

## **Techniky biologické modifikace povrchu pro titanové biomateriály**

Slitina titanu je díky svým vynikajícím mechanickým vlastnostem a biokompatibilitě široce používána v biomedicíně. Slitina titanu a titan však mají biologickou setrvačnost, především díky fyzikálnímu chimérismu v těle, což při dlouhodobém používání snadno způsobuje uvolňování a odpadávání. Kromě toho dochází kvůli rozdílu v koeficientu tepelné roztažnosti mezi titanem a kostí také k nestabilitě spoje. Proto byly navrženy různé techniky modifikace povrchu titanu, aby se vyhovělo potřebám klinického použití. Mezi běžné metody modifikace povrchu materiálů implantátů patří především: volná a drsná povrchová úprava materiálů implantátů; Povrchová úprava implantovaného materiálu je zatížena bioaktivními molekulami nebo materiály pro modifikaci povrchu.

Studie ukázaly, že mezi hlavní faktory ovlivňující biokompatibilitu a schopnost osteointegrace materiálů implantátů patří především smáčivost povrchu materiálu, drsnost, složení a typ krystalů. V humorálním prostředí je dobrá smáčivost povrchu materiálu implantátu příznivější pro adsorpci proteinů a adhezi buněk. Kromě toho jsou specifické povrchové podmínky příznivější pro diferenciaci a růst buněk. Procesem modifikace povrchu slitiny titanu lze na povrchu slitiny vytvořit vhodně modifikovaný povlak, který optimalizuje strukturu, složení a smáčivost povrchu slitiny při zachování odolnosti proti korozi a mechanických vlastností slitiny, aby se dosáhlo zlepšení kompatibility a schopnosti integrace do kosti.

V současné době patří mezi běžné povrchové modifikace lékařské slitiny titanu pro implantace do kostí především hydroxyapatitový (HA) povlak, grafenový povlak, chitosanový povlak a povlak z nanotrubiček TiO<sub>2</sub>, přičemž povlak z nanotrubiček TiO<sub>2</sub> lze kombinovat s jinými povlaky, aby se dosáhlo lepších funkcí díky jeho povlaku se samovolně rostoucí porézní strukturou in situ. V budoucnu je hlavním směrem modifikace povrchu lékařských slitin titanu zlepšení schopnosti implantátů integrovat se do kosti přípravou povrchově modifikovaných povlaků a kombinací různých metod modifikace povrchu.

### **Hydroxyapatitový (HA) povlak**

Hydroxyapatit (HA) je hlavní anorganickou složkou lidské kosti a má dobrou biokompatibilitu. Při kontaktu s tělesnými tekutinami se mohou povrchové ionty HA vyměňovat s ionty ve vodném roztoku a na jejich povrchu se adsorbují molekuly, jako je kolagen a proteiny, nebo ionty, které vytvářejí biofilmy a povlaky. Povlak HA nejen kombinuje chemické vazby na kost/implantát těsně, ale také jako bariéra mezi tekutinou a kovovými implantáty, což závisí na metodách a technologii jeho přípravy, ovlivňuje pevnost vazby, krystalinitu a hustotu matrice, kombinace nízké intenzity může vést k modifikaci selhání, odlupování povlaku HA může způsobit zánět a další problémy. Výsledky ukazují, že adhezní pevnost povlaku HA připraveného magnetronovým naprašováním může dosáhnout 80 MPa, což je vyšší než adhezní pevnost povlaku připraveného izostatickým lisováním za tepla, pulzní laserovou depozicí, plazmovým nástřikem a metodou sol-gel (přibližně 14 MPa, 16 MPa, 25 MPa a 26 MPa).

V současné době se k přípravě povlaku HA běžně používá plazmové stříkání a elektroforetické nanášení, přičemž druhé jmenované lze použít pro komplexní matricový povlak. Povlak HA připravený tepelným nástřikem byl žihán, aby se snížilo zbytkové napětí, a pevnost vazby povlaku HA se zjevně zvýšila, protože zbytkové napětí bylo tepelným zpracováním sníženo. Za účelem zlepšení adhezní pevnosti HA povlaku lze povrch titanové slitiny zdrsnit různými technikami předběžné úpravy, jako je leptání elektronovým paprskem, tryskání mikrosférou,

leptání kyselinou a broušení smirkovým papírem, nebo lze mezi HA povlak a substrát z titanové slitiny nanést přechodovou vrstvu.

