

CONTRIBUȚII LA SINTEZA DE HIDROXIAPATITĂ DOPATĂ CU MAGNEZIU ȘI CERCETĂRI ASUPRA PROPRIETĂȚILOR MECANICE ÎN VEDEREA UTILIZĂRII EI ÎN IMPLANTURI OSOASE

Teză destinată obținerii
titlului științific de doctor inginer
la
Universitatea Politehnica Timișoara
în domeniul INGINERIE MECANICĂ
de către

Ing. Teodora Georgiana IOANOVICI

Conducători științifici:	Prof. univ. dr. ing. Liviu BERETEU Prof. univ. dr. ing. Philippe HIVART Conf. univ. dr. Francine MONCHAU
Referenți științifici:	Prof. univ. dr. ing. Ioan VIDA-SIMITI Prof. univ. dr. ing. Ileana ROȘCA Prof. univ. dr. ing. Pascal VANTOMME Prof. univ. dr. ing. Aurel RĂDUȚĂ
Ziua susținerii tezei:	23.03.2012

Seriile Teze de doctorat ale UPT sunt:

- | | |
|---|--|
| 1. Automatică | 9. Inginerie mecanică |
| 2. Chimie | 10. Știința calculatoarelor |
| 3. Energetică | 11. Știința și ingineria materialelor |
| 4. Ingineria chimică | 12. Ingineria sistemelor |
| 5. Inginerie civilă | 13. Inginerie energetică |
| 6. Inginerie electrică | 14. Calculatoare și tehnologia informației |
| 7. Inginerie electronică și telecomunicații | 15. Ingineria materialelor |
| 8. Inginerie industrială | 16. Inginerie și management |

Universitatea Politehnica Timișoara a inițiat seriile de mai sus în scopul diseminării expertizei, cunoștințelor și rezultatelor cercetărilor întreprinse în cadrul școlii doctorale a universității. Seriile conțin, potrivit H.B.Ex.S Nr. 14 / 14.07.2006, tezele de doctorat susținute în universitate începând cu 1 octombrie 2006.

Copyright © Editura Politehnica – Timișoara, 2014

Această publicație este supusă prevederilor legii dreptului de autor. Multiplicarea acestei publicații, în mod integral sau în parte, traducerea, tipărirea, reutilizarea ilustrațiilor, expunerea, radiodifuzarea, reproducerea pe microfilme sau în orice altă formă este permisă numai cu respectarea prevederilor Legii române a dreptului de autor în vigoare și permisiunea pentru utilizare obținută în scris din partea Universității „Politehnica” din Timișoara. Toate încălcările acestor drepturi vor fi penalizate potrivit Legii române a drepturilor de autor.

România, 300159 Timișoara, Bd. Republicii 9,
tel. 0256 403823, fax. 0256 403221
e-mail: editura@edipol.upt.ro

Cuvânt înainte

Teza de doctorat cu titlul „Contribuții la sinteza de hidroxiapatită dopată cu magneziu și cercetări asupra proprietăților mecanice în vederea utilizării ei în implanturi osoase” a fost elaborată pe parcursul activității mele în cadrul Facultății de Mecanică a Universității *Politehnica* din Timișoara și în cadrul Departamentului de Biomateriale al Universității *Artois* din Franța.

Mulțumiri deosebite se cuvin conducătorilor de doctorat Prof.dr.ing. Liviu BERETEU, Prof.dr.ing. Philippe HIVART și Conf.dr. Francine MONCHAU, pentru sfaturile valoroase și îndrumarea oferită cu profesionalism în toate temele tratate pe parcursul cercetării și redactării acestei lucrări.

Adresez mulțumiri deosebite și întreaga mea considerație cadrelor didactice ale Departamentului de Inginerie Medicală, în mod special Domnei Prof.dr.ing. Mirela TOTH-TAȘCĂU, care m-au sprijinit în timpul stagiului de cercetare desfășurat.

Un sprijin important în elaborarea acestei teze a fost acordat de echipa din cadrul Departamentului de Rezistența Materialelor, unde doresc să îi menționez în mod special pe Drd.ing. Karla KUN, Drd.ing. Lorand KUN și pe Drd.ing. Cristian NEȘ pentru ajutorul acordat la realizarea încercărilor mecanice.

Mulțumiri Departamentului de Studiul Materialelor, în mod special Domnului Asist.dr.fiz. Cosmin LOCOVEI, pentru sprijinul acordat în realizarea testelor de microduritate și în preluarea imaginilor microscopice.

Mulțumiri Departamentului de Mecanică și Vibrații, în mod special Domnului Prof.dr.ing. Gheorghe DRAGANESCU, pentru sprijinul acordat la determinarea modulului de elasticitate prin răspunsul la vibrații libere.

De asemenea, aș dori să mulțumesc tuturor celor care mi-au fost alături, m-au susținut și m-au ajutat în tot acest răstimp, precum și managementului Proiectului Burse Doctorale ID6998 (2008).

Nu în ultimul rând, doresc să mulțumesc familiei mele pentru dragostea, răbdarea și sprijinul acordat, ori de câte ori a fost nevoie.

Timișoara, martie 2012

Ing. Teodora Georgiana IOANOVICI

Teza de doctorat a fost elaborată cu sprijin parțial din grantul strategic POSDRU/CPP6/DMI1.5/S/13 ID6998 (2008), cofinanțat din Fondul Social European "Investește în oameni", în cadrul Programului Operațional Sectorial de Dezvoltare al Resurselor Umane 2007-2013.

Această teză de doctorat a fost realizată în cadrul unui program de cotutelă în două universități simultan, Universitatea Politehnică din Timișoara și Universitatea Artois din Franța. În cadrul stagiului de cercetare desfășurat în Departamentul de Biomateriale al Universității Artois din Franța au fost realizate experimentele și încercările de sintetizare a hidroxiapatitei și de testare a acesteia din punct de vedere al biocompatibilității. Pe durata acestui stagiu am avut privilegiul să fiu îndrumată de Doamna Conf.dr.biol. Francine MONCHAU în domeniul sintezei biochimice a materialelor ceramice utilizate în inginerie medicală.

