

# Tri generacije biomaterijala

A. Moguš-Milanković\*

Prvi materijali koji su upotrebljavani za nadomještanje pojedinih dijelova tijela poznati su već nekoliko tisuća godina. Takav je biomaterijal zlato. Međutim, današnji sintetički biomaterijali s točno određenim svojstvima za specifičnu uporabu izazivaju revoluciju i u istraživanju i u tehnologiji. Bez obzira na njihove različitosti, zajedničko svojstvo svih biomaterijala je biokompatibilnost, što znači da ne smiju izazivati toksične, alergijske ili karcinogene reakcije u tijelu. Osim toga, *conditio sine qua non* za sve biomaterijale je umanjiti ili potpuno ukloniti svaku vrstu imunološkog odgovora organizma.

Tijekom 60-tih i 70-tih godina prošlog stoljeća otkrivena je prva generacija biomaterijala. Uvjeti koje su ti prvi materijali morali zadovoljavati su biološka inertnost i mehanička svojstva slična svojstvima tkiva koje se zamjenjuje. Inertnim biomaterijalima koji se danas upotrebljavaju u protetici i ortopediji pripadaju keramike metalnih oksida  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{ZrO}_2$ ,  $\text{TiO}_2$ , staklene niti ugljika ili kompoziti sa staklenim nitima ugljika, metali ili čelici presvučeni tankim filmovima npr.:  $\text{TiN}$ ,  $\text{SiC}$ ,  $\text{ZrO}_2$ ,  $\text{BN}$ ,  $\text{B}_4\text{C}$ , zatim staklo-keramike ili porculanski glinenci (najčešće u stomatologiji). Biokompatibilnost tih materijala, posebno biokeramike, proizlazi iz njihovog sastava. Naime, građeni su od istih iona koji se nalaze u tjelesnoj tekućini ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ) kao i od iona koji ne izazivaju toksične reakcije u tijelu ( $\text{Zr}^{4+}$ ,  $\text{Ti}^{4+}$ ).

Osnovna je karakteristika inertnih biomaterijala da oni ne tvore vezu s okolnim tkivom. Najčešći je odgovor tkiva na implantat od inertnog biomaterijala, stvaranje vlaknaste kapsule oko implantata, što katkada dovodi do njegove potpune izolacije. Zbog toga neki implantati postaju deformirani ili pomaknuti što može uzrokovati oštećenje okolnog tkiva. Također, fiziološko okruženje tijekom vremena (nekoliko godina ili desetljeća) utječe na kemijsku stabilnost i mehaničku čvrstoću ovih materijala.

Ipak, danas je milijunima ljudi poboljšana kvaliteta življenja ugradnjom npr. umjetnih kukova ili koljena izrađenih od tih inertnih biomaterijala. Međutim, važno je naglasiti da inertni implantati nisu građeni samo od jednog materijala već od nekoliko. Pojednostavljen je primjer umjetni kuk koji se sastoji od metalne

drške ugrađene u bedrenu kost i keramičke kugle na koju je nanesen sloj polietilena, tzv. Ultra High Molecular Weight Polyethylene (UHMWPE). Sloj polietilena služi za povezivanje kugle i zgloba, ali i kao zaštita keramičke kugle. Taj primjer pokazuje da postoje barem dva odvojena podsustava o čijim promjenama svojstva u tjelesnoj tekućini treba voditi računa. Jedan je podsustav materijal – biološko okruženje, a drugi materijal – materijal podsustav. Budući da se implantat u organizmu nalazi u tekućem mediju potrebno je dobro poznavati i razumjeti sve reakcije na međupovršini tekuće-kruto uključujući topljivost, brzinu topljivosti na granicama faza, otpuštanje i difuziju iona, promjenu strukture površine materijala te promjene drugih svojstava materijala.

S druge strane, mehanička svojstva materijala od kojih je inertni implantat građen različita su, pa dolazi do njihovih promjena na međupovršini. Također, činjenica da dva ili više materijala reagiraju u tjelesnoj tekućini, može dovesti i do drugih neželjenih reakcija i učinaka, na primjer galvanizacije između dvaju materijala.

