

BIOSTICLĂ - CEL MAI NOU TIP DE BIOMATERIAL CU UN MARE POTENTIAL OSTEOINTEGRATOR

BIOGLASS - THE NEWEST TYPE OF BIOMATERIAL WITH GREAT POTENTIAL OF OSTEOINTEGRATION

Conf.univ. dr.fiz. **Laura Floroian**¹, conf.univ. dr. **Mihaela Badea**²,
prof. univ. dr. **Iosif Șamotă**²

¹Facultatea de Inginerie Electrică și Știința Calculatoarelor,
Universitatea „Transilvania” din Brașov

²Facultatea de Medicină, Universitatea „Transilvania” din Brașov
Autor corespondent: **Laura Floroian**, email lauraf@unitbv.ro

Abstract:

Bioglass is a chemical compound that is part of a compositional family with the best bioactivity properties demonstrated by the connection with living tissue within few hours. This new class of biomaterials, based on a mixture of amorphous oxide ($\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-CaO-MgO K}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$), was patented in 1968 by Larry Hench by preparing well known Bioglass 45S5. Depending on the percentage of SiO_2 mainly these biomaterials can be bioinert, bioactive and bioresorbable. Hench and Clark were the first researchers who have observed this material bioactivity in vitro and in vivo have demonstrated the potential osteointegrable. There have also been noted and antimicrobial and anti-inflammatory properties and the ability to easily control the crystallinity by applying appropriate heat treatments present in the vitreous phase bioglass. All these are arguments plus for this class of biomaterials to be a prime objective of the research in the field.

Key-words: biomaterials, bioglass, osteointegration

Introducere

Biosticla este un compus chimic care face parte dintr-o familie compozițională recunoscută a avea proprietățile de bioactivitate cele mai bune, fapt demonstrat de realizarea conexiunii cu țesuturile vii într-un interval temporal restrâns la doar câteva ore. Această nouă clasă de biomateriale, bazată pe un amestec amorf de oxizi ($\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-K}_2\text{O-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$), a fost brevetată în anul 1968 de către Larry Hench prin prepararea binecunoscutei Bioglass 45S5. În funcție de procentul de SiO_2 în principal, aceste biomateriale pot fi bioinerte, bioactive sau bioresorbabile. Hench și Clark au fost primii cercetători care au observat bioactivitatea acestui material in vitro și in vivo și i-au demonstrat potențialul osteointegrator. Totodată au fost remarcate și proprietățile antimicrobiale și antiinflamatorii și posibilitatea de a controla cu ușurință cristalinitatea prin aplicarea tratamentelor termice corespunzătoare fazei sticloase prezente în structura biosticlei [1, 3, 9]. Toate acestea constituie argumente în plus pentru ca această clasă de biomateriale să fie un

prim obiectiv în cercetarea din domeniu.

Nivelul actual de dezvoltare și integrare în medicină al materialelor tip biosticlă

Deși au trecut 40 de ani de la patentarea acestui material, până acum a fost intens utilizat doar sub formă de particule cu diametru mare ($\sim 100\mu\text{m}$), grupate în blocuri cu diferite geometrii, cu aplicații în chirurgia ortopedică regenerativă (filleri osoși). Ca metode de obținere a filmelor subțiri de biosticlă la nivel comercial sunt utilizate emailarea-glazurarea și pulverizarea combustivă în flacără sau în plasmă (flame/plasma spray) și în ultimii ani se desfășoară cercetări intense în multe laboratoare de cercetare din domeniul biomaterialelor, pentru a găsi metode alternative celor ajunse tradiționale, care conduc la acoperiri groase, cu rezistență mecanică scăzută. Deși proprietățile lor superficiale sunt interesante, dezvoltarea lor este limitată datorită: fragilității ridicate și rezistenței mecanice reduse la oboseală statică.

Cu toate acestea, ele se folosesc pentru realizarea de oscioare ale urechii medii,

reconstrucții alveolare, implanturi dentare, pelicule pentru acoperirea totală a unor proteze (din alumină sau din aliaj de titan), pentru tratamente moderne ale cancerului.

Pentru toate aceste aplicații, biosticlele au cunoscut o dezvoltare spectaculoasă, așa cum rezultă din tabelul 1.

