

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ

TIRENA-PETRA NAGY

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, srpanj 2023.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ

TIRENA-PETRA NAGY

Porozna bioaktivna stakla dobivena sol-gel postupkom

Voditelj rada: prof. dr. sc. Hrvoje Ivanković

Zagreb, srpanj 2023.

SAŽETAK

Porozna bioaktivna stakla su materijali koji imaju sposobnost spajanja s tkivom u ljudskom tijelu te mogu poticati i stvaranje novog tkiva. Koriste se u medicinskoj primjeni, posebice u području regenerativne medicine i medicinske implatacije. Sol-gel postupak je jedna od metoda dobivanja poroznih biomaterijala koje karakterizira porozna struktura koja im omogućuje vezivanje na površinu koštanog tkiva.

Cilj ovog rada je opis i karakterizacija poroznih bioaktivnih stakala i važnost njihove primjene u inženjerstvu koštanih i mekih tkiva te razumijevanje faza sol-gel procesa i utjecaj različitih čimbenika na konačni proizvod.

Ključne riječi: bioaktivna stakla, inženjerstvo tkiva, sol-gel postupak

ABSTRACT

Porous bioactive glasses are materials with the ability to bond with tissue in the human body and stimulate the growth of new tissue. They are used in medical applications, particularly in the field of regenerative medicine and implantology. The sol-gel process is one of the methods that obtain porous biomaterials characterized by a porous structure that enables them to bond to the surface of bone tissue.

The purpose of this work is to describe and characterize porous bioactive glasses and the importance of their application in bone and soft tissue engineering, as well as to understand the phases of the sol-gel process and the influence of various factors on the final product.

Keywords: bioactive glasses, tissue engineering, sol-gel process

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. OPĆI DIO.....	2
2.1 BIOAKTIVNA STAKLA	2
2.2 PRIMJENA BIOAKTIVNIH STAKALA	3
2.3 GLAVNE KARAKTERISTIKE BIOAKTIVNIH STAKALA	4
2.4 VRSTE BIOAKTIVNIH STAKALA, NJHOVA STRUKTURA, SVOJSTVA I PRIMJENA.....	6
2.4.1 SILIKATNA BIOAKTIVNA STAKLA.....	7
2.4.2 FOSFATNA BIOAKTIVNA STAKLA.....	9
2.4.3 BORATNA BIOAKTIVNA STAKLA.....	11
2.4.4 CRNA BIOAKTIVNA STAKLA	12
2.5 BIOLOŠKA ULOGA DOPIRAJUĆEG ELEMENTA.....	13
2.5.1 Cu, Mg – DOPIRANA BIOSTAKLA.....	13
2.5.2 Ca – DOPIRANA BIOSTAKLA	14
2.5.3 Sr – DOPIRANA BIOSTAKLA	14
2.5.4 Ag – DOPIRANA BIOSTAKLA	14
2.5.5 OSTALI DOPIRAJUĆI ELEMENTI (Ga, Cu, Fe)	15
2.6 SINTEZA BIOAKTIVNIH STAKALA	15
3. PREGLEDNI DIO	18
3.1 POROZNOST BIOAKTIVNIH STAKLA	18
3.2 SOL-GEL SINTEZA POROZNIH STAKALA	19
3.3 POROZNA BIOAKTIVNA STAKLA DOBIVENA SOL-GEL METODOM U INŽENJERSTVU KOŠTANOG TKIVA.....	23
4. ZAKLJUČAK	26
5. POPIS SIMBOLA.....	27
6. POPIS LITERATURE.....	28

1. UVOD

Inženjerstvo tkiva (eng. tissue engineering) je inovativno područje koje se bavi razvojem metoda i materijala za obnovu i zamjenu oštećenog ili izgubljenog tkiva u ljudskom tijelu. Glavni cilj inženjerstva tkiva je stvaranje funkcionalnih tkiva i organa kroz uzgoj stanica na posebnim nosačima. Ova tehnologija ima široku primjenu u medicini i predstavlja obećavajući pristup u regenerativnoj medicini, koristeći napredne biološke materijale i tehnike za poticanje rasta i regeneraciju tkiva. Uz proizvodnju tkiva bitna je i regeneracija oštećenog tkiva koja se odvija uz pomoć biomaterijala koji djeluju kao predlošci za regeneraciju tkiva te dovode do rasta novog tkiva.

Uzgoj funkcionalnih tkiva u laboratorijskim uvjetima zahtijeva kombinaciju odgovarajućih stanica, nosača i faktora rasta koji podržavaju njihov rast i diferencijaciju. Nosači mogu biti građeni od različitih biomaterijala te su često porozne strukture, koja omogućuje stanicama da se pričvrste, razmnožavaju i migriraju dok tvore novo tkivo. Biomaterijali korišteni u inženjerstvu tkiva mogu se podijeliti u tri individualne grupe: keramika (bioaktivna ili bioinertna), prirodni polimeri i sintetski polimeri, a cilj biomaterijala jest pružanje podrške i poticanje regeneracije tkiva.

Bioaktivna stakla su grupa površinski reaktivnih staklo-keramičkih biomaterijala i uključuju izvorno bioaktivnostaklo, 45S5 Bioglass®. Glavna karakteristika bioaktivnih stakala je njihova sposobnost kemijske reakcije s živim tkivima u ljudskome tijelu, tvoreći s njima mehanički trajnu i snažnu vezu.

Sinteza bioaktivnih stakala sol-gel postupkom predstavlja metodu za dobivanje visoko kontroliranih biomaterijala s unaprijed definiranim kemijskim sastavom i strukturom. Važnost sol-gel postupka u sintezi bioaktivnih stakala leži u njegovoj sposobnosti da pruži kontrolu nad kemijskim sastavom, morfologijom i strukturom materijala. Ovaj postupak omogućuje prilagodbu biomaterijala prema specifičnim zahtjevima regenerativne medicine i inženjerstva koštanog tkiva.

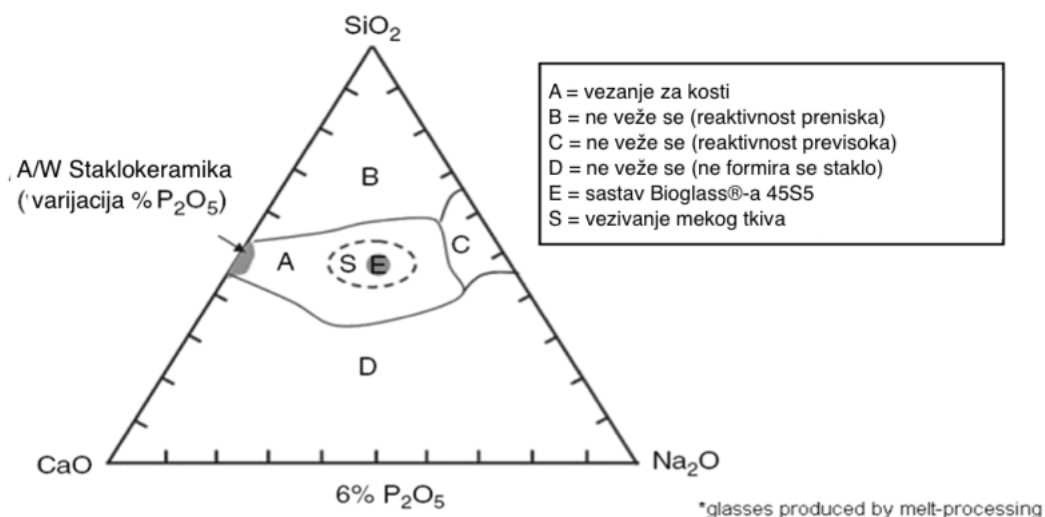
2. OPĆI DIO

2.1 BIOAKTIVNA STAKLA

Biokeramički materijali općenito obuhvaćaju keramiku, biostakla i staklo-keramiku. Tijekom proteklih 50 godina, napredak u mnogim područjima korištenja biokeramike i biostakala, imali su značajan utjecaj na razvoj moderne zdravstvene industrije i unaprijedili su i poboljšali kvalitetu ljudskih života [1].

Istraživanjem i ispitivanjem bioaktivnih stakala, šezdesetih godina dvadesetog stoljeća, dolazi do otkrića i razvoja mnogih sigurnih i netoksičnih materijala koji međudjeluju sa živim tkivom i potiču zacjeljivanje i regeneraciju oštećenog ili bolesnog tkiva.

Godine 1969. prof. Larry Hench sintetizirao je prvo bioaktivno staklo, 45S5 Bioglass®, koristeći dijagram $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{SiO}_2$ za keramiku kako bi se dobile prve tri kompozicije, što se vidi na slici 2.1. Takvo staklo sastoji se od: 45% SiO_2 , 24,4% CaO , 24,5% Na_2O i 6% P_2O_5 te ga odlikuje visoka aktivnost, izvrsna biokompatibilnost i biorazgradivost. Sintetizirano biostaklo pokazalo je sposobnost kemijske interakcije sa živim tkivom, što rezultira vezivanjem stakla za kosti ili neke druge biološke strukture [2,3].



Slika 2.1 Ternarni fazni dijagram s tria staklotvornim područjima [3]

Rana primjena bioaktivnog stakla, konkretno 45S5 Bioglassa, bila je pri operaciji uha gluhe pacijentice 1984. godine kada je dizajniran implantat koji je zamijenio oštećenu kost i omogućio prijenos zvuka, čime je obnovljen sluh pacijenta [4].

2.2 PRIMJENA BIOAKTIVNIH STAKALA

Bioaktivna stakla se primjenjuju u raznim medicinskim područjima, uključujući stomatologiju, ortopediju i plastičnu kirurgiju u kojima mogu potaknuti prirodnu regeneraciju kostiju, koštanog tkiva i kože, ali i organa poput jetre, bubrega i srca. [3].