Krystalinita povlaku HA ovlivňuje chování buněk. V porovnání s HA povlakem s vysokou krystalinitou vykazuje HA povlak s nízkou krystalinitou nižší míru proliferace osteoblastů. Bylo zjištěno, že nanopovlak HA a mikronový povlak s různou krystalinitou vykazují různé charakteristiky rozpouštění a reprecipitace a inkvalitní HA vykazuje vysokou rozpustnost in vivo. Předpokládá se, že kinetika časné tvorby kosti souvisí s rozpustností HA povlaku. Řízenou krystalizaci povlaku HA lze realizovat žíháním nebo depozicí při vysokých teplotách (700 ~ 800 °C). Část amorfního povlaku se během žíhání přemění na krystalický povlak a lze získat povlak HA s určitou krystalinitou nebo iontově substituovanou strukturou. V porovnání s povlakem HA ve formě listu je povlak s acikulární strukturou hustý a rovnoměrný, poskytuje větší kontaktní plochu s okolní tekutinou, a je proto vhodnější pro depozici apatitu. Mikrostrukturu povlaku HA lze také měnit zahříváním a spékáním. Hulbert a kol. ukázali, že porézní struktura vyžaduje oxidovou keramiku s minimální velikostí propojovacích pórů přibližně 100 µm, aby nová kostní tkáň mohla růst dovnitř a poskytovat prostor pro cirkulaci tekutin. Zjistili, že menší velikost pórů umožňuje neúplnou mineralizaci propustné tkáně. Zcela hustý povlak HA neprospívá proliferaci a diferenciaci buněk, používaných hlavně jako kostní lešení, což má za následek jeho omezenou schopnost indukovat tvorbu kosti.

### **Grafenový povlak**

V roce 2004, britský fyzik na univerzitě v Manchesteru Geim a Novoselov grafit páskou mikro mechanické oddělení úspěšně izolované monovrstvy atomů uhlíku ve struktuře, a to body grafenu, aby kámen materiál s vysokým specifickým povrchem, vysoká vodivá tepelná vodivost, nízká hustota, vynikající fyzikální vlastnosti, dva vědci získali Nobelovu cenu za fyziku v roce 2010. Vědci zjistili, že malé molekuly různými skupinami chemické modifikace mohou tvořit různé deriváty grafenu, jako je oxid grafenu, redukce oxidu grafenu, uhlíkové nanotrubičky atd. tyto materiály s různými vlastnostmi rodiny grafenových materiálů, často používané pro modifikaci biologických materiálů, jsou oxidované deriváty grafenu. Ve velkém množství studií o grafenu a jeho deriváty modifikovaných kompozitních materiálech podporujících osteogenezi vědci zjistili, že grafenem naložené lešenářské materiály vykazují lepší cytocompatibilitu a schopnost indukce osteoregenerace, a zkoumali mechanismus jeho podpory kostní regenerace. Kumar a kol. prokázali, že go zvyšuje příjem osteogenních faktorů v lidských mezenchymálních kmenových buňkách in vitro, čímž podporuje osteogenní diferenciaci kmenových buněk. Bylo prokázáno, že grafen koncentruje dexametazon a 0-glycerofosfát, dva klasické osteogenní induktory, v kultuře a podporuje tak diferenciaci mezenchymálních kmenových buněk lidské kostní dřevě na osteoblasty. Kromě toho může lehký apatitový kompozit rGO regulovat expresi proteinů souvisejících s kostí a podporovat zrání matrix a kalcifikaci.

### **Chitosanový povlak**

Jako přírodní organická sloučenina má chitosan výhodu dobré biokompatibility, netoxičnosti, dobrého antibakteriálního účinku a podpory buněčné proliferace a diferenciaci a často se používá jako povrchová úprava implantátů ze slitiny titanu. Chitosan má také dobrou adsorpční schopnost, může být biologicky odbouratelný in vivo a může být kombinován s hydroxyapatitem a dalšími látkami jako nosič. Tloušťku chitosanového povlaku lze řídit, aby bylo možné kontrolovat lokální koncentraci léčiv k léčbě pooperační infekce a zánětu, takže implantát může dosáhnout lepší integrace do kosti a rychlého hojení. Chitosan může interagovat