Tabelul 1 Etapele de dezvoltare a biosticlelor și biovitroceramicilor.

An	Etapa	Autor
1969	Evidențierea legării (fixării) osului cu ajutorul biosticlelor și biovitroceramicilor	Hench și colab.
1973	Precizarea mecanismului de interacțiune la interfața os-biosticlă	Hench și colab.
1973	Legarea osului de biovitroceramicul activ	Ceravital; Bromer și colab.
1976	Măsurarea profilului de compoziții în zona de legătură biosticlă-os	Clark și colab.
1976	Introducerea cu succes a biosticlei în implantul dentar	Stanley și colab.
1980	Histologia comparată a implanturilor de bioactivitate variabilă	Cross și colab.
1981	Analiza ultrastructurii biovitroceramicului și a osului	Cross și colab.
1981	Toxicologia și testele de biocompatibilitate ale biosticlelor și evidențierea legăturii cu țesutul moale	Wilson
1981	Utilizarea clinică a vitroceramicului (Ceravital) în protezarea urechii medii	Rack
1982	Comparația între implantul de sticlă și alte implanturi inerte în locul osciorului urechii medii	Merwin și colab.
1982	Vitroceramicul cu rezistență mecanică ridicată (apatit și wollastonit) pentru proteze de vertebre	Kokubo și colab., Yamamuro
1983	Vitroceramicul prelucrabil mecanic pe bază de apatit și fluoroflogopit	Vogel și colab.
1984	FDA aprobă vânzarea de biosticle și proteze pentru urechea medie	
1986	Încercarea clinică a biosticlelor pentru creste alveolare	Stanley și colab.

Datorită fragilității ridicate și rezistenței mecanice reduse ale biosticlelor precum și toxicității ionilor metalici ce pot apărea din aliajele metalice folosite la protezele interne, s-a trecut la studiul protezelor ortopedice metalice acoperite cu filme subțiri de biosticlă. Utilizarea acestora este motivată printre altele de

caracteristicile de porozitate ale biosticlelor, care permit o propagare foarte intimă a țesuturilor, asigurându-se pe această cale o legătură perfectă cu implantul. Astfel, aceste structuri au avantajul că îmbină proprietățile bioactive ale materialului de acoperire cu rezistența mecanică a suportului (v. fig. 1).

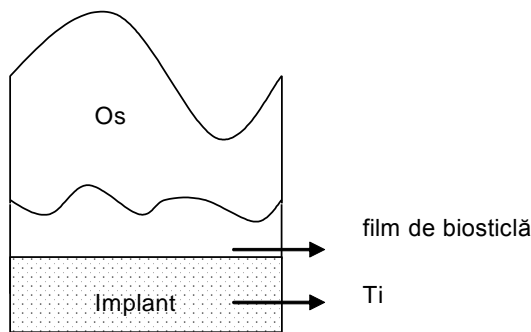


Fig. 1 Structură multistrat

Biosticlele sunt active superficial. Ele au proprietatea de a se lega mecano-chimic sau biochimic de țesutul osos sau de fibrele de collagen în contact cu țesutul moale, viu. S-a demonstrat că legătura între biosticlă și os se realizează prin formarea unei interfețe, activă superficial, pe bază de hidroxiapatită, care determină în continuare acțiunea de reconstrucție a celulelor țesutului; un astfel de mecanism este stimulat de un pH ușor bazic, provocat de schimburile ionice între biosticlă și țesut [4, 5].

Materialele cu reactivitate limitată, cum ar fi hidroxiapatita densă, au un efect mai slab decât biosticlele în procesul de vindecare a țesutului osos.

Cercetătorii japonezi au testat efectul suprafeței în rata de proliferare a osului. Au fost comparate trei tipuri de biomateriale: sticla bioactivă, hidroxiapatita densă și vitoceramica. Fiecare material a fost implantat într-un orificiu cu diametrul de 6 mm, care a fost practicat în osul piciorului unui iepure adult. S-a constatat că sticla bioactivă produce țesut osos și ulterior este resorbită mult mai rapid decât celelalte două materiale, ambele având o reactivitate a suprafeței mai scăzută decât sticla.