Tablica 2.1 Primjene bioaktivnih stakala

Primjena bioaktivnih stakala	Opis
Regenerativna medicina	<ul style="list-style-type: none">• za poticanje rasta i obnove tkiva• u liječenju koštanih defekata: lomovi kostiju, osteoartritis ili osteoporoza• u regeneraciji hrskavice i ligamenata
Medicinska implantacija	<ul style="list-style-type: none">• za izradu implantata koji integriraju s okolnim tkivom• koštani, zubni i ortopedski implantati• za ugradnju umjetnih zglobova i koštanih nadomjestaka
Kontrolirano otpuštanje lijekova	<ul style="list-style-type: none">• kao nosači terapeutika za njihovo kontrolirano otpuštanje• porozna struktura omogućuje lakše prodiranje lijeka na ciljano mjesto
Biotehnoške primjene	<ul style="list-style-type: none">• za uzgoj i kultivaciju stanica• kao nosači enzima• za imobilizaciju bioloških molekula• kao podloga za rast stanica u laboratorijskim uvjerima

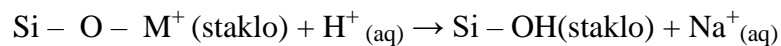
2.3 GLAVNE KARAKTERISTIKE BIOAKTIVNIH STAKALA

Glavne karakteristike bioaktivnih stakala koje ih čine pogodnim materijalima za medicinsku upotrebu biti će opisane na primjeru najpoznatijeg bioaktivnog stakla, 45S5 stakla:

- **Bioaktivnost**

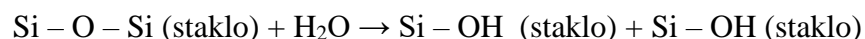
Jedna od ključnih karakteristika je bioaktivnost, koja je rezultat interakcije biostakla i fiziološke tekućine pri čemu, na površini stakla dolazi do stvaranja sloja karbonatnog hidroksiapatita (HCA). Bioaktivnost pospješuje integraciju stakla s okolnim tkivom, potiče regeneraciju i pomaže u zacjeljivanju koštanih defekata. Interakcija biokemijskog stakla i tjelesne tekućine odvija se u nekoliko koraka koji se mogu shematski prikazati kao na slici 2.3:

1. Brza reakcija izmjene iona između modifikatora staklene mreže (Na^+ i Ca^{2+}) s vodikovim ionima (H^+ ili H_3O^+) iz okolne tjelesne tekućine, što dovodi do hidrolize silikatnih skupina i stvaranja silanolnih ($\text{Si} - \text{OH}$) skupina na površini stakla.

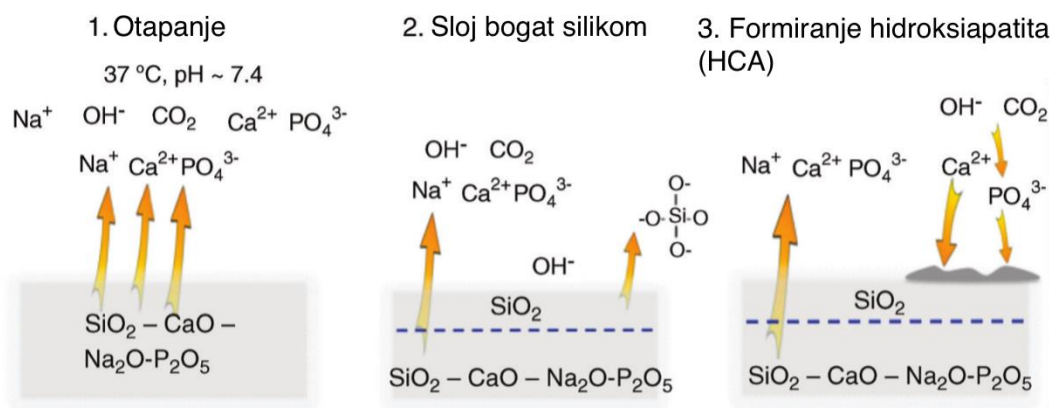


Trošenjem H^+ dolazi do porasta pH otopine.

2. Zbog povećanja koncentracije OH^- dolazi do prekidanja $\text{Si} - \text{O} - \text{Si}$ veza, odnosno otapanja silicija u obliku $\text{Si}(\text{OH})_4$ te nastavka formiranja $\text{Si} - \text{OH}$ grupa na površini stakla.



3. Skupine silanola na površini stakla se kondenziraju i ponovno polimeriziraju te nastaje silikagel koji sadrži velik broj mjesta za heterogenu nukleaciju kalcijevih fosfata.
4. Daljnjim otapanjem stakla, Ca^{2+} i PO_4^{2-} ioni (prisutni u biostaklu i okolnoj tekućini) migriraju i nakupljaju se na novonastalom silikagelu, što dovodi do stvaranja amorfnog $\text{CaO} - \text{P}_2\text{O}_5$ sloja (ACP) iznad samog silikagela.
5. Amorfnj sloj kalcijeva fosfata apsorbira OH^- i $(\text{CO}_3)^{2-}$ ione iz tjelesne tekućine te kristalizira kao sloj karbonatnog hidroksiapatita (HCA).



Slika 2.3 Prikaz interakcije bioaktivnog stakla s tjelesnom tekućinom [5].

Ovaj proces stvaranja HCA sloja na površini bioaktivnog stakla omogućava snažno vezanje stakla s koštanim tkivom jer je sloj HCA vrlo sličnog sastava kao hidroksiapatit (HA), koji predstavlja mineralnu fazu koštanog tkiva.

- **Biokompatibilnost**

45S5 biostaklo je biokompatibilno, što se odnosi na sposobnost materijala da u kontaktu s tkivom ne izaziva negativne imunološke, toksične ili upalne reakcije. Kemijski sastav biostakla uključuje silicijev dioksid (SiO₂), kalcijev oksid (CaO), natrijev oksid (Na₂O) i fosforov pentoksid (P₂O₅) koji je gotovo identičan sastavu mnogih prirodnih tjelesnih tkiva.

Sličnosti u kemijskom sastavu pomažu u smanjenju reakcija tijela na materijal i neželjenih nuspojava.

45S5 staklo pokazuje minimalnu ili nultu citotoksičnost i ne iritira tkivo, što je ključno za dugotrajnu stabilnost implantata i uspješno zacjeljivanje [5].

- **Biorazgradivost**

U nekim slučajevima 45S5 biostaklo se koristi kao privremeni implantat koji mora biti biorazgradiv kako bi omogućio stanicama da proizvode vlastitu izvanstaničnu matricu [6].

Kako bi se produkti razgradnje mogli lako resorbirati ili izlučiti iz tijela potrebno je da brzina razgradnje materijala odgovara brzini stvaranja novog tkiva, time se također osigurava netoksičnost razgradnje materijala.

- **Poroznost**

Biostaklo može biti proizvedeno u obliku poroznih trodimenzionalnih struktura koja omogućuje proliferaciju stanica, vaskularizaciju i difuziju hranjivih tvari do stanica i izvanstanične matrice koju te stanice formiraju [5].

Porozna struktura mora biti međusobno povezana kako bi se omogućila difuzija otpadnih produkata izvan potpornih struktura i kako bi produkti razgradnje potpornih struktura mogli izaći iz tijela bez ometanja drugih organa i okolnog tkiva [6].

- **Mehanička svojstva**

Izrazita mehanička stabilnost omogućuje biokemijskom staklu da izdrži određene napetosti i opterećenja bez lomljenja ili deformacije.

Odgovarajuća elastičnost biostakla osigurava njegovu prilagodbu na određene pokrete ili oblike tijekom primjene.

- **Termalna stabilnost**

45S5 biostaklo ima visoku termalnu stabilnost, što ga čini otpornim na visoke temperature tijekom procesa obrade ili sterilizacije.

Termalna stabilnost osigurava integritet i sigurnost materijala tijekom njihove proizvodnje i primjene.

- **Prilagodljivost obliku**

Bioaktivna stakla mogu se prilagoditi raznim oblicima i dimenzijama (uključujući implantate, umetke ili premaze) što im omogućuje različite primjene za specifične potrebe pacijenta [5].

2.4 VRSTE BIOAKTIVNIH STAKALA, NJIHOVA STRUKTURA, SVOJSTVA I PRIMJENA

Nedavna istraživanja su pokazala da određene kompozicije u drugim staklenim sustavima koji formiraju staklo (poput silikata, fosfata i borata) su također bioaktivne, što je prikazano u Tablici 2.2.

