

## **Слайд 1**

Сегодня мы поговорим о применении нанотехнологий в медицине на примере биорезистивных (т.е. не растворяющихся под действием биологической среды организма) и биорезорбируемых (т.е. растворяющихся в этой среде) материалов для протезирования костей.

## **Слайд 2**

Сегодня во всем мире идет активный поиск материалов, пригодных для введения в организм человека с целью диагностики, лечения или замены каких-либо органов и тканей. В частности, очень высока потребность в костных имплантатах. За последние десятилетия создан широкий спектр материалов, достаточно хорошо отвечающих таким требованиям – это и металлы, и полимеры, и стеклопластики, и керамика, и различные композиты. Особый интерес у медиков вызывают керамические материалы, близкие по своему химическому составу к природной костной ткани. Это керамика на основе кальций-фосфорных соединений, в первую очередь гидроксиапатита (ГАП) – материала, по сути идентичного биоминералу человеческой кости. Области применения данных материалов Вы можете видеть на слайде.

## **Слайд 3**

Благодаря своему строению, кость является сложноорганизованным композиционным материалом минерал-биополимер и обладает высокой прочностью, большой устойчивостью к образованию трещин и, в основном, низкой плотностью ~ 2 г/см<sup>3</sup>. Характеристики костной ткани меняются в зависимости от типа кости, характера нагрузок, возраста человека (средние значения этих характеристик приведены на слайде).

Точное воспроизведение костной ткани *in vitro* (и, следовательно, достижение столь же высоких механических свойств) в настоящее время не представляется возможным. Однако частично удастся решить эту проблему, подбирая для каждого конкретного случая материал, преимущественно на основе гидроксиапатита (сложного фосфата кальция) и его замещённых аналогов.

## **Слайд 4**

Кость – очень сложный материал с иерархической структурой. Выделяют несколько уровней ее организации:

I – кость;

II – остеон, «цилиндры» диаметром около 150 мкм, из которых и состоит кость;

III – ламели диаметром около 5 мкм, которые в скрученном состоянии формируют остеон;

IV – волокна, из которых состоят ламели;

V – фибриллы, диаметр которых составляет около 500 нм и которые образуют волокна;

VI – кристаллиты гидроксиапатита с коллагеном толщиной в несколько нанометров, именно эти структуры лежат в основе практически любых костей.

Итак, остеоны, являются основной «строительной» единицей кости, имеют вид цилиндров диаметром 100-500 мкм и длиной до нескольких сантиметров. Каждый остеон

состоит из 3-25 костных пластинок, расположенных концентрически вокруг общей сердцевины - гаверсова канала.

Надкостница покрывает кость снаружи и прочно прикреплена к ней толстыми пучками коллагеновых волокон, которые проникают и вплетаются в слой наружных общих пластинок кости. Эти волокна придают тканям механическую прочность на растяжение. Молекулы коллагенов состоят из трех скрученных спирально полипептидных нитей, которые способны собираться в фибриллы, диаметром 100-2000 нм.

В общем виде минеральный состав кости приближенно можно выразить формулой  $(\text{Ca}, \text{Na})_{10-x-y}(\text{HPO}_4)_x(\text{CO}_3)_y(\text{PO}_4)_{6-x-y}(\text{OH})_{2-x-y-z}(\text{Cl}, \text{F})_z$ , где в молодом организме  $x+y \sim 1.7$ , с возрастом  $x$  уменьшается наряду с увеличением  $y$ .

Зубная ткань отличается от костной тем, что внешняя поверхность зубов покрыта эмалью. Для состава зубной эмали можно привести следующую химическую формулу:  $\text{Ca}_{8.86}\text{Na}_{0.29}\text{Mg}_{0.09}\text{K}_{0.01}(\text{HPO}_4)_{0.28}(\text{CO}_3)_{0.41}(\text{PO}_4)_{5.31}(\text{OH})_{0.7}\text{Cl}_{0.08}(\text{CO}_3)_{0.05}$ . Зубная эмаль имеет намного большее содержание неорганических компонентов, по сравнению с костью (до 90%); она образована призматическими кристаллами больших размеров и сильно ориентированных. Фактически, эмаль считается самым стабильным и жестким материалом в организме.

### Слайд 5

На данном слайде представлены химические формулы и аббревиатуры названий тех фосфатов кальция, которые встречаются в нашем организме. В дальнейшем мы будем использовать эти аббревиатуры.