Rata de creștere a osului în jurul unui material implantat, depinde în parte de rata de dizolvare a rețelei de silice și de aceea este foarte bine de stabilit cât mai exact sistemul în care se încadrează compoziția oxidică a biosticlei.

Conținutul alcalin joacă un rol important în stabilitatea biosticlelor. Din acest punct de vedere se disting două categorii: biosticle cu conținut bogat alcalin și biosticle cu conținut alcalin sărac. Acestea din urmă sunt caracterizate de un mare grad de descompunere în timp, pe durata reconstrucției osului. Acest

tip de biosticle a fost utilizat în aplicații maxilofaciale și în realizarea înlănțuirii oscioarelor urechii interne.

Cele mai multe determinări s-au făcut cu sticle ce se bazează pe 6 oxizi: $\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-K}_2\text{O-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$, deoarece s-a constatat că osul se leagă de materiale cu un domeniu larg de compoziții din acest sistem. Legarea de țesutul moale apare pentru un domeniu mult mai mic de compoziții.

Există trei cerințe compoziționale de bază pentru sticlele silico-calco-sodice, pentru a se lega de țesutul dur. Acestea sunt: mai puțin de 60% SiO_2 (mol), conținut mare de Na_2O și CaO și raportul mare $\text{CaO/P}_2\text{O}_5$.

Nivelul bioactivității este puternic dependent de concentrațiile relative ale ionilor. Cea mai de succes sticlă bioactivă este cea care conține P_2O_5 între 6 și 15%. În diagrama sistemului ternar $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O}$ (6% P_2O_5), unele materialele formează o legătură cu osul în 30 de zile. Alte sticle se leagă de țesutul moale. O parte din sticle sunt aproape inerte chimic iar altele sunt resorbabile și se dizolvă în 10 până la 30 de zile. Sticlele din altă zonă a diagramei, din punct de vedere tehnologic, nu sunt sticle formatoare și nu au fost testate ca materiale de implant.

Până în prezent s-a considerat că pentru a fi bioactive, sticlele și vitroceramicile trebuie să conțină atât CaO cât și P_2O_5 , care sunt oxizii componenți din hidroxiapatită. În schimb Ohura și colaboratorii au arătat că sticlele din sistemul CaO-SiO_2 fără P_2O_5 , precum și cele care conțin cantități foarte mici de P_2O_5 , formează un strat de hidroxiapatită pe suprafața lor atunci când sunt imersate în fluidul din corp simulat (SBF) [8]. În schimb, în aceleași condiții, sticlele din sistemul $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ fără SiO_2 nu formează stratul de hidroxiapatită. Rezultă că se pot obține compoziții bioactive mai degrabă în sistemul CaO-SiO_2 decât în sistemul $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$.

Sticlele bioactive au de regulă slabe proprietăți de rezistență și reziliență, motiv pentru care acestea sunt ranforsate cu fibre metalice realizate din oțel inoxidabil, titan și aliaje Co-Cr. Ca efect al ranforsării cu fibre metalice, scad volumul de defecte și tensiunile reziduale, iar microfisurile produse sunt sub lungimea critică și au extremitățile rotunjite. De exemplu, au fost utilizate biomateriale compozite obținute din matrice de biosticle din

sistemul $\text{SiO}_2\text{-B}_2\text{O}_3\text{-Na}_2\text{O}$ ranforsate cu fibre de titan, în situații în care este de dorit absorbția matricei, în scopul de a expune suprafețele unor țesuturi sau pentru eliminarea unor materiale de amestec cum ar fi antibioticele sau factorii de creștere. Cu toate acestea, motivele cele mai uzuale pentru folosirea acestei clase de matrice pentru compozite au fost obținerea unor proprietăți mecanice variabile în timp și asigurarea dizolvării implantului.

De asemenea, creșterea rezistenței se poate face prin tratarea termică a compozitelor bioactive pe bază de sticlă/vitroc ceramică, faza secundară obținută fiind mult mai rezistentă, precum și prin adăugarea în compoziția lor, în proporții limitate, de oxiapatită sau fluoroapatită, caz în care s-a constatat o creștere a rezistenței la încovoiere de 2-5 ori.