Tablica 2.2 Sastav raznih bioaktivnih stakala [5]

Sastav(mas.%)	45S5	13-93	6P53B	58S	70S30C	13-93B1	13-93B2	P ₅₀ C ₃₅ N ₁₅
Na ₂ O	24,5	6,0	10,3	0	0	5,8	5,5	9,3
K ₂ O	0	12,0	2,8	0	0	11,7	11,1	0
MgO	0	5,0	10,2	0	0	4,9	4,6	0
CaO	24,5	20,0	18,0	32,6	28,6	19,5	18,5	19,7
SiO ₂	45,0	53,0	52,7	58,2	71,4	34,4	0	0
P ₂ O ₅	6,0	4,0	6,0	9,2	0	3,8	3,7	71,0
B ₂ O ₅	0	0	0	0	0	19,9	56,6	0

Bioaktivna stakla mogu se podijeliti s obzirom na njihov kemijski sastav i njihovu reaktivnost:

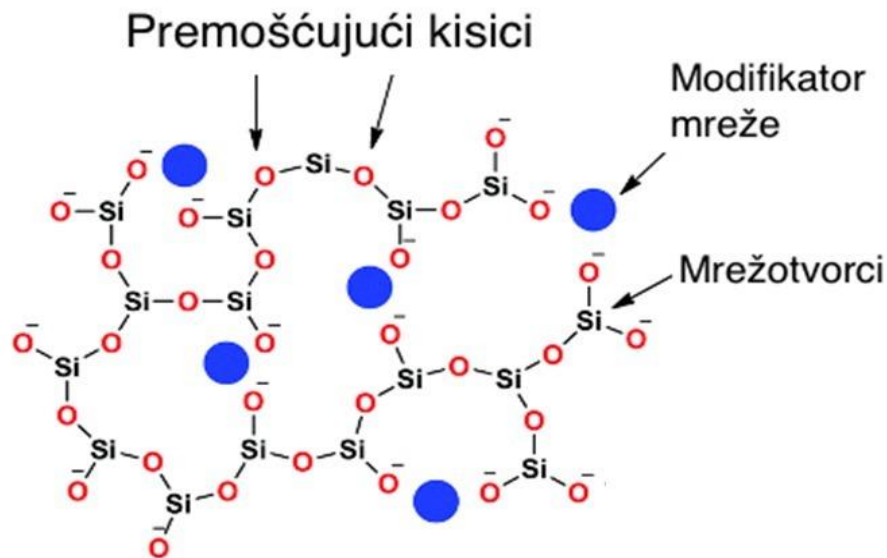
- I. Silikatna bioaktivna stakla
- II. Fosfatna bioaktivna stakla
- III. Boratna bioaktivna stakla
- IV. Crna stakla

2.4.1 SILIKATNA BIOAKTIVNA STAKLA

Već spomenuto 45S5 biostaklo, je od najpoznatije i najistraživanije silikatno bioaktivno staklo. Sastav ovog stakla često se navodi kao: 45 mas.% SiO₂ – 24,4 mas.% CaO – 24,5 mas.% Na₂O – 6 mas.% P₂O₅, što ga čini izuzetno sličnim sastavu koštanog tkiva. Ključna značajka odgovorna za visoku bioaktivnost 45S5 stakla je niski sadržaj SiO₂ (u usporedbi s kemijski otpornijim silikatnim staklima), visok udio Na₂O i CaO (modifikatori staklene mreže) i visoki omjer CaO/P₂O₅.

Struktura silikatnih stakala može se opisati kao trodimenzionalna (3D) staklena mreža koja se sastoji od SiO₄ tetraedra. Dva SiO₄ tetraedra međusobno su povezana samo preko jednog vrha, odnosno jednog mosnog kisikovog atoma, a s ostalim tetraedrима povezani su preko najmanje tri ili preko sva četiri mosna kisikova atoma. Ca²⁺ i Na⁺ ioni modificiraju i slabe SiO₄ mrežu tako što kidaju –Si-O-Si- vezu i vežu se preko mosnih kisikovih atoma na SiO₄ tetraedre. Udio modifikatora (Ca²⁺ i Na⁺) u silikatnoj mreži određuje svojstva stakla,

uključujući njegovu gustoću, toplinske karakteristike, mehaničke osobine i kemijsku reaktivnost.



Slika 2.4 Shematski prikaz mrežotvoraca i modifikatora u staklu [7].

Kemijske strukture bioaktivnih stakala mogu se koristiti za prilagođavanje sastava stakla, kako bi se postigle određene željene karakteristike, kao što su bioaktivnost, otpornost na koroziju i razna mehanička svojstva. Povezanost strukturne mreže može se izraziti kao:

$$N_c = \frac{4[SiO_2] - 2[M_2^1O] + [M^{11}O] + [6P_2O_5]}{[SiO_2]}$$

gdje N_c predstavlja broj mosnih atoma kisika povezanih s atomom silicija i modifikatorima mreže M_2^1O i $M^{11}O$.

Visoka vrijednost N_c ukazuje na veću gustoću veza u staklenoj mreži, odnosno, niža povezanost strukture mreže rezultira većom brzinom otapanja stakla i oslobađanjem veće količine ionskih produkata koji potiču biološki odgovor. Optimalna vrijednost N_c je 1,8 – 2,6 jer je tada staklo bioaktivno.

Biostaklo 45S5, kao materijal koji se ugrađuje u tkivo, ima nekoliko ograničenja. Jedno od ograničenja je temperatura staklišta čija je vrijednost vrlo blizu temperaturi kristalizacije. Zbog tako uskog raspona između temperature staklišta i početka kristalizacije, javljaju se teškoće prilikom obrade biokemijskog stakla u porozne 3D strukture; vrlo teško je

sinterirati 45S5 staklo, a da ne dođe do kristalizacije. Drugo ograničenje 45S5 biostakla jest njegov spori stupanj razgradnje koji otežava usklađivanje brzine razgradnje s brzinom formiranja novog tkiva [5].

Različiti problemi su potaknuli razvoj raznih vrsta silikatnih bioaktivnih stakala koja su temeljena na osnovnoj kompoziciji 45S5 stakla. Jedno od takvih stakala, sastava: 53 mas.% SiO_2 - 6 mas.% Na_2O - 20 mas.% CaO - 12 mas.% K_2O - 5 mas.% MgO - 4 mas.% P_2O_5 , označeno je kao 13-93 i ima relativno veći udio SiO_2 te dodatne modifikatore mreže poput K_2O i MgO . Staklo 13-93 ima bolje karakteristike obrade zbog proširenog temperaturnog raspona između temperature staklenog prijelaza i temperature kristalizacije, no sporije se razgrađuje u usporedbi s 45S5 biostaklom [8].

2.4.2 FOSFATNA BIOAKTIVNA STAKLA

Fosfatna stakla su posebna vrsta bioaktivnih stakala koja su formulirana s visokim udjelom fosfatnih spojeva poput P_2O_5 i temelje se na fosornoj staklenoj mreži koja je oblikovana s dodacima CaO i Na_2O kao modifikatorima. Ionski sastojci prisutni u fosfatnim staklima, prisutni su i u organskoj mineralnoj fazi kosti, stoga ova stakla imaju visoku sposobnost povezivanja s kostima [5]. Upravo njihova sposobnost kontroliranog otpuštanja iona je jedna od važnih karakteristika jer ioni poput kalcija i fosfata igraju ključnu ulogu u procesima regeneracije kostiju i potiču stvaranje nove koštane mase.

Fosfatna bioaktivna stakla karakterizira i visoka površinska poroznost koja im omogućuje prodor stanica u unutrašnjost materijala, interakciju s površinom stakla i stvaranje funkcionalne matrice oko implantata [9].

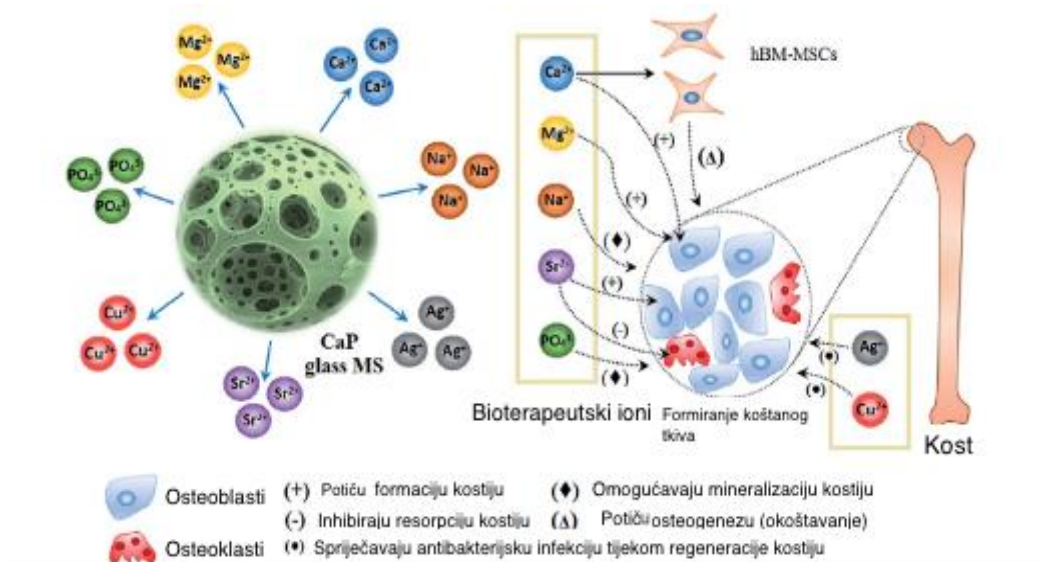
Prednosti fosfatnih stakala povezane su s njihovom vrlo brzom i lakom topljivošću koja ovisi o samom sastavu stakla [10]. Topivost ovih stakala može se kontrolirati modificiranjem njihove kompozicije stoga fosfatna stakla imaju potencijal kao resorbabilni materijali [5].

Brzina otapanja može se regulirati dodatkom malih količina iona metala kao što je stroncij. Stroncij ima sličnu veličinu i kemijske karakteristike kao i kalcij, koji je prisutan u

fosfatnim staklima, što omogućuje lako uključivanje stroncija u strukturu stakla bez znatnog narušavanja njegove stabilnosti. Prilikom zamjene Na_2O sa SrO (u fosfatnu mrežu će se ugraditi SrO do 5 mol%) dolazi do značajnog povećanja brzine otapanja stakla, reaktivnosti, gustoće stakla te temperature staklišta. Povećanjem ili smanjenjem koncentracije stroncija može se povećati, odnosno smanjiti brzina otapanja prema željenim vrijednostima [11].