### Слайд 6

Обратимся к истории создания и применения биоматериалов для замены повреждённых участков кости. Сначала в медицине использовали так называемый первый тип материалов для замены костной ткани. Это были различные металлы (в том числе и железо), которые со временем в биологической среде организма подвергались коррозии и были слишком токсичны для организма. Однако с развитием теоретических основ керамики и ряда экспериментальных работ появилась возможность использовать химически инертную керамику на основе  $\text{Al}_2\text{O}_3$  и  $\text{ZrO}_2$ , иными словами биоинертные материалы. На сегодняшний день на практике используются материалы третьего поколения, представляющие собой композиционные биоактивные материалы.

*Биоактивными материалами* называют такие материалы, которые не только не обладают токсикологическим воздействием на организм, но и срастающиеся с костью с образованием прочного переходного слоя новообразованной костной ткани.

Кроме того, продолжают использовать модернизированные версии других поколений материалов:

- *Биотолерантные материалы*, которые в имплантированном состоянии из-за малого сродства с костной тканью отделены от нее сравнительно толстыми промежуточными слоями (например, титановые имплантаты).
- *Биоинертные материалы*, которые характеризуются слабым взаимодействием с костной тканью, после пересадки и вживления отделены от последней тонкими промежуточными слоями и слабо фиксированы в тканях организма.

### Слайд 7

Исследование образцов первого поколения материалов, применявшихся для замены или фиксации костей, показало, что металлы подвергаются коррозии в биологической среде организма и часто вызывают токсикологическое отравление организма продуктами коррозии, вследствие чего их приходилось менять каждые 3-4 года.

### Слайд 8

Титановые имплантаты, которые на сегодняшний день наиболее распространены в медицинской среде обладают гораздо большей химической стабильностью, равно как и керамические материалы на основе оксидов алюминия и циркония, однако указанные материалы не способствуют росту нормальной костной ткани в месте повреждения, а следовательно, человек, получивший серьёзную травму, может остаться инвалидом на всю жизнь.

### Слайд 9

Однако биокерамика на основе фосфатов кальция позволит решить описанную выше проблему и создать такой материал, который по механическим характеристикам будет аналогичен кости, и со временем будет растворяться в биологической среде организма, тем самым позволяя нормальной костной ткани прорасти в зоне повреждения.

### Слайд 10

Итак, как по предположения учёных должна работать такая керамика на основе фосфатов кальция? На данном слайде представлен механизм, согласно которому биокерамика и нормальная костная ткань взаимодействуют между собой.

Основная идея заключается в том, чтобы позволить клеткам организма «сесть» и «закрепиться» на материале импланта, а затем путём растворения и повторной кристаллизации «переработать» искусственную кость в настоящую.

### Слайд 11

Давайте теперь обратимся к специфике биоматериалов, т.е. фактически к тем требованиям, которые предъявляются при создании биоматериалов. Они представлены на слайде. Стоит отметить, отметить, что помимо механической и химической составляющих, также существует биологическая составляющая, которая иногда не позволяет использовать материалы, пригодные с механической и химической точек зрения.

Некоторые пояснения в терминологии:

*Биосовместимыми материалами* называют такие материалы, которые не вызывают специфических реакций со стороны организма;

*Биологической активностью* называется комплексная характеристика совместимых с организмом материалов, учитывающая, помимо биологических процессов роста и дифференциации клеток, также: (а) скорость *растворения (резорбции)* материала в слабокислой среде, создаваемой определенными группами клеток; (б) скорость *осаждения* фосфатов кальция из межтканевой жидкости организма на поверхности материала (образование контактной костной ткани между костью и имплантатом).

## **Слайд 12**

Как мы отмечали ранее, бывают биоактивные и биоинертные материалы, другими словами их называют биорезорбируемыми, т.е. способные к растворению по действием биологической среды организма, и биорезистивные, т.е. «сопротивляющиеся» такому растворению.

## **Слайд 13**

На данном слайде представлен список химических методов повышения биоактивности материалов. Среди которых стоит отметить снижение соотношения Ca/P, которое позволяет достичь впечатляющих результатов.

## **Слайд 14**

Итак, в основном скорость растворения в среде организма определяется соотношением Ca/P в том или ином фосфате кальция (поэтому это одна из важнейших характеристик биоактивного материала). Для гидроксилапатита это соотношение составляет 1,67, и ГАП считается резистивным материалом. Фосфаты кальция, у которых отношение Ca/P меньше 1,67 считаются резорбируемыми. На слайде приведена таблица, в которой указаны произведения растворимости для различных фосфатов кальция.

## **Слайд 15**

Также повышение биоактивности материала можно достичь путём формирования определённой микроструктуры. Здесь стоит отметить создание пористых материалов с определённым видом пор. Это позволяет увеличить площадь контакта биологической ткани с имплантантом, облегчает проникновение внутрь имплантанта кровеносных сосудов и т.д.