Nivelul actual al cercetărilor biologice asupra materialelor tip biosticlă

Sticlele bioactive au demonstrat o bună biocompatibilitate atât în cazul oaselor cât și pentru țesuturi moi. Reactivitatea chimică a suprafeței biosticlei este importantă în dezvoltarea celulelor depuse. Activitatea alcalin-fosfatazică a osteoblastelor primare poate fi monitorizată după 2-4 zile de la cultivare pe sticla bioactivă [6]. O bună reactivitate a fost demonstrată în literatură pentru biosticla tip 45S5. De asemenea poate fi urmărită sinteza de collagen de tip I în cultura de osteoblaste. În mod normal collagenul sintetizat de osteoblaste este mineralizat. S-a arătat faptul că cultivarea celulelor tip osteoblast pe sticla bioactivă a dus la creșterea producției de collagen în mediul de cultură. De asemenea a fost raportat controlul ciclului celular al osteoblastelor ca răspuns la eliberarea de ioni din substratul de Bioglass 45S5 și realizarea de noduli osoși.

În testele realizate in vivo pe animale și în culturi de celule s-a arătat faptul că Bioglass 45S5 are efect anti-inflamator reducând producția de citokine TNF și IL-1. Activitatea biologică a Bioglass 45S5 parțial cristalizată a fost urmărită într-un test comparativ față de cea a hidroxiapatitei. Suprafața sticlei cristalizate a fost aproape complet acoperită de un strat compact, dens, de fosfat de calciu după 24 de ore. Stratul de fosfat s-a format pornind de la mai multe centre de nucleație bidimensionale arătând faptul că sticla 45S5 poate fi folosită ca umplutură a

matricei bioactive compozite, menținând un bun nivel de bioreactivitate. Reacțiile chimice de la suprafața cristalină a biosticlei aflată în mediu apos pot avea efect antibacterian benefic în cazul implanturilor dentare.

In vitro, sticla bioactivă stimulează diferențierea osteoblastelor creând o matriță favorabilă formării de țesut osos. Studiile au fost realizate pe osteoblaste de șobolan depuse pe biosticle având un conținut de siliciu de 55%. Detaliile structurale au relevat existența la marginea suprafeței materialului a unor zone dense ce acționează ca centre de nucleație pentru formarea cristalelor biologice. Celulele osoase de șobolan crescute pe suprafața tip 55S au format structuri nodulare multistrat după 10 zile de cultivare [7]. Localizarea enzimatică a fosfatazei alcaline și marcarea pozitivă cu anticorpi pentru sialoproteine osoase au demonstrat formarea nodulilor osoși pe suprafața sticlei. Determinarea biochimică a activității specifice a fosfatazei alcaline poate indica gradul de reactivitate al celulelor osoase față de diferite sticle bioactive utilizate experimental.

Sticla particulară tip Bioglass poate suferi o serie de reacții la suprafață în mediu apos ducând la integrarea în țesutul osos. Pe aceste considerente ea poate fi utilizată la repararea defectelor de dantură.

Bosetti și colaboratorii au investigat capacitatea a 3 sticle bioactive, 45S, 58S și 77S de a induce diferențierea osteogenică și mineralizarea celulară. Sticla bioactivă 45S a avut cel mai mare efect asupra mineralizării, având același nivel ca în cazul celulelor tratate cu dexametazonă. De asemenea atât sticla 45S cât și cea 77S au avut un efect pozitiv în diferențierea timpurie a celulelor stromale în celule tip osteoblaste [2]. Substratul de biosticlă tridimensional poate fi utilizat ca matriță pentru producerea de țesut osos in vitro.

De asemenea Yang și colaboratorii au utilizat materiale poroase biodegradabile constând dintr-o fază bioactivă (biosticla 45S5) încorporată într-o matrice biodegradabilă de acid (poli) dl-lactic [10]. Au fost urmărite adeziunea celulelor stem mezenchimale extrase din măduva osoasă umană, distribuția și viabilitatea acestora folosind un marker celular - Cell Tracker. Rezultatele au arătat creșterea activității specifice a osteoblastelor odată cu creșterea conținutului în biosticlă.