Općenito, inertni biomaterijali imaju specifična fizička svojstva, veliku mehaničku čvrstoću i tvrdoću (1000–4500 MPa, Youngov modul od 150–400 GPa), veliku otpornost na krhanje, lomljenje, veliku savitljivost i stlačivost.

Kemijska i fizička svojstva inertnih biomaterijala ovise o sastavu materijala, čistoći sirovina, veličini čestica te temperaturi sinteriranja, što je posebno važno kod keramika. Tako na primjer, u skladu s visokim zahtjevima International Standard Organization (ISO),  $\text{Al}_2\text{O}_3$  keramika kao jedna od najraširenijih biokeramika u medicini i stomatologiji mora biti visoke čistoće (> 99,5 %), velike gustoće >  $3,94 \text{ g cm}^{-3}$  i s česticama veličine <  $4,5 \mu\text{m}$ . Neznatno odstupanje od ISO-standarda mijenja svojstva materijala. Tako se pokazalo da mala količina  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{CaO}$  ili alkalijskih oksida (> 0.1 tež %) potiče rast čestica na veličinu >  $7 \mu\text{m}$  što rezultira smanjenjem mehaničke čvrstoće za oko 20 %.

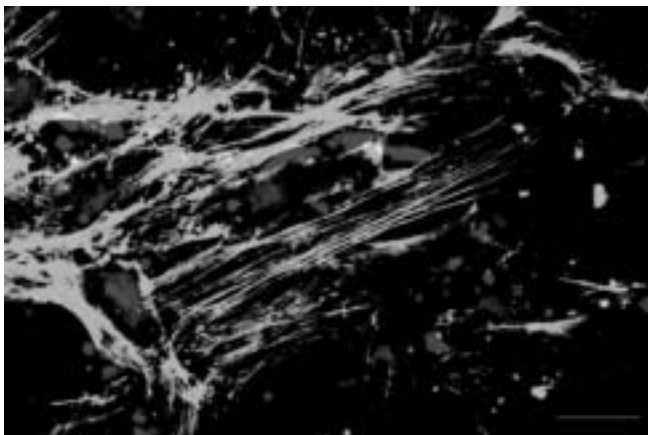
\* Andrea Moguš-Milanković je viša znanstvena suradnica Instituta Ruđer Bošković u Zagrebu  
E-mail: mogus@irb.hr

Ipak, inertni biomaterijali koji su danas u uporabi daleko su od idealnih. Niz nedostataka (npr.: znatno veći Youngov modul od modula kosti (7–25 GPa), moguća kemijska nestabilnost u tjelesnoj tekućini,  $\alpha$ -zračenje kod  $ZrO_2$  keramike, niska otpornost na krhanje kod metalnih ili čeličnih biomaterijala, itd.) predstavlja ograničenja u primjeni, ali i vremenu trajanja implantata. Usprkos tome, danas u Europi i SAD-u postoji čitav niz proizvođača inertnih biomaterijala, a stalno traganje i potreba moderne medicine i tehnologije za novim bioinertnim materijalima s posebnim svojstvima za točno određenu uporabu koja će zadovoljavati vrlo visoke zahtjeve i standarde, postaje nepresušni rudnik za istraživače u raznim disciplinama znanosti.

Dvije su bitne karakteristike koje živo tkivo ima, a ovi ih materijali ne posjeduju, samoobnova i mogućnost prilagođavanja strukture i svojstava mehaničkom opterećenju i protoku krvi.

Zbog tih je nedostataka istraživanje biomaterijala u posljednjih dvadesetak godina krenulo u smjeru pronalaznja druge generacije materijala koji pokazuju bioaktivnost. Bioaktivnost se definira kao sposobnost materijala da u kontaktu s tjelesnom tekućinom na svojoj površini potakne specifični biološki odgovor organizma, što rezultira stvaranjem veze s tkivom. Lijep primjer bioaktivnih materijala su bioaktivna stakla (sastava  $Na_2O-CaO-P_2O_5-SiO_2$ ) koja su danas u širokoj primjeni kao medicinski implantati u periodontici te oralnoj i maksiofacijalnoj kirurgiji.