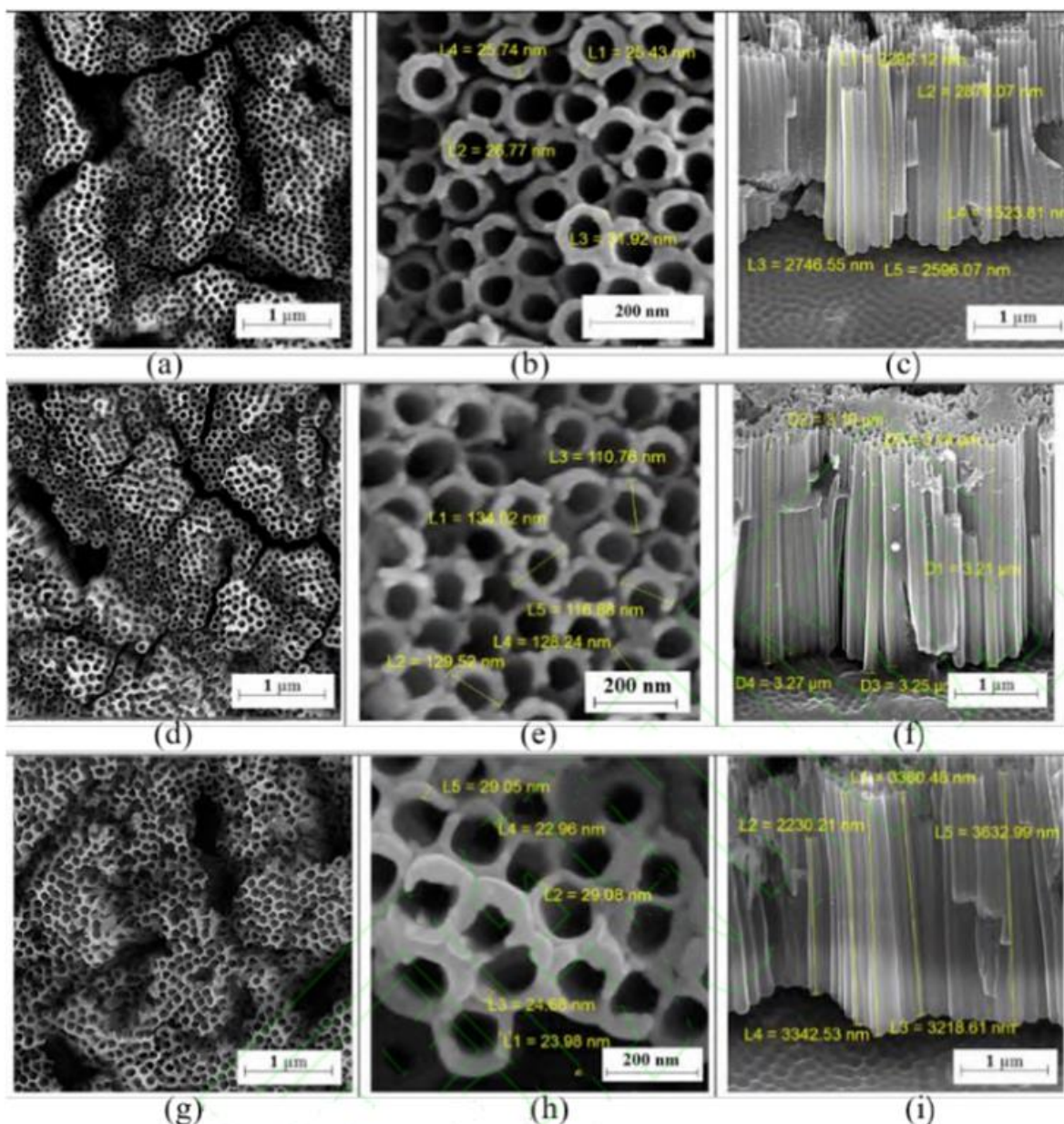
se záporně nabitými bakteriálními buňkami a dosáhnout tak antibakteriálního účinku, je však o něco méně antibakteriální než ionty kovů, což snižuje riziko selhání implantátu.

### **Povlak TiO<sub>2</sub> Nanotube Array**

Struktura nanotrubiček TiO<sub>2</sub> může zabránit uvolňování iontů kovů (např. Al, V atd.) a zmírnit implantační reakci, přičemž vykazuje lepší odolnost proti korozi a biokompatibilitu než objemové materiály TiO<sub>2</sub>. Syntéza povlaku z nanotrubiček TiO<sub>2</sub> na povrchu titanové slitiny se proto stává účinným opatřením ke zlepšení jejích lékařských vlastností.