Neka biološka okruženja, poput tkiva, imaju usko reguliran pH raspon kako bi održala normalno funkcioniranje stanica i biokemijske procese. Modificiranjem i kontrolom brzine otapanja mogu se ograničiti promjene pH vrijednosti unutar otopine, jer prebrzo ili preveliko povećanje pH vrijednosti može ometati normalnu fiziologiju stanica i tkiva te mogu biti toksične.

Osim stroncija, mogu se ugraditi i drugi razni metalni oksidi, kao što su CuO , TiO_2 , Fe_2O_3 , ZnO , MgO , s ciljem stabilizacije mreže i kontroliranja brzine degradacije. U fosfatnu staklenu mrežu mogu se dodati i antibakterijski elementi poput cinka, galija, bakra te srebra koji se tijekom procesa otapanja otpuštaju kao terapijski ioni koji imaju sposobnost poboljšanja terapijske učinkovitosti (slika 2.5) [12]. Više o antibakterijskim elementima u poglavlju 2.5.



Slika 2.5 Oslobađanje različitih bioterapeutskih iona i njihova uloga u regeneraciji koštanog tkiva [12].

2.4.3 BORATNA BIOAKTIVNA STAKLA

Boratna bioaktivna stakla su vrsta bioaktivnih stakala koja se temelje na boratnim spojevima umjesto silikatnih spojeva koji su prisutni u tradicionalnim silikatnim staklima. Takva stakla sadrže boratne (BO_3^{3-}) jedinice koje su povezane s kisikom, tvoreći trigonalnu strukturu.

Stakla na bazi borata imaju nižu temperature taljenja, što omogućuje jednostavnije procese sinteze i oblikovanja stakla. Također imaju veću biološku aktivnost, što znači da su sposobnija potaknuti odgovor tkiva i brže integrirati s okolnim biološkim materijalom te su reaktivniji u kontaktu s vodenim medijima kao što su tjelesne tekućine. Boratna stakla također pokazuju manju otpornost na hidrolizu i smanjenje pH vrijednosti u usporedbi sa silikatnim staklima.

Zbog njihove niže kemijske postojanosti, određena boratna bioaktivna stakla se brže razgrađuju i potpunije pretvaraju u materijal sličan hidroksiapatitu, u usporedbi sa silikatnim 45S5 ili 13-93 staklima. Pretvorba boratnog bioaktivnog stakla u HA slijedi sličan mehanizam kao i za 45S5 biostaklo (objašnjeno u poglavlju 2.3 pod bioaktivnost), ali bez formiranja sloja bogatog SiO_2 , već uključuje stvaranje sloja bogatog boratima koji je usporediv sa silikagelom.

Boratna bioaktivna stakla su pokazala potporu proliferaciji i diferencijaciji stanica *in vitro*, kao i infiltraciju tkiva *in vivo*. Dokazano je i da služe kao supstrat za otpuštanje lijekova u liječenju infekcije kostiju [5]. Boratna stakla pokazuju vrlo poželjne kliničke rezultate zacjeljivanja kroničnih rana, poput dijabetičkih ulkusa, koji ne bi zacijelili konvencionalnim tretmanom [4].

Problem vezan uz stakla na bazi borata je toksičnost bora koji se oslobađa u otopini kao BO_3^{3-} . U uobičajenim "statičkim" *in vitro* uvjetima kulture, neka boratna stakla su se pokazala toksičnima za stanice, ali zahvaljujući razrjeđivanju boratnih iona, toksičnost se može smanjiti u "dinamičkim" uvjetima kulture ili djelomičnom konverzijom stakla s boratom u HA prije uzgoja samih stanica [13]. Istraživanja su potvrdila da boratna bioaktivna stakla, pri koncentraciji od 0,65 mM, ne pokazuju toksične učinke na stanice te su sposobna poticati diferencijaciju i rast osteoblastnih stanica (stanice koje su odgovorne za stvaranje koštanog tkiva).

Brzina degradacije bioaktivnog stakla može se kontrolirati manipulacijom njegove kompozicije: djelomičnom zamjenom SiO_2 u silikatnom 45S5 ili 13-93 staklu s B_2O_3 (stvarajući borosilikatno bioaktivno staklo) ili potpunom zamjenom SiO_2 s B_2O_3 (proizvodnja boratnog bioaktivnog stakla), brzina degradacije može varirati u širokom rasponu. Lakoća proizvodnje i mogućnost kontrole brzine degradacije boratnih stakala čini ih pogodnim za poticanje regeneracije kostiju. Kontrolom sastava stakla moguće je uskladiti brzinu degradacije boratnog bioaktivnog stakla s brzinom regeneracije kostiju [5].

2.4.4 CRNA BIOAKTIVNA STAKLA

Posebna vrsta bioaktivnih stakala koja su dobivena modificiranjem kemijskog sastava i procesa proizvodnje su crna bioaktivna stakla.

Crna biostakla su amorfni materijali koji su sastavljeni od silicijevog oksikarbida ($\text{Si} - \text{O} - \text{C}$) i predstavljaju posebnu vrstu stakla s izrazito crnom bojom, koja proizlazi iz prisutnosti metalnih oksida u njihovoj strukturi [14]. Njihova struktura temelji se na SiO_2 mreži u kojoj dolazi do djelomične zamjene kisikovih iona ugljikovim ionima. Upravo takva zamjena dva dvovalentna iona kisika s jednim četverovalentnim ugljikovim ionom daje crnim staklima poboljšanu električnu otpornost te povećanu termičku i kemijsku stabilnost, čak i u prisutnosti korozivnih tvari i okruženja.

Zbog svojih karakteristika, crna stakla zadržavaju osnovna svojstva bioaktivnih stakala. Ona su sposobna međudjelovati s biološkim tkivom i poticati formiranje hidroksiapatitnog sloja. Upravo zbog toga su predložena kao visokokvalitetni premazi na titanskim implantatima za primjenu u biomedicini. Osim navedenog, njihova jedinstvena boja otvara prostor za estetski privlačne primjene u industriji nakita i dizajna. Također, njihova visoka stabilnost omogućuje upotrebu u zahtjevnim industrijama kao što su energetika i elektronika, gdje je otpornost na visoke temperature i kemikalije od iznimne važnosti.

Crna bioaktivna stakla pokazala su i snažnu sposobnost inhibicije bakterija i tumora putem izvrsnih fototermalnih i fotokatalitičkih efekata. Izuzetno važno je spomenuti da ova stakla potiču i formiranje krvnih žila i ubrzavaju zacjeljivanje kroničnih rana sinergističkim djelovanjem fototermalnog učinka Si iona.

Nedavna istraživanja su otkrila da crni titanijev dioksid (TiO_2), u usporedbi s bijelim TiO_2 , posjeduje veće fototermalne i fotokatalitičke učinke zbog generiranja kisikovih praznina i dijelova titana koji postoje u obliku trovalentnog titanija (Ti^{3+}), umjesto Ti^{4+} .

Stoga, generiranje kisikovih praznina i Ti^{3+} iona je ključno za pripremu crnog bioaktivnog stakla koji sadrži titanij [15].

2.5 BIOLOŠKA ULOGA DOPIRAJUĆEG ELEMENTA

Kako bi se poboljšala bioaktivnost bioaktivnih stakala prema određenom biološkom odgovoru u relevantnim fiziološkim okruženjima, istražene su različite metode koje uključuju inkorporaciju različitih metalnih iona u staklenu mrežu. Ugradnjom malih količina elemenata u tragovima u sastav stakla, može se postići željeni učinak *in situ* nakon njihovog oslobađanja. Glavni cilj ugradnje dopirajućih elemenata je povećati stimulirajuće učinke bioaktivnih stakala na osteogenezu (bolest krhkih kostiju), angiogenezu (proces stvaranja krvnih žila) te promicanje antibakterijskih svojstava.

2.5.1 Cu, Mg – DOPIRANA BIOSTAKLA

Gotovo ista antibakterijska svojstva i učinke imaju cink i magnezij. Oni imaju sposobnost poticanja proliferacije i diferencijacije osteoblasta te tako mogu spriječiti gubitak koštanog tkiva i njihovu sposobnost mineralizacije kostiju [16].

Bioaktivna silikatna stakla s dodatkom cinka su pokazala sposobnost poboljšanja formiranja sloja kalcijevog fosfata na površini biostakla nakon namakanja u biološkim tekućinama i simuliranoj tjelesnoj tekućini, što je temeljni zahtjev za povezivanje bioaktivnih stakala s kostima [17]. Cink također posjeduje svojstva koja se koriste u proizvodnji staklenih polialkenoatnih ortopedskih i zubnih cementa. Ovi cementi imaju sposobnost izazivanja odgovarajućeg antibakterijskog učinka. Osim toga, istraživanja su pokazala da se cink može koristiti za poboljšanje vremena stvrdnjavanja i mehaničkih svojstava staklenih polialkenoatnih cementa [18].

Biostakla dopirana magnezijem pokazala su poboljšano otapanje zbog ometajućeg djelovanja magnezija na silikatnu mrežu [17]. Magnezij je koristan element pri procesu proizvodnje stakla jer potiče i pospješuje prianjanje koštanih stanica [19].

2.5.2 Ca – DOPIRANA BIOSTAKLA

Prisutnost kalcija u bioaktivnim staklima igra važnu ulogu u otapanju stakla i oslobađanju kalcijevih iona. Dodatkom visokih koncentracija kalcija u staklo, kalcij aktivira posebne receptore koji se nalaze na osteoklastima i na osteoblastima, no treba paziti jer kalcij u prevelikim koncentracijama može biti toksičan. Kalcijevi ioni potiču interakciju s osteoblastima aktivirajući gene koji su povezani s razvojem i rastom koštane strukture. Bioaktivna stakla s dodatkom kalcija mogu poslužiti kao potpora pri liječenju koštanih bolesti i ozljeda, potičući obnovu i prilagodbu koštane strukture [20].