IOANOVICI, Teodora Georgiana

Contribuții la sinteza de hidroxiapatită dopată cu magneziu și cercetări asupra proprietăților mecanice în vederea utilizării ei în implanturi osoase

Teze de doctorat ale UPT, Seria 9, Nr. 116, Editura Politehnica, 2012, 130 pagini, 91 figuri, 17 tabele.

Cuvinte cheie:

hidroxiapatita, bioceramica, dopaj, magneziu, sinteza la rece, proprietăți mecanice, biocompatibilitate, modul de elasticitate, microduritate, implant

Rezumat,

Necesitatea de a înlocui o pierdere de țesut conduce adesea la utilizarea unui material artificial precum substituții osoși bioceramici. Pentru a elimina unele din dezavantajele acestor materiale a fost sintetizată o hidroxiapatită dopată cu magneziu pentru a asigura proprietăți mecanice și de biocompatibilitate corespunzătoare aplicațiilor medicale. Materialul a fost sintetizat folosind diferiți parametri și diverse concentrații de Magneziu pentru a studia efectul cantității de dopant asupra proprietăților bioceramicii obținute. Eșantioanele realizate au fost testate din punct de vedere biologic, pentru a asigura o biocompatibilitate comparabilă cu cea a hidroxiapatitei pure, și din punct de vedere mecanic, pentru a studia influența particulelor străine în structura cristalină asupra proprietăților mecanice. În final a fost demonstrat că un anumit procentaj de magneziu ca și dopant îmbunătățește atât proprietățile mecanice cât și biocompatibilitatea materialului obținut. Bioceramica obținută poate fi utilizată pentru diverse aplicații precum substituție osoasă, ciment osos sau ca și implant pentru stimularea oseeintergrării.

CUPRINS

LISTĂ DE FIGURI	6
LISTĂ DE TABELE	9
1 INTRODUCERE	10
1.1 Introducere generală.....	10
1.2 Prezentarea capitolelor tezei	11
2 STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	14
2.1 Biomateriale și aplicațiile acestora	14
2.1.1 Clasificarea biomaterialelor.....	15
2.1.2 Biocompatibilitatea	34
2.2 Bioceramica	35
2.3 Hidroxiapatita	39
2.3.1 Proprietățile hidroxiapatitei.....	39
2.3.2 Modalități de sinteză a hidroxiapatitei	43
2.3.3 Îmbunătățirea hidroxiapatitei.....	45
3 MATERIALE ȘI METODE.....	55
3.1 Sinteza bioceramicii	55
3.1.1 Bioreactorul.....	55
3.1.2 Filtrarea	58
3.1.3 Calcinarea	59
3.1.4 Realizarea esantioanelor	59
3.2 Caracterizarea materialului	66
3.2.1 Caracterizarea fizică	66
3.2.2 Examinare biologică.....	69
3.3 Testarea mecanică a eşantioanelor solidificate.....	75
3.3.1 Densitatea eşantioanelor realizate	75
3.3.2 Microduritatea Vickers.....	75
3.3.3 Modulul de elasticitate	78
3.4 Testarea termografică	85
4 REZULTATE ȘI DISCUȚII	88
4.1 Materiale obținute.....	88
4.2 Validarea materialelor obținute.....	93
4.2.1 Validarea fizică.....	93
4.2.2 Validarea biologică	97
4.3 Proprietăți mecanice	100
4.4 Testarea termografică	110
4.5 Formarea unei aplicații de implant osos	113
5 CONCLUZII ȘI PERSPECTIVE.....	115
6 BIBLIOGRAFIE	118

LISTĂ DE FIGURI

Figura 2.1 Șurub implantabil din oțel inoxidabil – producător Horst Engineering	17
Figura 2.2 Implant placă tibială din CoCr - Natural Knee, producător Zimmer	18
Figura 2.3 Șuruburi dentare din titan - producător Dentatus.....	20
Figura 2.4 Cupă acetabulară din UHMDFE - producător Ortho Development.....	22
Figura 2.5 Implant de șold ceramică-ceramică - producător Finsbury Orthopaedics	25
Figura 2.6 Bioglass- structură scaffold	27
Figura 2.7 Componentă a protezei de sold ranforsată cu fibre de metal Reed Sprunger©	28
Figura 2.8 Incluziuni folosite în materiale compozite: (a) particule, (b) fibre, (c) plăcuțe (platelet) [22]	29
Figura 2.9 Compoziția osoasă: osteoblaste, osteocite, matricea calcificată	31
Figura 2.10 Structura oaselor lungi: țesut compact și spongios [35]	32
Figura 2.11 Modelarea și remodelarea osoasă.....	33
Figura 2.12 Structura cristalografică a HA	41
Figura 2.13 Hidroxiapatita: SEM x200 și SEM x350 (Firma Teknimed)	42
Figura 2.14 Pricipalele substituții ionice care se pot realiza în structura hidroxiapatitei	48
Figura 3.1 Schema obținerii produsului final	56
Figura 3.2 Bioreactorul și termostatul la care este conectat	57
Figura 3.3 Motorul agitatorului utilizat, IKA RW20, Germania	58
Figura 3.4 Instalația de filtrare alcătuită din pompa de vacuum și suportul ceramic de filtrare	58
Figura 3.5 Pudra de hidroxiapatita după filtrare	58
Figura 3.6 Vase realizate din alumina pentru calcinarea pudrelor de hidroxiapatită în ele	59
Figura 3.7 Instalația utilizată pentru mărunțirea pudrei obținute după calcinare, și pentru realizarea amestecului de barbotină Pompa de vacuum (VWR vacuum gas pump, USA)	60
Figura 3.8 Pudra de hidroxiapatita după macinare.....	61
Figura 3.9 Agent dispersant, Darvan 7-N, R.T. Vandelbilt company, USA	61
Figura 3.12 Placă de ghips	62
Figura 3.13 Mulaje de ghips	62
Figura 3.14 Modul de umplere a mulajelor	62
Figura 3.15 Eșantioane demulate	62
Figura 3.11 Bile de alumina.....	62
Figura 3.11 Motorul instalației de marunțire	62
Figura 3.16 Hârtia abrazivă utilizată la șlefuire, Struers, Germania.....	63
Figura 3.17 Cuptorul de sinterizare a probelor ceramice, Carbolite, UK	64
Figura 3.18 Tratamentul de sinterizare cu diferitele etape	65
Figura 3.19 Difractometrul cu raze X Bruker D8 Advance, SUA	66
Figura 3.20 Microscop cu baleiaj de electroni, MEB FEG Hitachi S4700	69
Figura 3.21 Incubatorul pentru păstrarea culturilor celulare, Sanyo	70
Figura 3.22 Morfologia osteoblastelor MC3T3-E1	71
Figura 3.23 Dispozitiv de numărare particule Beckman Coulter Z2	72
Figura 3.24 Placă de cultură celulară de la firma CytoOne	73

