits lipid peroxidation in blood plasma [1]. Lipid peroxidation is one of the free radical chain reaction [3]. The products of lipid peroxidation change the properties of cell membrane and influence on transport ions and water from cell to external environment. It is a cause to damage a nucleus and next to developing the many human diseases, for ex.: Alzheimer Disease, Cancers.

This research proved the thesis that diamond has specific biological activity in the living organism [2, 4]. The effect of nanocrystalline diamond induced by 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH) [5] was studied. The mixture contains: 20 mM AAPH in phosphate-buffered saline, the suspension of Diamond Powder Particles (D1, D2,D3) in amount 1mg/1ml and 5 mM ABTS [6]. The mixture was incubated at 37°C and the measuring of absorbance was at $\lambda = 414$ nm after 0 min., 60 min., 120 min.

The effect seems to be due to the reaction of nanocrystalline diamond with peroxy radicals.