2.5.3 Sr – DOPIRANA BIOSTAKLA

Stakla dopirana stroncijem pokazuju poboljšanu bioaktivnost i oslobađaju kritične koncentracije stroncijevih iona (1-5 ppm) u otapajućem mediju. Utvrđeno je da oslobađanje iona iz stakala koja sadrže stroncij, poboljšava aktivnost koštanih stanica. Ispitivano je i *in vitro* ponašanje silikatnog stakla na bazi $\text{SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-NaO}_2\text{-CaO}$ u kojem je kalcij sustavno zamijenjen stroncijem do 100%. Tretman s ionskim produktima otapanja stakala dopiranih stroncijem rezultirala su poboljšanom aktivnošću osteoblasta i inhibicijom diferencijacije osteoklasta. *In vivo* studije su potvrdile visoku biokompatibilnost stakala koja sadrže stroncij izraženu kroz snažno vezivanje za kost, putem hidroksiapatitnog sloja, pri čemu ne dolazi do upalnih procesa. Također, nisu primijećene razlike u *in vivo* ponašanju u usporedbi s izvornim biostaklom [17].

2.5.4 Ag – DOPIRANA BIOSTAKLA

Budući da su Ag^+ ioni poznati po svojim antibakterijskim učincima, razvijena su srebrom dopirana biostakla, kako bi se stvorila bioaktivna stakla s inhibicijskim učincima na rast bakterija koristeći različite tehnike, uključujući sol-gel i proces ionske izmjene. Potvrđeno je da Ag^+ ioni, koji su oslobođeni pri otapanju Ag- dopiranih biostakala, s koncentracijama u rasponu 0,05 – 0,20 mg/ml inhibiraju rast različitih vrsta bakterija [17]. Srebro značajno utječe na površinske karakteristike bioaktivnih stakala tako što stakla dopirana srebrom

pokazuju povećanu poroznost i veću specifičnu površinu u usporedbi s nedopiranim staklima. Ova promjena površinske morfologije stvara više mjesta za vezivanje bioloških molekula i interakciju s okolnim tkivom. Prisutnost srebra na površini stakla potiče adheziju i proliferaciju stanica, što je ključno za uspješno integriranje implantata u tkivo domaćina [21].

2.5.5 OSTALI DOPIRAJUĆI ELEMENTI (Ga, Cu, Fe)

Galij je snažno antimikrobno sredstvo jer ima sposobnost suzbijanja rasta različitih bakterijskih vrsta, uključujući i one bakterije koje su postale otporne na tradicionalne antibiotike. Galij kao dopirajući element pokazuje inhibicijski učinak na formiranje i rast biofilma. Biofilm je zajednica mikroorganizama koja se formira na površini medicinskih implantata i može dovesti do infekcija, zato je galij od ključnog značaja za sprečavanje infekcija povezanih s implantatima [22].

Željezo i bakar također pokazuju antimikrobno djelovanje u biostaklu. Kada je željezo ugrađeno u staklo ono ograničava svoju dostupnost za mikroorganizme, čime se smanjuje rast i reprodukcija mikroorganizama. Bakar može inhibirati rast različitih bakterijskih vrsta, gljivica i virusa te ima sposobnost ometanja enzimskih procesa i oksidativnog oštećenja staničnih membrana mikroorganizama [23]. Kontrolirano otpuštanje Cu^+ iona iz bioaktivnih stakala koristi se za ubrzanje zacjeljivanja rana *in vivo* i uključeno je kod liječenja infekcija [24].

2.6 SINTEZA BIOAKTIVNIH STAKALA

Postoje različite metode sinteze bioaktivnih stakala koje se koriste u proizvodnji materijala s bioaktivnim svojstvima. Svaka od ovih metoda ima svoje karakteristike i prednosti, a jedne od važnijih metoda su:

1. Sol-gel metoda:

Sol-gel metoda uključuje hidrolizu i polikondenzaciju prekursora staklotvornih oksida, kako bi se dobila homogena otopina koja se zatim stvrdnjava u stakleni materijal. Ova metoda

omogućuje kontrolu kemijskog sastava, strukture i poroznosti materijala, više u poglavlju 3.2 [25].

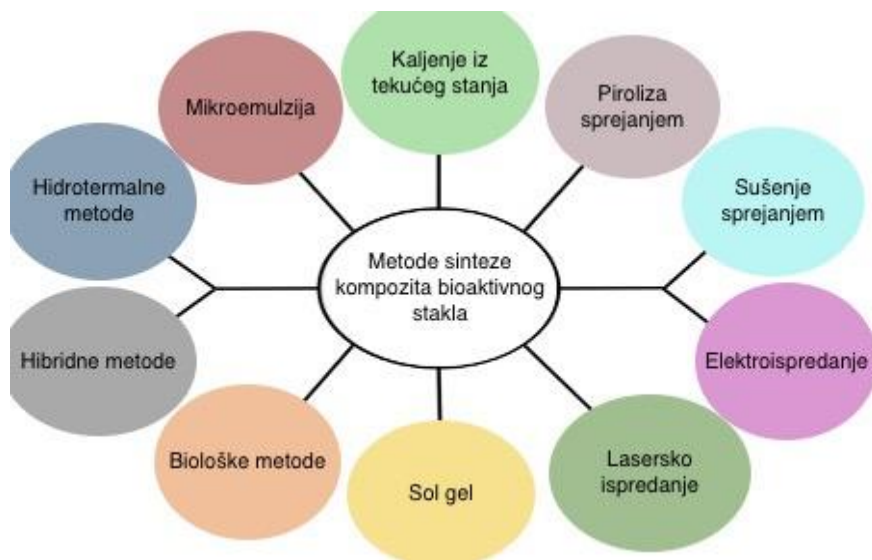
2. Taljenje stakla:

Metoda taljenja stakla uključuje zagrijavanje i taljenje staklenih prekursora pri visokim temperaturama, a zatim brzo hlađenje kako bi se formirao stakleni materijal. Ova metoda omogućuje dobivanje velikih količina materijala, ali ima manju kontrolu nad strukturom i poroznošću u usporedbi sa sol-gel metodom [26].

3. Elektrostatsko prskanje:

U ovoj metodi, fini prašak staklenih prekursora raspršuje se elektrostatičkom silom na supstrat kako bi se formirao tanki sloj stakla. Nakon toga, sloj se peče kako bi se postigla čvrstoća i stabilnost materijala. Ova metoda omogućuje dobivanje tankih filmova bioaktivnog stakla [27].

Ostale metode koje se koriste prikazane su na slici 2.6.



Slika 2.6 Metode sinteze kompozita bioaktivnih stakala. [28]

Važno je napomenuti da se ove metode mogu kombinirati ili modificirati kako bi se postigle specifične karakteristike materijala. Također je važno prilagoditi sintezu prema željenoj primjeni bioaktivnog stakla i optimizirati svojstva materijala kako bi se postigao željeni terapijski učinak.

3. PREGLEDNI DIO

3.1 POROZNOST BIOAKTIVNIH STAKLA

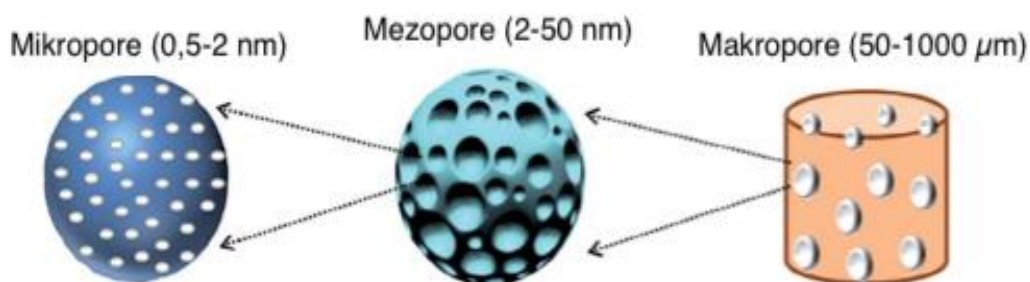
Bioaktivna stakla, s obzirom na poroznost, mogu se podijeliti na porozna bioaktivna stakla (makroporozna i mikroporozna), mezoporozna i neporozna bioaktivna stakla.

1. Porozna bioaktivna stakla:

Porozna bioaktivna stakla su materijali s unutarnjim porama različitih veličina, koje mogu biti makropore, odnosno pore s promjerom većim od 50 nm i mikropore koje imaju promjer manji od 2 nm. Takvi materijali imaju otvorenu poroznu strukturu koja omogućuje prodiranje tekućina i stanica u materijal. Poroznost se može postići dodavanjem odgovarajućih tvari, poput porogenih agensa, koji se nakon izrade materijala uklanjaju. Porozna struktura omogućuje bolju difuziju hranjivih tvari i stanica unutar materijala, potiče interakciju s okolnim tkivom i olakšava integraciju stakla s prirodnim tkivom zbog njihove povećane aktivne površine. Pore također mogu djelovati kao spremnik za ispuštanje ljekovitih tvari ili faktora rasta [4].

2. Mezoporozna bioaktivna stakla:

Mezoporozni materijali privlače veliku pozornost zbog svoje velike površine, uređene mezoporozne strukture, podesne veličine i volumena pora te dobro definiranih površinskih svojstava. Mezoporozna stakla sadrže unutarnje pore specifične veličine u rasponu od 2 nm do 50 nm. Mezopore su srednje veličine između makropora i mikropora što se može vidjeti na slici 3.1. Ova vrsta poroznosti omogućuje veću kontrolu nad difuzijom molekula unutar materijala i prilagođavanje materijala za određene biomedicinske primjene, kao što su kontrolirano otpuštanje lijekova ili dostava biomolekula.