Figura 3.25 Pudră de hidroxiapatită și hidroxiapatită dopată pentru testul de citotoxicitate	73
Figura 3.26 Containerele cu fluidul biologic simulat și eșantioanele studiate	74
Figura 3.27 Eșantioane utilizate pentru testul SBF.....	74
Figura 3.28 Urma lasată de penetratorul Vickers.....	76
Figura 3.29 Microdurimetrul Vickers Wolpert 402MVD.....	78
Figura 3.30 Echipament de încercări Zwick Roell Z005.....	79
Figura 3.31 Exemplu de măsurare a modulului de elasticitate cu ajutorul graficului tensiune-deformație.....	80
Figura 3.32 Modelul fizic placă - rezemată în centru	81
Figura 3.33 Modelul fizic - placă liberă.....	81
Figura 3.34 Standul experimental pentru înregistrarea răspunsului sonor: a. placă liberă; b. placă rezemată în centru.....	82
Figura 3.35 Standul experimental pentru înregistrarea semnalului prin fascicul laser: a. placă liberă; b. placă rezemată în centru.....	82
Figura 3.36 Captură semnal înregistrat de pe monitor	85
Figura 3.37 Eșantion din semnalul înregistrat	85
Figura 3.38 Cameră termografică FLIR THERMOVISION A40M	86
Figura 3.39 Imaginea în infraroșu a eșantionului.....	86
Figura 3.40 Imaginea în infraroșu a eșantionului și graficul temperatură-timp	87
Figura 4.1 Pudra de hidroxiapatită după filtrare („cake”).....	88
Figura 4.2 Instalația de sinteză a hidroxiapatitei compusă din bioreactor și termostat	89
Figura 4.3 Instalația de măcinare a pudrei obținute și de realizare a barbotinei.....	91
Figura 4.4 Bilele de alumina utilizate pentru măcinare și barbotina b) Containerul din polipropilenă în care este introdusă pudra și bilele de alumina	91
Figura 4.5 Difractograma pudrei de hidroxiapatita calcinată la 900 °C	94
Figura 4.6 Difractograma pudrei de MgHA 1% calcinată la 900 °C.....	94
Figura 4.7 Difractograma pudrei de MgHA 5% calcinată la 900 °C.....	95
Figura 4.8 Analiza EDS a elementelor chimice prezente în pudra de MgHA 5% calcinată la 900 °C.....	95
Figura 4.9 Imaginile pudrelor realizate cu microscopul cu baleiaj de electroni: a.HA; b.MgHA 1%; c.HA; d.MgHA 1%; e.MgHA 5%; f.MgHA 5%;	96
Figura 4.10 Pastile demulate; a. neslefuite ; b. uscate și șlefuite	98
Figura 4.11 Cuptorul utilizat pentru sinterizarea probelor	98
Figura 4.12 Eșantioane de MgHA înainte și după sinterizare	99
Figura 4.13 Container cu soluție SBF pentru referință	100
Figura 4.14 Probele imersate în fluid biologic simulat.....	100
Figura 4.15 Graficul densităților probelor realizate și tratate termic la diferite temperaturi.....	101
Figura 4.16 Graficul valorilor microdurității Vickers pentru eșantioanele sinterizate	103
Figura 4.17 Graficul valorilor microdurității Vickers pentru eșantioanele sinterizate și imersate în SBF timp de 30 de zile	103
Figura 4.18 Graficul valorilor microdurității Vickers pentru eșantioanele sinterizate înainte și după imersare în SBF timp de 30 de zile	104
Figura 4.19 Graficul tensiune – deformație pentru eșantioanele sinterizate la diferite temperaturi.....	104
Figura 4.20 Comparatie între valorile modulului de elasticitate pentru diferitele compoziții de materiale.....	105

Figura 4.21	Comparație între valorile modului de elasticitate pentru diferitele compoziții de materiale după imersare în fluid biologic simulat timp de 30 de zile	106
Figura 4.22	Comparație între valorile modului de elasticitate pentru diferitele compoziții de materiale înainte și după imersare în fluid biologic simulat timp de 30 de zile	106
Figura 4.23	Captură semnal înregistrat de pe monitor	107
Figura 4.24	Eșantion din semnalul înregistrat	107
Figura 4.25	Semnalul de vibrații pentru HA-1250 0C	107
Figura 4.26	Semnalul de vibrații pentru HA 5%Mg -1250 0C	108
Figura 4.27	Semnalul de vibrații pentru HA5%Mg-12500C -SBF Suport	108
Figura 4.28	Semnalul de vibrații pentru HA5%Mg-12500C -SBF Liber	109
Figura 4.29	Modulul de elasticitate determinat prin metoda vibrațiilor	110
Figura 4.30	Evoluția temperaturii pe aria examinată pentru HA pură	111
Figura 4.31	Evoluția temperaturii pe aria examinată pentru MgHA 2% sinterizată la 1250°C	111
Figura 4.32	Evoluția temperaturii pe aria examinată pentru MgHA 5% sinterizată la 1250°C	112
Figura 4.33	Evoluția temperaturii pe aria examinată pentru toate eșantioanele comparate	112
Figura 4.34	Mulaj de gips pentru turnarea implanturilor osoase	113
Figura 4.35	Mulaj metalic pentru implant osos	113
Figura 4.36	Implant dens realizat din MgHA 1%	113
Figura 4.37	Suportul organic din bile de PMMA pentru implanturile macroporoase	113
Figura 4.38	Structura macroporoasă	114