Posljednja su istraživanja pokazala da je biološka aktivnost tih stakala posljedica aktivacije sedam porodica gena koji se nalaze u stanicama kostiju. Aktivirani geni stvaraju različite proteine i služe kao čimbenici rasta i potiču množenje novih stanica kostiju (osteoblasta). Ključni čimbenik tog biološkog odgovora je kontrolirano otapanje površine bioaktivnog stakla koje rezultira stvaranjem specifičnog površinskog sloja koji predstavlja biološki aktivan supstrat za "sidrenje" i rast novih stanica kostiju i tkiva.



Slika 1 – Slika primarnih ljudskih osteoblasta na bioaktivnom staklu dobivena konfokalnom mikroskopijom. F-aktinska vlakna i stanična jezgra. (J. Gough, Imperial College of London)

Mehanizam vezanja bioaktivnog stakla na tkivo odvija se u 11 reakcijskih koraka. Prvih se pet koraka odnose na kemijske reakcije na površini materijala i uključuju brzu izmjenu  $Na^+$  iona s  $H^+$  i  $H_3O^+$ , polikondenzaciju silanola ( $Si-OH$ ) i stvaranje sloja silikagela na kojemu dolazi do heterogene nukleacije i kristalizacije biološki aktivnog hidroksikarbonatnog-apatitnog sloja (HCA). Nastala faza HCA je kemijski i strukturno jednaka mineralnoj fazi u kostima i predstavlja idealnu podlogu za preostale biološke reakcije. Naime, usporedo s kemijskim reakcijama na HCA sloju dolazi do adsorpcije i desorpcije proteina, čimbenika rasta i kolagena što aktivira proliferaciju i diferencijaciju stanica odnosno stvaranja osteoblasta i time potiče rast kosti na površini stakla.

Veliki se napori ulažu u istraživanja da bi se razumjeli kemijski i biološki mehanizmi koji se odvijaju u tijelu kada se ugradi bioaktivni implantat. Međutim, ti mehanizmi još u potpunosti nisu razriješeni.

Sredinom 80-tih godina bioaktivni su se materijali različitog sastava i oblika (zrna, prah, niti različitih dimenzija) počeli intenzivno koristiti u ortopediji i stomatologiji. Danas postoji čitav niz komercijalnih bioaktivnih materijala koji se intenzivno upotrebljavaju u svim područjima medicine. Treba spomenuti neke od njih.

Sintetička hidroksiapatitna keramika (HA) upotrebljava se kao porozni materijal, prah ili prevlaka na metalnim protezama kako bi se postiglo bioaktivno učvršćivanje. Prisustvo slabo topljivog sloja HA na površini inertnog implantata omogućava biološki odgovor tkiva, tzv. osteoprovodnost, na kojem kost počinje rasti stvarajući čvrstu mehaničku vezu s implantatom. Nadalje, kasnih 90-tih godina počeli su se proizvoditi bioaktivni kompoziti građeni od raspršenih HA čestica u polietilenskoj matrici. Oni su se pokazali uspješnim kao implantati kod obnove kosti srednjeg uha. Također, u isto je vrijeme započela i proizvodnja mehanički vrlo čvrste bioaktivne staklo-keramike koja je svoju primjenu pronašla u učvršćivanju i nadomještanju kralježaka.

Osim bioaktivnih materijala, drugoj generaciji biomaterijala pripadaju i tzv. resorbirajući biomaterijali. Ti se materijali u tjelesnoj tekućini kontrolirano otapaju i postupno zamjenjuju obnovljenim tkivom. Krasan su primjer tih biomaterijala polimeri građeni od polimljične (PLA) i poliglikolne (PGA) kiseline koji se u tijelu hidrolitički potpuno razgrade na  $CO_2$  i  $H_2O$ . Polimerne se pločice ili vijci koriste za učvršćivanje slomljenih kostiju. Zanimljivo je naglasiti da je mehanička čvrstoća i elastičnost tih implantata vrlo slična prirodnoj kosti, tako da u početnoj fazi nakon ugradnje, izvrsno učvršćuju kost. Taj je period dovoljan da kost počinje rasti na mjestu ugradnje, a polimerni se implantat nakon toga počinje otapati do potpune razgradnje. Na taj