Slika 3.1 Prikaz mikroporzne, mezoporozne i makroporozne strukture [12]

3. Neporozna bioaktivna stakla :

Neporozna bioaktivna stakla su materijali koji nemaju unutarnje pore ili imaju vrlo malu poroznost. Ovi materijali obično imaju glatku površinu te kompaktnu i gustu strukturu bez otvorenih unutarnjih šupljina (pora). Otporna su na prodiranje bioloških tekućina i stanica, ali i dalje pokazuju sposobnost interakcije s tkivima putem površine stakla. Neporozna stakla se često koriste za izradu čvrstih implantata, kao što su umjetni zglobovi, dentalni implantati i drugi medicinski uređaji, gdje je potrebna visoka mehanička čvrstoća i stabilnost [30].

3.2 SOL-GEL SINTEZA POROZNIH STAKALA

Sol-gel postupak je jednostavna, pouzdana, ekološki prihvatljiva i vrlo učinkovita metoda sinteze bioaktivnih stakala, odozdo prema gore, koja je dobila ogroman interes u raznim istraživačkim područjima kao što su nanotehnologija, optoelektronika, medicina i biotehnologija. Sol-gel metoda je vrlo korisna za sintezu poroznih bioaktivnih stakala jer pruža mogućnost podešavanja njihovih svojstava, na koje mogu utjecati parametri kao što su omjer hidrolize, vrijeme geliranja, starenje, sušenje i temperatura. Gustoća, volumen pora, specifična površina i poroznost stakala ovise o primijenjenoj metodi sinteze.

U usporedbi s konvencionalnom metodom taljenja i brzog hlađenja, sol-gel metoda omogućuje proizvodnju stakala dobre kemijske i toplinske stabilnosti, visoke specifične površine, dobre optičke prozirnosti i intrinzične porozne strukture, zahvaljujući prednostima niskotemperaturne obrade. Visoka poroznost i velika specifična površina stakala dobivenih sol-gel postupkom obično su povezani s poboljšanom razgrađivošću i biološkom aktivnošću, ali i s nižom mehaničkom stabilnošću. Osim toga, ova tehnika omogućuje izravnu sintezu višekomponentnih materijala visoke čistoće bez upotrebe praškastih međuprodukata ili skupih vakuumskih procesnih tehnika [12].

Jedan od nedostataka sol-gel sinteze, u odnosu na postupak taljenja, jest teško dobivanje monolita bez pukotina s promjerom većim od 1 cm; veći monoliti puknu tijekom sušenja. Pukotine su uzrokovane zbog velikog skupljanja koje se događa tijekom sušenja i isparavanja tekućih nusprodukata pri reakciji kondenzacije [4].

Tipični prekursori koji se koriste za sintezu bioaktivnih stakala su tetraetil ortosilikat (TEOS), kalcijev nitrat i trietil fosfat (TEP), a sol-gel metoda se odvija u nekoliko koraka (slika 3.2):

1. Hidroliza:

Početni korak u sol-gel procesu je hidroliza, gdje se reagensi koji sadrže stakleni prekursor miješaju s odgovarajućim otapalom, obično vodom. Hidroliza rezultira razgradnjom prekursora i stvaranjem hidroksilnih skupina.

2. Kondenzacija:

Nakon hidrolize u kiselom mediju, dolazi do kondenzacije u alkalnom mediju, gdje hidroksilne skupine reagiraju međusobno i formiraju veze (kovalentne ili ionske) između prekursora. Ovaj korak dovodi do formiranja mreže staklenih struktura.

3. Geliranje:

Nastavkom kondenzacije, dolazi do formiranja gel-faze, u kojoj se tekuća sola pretvara u gel s poroznom strukturom. Gel je mek i može se oblikovati u željeni oblik.

4. Starenje:

Gel se ostavlja da stari kako bi se postigla željena stabilnost i čvrstoća. Tokom starenja, dolazi do daljnjeg preuređivanja strukture.

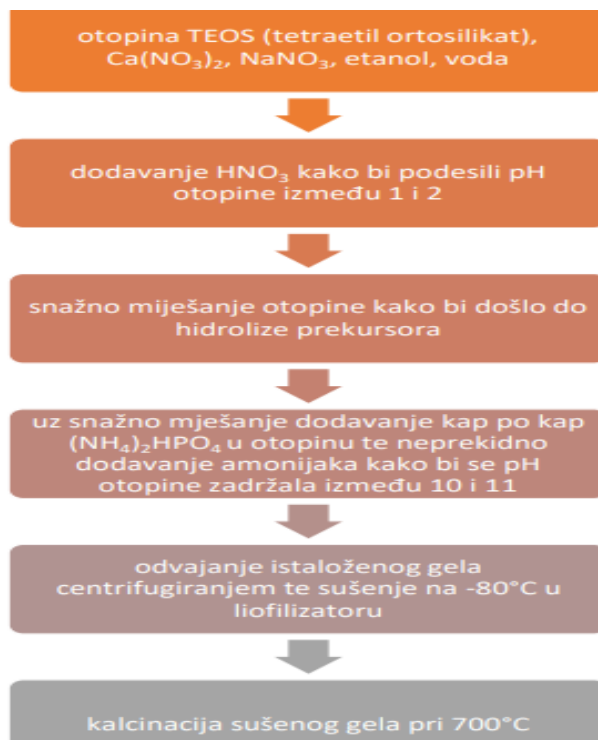
5. Sušenje:

Nakon starenja, voda se uklanja iz gela postupkom sušenja. Sušenje se može provesti na zraku ili uz pomoć sušilice.

6. Kalcinacija:

Nakon sušenja, nastali se gel kalcinira na temperaturi 600-700°C.

Ovaj korak rezultira dobivanjem suhog, poroznog staklenog materijala.



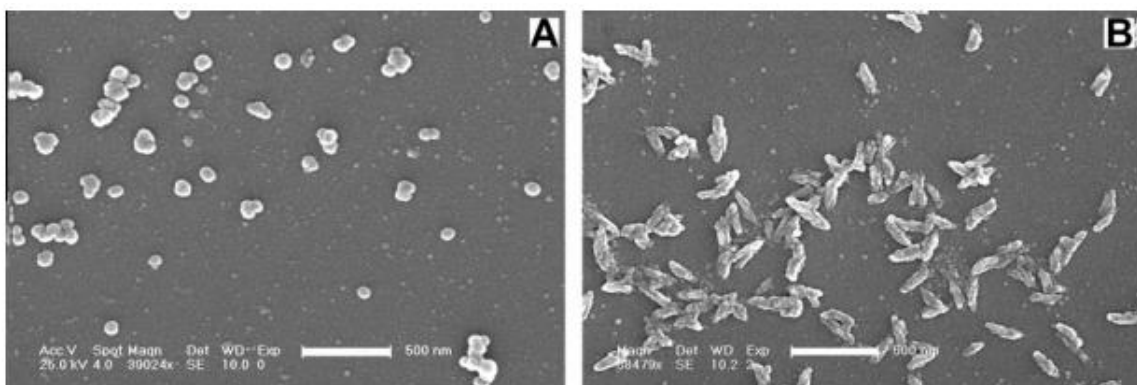
Slika 3.2 Shematski dijagram procesa sinteze bioaktivnog stakla metodom sol-gel [31].

Na temelju metode pripreme, moguće je dobiti proizvode različitih konfiguracija materijala iste kompozicije, poput tankih filmova, čestica, vlakana, pjena, monolita ili premaza. Materijali su visoko porozni i pokazuju visoku specifičnu površinu, a njihova morfologija i veličina može se prilagoditi kontroliranjem uvjeta proizvodnje i omjera hranjivih tvari [31].

- Tanki filmovi: Sol-gel metoda se često koristi za deponiranje tankih filmova bioaktivnih stakala na različite podloge. Filmovi mogu imati debljinu u rasponu od nekoliko nanometara do nekoliko mikrometara. Tanki filmovi se često koriste kao biokompatibilni premazi na metalnim implantatima kako bi se poboljšala njihova biokompatibilnost i smanjio rizik od korozije. Osim toga, mogu se koristiti i u optičkim aplikacijama kao antirefleksni premazi ili za funkcionalizaciju površina.
- Čestice: Sol-gel sinteza omogućuje dobivanje bioaktivnih staklenih čestica različitih veličina, oblika i svojstava. Ove čestice se mogu koristiti u raznim aplikacijama kao što su isporuka lijekova, biokompatibilni nosači za enzime, materijali za regeneraciju

tkiva ili kao punila u kompozitnim materijalima. Veličina čestica može se kontrolirati postupkom sinteze i ima važnu ulogu u njihovoj funkcionalnosti (slika 3.3).