LISTĂ DE TABELE

Tabel 2.1 Proprietățile mecanice ale oțelului inoxidabil 316L [8].....	17
Tabel 2.2 Proprietățile mecanice necesare pentru aliajele de CoCr [9]	19
Tabel 2.3 Proprietățile mecanice ale titanului și ale aliajelor sale [14].....	20
Tabel 2.4 Aplicații ale polimerilor [19], [20]	22
Tabel 2.5 Proprietățile polimerilor biomedicali [20].....	23
Tabel 2.6 Proprietățile mecanice ale unor bioceramice de referință [19].....	26
Tabel 2.7 Caracteristici ale biocompatibilității	34
Tabel 2.8 Potențiale ABE ale unor metale și aliaje metalice	35
Tabel 2.9 Ortofosfați de calciu existenți și principalele lor proprietăți [49], [86]	37
Tabel 2.10 Compoziția chimică a diferitelor țesuturi osoase [87]	49
Tabel 2.11 Proprietățile comparate ale HA, osului și MgHA 1%.....	54
Tabel 3.1 Sarcini utilizate la încercarea Vickers [184]	77
Tabel 3.2 Timpul de menținere a sarcinii și distanța admisă dintre urme, la determinarea durității Vickers [184].....	77
Tabel 4.1 Sinteze realizate	92
Tabel 4.2 Compozițiile pastilelor realizate pentru testele biologice și mecanice.....	99
Tabel 4.3 Densitatea eșantioanelor raportată la densitatea teoretică a hidroxiapatitei	101
Tabel 4.4 Valorile microdurității pentru eșantioanele de MgHA sinterizate înainte și după SBF	102
Tabel 4.5 Valorile modulului de elasticitate (Young) determinate pe baza măsurătorilor de vibrații	109

1 INTRODUCERE

1.1 Introducere generală

Din cele mai vechi timpuri a existat un interes pentru repararea și înlocuirea părților din organismul uman care prezentau probleme și acest lucru a fost realizat folosind diverse materiale mai mult sau mai puțin potrivite în funcție de informațiile existente la perioada respectivă.

Datorită evoluției științei și aparatului din zilele noastre lumea medicală se află într-o perioadă de tranziție de la vindecarea organelor existente la înlocuirea acestora cu materiale sintetice obținute în laboratoare performante.

Substituția osoasă este pe locul 2 ca și procedură de înlocuire a țesutului, pe locul întâi fiind transfuzia de sânge. Mai mult de 2.2 milioane de reconstrucții osoase sunt realizate în fiecare an la scară mondială pentru a repara defecte osoase în ortopedie, neurochirurgie și în medicina dentară.

Deși există mai multe posibilități pentru repararea defectelor osoase cum ar fi autograftul (țesut osos obținut din centura iliaca a pacientului), alograftul (țesut osos uman de la alt individ), xenograftul (țesut osos provenit de la animale) și substituții sintetici, fiecare prezintă și anumite dezavantaje ca și riscurile de contaminare sau cantitatea limitată existentă. Aceste inconveniente se pot înlătura utilizând compuși obținuți în condiții reproductibile într-un laborator eliminând astfel riscul de contaminare și limitarea cantitativă.

Țesutul osos este sintetizat în principal din materiale bioactive și rezistente cu structură similară cu osul natural care este un material compozit natural cu proprietăți de autoreparare. Bioceramicile sunt o clasă de materiale care îndeplinesc condițiile necesare substituției osoase, acestea fiind și biocompatibile și cu o rezistență mecanică similară cu a osului. Materialele bioceramice pot fi împărțite în două mari categorii în funcție de reactivitatea acestora în mediul fiziologic și biologic.

O primă categorie este formată din bioceramicile inerte ca și alumina (Al_2O_3) și oxidul de zirconiu (ZrO_2) care dețin proprietăți mecanice bune și sunt utilizate în principal pentru realizarea capurilor protezelor de articulații.

A doua categorie conține bioceramicile care au abilitatea de a interacționa cu mediul intern (bioactive) pentru a crea legături și pentru a stimula reconstrucția osoasă, biosticla și fosfații de calciu. Hidroxiapatita (HA) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ și fosfatul tricalcic (TCP) $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ sunt recunoscute în mod special pentru abilitatea de a crea o interfață perfectă cu țesutul osos natural. Hidroxiapatita diferă foarte puțin de țesutul osos, formând partea minerală a acestuia.

Abilitatea acestor materiale bioactive de a se integra în mediul intern justifică aplicația lor pentru acoperirea implanturilor metalice utilizate în protezare (șold, genunchi), pentru repararea defectelor osoase și pentru multe alte aplicații.

Ceramicile fosfocalcice comerciale există sub numeroase forme și dețin diferite proprietăți în funcție de producător dar adesea acestea au o suprafață specifică scăzută ceea ce le face puțin reactive în mediul intern. De asemenea puritatea hidroxiapatitei comerciale poate avea de suferit deoarece sunt acceptate

până la 5% alte faze, ceea ce înseamnă că dacă se dorește un material cu puritate ridicată acesta trebuie sintetizat în cadrul propriului laborator.

Dopajul hidroxiapatitei a fost de asemenea studiat în ultimele decenii în vederea îmbunătățirii proprietăților dar o mare parte din materialele utilizate au cauzat alte dezavantaje ca și proprietăți mecanice mai proaste sau efecte citotoxice.