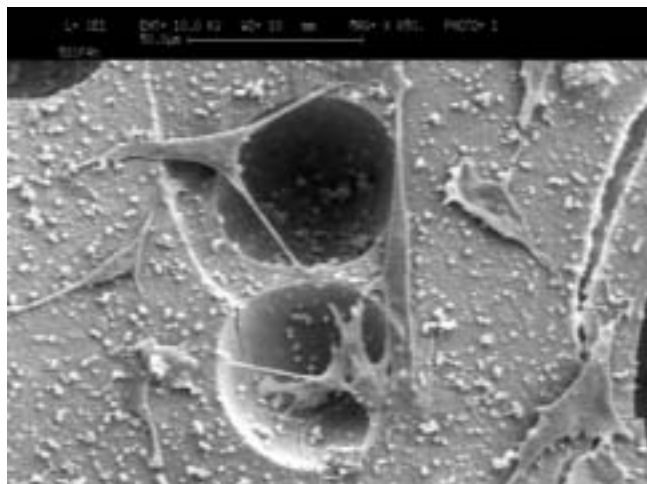
se način izbjegava operacija uklanjanja implantata koja je nužna u slučaju npr. metalnih vijaka, pločica ili šipki.

Ipak, bioresorbirajući polimeri nemaju dovoljnu mehaničku čvrstoću za povezivanje i učvršćivanje kostiju kod složenijih lomova, pa se u tom slučaju koriste kompoziti od staklenih niti i polimera. Jedan je takav primjer kompozit staklenih niti sastava  $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-Fe}_2\text{O}_3$  i  $\epsilon$ -kaprolaktona koji ima početna mehanička svojstva bolja od polimera, a njegov se Youngov modul mijenja od 40 do 60 GPa ovisno o količini dodanog  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ .

Većina se navedenih biomaterijala upotrebljava kao implantati za učvršćivanje i obnovu kostiju ili zuba. Međutim, biomaterijali se koriste i u terapijske svrhe. Tako se radioterapijska staklena zrna danas primjenjuju u liječenju karcinoma jetre ili bubrega. Općenito se radioterapijska stakla mogu definirati kao radioaktivna stakla koja se upotrebljavaju za in situ zračenje  $\beta$ - ili  $\gamma$ -zrakama. Otkriće radioterapijskih stakala bilo je motivirano potrebom da se relativno velikom dozom ( $> 10\,000$  rad) unutar organa zrači tumor i da se na taj način izbjegne zračenje okolnog tkiva. Radioterapijska su stakla aluminosilikatna stakla koja sadrže od 30 do 70 mol % oksida rijetkih zemalja ( $\text{Y}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Ho}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Sm}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Dy}_2\text{O}_3$ ). Stakla s elementima rijetkih zemalja aktiviraju se u neutronsom reaktoru bombardiranjem neutronima i nakon radioaktivacije sadrže radioizotope  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{166}\text{Ho}$ ,  $^{153}\text{Sm}$  ili  $^{165}\text{Dy}$  koji emitiraju  $\beta$ -zračenje.

Jedan od primjera radioterapijskih stakala su itrijska aluminosilikatna stakla u obliku mikroznaca koja se već deset godina uspješno koriste u liječenju karcinoma jetre. Doza zračenja i veličina radioaktivnih mikroznaca ovisi o veličini jetre. Relativno mala količina mikroznaca ( $\sim 150$  mg) ubrizga se u jetru preko hepatične arterije koja opskrbljuje tumor krvlju. Mikroznaca su takve veličine (15–35  $\mu\text{m}$ ) da protokom krvi putuju do tumora, ali su istodobno prevelika da izađu izvan jetre u krvožilni sustav. Budući da raspodjela radioaktivnih zrnaca slijedi protok krvi, glavnina radioaktivnih mikroznaca smještena je oko tumora jer je i prokrvljenost oko tumora veća. Na taj je način ubrizgana doza izolirana u jetri gdje zrači  $\beta$ -zrakama. Treba ipak reći da se djelotvornost tog zračenja smanjuje s veličinom tumora i razvitkom maligne bolesti.