## **Слайд 16-17**

На данных двух слайдах представлены различные методики синтеза порошков фосфатов кальция, при этом возможно как полное удаление побочных продуктов реакции, например, нитрата аммония путём многократного промывания, так и частичное, за счёт удаления воды, но сохранения в составе получаемого порошка солей натрия и калия. Таким образом можно проводить химическую модификацию порошков.

## **Слайд 18**

Среди фосфатов кальция гидроксилапатит (ГАП), даже, несмотря на то, что он является биорезистивным материалом, наиболее часто сегодня применяется в медицине. Он имеет структурный тип апатита, который представлен на слайде.

ГАП представляет собой слоистый кристалл, содержащий более ста атомов в элементарной ячейке. Структура ГАП нестехиометрична, и в ней возможны замещения во все катионные и анионные позиции. В позицию  $\text{Ca}^{2+}$  –  $\text{Be}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ . При этом определяющим фактором заполнения катионных позиций, является характер химической связи, образуемой двухвалентным катионом в определенном положении кристаллической структуры, фактор размерного подобия катиона заместителя с катионами кальция менее значим. В качестве анионных заместителей могут выступать  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{SiO}_4^{4-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  и многие другие ионы.

### **Слайд 19**

Мы довольно подробно рассмотрели химическую сторону получения порошков фосфатов кальция. Что касается микроструктурных аспектов, то они также связаны и во многом зависят от условий проведения синтеза фосфатов кальция. В частности, на морфологию порошков влияют pH, поверхностное натяжение (определяющее форму кристаллов), используемые реагенты, наличие примесных ионов и многое другое.

### **Слайд 20**

Рассмотрим влияние pH на морфологию и состав получаемого продукта. Из одних и тех же реагентов можно получить различные фосфаты кальция, меняя уровень pH. ГАП образуется в щелочной среде. А, например, фосфат кальция состава  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  образуется при pH=5.

### **Слайд 21**

А введение различных примесных ионов изменяет геометрические параметры кристаллитов ГАП, что также важно при создании биосовместимой керамики.

### **Слайд 22**

Однако недостаточно просто получить порошок с заданными свойствами (состав, морфология и т.д.). Порошок фосфата кальция – лишь полуфабрикат, поэтому из него требуется создать сам имплантант. Для этого используются в основном следующие методы:

- приготовление различного рода цементов с последующим внесением в виде суспензии, похожей на гипс непосредственно между костями на месте повреждения;
- создание керамики на основе фосфатов кальция, по форме подходящую для восстановления тех или иных повреждённых участков;
- «холодная керамика», которая может быть использована также как и обычная керамика, однако обладает большей пористостью.

Из представленного на слайде сравнения обычной кости с цементом и керамикой следует, что цементы обладают меньшей прочностью, чем кость, а керамика по своим механическим свойствам сопоставима с настоящей костной тканью.

### **Слайд 23**

Однако на сегодняшний день ещё только ведутся разработка дешёвых методов получения керамики на основе фосфатов кальция и клинические исследования образцов такой керамики. Поэтому одним из наиболее востребованных, простых и уже зарекомендовавших себя с хорошей стороны методов остаётся использование различных цементов на основе фосфатов кальция, к тому же в ходе затвердевания такие цементы формируют пористую структуру, которая важна для восстановления природной кости.

### **Слайд 24**

Как мы уже отмечали ранее, биологическая активность характеризуется двумя параметрами: скоростью растворения имплантанта и скоростью осаждения растворённых фосфатов кальция и формирования натуральной кости. Соответственно, каждый новый образец и каждая новая разработка в данной области должна включать в себя исследование биоактивности материала. Обычно образец исследуемой керамики

помещается в биологическую среду (обычно это буферный соляной раствор с pH 4-5), идентичную среде организма, с колонией специальных клеток, которые за определённый промежуток времени «перерабатывают» образец и формируют свою микроструктуру. Оценка различных параметров такой микроструктуры, толщины и формы образовавшихся пластинок, равномерность их распределения по поверхности образца и позволяет сделать первичные выводы о биоактивности материала.

### **Слайд 25**

На данном слайде представлена информация об исследовании биологической активности биокерамики, проводимой на нашем факультете. Как вы видите, из исследований были взяты 4 различных фосфата кальция, которые некоторое время находились в среде, близкой к биологической среде человека. В результате на образце фосфата кальция с наибольшей растворимостью (трикальций фосфата – ТКФ) образовался наибольший слой биосинтезированного ГАПа. Тогда как чистый исходный гидроксилапатит «перерабатывается» живыми клетками довольно медленно.

### **Слайд 26**

Однако любое серьёзное исследование в области биоматериалов не ограничивается лишь исследованиями биологической активности материала. Чтобы разработка превратилась в коммерчески доступный продукт, с неё необходимо провести целый ряд клинических исследований, которые состоят из множества стадий, представленных на слайде.