Spre deosebire de celelalte elemente de dopaj studiate magneziul a atras interesul comunității de cercetare în ultimele două decenii din cauza îmbunătățirii proprietăților mecanice fără a afecta negativ biocompatibilitatea. Deși acest material de dopaj a fost studiat în lucrări științifice nu multe dintre acestea folosesc o cantitate mai mare de 1wt% de Mg^{2+} și scopul acestei teze este tocmai de a studia efectul diferitelor concentrații de dopant (1wt% - 10wt%) asupra proprietăților materialului final.

1.2 Prezentarea capitolelor tezei

Această teză este împărțită pe cinci capitole după cum urmează:

1. Introducere
2. Stadiul actual
3. Materiale și metode
4. Rezultate și discuții
5. Concluzii și perspective

În partea de **introducere** s-a făcut o scurtă trecere în revistă a problematicii abordate în această teză de doctorat evidențiind necesitatea realizării unui asemenea studiu: lipsa materialelor sintetice utilizate în substituția osoasă care dispun de proprietăți mecanice necesare în aplicații unde apar solicitări mecanice.

Se prezintă țesutul osos ca și un material compozit și principalele biomateriale utilizate pentru a îl înlocui. Se vorbește despre cele două categorii predominante de bioceramici utilizate în acest domeniu, cele inerte (alumina și oxidul de zirconiu) precum și cele bioactive (biosticla, fosfații de calciu). Dintre fosfații de calciu cel care prezintă cel mai mare interes în domeniul implantologiei osoase este hidroxiapatita datorită biocompatibilității sale excelente și similitudinii cu faza minerală a osului. Aceasta stimulează regenerarea osoasă dar are dezavantajul rezistenței mecanice scăzute, acesta fiind principalul aspect care se dorește a fi ameliorat.

În capitolul de **stadiu actual** s-a făcut un studiu extins asupra problematicii abordate, și acesta este împărțit la rândul lui în: biomateriale, bioceramică și hidroxiapatită. Din cauză că este foarte extins a fost divizat în trei mari subcapitole tocmai pentru a evidenția aspectele cele mai importante din fiecare.

În prima parte despre **biomateriale** se realizează un studiu asupra principalelor categorii de materiale utilizate în acest domeniu, s-a realizat o clasificare după cum urmează: metale, polimeri, materiale ceramice, materiale compozite și materiale naturale. De asemenea se trec în revistă și principalele proprietăți în cazul fiecărei categorii, câțiva reprezentanși importanți și de asemenea exemple de implanturi comerciale realizate din aceste materiale. În partea de materiale naturale este prezentat și țesutul osos mai pe larg și se încheie acest subcapitol cu o prezentare a biocompatibilității care este esențială în cazul oricărui material existent pe piață care interacționează cu mediul intern al organismului uman.

Al doilea subcapitol din stadiul actual abordează **bioceramica**, material care nu a fost prezentat pe larg în subcapitolul anterior. Se prezintă în mod special familia ceramicilor fosfocalcice din care face parte și hidroxiapatita și se trec în revistă principalele aspecte care trebuie avute în vedere în cazul acestor materiale care trebuie să reziste în corpul omenesc o perioadă lungă de timp.

În cel de-al treilea subcapitol se prezintă mai pe larg **hidroxiapatita** și principalele caracteristici ale acesteia. Și acest subcapitol este împărțit la rândul lui în mai multe părți în funcție de subiectul abordat: proprietățile hidroxiapatitei, modalitățile de sinteză precum și posibilitățile de îmbunătățire studiate. Pe lângă prezentarea acestui material în acest subcapitol s-a dorit și prezentarea ideii de dopare a acestuia în vederea îmbunătățirii proprietăților mecanice, păstrând intactă proprietatea de biocompatibilitate. Un alt procedeu de îmbunătățire studiat a fost realizarea de materiale compozite pe bază de alumina sau oxid de zirconiu, care ar putea crește proprietățile mecanice datorită ranforsării hidroxiapatitei.

Capitolul de **materiale și metode** prezintă procedeele utilizate pentru a obține acest material și modalitățile de testare întrebunțate. De asemenea se prezintă și echipamentele utilizate și parametrii din cadrul experimentelor. Subcapitolele prezintă următoarele aspecte: sinteza materialului, caracterizarea materialului și testarea mecanică.

La partea de **sinteză a materialului** este prezentată motivația alegerii acestei metode (asigură posibilitatea varierii parametrilor de reacție independent unul față de celălalt și permite sintetizarea la temperaturi scăzute pentru o mai mare siguranță) și etapele necesare până la obținerea produsului final (maturarea în bioreactor, filtrarea, uscarea, calcinarea, măcinarea, formarea și sinterizarea). A fost de asemenea sintetizat și un material compozit pe bază de hidroxiapatită și alumina în vederea îmbunătățirii proprietăților mecanice.

Caracterizarea materialului s-a realizat din punct de vedere biologic și fizico-chimic. S-a efectuat un test de citotoxicitate asupra eșantioanelor de pudră sintetizate și calcinate timp de o oră la 900°C și de asemenea eșantioanele formate și tratate termic au fost imersate în fluid biologic simulat timp de 30 de zile pentru a vedea efectul acestuia asupra suprafeței și proprietăților. Caracterizarea fizico-chimică s-a realizat prin intermediul difractometriei cu raze x pentru a studia și valida compoziția obținută, și de asemenea prin analiza microstructurilor obținute cu microscopul electronic cu baleaj.