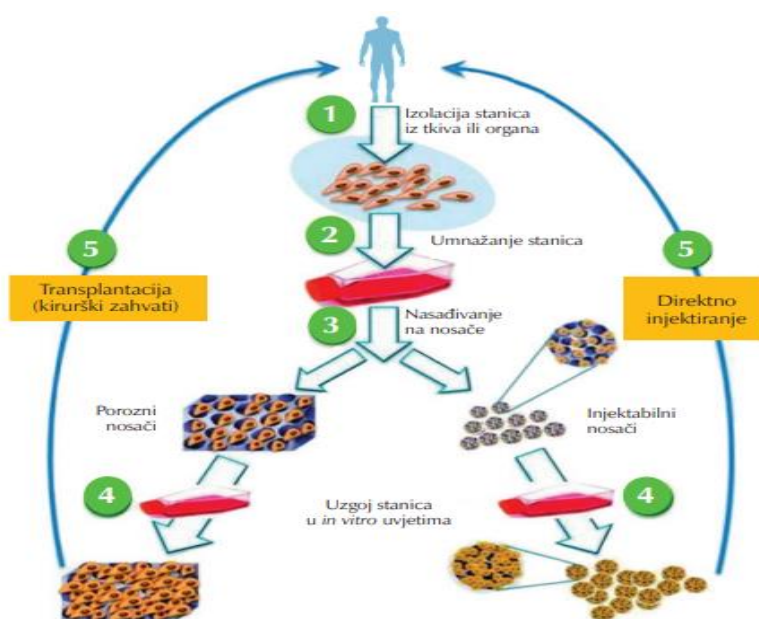
- Vlakna: Sol-gel metoda omogućuje dobivanje i bioaktivnih staklenih vlakana koja se mogu koristiti u raznim industrijskim i medicinskim aplikacijama. Bioaktivna vlakna mogu biti tanka i fleksibilna te slična vlaknima prirodnog tkiva. Primjene uključuju upotrebu vlakana u inženjerstvu tkiva za potporu rasta stanica i regeneracije tkiva, u tekstilnoj industriji za proizvodnju funkcionalnih tekstila i u filtracijskim sustavima za uklanjanje čestica i kontaminanata.
- Pjena: Sol-gel proces može proizvesti porozne staklene pjenaste materijale s unutarnjom strukturom koja se sastoji od međusobno povezanih pora. Ove pjenaste strukture imaju veliku specifičnu površinu i mogu se koristiti kao nosači za lijekove, materijali za regeneraciju tkiva ili izolatori. Ovisno o zahtjevima, pjenaste strukture mogu biti različite gustoće i poroznosti.
- Premazi: Sol-gel metoda omogućuje stvaranje tankih premaza na raznim površinama. Takvi premazi mogu imati različite karakteristike kao što su biokompatibilnost, otpornost na koroziju, hidrofobnost ili fotokatalitička svojstva. Sol-gel premazi se često primjenjuju na metalnim implantatima, staklenim površinama, keramičkim materijalima i drugim podlogama kako bi se poboljšala njihova funkcionalnost i učinkovitost [12].



Slika 3.3 SEM mikrografije bioaktivnih staklenih nanočestica različitog oblika i sastava. (A) Sferične bioaktivne staklene nanočestice sa sastavom $\text{SiO}:\text{P}_2\text{O}_5:\text{CaO} = 55:40:5$ (mol). (B) Rižine bioaktivne staklene nanočestice sa sastavom $\text{SiO}:\text{P}_2\text{O}_5:\text{CaO} = 6:74:20$ (mol). (Mjerila su 500 nm) [31].

3.3 POROZNA BIOAKTIVNA STAKLA DOBIVENA SOL-GEL METODOM U INŽENJERSTVU KOŠTANOG TKIVA

Inženjerstvo koštanog tkiva izazvalo je ogroman interes kao perspektivno istraživačko područje za rast i obnavljanje tkiva te organa koji su oštećeni ili izgubljeni zbog traume, ozljede ili bolesti. Glavni cilj inženjerstva tkiva i regenerativne medicine je potaknuti ponovni rast nezdravog ili oštećenog tkiva upotrebom kombinacija stanica, bioaktivnih tvari i biorazgradivih nosača [12]. Glavni koraci u inženjerstvu tkiva prikazani su na slici 3.4.

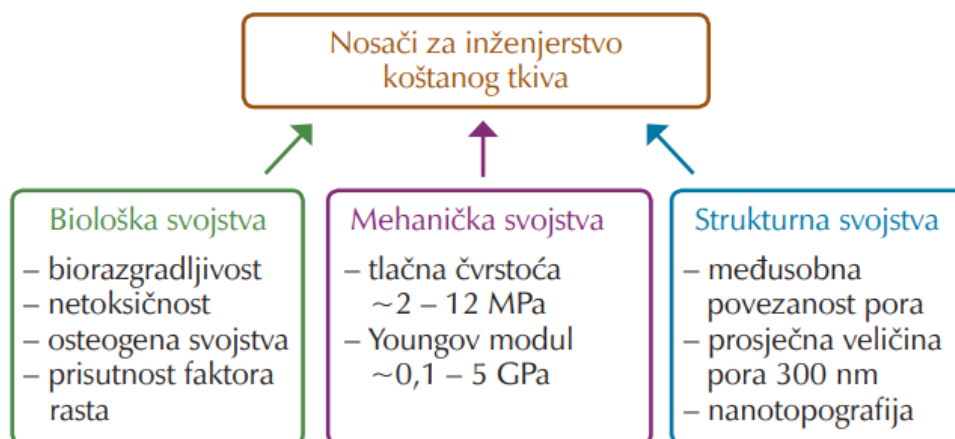


Slika 3.4 Glavni koraci u inženjerstvu tkiva [32]

Najčešći pristup u inženjerstvu koštanog tkiva je upotreba nosača temeljenih na biomaterijalima s određenom strukturom koja može poslužiti kao privremena struktura za stanice i potaknuti njihovu proliferaciju i diferencijaciju u odgovarajuće tkivo ili organ. Nosač je ključan sastavni dio inženjerstva tkiva za regeneraciju kostiju jer djeluje kao matrica za interakciju stanica i osigurava strukturnu potporu novo formiranom tkivu te se koristi za kontrolu isporuke faktora rasta i stanica.

Bioaktivna porozna stakla su jedna od podskupina biomaterijala koja ima dubok utjecaj na inženjerstvo tkiva, posebno za regeneraciju tvrdih i mekih tkiva, jer se savršeno uklapaju kao materijali za proizvodnju funkcionalnih 3D nosača [12].

Slika 3.5 prikazuje idealna svojstva nosača u inženjerstvu koštanog tkiva



Slika 3.5 Biološka, mehanička i strukturna svojstva idealnog nosača za primjenu u inženjerstvu koštanog tkiva [32]

Regenerativna sposobnost bioaktivnih stakala može se procijeniti na temelju njihovih svojstava, poput osteogeneze, osteoinduktivnosti i osteokonduktivnosti.

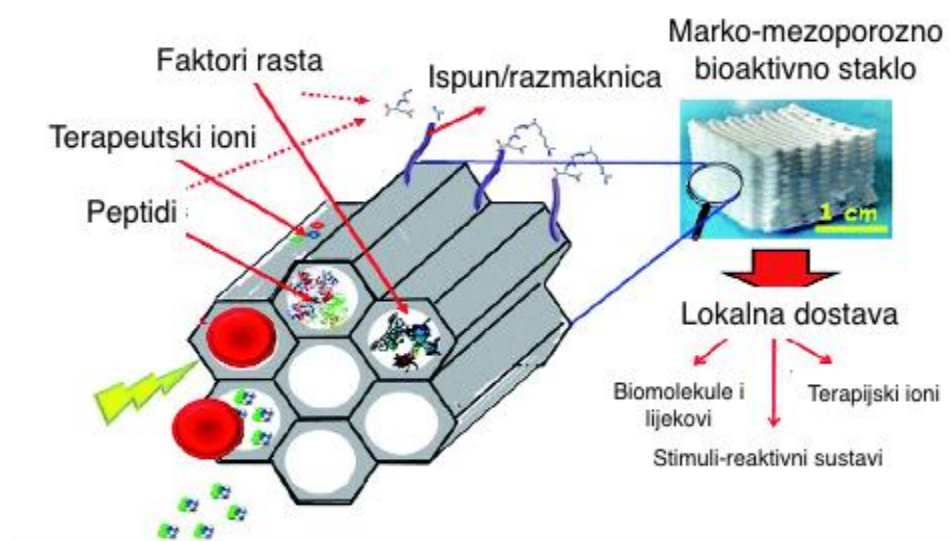
Osteogeni potencijal bioaktivnih stakala procjenjuje se na temelju stanica kao što su mezenhimalne matične stanice, osteoblasti i osteociti uključeni u stvaranje kostiju. Osteokondukcija je proces u kojem nosač ili matrica potiče rast stanica kostiju na svojoj površini, a osteoinduktivna sposobnost može se nazvati poticanjem matičnih stanica da se diferenciraju u preosteoblaste, čime započinje proces stvaranja kostiju.

Za inženjerstvo koštanog tkiva, velike povezane pore i visok postotak poroznosti su bitni za pričvršćivanje i rast stanica koje stvaraju kosti te daljnji rast vaskularnog tkiva. Pokazalo se da nanoporoznost površine potiče adheziju stanica na biomaterijale i rast kostiju u nosačima od bioaktivnog stakla.

Značaj poroznosti bioaktivnih stakala za regeneraciju koštanog tkiva je razmatran od strane brojnih istraživača. Porozne strukture s ukupnom otvorenom poroznošću većom od 80% pokazale su se učinkovite u poticanju prodiranja tkiva jer omogućavaju migraciju stanica, proliferaciju i taloženje matrice u otvorenim prostorima. Postojanje međusobno povezane mreže pora olakšava invaziju krvnih žila i opskrbu hranjivim tvarima. Prosječna veličina pora može biti ključna u inženjerstvu koštanog tkiva, gdje male pore sprječavaju

migraciju stanica i ograničavaju difuziju hranjivih tvari i uklanjanje otpadnih produkata, dok vrlo velike pore ograničavaju prijanjanje stanica zbog smanjenja specifične površine.

Makro-mezoporozna bioaktivna stakla prikazuju visoko uređenu strukturu pora s promjerom pora u rasponu od 2-10 nm i vrlo uskom raspodjelom veličine pora. Najčešće se koriste za kontrolu otpuštanja lijekova i faktora rasta koji se mogu ugraditi unutar pora. Slika 3.6 prikazuje shematski važne značajke mezoporoznih stakala koje ih čine idealnim kandidatom za sintezu 3D mezoporoznih potpornih struktura za inženjerstvo koštanog tkiva, lokalnu dostavu biomolekula, lijekova, terapijskih iona, kao i za dizajniranje i razvoj stimuli-reaktivnih sustava.