Anodická oxidace se často používá pro pole nanotrubiček TiO<sub>2</sub> na povrchu titanových materiálů, aby se vytvořil povlak oxidu TiO<sub>2</sub> s přibližně skeletovou porézní strukturou. Změnou anodického oxidačního napětí a doby trvání lze regulovat délku a průměr trubiček soustav nanotrubiček TiO<sub>2</sub>. Pole nanotrubiček TiO<sub>2</sub> připravená anodickou oxidací byla amorfnní a po žíhání při 300-500 °C se mohla změnit z amorfnní na anatasovou nebo rutilovou fázi a po žíhání při 600 °C se postupně změnila na rutilovou fázi. Se zvýšením krystalinity povrchu se zlepšuje smáčivost povrchu soustavy nanotrubiček, což usnadňuje adsorpci proteinů a adhezi buněk. Synergický účinek nanotrubiček a krystalické struktury urychluje depozici hydroxyapatitu. Výsledky ukazují, že anatasová fáze je lepší než rutilová fáze při indukci diferenciaci nebo proliferace buněk a že první fáze má větší pravděpodobnost ukládání hydroxyapatitu. Pokud je anodické oxidační napětí v určitém rozmezí, délka a průměr nanotrubiček se s nárůstem napětí zvětšují. S rostoucí dobou oxidace se zvyšuje drsnost povrchu a snižuje se kontaktní úhel.

Slitina Ti-6Al-4V je poměrně široce používaným biomedicínským materiálem, který se skládá z fáze  $\alpha+\beta$ . Během anodické oxidace se rozpustnost obou fází liší a délka nanotrubiček je v různých fázových oblastech také různá. Mansoorianfar a spol. úspěšně připravili pole nanotrubiček TiO<sub>2</sub> s dobrou rovnoměrností na slitině Ti-6Al-4V, sekundární anodickou oxidací při napětí 50-75 V. Průměrná délka a průměr nanotrubiček se zvyšovaly s rostoucím napětím (znázorněno na obrázku níže). Studie zjistila, že vzorek připravený při napětí 60 V vykazuje nejlepší aktivitu článku.



Příprava vrstvy nanotrubiček TiO<sub>2</sub> na slitině biotitanu s nízkým modulem pružnosti zajišťuje nejen mechanické vlastnosti materiálu implantátu, ale také zlepšuje biokompatibilitu. Li a kol. připravili vrstvu nanotrubičkového pole TiO<sub>2</sub> na povrchu titanové slitiny ti-24Nb-4Zr-7,9Sn (Ti2448) a porovnali čistý Ti, nanotrubičkový Ti (NT) a Ti2448. Nanotrubička-ti2448 (NTi2448) vykazovala vyšší smáčivost, odolnost proti korozi, cytocompatibilitu a schopnost integrace do kosti. Díky přidavku Nb, Zr a dalších prvků do slitiny titanu s nízkým modulem pružnosti zlepšuje oxidační film vytvořený po anodické oxidaci její odolnost proti korozi. Kromě toho přidavek legujících prvků snižuje uspořádanost pole nanotrubiček a některé studie ukázaly, že pole s nízkou uspořádaností vykazují lepší kompatibilitu.

Technologie modifikace povrchu představuje účinnější způsob, jak zlepšit biologickou aktivitu, odolnost proti opotřebení a antibakteriální vlastnosti titanu a titanových slitin a jak vylepšit stávající konvenční biomateriály, aby vyhovovaly současným vyvíjejícím se klinickým potřebám. Výzkumníci učinili mnoho pokusů o zlepšení konstrukce a biokompatibility nových lékařských titanových slitin. Modul pružnosti nově vyvinutých lékařských slitin titanu se stále

více blíží hodnotě modulu pružnosti lidské kostní tkáně. Konstrukce modifikovaného povlaku na povrchu titanových slitin výrazně zlepšila biokompatibilitu, schopnost integrace do kosti a antibakteriální schopnost slitin. Kromě toho byla použita řada fyzikálních a chemických metod ke zlepšení ořezvzdornosti povrchu titanových slitin nanesením vrstvy keramického povlaku s vynikající odolností proti opotřebení na titanový povrch, jako je diamantu podobný uhlíkový film (DLC), povlak nitridu titanu (TiN).