Testarea mecanică s-a realizat pe eșantioane sub formă de disc ($\Phi \sim 13\text{mm}$ /h $\sim 2\text{ mm}$) care au fost în prealabil tratate termic în funcție de compoziția fiecăruia (1150°C hidroxiapatita și 1250/1350°C hidroxiapatita dopată cu magneziu). În primul rând s-a calculat densitatea eșantioanelor înainte și după tratamentul termic după metoda măsurării masei și volumului, aceasta fiind necesară în evaluarea rezultatelor testelor mecanice realizate. Al doilea test efectuat a fost cel de microduritate Vickers pentru a studia evoluția acesteia cu procentajul de magneziu și temperatura de sinterizare, și de asemenea după imersarea în fluid biologic simulat timp de 30 de zile. Pentru a calcula modulul de elasticitate care este o caracteristică foarte importantă de material s-au realizat încercări de compresiune și încercări cu vibrații libere. Din încercările de compresiune au rezultat grafice forță-deformație din care s-a putut determina evoluția proprietăților și din cele cu vibrații libere s-a putut de asemenea determina modulul de elasticitate după un algoritm de calcul realizat.

În capitolul de **rezultate** sunt prezentate comparațiile între materialele sintetizate și sunt discutate diferențele dintre proprietățile acestora.

În prima parte sunt prezentate rezultatele sintezelor realizate și validarea compozițiilor prin difractogramele aferente. Din această analiză rezultă că materialele sintetizate sunt hidroxiapatită și hidroxiapatită dopată cu magneziu. După confirmarea că s-a obținut materialul dorit acesta a fost testat biologic pentru a verifica biocompatibilitatea pudrei rezultate în contact direct cu celule osteoblaste MC3T3-E1. În urma acestui test a rezultat că hidroxiapatita dopată cu 1% Mg prezintă o biocompatibilitate mai bună decât hidroxiapatita nedopată, dar după creșterea procentajului de magneziu peste 2% apar descreșteri, acestea fiind foarte evidente în cazul materialului cu 10% Mg.

Proprietățile mecanice au fost analizate prima dată prin măsurarea microdurtății Vickers care s-a evidențiat iar în cazul probelor dopate cu 1% și 2% Mg și sinterizate la 1350°C. Pentru probele cu 5% Mg această valoare a microdurtății a fost foarte scăzută și datorită problemelor apărute la punerea în formă și densității inferioare față de celelalte compoziții.

S-a dorit de asemenea determinarea modului de elasticitate, acesta fiind o importanță caracteristică de material, și acest lucru a fost realizat printr-un test de compresiune realizat la 60N (o forță inferioară forței de rupere – 130N- pentru a nu distruge proba care urma să mai fie analizată) și printr-un test cu vibrații libere. Din curbele tensiune-deformație rezultate au fost extrase rezultatele necesare pentru a calcula această caracteristică. Rezultatele au arătat că proba dopată cu 2% Mg și sinterizată la 1350°C prezintă cea mai mare valoare, dar și cea dopată cu 1% Mg are proprietăți superioare hidroxiapatitei nedopate. Din determinarea modului de elasticitate prin vibrații s-a confirmat că eșantionul cu 2% Mg prezintă cea mai mare valoare și cel cu 1% Mg prezintă o valoare superioară HA nedopate.

Ca urmare a acestor descoperiri s-a stabilit că hidroxiapatita dopată cu 1% magneziu prezintă cele mai bune proprietăți combinate, pe parte biologică și mecanică și s-a realizat o aplicație de implant pentru coloana vertebrală din aceasta. Această aplicație s-a realizat atât ca și implant dens cât și cu un schelet de polimetilmetacrilat pentru a porozitate controlată care ajută la osteointegrare.

Concluzii și perspective

S-a reușit obținerea de hidroxiapatită pură și dopată cu 1%, 2%, 5% și 10% Mg, precum și realizarea unui material compozit cu adiție de alumină.

Materialele sintetizate sunt biocompatibile deși hidroxiapatita dopată cu 10% magneziu prezintă proprietăți mult scăzute și cea dopată cu 1% magneziu are o biocompatibilitate mai bună decât cea nedopată.

Densitatea eșantioanelor este invers proporțională cu procentajul de magneziu adăugat acest lucru creând probleme și la punerea în formă care a fost dificilă în cazul 5% Mg și imposibilă pentru 10% Mg.

Microdurtatea Vickers este cea mai bună în cazul eșantioanelor cu 1% Mg și 2% Mg sinterizate la 1350°C.

Modulul de elasticitate cel mai mare îl are MgHA 2% sinterizată la 1350°C, cel al MgHA 1% fiind și el superior hidroxiapatitei.

Deoarece combinația dintre proprietățile biologice și cele mecanice este cea mai bună în cazul MgHA 1% aceasta a fost utilizată pentru realizarea implantului osos dens și macroporos.

În viitor se dorește o analiză mai amănunțită a influenței temperaturilor asupra proprietăților mecanice și de asemenea realizarea de teste de proliferare celulară pentru a valida și eșantioanele solide realizate.

2 STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

2.1 Biomateriale și aplicațiile acestora

Biomaterialele sunt materiale folosite la realizarea dispozitivelor medicale care asistă, repară, înlocuiesc țesutul viu sau organele care funcționează sub un nivel acceptabil, într-o manieră sigură, fundamentată și acceptată din punct de vedere fiziologic și economic.

Încă din secole anterioare s-au utilizat diferite materiale sintetice sau naturale pentru înlocuirea diferitelor părți ale corpului uman. În poporul etrusc, spre exemplu, se obișnuia înlocuirea dinților absenți cu punți artificiale sculptate din os de taur. De asemenea, în secolul al 17-lea s-a implantat cu succes o bucată de os canin în craniul unui duce olandez.

În practica medicală, utilizarea sigură a materialelor pentru înlocuirea unei părți a corpului nu s-a realizat până la dezvoltarea procedurilor aseptice chirurgicale, la finele secolului XIX. S-a încercat, decenii întregi, înlocuirea țesuturilor dure prin diferite metode: folosirea materialelor autogene, pentru început, dar pentru folosirea grefelor este necesară o procedură chirurgicală adițională. Pentru a rezolva acest impediment s-au folosit mai târziu materiale alogene. Dar nici acestea nu sunt potrivite pentru aplicații cu încărcări de forțe. Astfel s-a apelat la utilizarea materialelor sintetice precum metale și materiale ceramice. Până în anul 1960 materialele folosite aveau o origine industrială. După acest an s-a început realizarea materialelor cu scop specific, pentru utilizarea în domeniul medical.