Slika 3. 6 shematski prikaz mezoporoznih bioaktivnih stakala i njihova primjena u inženjerstvu koštanog tkiva [12].

Istraživanja su pokazala da mezoporozna bioaktivna stakla imaju mogućnost isporuke dimetiloksalil glicina, kako bi poboljšali angiogenezu i osteogenezu stromalnih stanica koštane srži ljudi. Također, mogu imitirati hipoksično mikrookruženje i time povećati angiogeni kapacitet ljudskih stromalnih stanica koštane srži [12].

4.ZAKLJUČAK

Porozna struktura bioaktivnih stakala pruža prostor za difuziju hranjivih tvari, kisika i stanica te mogućnost vezivanja bioloških molekula, kao što su proteini i faktor rasta, što omogućuje staklu bolju interakciju s biološkim tkivom i potiče integraciju materijala s prirodnim okolinom.

Porozna bioaktivna stakla imaju značajne prednosti i primjene u inženjerstvu tkiva te se koriste kao nosači matrica za rast stanica, kao koštani nadomjesci, implantati i drugi medicinski uređaji. Ove primjene imaju potencijal revolucionirati područje medicinske terapije u pogledu funkcionalizacije i razvoja novih biomedicinskih aplikacija i poboljšanja kvalitete života pacijenata.

Porozna bioaktivna stakla dobivena sol-gel postupkom predstavljaju važne materijale u području biomaterijala i inženjerstva koštanog tkiva. Sol-gel postupak je važan i pouzdan način za proizvodnju poroznih bioaktivnih stakala. Ovaj kemijski proces omogućuje dobivanje staklenih materijala s visokom bioaktivnošću i biokompatibilnošću te visokom čistoćom, kontroliranom poroznosti i veličinom pora. Sol-gel metoda omogućuje precizno oblikovanje i prilagodbu poroznosti stakla, što je ključno za različite biomedicinske primjene.

5. POPIS SIMBOLA

Nc - broj premošćujućih atoma kisika povezanih s atomom silicija

M_2^1O , $M^{11}O$ - modifikatori mreže

HCA (hydroxycarbonate apatite) – hidroksikarbonat apatit

HA (hydroxyapatite) – hidroksiapatit

TEOS (tetraethyl orthosilicate) – tetraetil ortosilikat

TEP (triethyl phosphate) – trietil fosfat

6. POPIS LITERATURE

- [1] Kalita SJ, Bhardwaj A, Bhatt HA. Nanocrystalline calcium phosphate ceramics in biomedical engineering. *Mater Sci Eng C*, 2007, 41–49.
- [2] V. Jokanović, B. Čolović, D. Marković, S. Živković. Bioactive Glasses in Bone Tissue Engineering. Informative article; *Serbian Dental Journal*, vol. 62, No 2, 2015.
- [3] Hench, L. L. The story of Bioglass®. *Journal of materials science: materials in medicine*, 2006, 17(11), 967-978.
- [4] Jones, J.R. Review of bioactive glass: From Hench to hybrids. *Acta Biomaterialia*, 2013, 9(1): 4457–4486
- [5] Rahaman, M. N., Day, D. E., Bal, B. S., Fu, Q., Jung, S. B., & Bonewald, L. F. Bioactive glass in tissue engineering. Article in *Acta Biomaterialia*, 2011, 7(6), 2355-2373
- [6] Fergal J. O'Brien. Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. *Materials today*, Volume 14, 2011, Issue 3, 88-95.
- [7] Cacciotti, I. Bivalent cationic ions doped bioactive glasses: the influence of magnesium, zinc, strontium and copper on the physical and biological properties. *Journal of Materials Science*, 2017, 52(15), 8812–8831.
- [8] Brown, R. F., Day, D. E., Day, T. E., Jung, S., Rahaman, M. N., & Fu, Q. Growth and differentiation of osteoblastic cells on 13–93 bioactive glass fibers and scaffolds. *Acta Biomaterialia*, 2008, 4(2), 387–396.
- [9] Kokubo, T. Formation of bioactive coatings on the surface of glass-ceramics. *Biomaterials*, 1991, 12(2), 155-163.
- [10] Abou Neel EA, Pickup DM, Valappil SP, Newport RJ, Knowles JC. Bioactive functional materials: a perspective on phosphate-based glasses. *J Mater Chem*, 2009, 19:690–701.
- [11] Abou Neel EA, Chrzanowski W, Pickup DM, O'Dell LA, Mordan NJ, Newport RJ, et al. Structure and properties of strontium-doped phosphate-based glasses. *J R Soc Interface*, 2009, 6(34):435–46.

- [12] Deshmukh, K., Kovářík, T., Křenek, T., Docheva, D., Stich, T., & Pola, J. Recent advances and future perspectives of sol–gel derived porous bioactive glasses: a review. *RSC Advances*, 2020, 10(56), 33782–33835.
- [13] Fu H., Fu, Q., Zhou, N., Huang, W., Rahaman, M. N., Wang, D., & Liu, X. *In vitro* evaluation of borate-based bioactive glass scaffolds prepared by a polymer foam replication method. *Materials Science and Engineering*, 2009, 29(7), 2275–2281.
- [14] Pantano CG, Singh AK, Zhang H. Silicon oxycarbide glasses. *J Sol-Gel Sci Technol*. 1999, 14(1):7–25.
- [15] Wang, E., Li, X., Zhang, Y., Ma, L., Xu, Q., Yue, Y., ... Chang, J. Multi-Functional Black Bioactive Glasses Prepared via Containerless Melting Process for Tumor Therapy and Tissue Regeneration. *Advanced Functional Materials*, 2021, 31(24), 2101505.
- [16] Yamaguchi M. Role of zinc in bone formation and bone resorption. *J Trace Elem Exp Med*, 1998, 11(23):119–35.
- [17] Hoppe, A., Güldal, N. S., & Boccaccini, A. R. A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics. *Biomaterials*, 2011, 32(11), 2757–2774
- [18] Boyd D, Clarkin OM, Wren AW, Towler MR. Zinc-based glass polyalkenoate cements with improved setting times and mechanical properties. *Acta Biomater*, 2008, 4(2):425–31
- [19] Zreiqat H, Howlett CR, Zannettino A, Evans P, Schulze-Tanzil G, Knabe C, et al. Mechanisms of magnesium-stimulated adhesion of osteoblastic cells to commonly used orthopaedic implants. *J Biomed Mater Res*, 2002, 62(2):175–84.
- [20] Xynos ID, Edgar AJ, Buttery LDK, Hench LL, Polak JM. Gene-expression profiling of human osteoblasts following treatment with the ionic products of Bioglass® 45S5 dissolution. *J Biomed Mater Res*, 2001, 55(2):151–7.
- [21] Vernè E, Di Nunzio S, Bosetti M, Appendino P, Vitale Brovarone C, Maina G, et al. Surface characterization of silver-doped bioactive glass. *Biomaterials*, 2005, 26(25):5111–9.
- [22] Minandri F, Bonchi C, Frangipani E, Imperi F, Visca P. Promises and failures of gallium as an antibacterial agent. *Future Microbiol*, 2014, 9(3):379–97.

- [23] Vincent M, Hartemann P, Engels-Deutsch M. Antimicrobial applications of copper. *Int J Hyg Environ Health*, 2016, 219(7):585–91.
- [24] Bi L, Rahaman MN, Day DE, Brown Z, Samujh C, Liu X, et al. Effect of bioactive borate glass microstructure on bone regeneration, angiogenesis, and hydroxyapatite conversion in a rat calvarial defect model. *Acta Biomater*, 2013, 9(8):8015–26
- [25] S. C. Sharma, V. N. Singh, P. S. Chauhan, V. K. Wable, A. Kumar, "Sol-Gel Derived Bioactive Glasses and Their Biomedical Applications. A Review," *J. Mater. Sci. Technol.*, vol. 34, no.1, 2018, pp.67-82.
- [26] L. L. Hench. *Bioceramics: From Concept to Clinic*. *J. Am. Ceram. Soc.*, vol. 74, no. 7, 1991, pp.1487-1510.
- [27] M. C. B. Fernandes, C. A. P. Bastos, M. P. Ferraz. Electrostatic Spraying as an Alternative Technique for Producing Bioactive Glass Coatings. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, vol. 100, no. 1, 2012, pp.188-195.
- [28] Satheeshkumar Balu, Swetha Andra, Jaison Jeevanandam, Michael K. Danquah. 4 - Bioactive glass composites: From synthesis to application, *Green Biocomposites for Biomedical Engineering*, 2021, 65-96.
- [29] Vallet-Regí, M., & Salinas, A.J. Bioactive Mesoporous Silica Nanoparticles for Drug Delivery. In *Nanocarriers for Drug Delivery*, 2019, (pp.169-200).
- [30] <https://encyclopedia.pub/entry/18718> (pristupljeno 05.06.2023)
- [31] Boccaccini, A. R., Erol, M., Stark, W. J., Mohn, D., Hong, Z., & Mano, J. F. Polymer/bioactive glass nanocomposites for biomedical applications. A review. *Composites Science and Technology*, 2010, 70(13), 1764–1776.
- [32] M. Ivanković, L. Bauer, A. Ressler, A. Rogina, M. Antunović, H. Ivanković. Priprava 3D poroznih nosača za inženjerstvo koštanog tkiva, 2019, *Kem. Ind.* 68 (9-10) 457–468.