Pe bază de sticlă bioactivă au fost dezvoltate și matrice bioactive tridimensionale pentru regenerarea țesuturilor. Strategia principală constă în depunerea de osteoblaste umane pe matrița 3D pentru crearea de țesut in vitro. Caracterizarea tridimensională și analiza osteoblastelor crescute pe suport sunt necesare pentru optimizarea compoziției și formei substratului. Materialul utilizat la realizarea rețelei este foarte important pentru obținerea de țesut in vitro întrucât trebuie să permită atașarea celulelor după depunere, migrarea și creșterea unui țesut nou. De aceea trebuie să aibă structura de suprafață potrivită și compoziția chimică necesară atașării, proliferării și diferențierii celulare. De asemenea trebuie să îndeplinească și proprietățile mecanice necesare creării unui țesut osos. Generarea de țesut osos artificial ar fi foarte utilă în cazurile de fracturi masive în care trebuie aplicat implantul recoltat din altă zonă a organismului pacientului, eliminând astfel necesitatea unei operații suplimentare.

Concluzii

Biosticla este un compus chimic care face parte dintr-o familie compozițională recunoscută a avea proprietățile de bioactivitate cele mai bune, fapt demonstrat de realizarea conexiunii cu țesuturile vii într-un interval temporal restrâns la doar câteva ore. Totodată este cunoscut faptul că generarea de țesut osos artificial ar fi foarte utilă în cazurile de fracturi masive. Pe bază de sticlă bioactivă au fost dezvoltate și matrice bioactive tridimensionale pentru regenerarea țesuturilor folosind depunerea de osteoblaste umane pe matrița 3D pentru crearea de țesut in vitro.

Rezultatele obținute până în prezent califică biosticla pentru utilizare pe scară largă în intervențiile medicale iar cercetările continue ce se întreprind în prezent măresc speranța de reușită a intervenției și totodată măresc încrederea în acest material.

Bibliografie:

- [1] Andrade A.L., Valerio P., Goes A.M., de Fatima Leite M., Domingues R. Z. - Influence of morphology on in vitro compatibility of bioactive glasses, *Journal of Non-Crystalline Solids*, 2006; 352:3508–11.

- [2] Bosetti M., Cannas M. - The effect of bioactive glasses on bone marrow stromal cells differentiation, *Biomaterials*, 2005; 26(18):3873-9.
- [3] Cerruti M. G., Greenspan D., Powers K. - An analytical model for the dissolution of different particle size samples of Bioglass in TRIS-buffered solution, *Biomaterials*, 2005; 26:4903-11.
- [4] de Aza P. N., Guitian F., Merlos A., Loratamayo E., de Aza S. - Bioceramics—simulated body fluid interfaces—pH and its influence of hydroxyapatite formation, *J Mater Sci*, 1996; 7:399–402.
- [5] Hench L.L. - Bioceramics: from concept to clinic, *J Am Ceram Soc*, 1991; 74:1487–570.
- [6] Ohura K., Nahamura T., Kokubo T., et al. - Bone-bonding ability of P2O5-free CaO-Si glasses, *J Biomed Mater Res*, 1991; 25(3):357–365.
- [7] Leonor I.B., Ito A., Onuma K., Kanzaki N., Zhong Z. P., Greenspan D. - In situ study of partially crystallized Bioglass® and hydroxylapatite in vitro bioactivity using atomic force microscopy, *Journal of Biomedical Materials Research*, 2002; 62:82-88.
- [8] Loty C., Sautier J.M., Tan M.T., Oboeuf M., Jallot E., Boulekbache H., Greenspan D., Forest N. - Bioactive glass stimulates in vitro osteoblast differentiation and creates a favorable template for bone tissue formation, *Journal of bone and mineral research*, 2001; 16(2):231-9.
- [9] Saiz E., Goldman M., Gomez-Vega J.M., Tomsia A.P., Marshall G.W., Marshall S.J. - In vitro behavior of silicate glass coatings on Ti6Al4V, *Biomaterials*, 2002; 23:3749–56.
- [10] Yang X.B., Webb D., Blaker J., Boccaccini A.R., Maquet V., Cooper C., Oreffo R.O. - Evaluation of human bone marrow stromal cell growth on biodegradable polymer/bioglass composites, *Biochem Biophys Res Commun*, 2006; 342(4):1098-2107.

Mulțumiri:

Această lucrare este susținută prin Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane (POS DRU), finanțat din Fondul Social European și de Guvernul României sub proiectul POSDRU / 159 / 1.5 / S / 134378.