În ultimele decenii a existat un interes major pentru acest domeniu al biomaterialelor care se manifestă și în diversitatea definițiilor care se găsesc în funcție de aplicație și de autor. Mai jos avem câteva dintre definițiile cele mai des întâlnite.

Conform definiției, *un biomaterial este orice substanță (în afara medicamentelor) sau combinație de substanțe, de origine sintetică sau naturală, care poate fi folosită pentru o perioadă oarecare, în cadrul unui sistem care tratează, îmbunătățește sau înlocuiește un țesut, un organ sau o funcție a corpului* [1].

O altă definiție care descrie succint conceptul de biomaterial este următoarea: *un biomaterial este un material nonviabil folosit într-un dispozitiv medical realizat pentru interacțiunea cu sistemele biologice* [2].

Deși scopul principal al biomaterialelor este de a fi folosite pentru aplicații medicale, acestea sunt utilizate și pentru a crește culturi de celule, în laboratoare clinice pentru testarea proteinelor din sânge, pentru echipamente de procesare a biomoleculelor în aplicații biotehnologice, pentru vectori de diagnostic genetic, în acvacultura scoicilor sau pentru "biochipuri", celulă-silicon de investigație. În aplicații medicale, biomaterialele sunt rareori izolate, ele fiind de cele mai multe ori integrate în dispozitive sau implanturi.

Indiferent de scopul aplicației, biomaterialele trebuie să îndeplinească două condiții fundamentale: biofuncționalitate și biocompatibilitate ridicate. Biofuncționalitatea se referă la abilitatea implantelor de a funcționa optim în aplicația pentru care au fost realizate. Pentru o bună funcționalitate trebuie luate în

considerare proprietăți mecanice precum: rezistența la rupere, tenacitatea la rupere, alungirea la rupere, limita de oboseală, modulul lui Young; proprietăți fizice precum densitatea în cazul implanturilor ortopedice sau expansiunea termică pentru cimenturi osoase și proprietăți de chimie a suprafețelor precum rezistența la degradare, oxidarea, coroziunea sau abilitatea de sudare cu țesutul osos [3].

Biocompatibilitatea este definită ca fiind abilitatea unui material de a interacționa cu organismul gazdă într-un mod corespunzător aplicației pentru care este utilizat [2].

2.1.1 Clasificarea biomaterialelor

Având în vedere proprietățile menționate anterior s-au identificat diferite materiale sintetice obținându-se astfel următoarele clase principale de biomateriale:

- I. Metale: oțeluri inoxidabile, titan, aliaje de titan, aliaje cobalt-crom, etc.;
- II. Ceramice: oxid de aluminiu (alumină), dioxid de siliciu, fosfați de calciu, Bioglass®, etc.;
- III. Polimeri: polietilenă UHMDPE, silicon, unele materiale naturale, etc.;
- IV. Materiale compozite: polimeri consolidați cu ceramice, ceramice consolidate cu metale, diferite ceramice combinate, etc.

Fiecare grupă de biomateriale poate fi clasificată în funcție de aceste patru categorii. Materialele naturale, precum valve de inimă de la animale, sunt formate din proteine și au o structură repetitivă asemănătoare polimerilor. Astfel, ele se consideră din categoria polimerilor.

Clasificarea biomaterialelor poate fi făcută și ținând cont de interacțiunea cu organismul gazdă:

- a. Materiale bioinerte: nu provoacă nici o reacție din partea organismului (ex. Oțel inoxidabil);
- b. Materiale bioactive: interacționează cu țesuturile înconjurătoare și formează legături (ex. Hidroxiapatita);
- c. Materiale biodegradabile: se degradează sub acțiunea unui agent biologic cum ar fi enzimele (ex. Acid polilactic);
- d. Materiale bioresorbabile/bioabsorbabile: resturile de material sunt îndepărtate de activitatea celulară, prin fagocitoză (ex. Acid poliglicolic);
- e. Materiale bioerodabile: se erodează prin procese fizice și chimice (ex. Poliortoester).

Alegerea materialului potrivit se face în concordanță cu funcțiunea care se dorește să fie înlocuită. Din păcate, nu există un biomaterial care să îndeplinească toate cerințele care se impun. De exemplu, în cazul aplicațiilor supuse încărcărilor de forțe (implanturi dentare sau de șold), cerințele mecanice pot fi satisfăcute doar de metale. În acest caz, aliajele de titan sunt cele mai promițătoare datorită rezistenței specifice ridicate și a modulului elastic scăzut [4]. Titanul are o tendință puternică de pasivare și formează rapid un strat subțire de oxid de titan în prezența oxigenului. Acest strat de oxid este puternic aderent și stabil și nu se distruge în condiții fiziologice normale. De asemenea, datorită acestui strat, nu există un contact direct între titan și țesuturile înconjurătoare și se împiedică astfel fenomenul

de coroziune a titanului [5]. Totuși, în pofida acestor proprietăți pozitive, titanul are o aderență scăzută la oase în comparație cu alte materiale precum fosfații de calciu a căror proprietăți mecanice sunt, din păcate, nesatisfăcătoare pentru aplicații de acest tip.

Cercetările recente, din domeniul biomaterialelor, se concentrează pe realizarea materialelor biomimetice/bionice (materiale cu proprietăți similare celor existente în organismele vii) și a materialelor biofuncționale (materiale complexe care emulează structuri funcționale ale organismului, cum ar fi fibra musculară).