Uspješna klinička primjena bioinertnih, bioaktivnih i resorbirajućih implantata odgovor je na sve zahtjevnije medicinske potrebe. Međutim, vijek trajanja implantata je ograničen na 10 do 25 godina. To drugim riječima znači da je poboljšanje svojstava prve i druge generacije biomaterijala ograničeno i predstavlja svojevrstan kompromis. Naime, živo tkivo daje odgovor na promjene fiziološkog okruženja ili na biološki poticaj dok sintetički biomaterijali ne daju. To je znak da istraživanja biomaterijala treba usmjeriti prema biološki orijentiranim metodama za obnovu tkiva odnosno prema trećoj generaciji biomaterijala.



Slika 2 – SEM slika primarnih ljudskih osteoblasta na poroznoj staklastoj pjenu. Stanice premošćuju pore staklaste pjene. Kristali kalcij fosfata prekrivaju cijelu površinu materijala i unutrašnjost pora. (J. Gough, Imperial College of London)

Dok je druga generacija biomaterijala dizajnirana ili kao bioaktivna ili kao resorbirajuća, kod treće generacije biomaterijala ta se dva svojstva isprepliću sa svrhom da novi materijal pomaže tkivu da se samo obnovi. Drugim riječima, treća generacija biomaterijala dizajnirana je tako da potiče stanični odgovor na molekulskom nivou, čime se aktiviraju geni koji pomažu obnovu živog tkiva. Istraživanja tih biomaterijala idu u smjeru nove grane biomedicine tzv. tkivnog inženjeringa (eng. tissue engineering).

Jedan se pravac tkivnog inženjeringa odnosi na rast stanica tkiva na resorbirajućoj podlozi izvan tijela. Podloga s tkivom ugrađuje se u tijelo na bolesno ili oštećeno mjesto. Nakon nekog vremena podloga se resorbira i zamjenjuje sa živim tkivom koje se prilagođuje fiziološkom okruženju.

In situ tkivni inženjering uključuje biomaterijale u različitim oblicima kao prah, otopina, pjena ili mikroznaca koji potiču rast lokalnog tkiva. Bioaktivni materijali otpuštaju kontroliranom brzinom produkte ionske disocijacije ili faktore rasta kao što su morfogeni proteini kosti i na taj način aktiviraju stanice i promoviraju obnovu tkiva.

Zanimljiv primjer treće generacije biomaterijala su polimeri na čijoj su površini ugrađeni proteini, peptidi i druge biomolekule koje oponašaju okolinu izvanstanične matrice i tako potiču višefunkcionalnu staničnu površinu. Ti stanični transplantati obećavaju mnogo u liječenju na primjer neuroloških bolesti. PLA/PGA kopolimeri upotrebljavaju se za ugradnju faktora rasta živaca (eng. nerve growth factor (NGF)) koji se otpuštaju u tijelu kontroliranom brzinom i tako promiču rast živčanog tkiva.

*Iako je danas za kliničku uporabu odobren tkivni inženjering za svega desetak tipova tkiva (eng. engineered tissues), više od 80 tvrtki potroši godišnje oko 600 milijuna dolara za istraživanje i usavršavanje tkivnog inženjeringa. Ogromni su izazovi koje to područje pruža od pomaka znanstvenih otkrića in vitro prema tehnološkom razvoju i proizvodnji. Uspješna proizvodnja tkiva inženjeringom zahtijeva velik broj izvora zdravih stanica, razvoj tehnika za pripremu biomaterijala s ide-*

*alnim svojstvima te kreiranje idealnih bioreaktora koji će oponašati fiziološku okolinu u tijelu.*

*Pretpostavlja se da će u budućnosti najveći doprinos tkivnog inženjeringa biti u dizajniranju in vitro fizioloških modela za istraživanje patogeneze bolesti, ali i otkriće terapije na molekulskom nivou. Možda je još veća važnost u mogućnosti da se treća generacija biomaterijala može upotrebljavati za aktiviranje gena u području prevencije i održavanja zdravog tkiva.*