2.1.1.1 Biomateriale metalice

Mulțumită excelentelor proprietăți mecanice și rezistenței la coroziune, unele metale sunt folosite drept substituenți pasivi pentru înlocuirea țesuturilor tari (implanturile totale de șold și genunchi), ca și implanturi la fracturi (plăci și tije), la dispozitive pentru fixarea coloanei, respectiv în implantologia dentară. Alte aliaje metalice au roluri mai active în implantologie, cum ar fi stenturile vasculare, fire de ghidaj pentru cateter, fire ortodontice și implanturi cohleare.

Biocompatibilitatea implanturilor metalice creează însă griji considerabile datorită faptului că acestea se pot coroda într-un mediu *in vivo* [6]. Slăbirea implantului prin dezintegrarea materialului propriu-zis al acestuia, respectiv efectele nocive ale compușilor chimici rezultanți asupra țesuturilor și organelor învecinate se numără printre consecințele coroziunii.

Metalele în stare pură sunt mai rar utilizate, aliajele acestora fiind mai des folosite datorită faptului că îmbunătățesc unele dintre proprietăți, cum ar fi rezistența la coroziune și duritatea.

Trei grupe de materiale domină grupa biomaterialelor metalice: oțelurile inoxidabile 316 L, aliajele de cobalt și titanul pur sau aliajele de titan.

a) Oțeluri inoxidabile

Primul tip de oțel inoxidabil folosit în implanturi a fost oțelul de vanadiu (18-8Va), dar rezistența la coroziune a acestuia nu a fost corespunzătoare. Pentru a-i mări rezistența la coroziune, în compoziția acestuia s-a adăugat molibden (18-8Mo), care mai târziu a devenit oțelul inoxidabil 316. În anii 1950, componența de carbon a oțelului inoxidabil 316 a fost redusă de la 0,08% la 0,03% din greutatea totală, cu scopul de creștere a rezistenței la coroziune. Astăzi, acest oțel poartă numele de **oțel inoxidabil 316L** și conține o cantitate de 0,03% carbon, 2% magneziu, 17-20% crom, 12-14% nichel, 2-4% molibden și alte elemente în cantități mai mici cum ar fi fosforul, sulfurul și siliciul.



Figura 2.1 Șurub implantabil din oțel inoxidabil – producător Horst Engineering

Stratul pasiv (rezistent la coroziune) al acestor oțeluri nu este la fel de robust ca în cazul aliajelor de titan. Din această cauză, oțelurile inoxidabile sunt folosite doar la realizarea implanturilor medicale temporare cum ar fi șuruburile de fixare și tijele ortopedice pentru fixarea fracturilor. Aceste oțeluri pot fi ecruisate prin prelucrare la rece. *Procesul de ecruisare* este bazat pe efectul inducerii unor tensiuni de compresiune în suprafața piesei metalice printr-o sablare controlată. Prin acest tratament se mărește rezistența la oboseală și, de asemenea, durata de viață a piesei.

Tabel 2.1 Proprietățile mecanice ale oțelului inoxidabil 316L [8]

Stare material	Rezistența de rupere la tracțiune, [Mpa]	Rezistența minimă la rupere (0,2%Rp _{0.2}), [Mpa]	Alungirea minimă la rupere [%]	Duritate Rockwell [HRB]
Tratat termic	485	172	40	95
Deformat la rece	860	690	12	-

Structura cristalină poate fi de asemenea o caracteristică importantă în cazul dispozitivelor ortopedice specifice, cum ar fi șuruburile pentru fixarea oaselor fabricate din oțelul 316L. În acest context structura cristalină se referă la o anumită orientare preferată a grăunților deformați. În secțiuni metalografice longitudinale ale șuruburilor din oțel inoxidabil se pot observa grăunți alungiți. Orientarea grăunților rezultă în urma proceselor de prelucrare la rece la care sunt supuse semifabricatele (bare trase) din care de regulă sunt fabricate șuruburile.

b) Aliaje pe bază de Co-Cr

Există 2 tipuri de aliaje Co-Cr: (1) aliajul CoCrMo obținut prin turnare și (2) aliajul CoNiCrMo care este obținut în mod normal prin prelucrare la cald. Aliajul turnat CoCrMo a fost folosit de-a lungul multor decenii în stomatologie și în

executarea articulațiilor artificiale. Aliajul CoNiCrMo prelucrat la cald este utilizat pentru realizarea stâlpului de susținere a protezelor supuse la solicitări mecanice mari ca și cele de genunchi și șold.



Figura 2.2 Implant placă tibială din CoCr - Natural Knee, producător Zimmer

Cele două elemente de bază ale acestor aliaje formează o soluție solidă de până la 65% Co. Molibdenul este adăugat micșorarea granulației care mărește rezistența mecanică după turnare și prelucrare. Cromul mărește rezistența la coroziune și rezistența finală a soluției solide.

Aliajul CoNiCrMo conține aproximativ 35% Co și 35% Ni. Aliajul este extrem de rezistent la coroziune în contact cu apa marină (care conține ioni de clor) când este supus la solicitări. Prelucrarea la rece poate mări rezistența mecanică considerabil. Totuși există dificultăți în prelucrarea la rece a acestui aliaj, în special când se realizează dispozitive de dimensiuni mari ca și tija implantului de șold. Doar prelucrarea la cald se poate utiliza pentru fabricarea pieselor de dimensiuni mari din acest aliaj.

Rezistența ridicată la rupere și la oboseală a aliajului CoNiCrMo îl fac potrivit pentru aplicații care necesită o perioadă lungă de viață fără a se fractura sau a se degrada la oboseală, precum este nevoie în cazul implanturilor de șold. Acest avantaj este important atunci când luăm în considerare cât este de dificilă înlocuirea implantului de șold deoarece acesta este înglobat în canalul medular. Astfel se explică de ce după revizie implantarea șoldului nu oferă aceleași satisfacții ca la intervenția inițială, în special datorită unei fixări mai slabe.

În tabelul de mai jos sunt prezentate proprietățile mecanice ale aliajelor CoCr. Pe lângă aceste proprietăți aliajele CoCr prezintă o foarte bună rezistență la

coroziune. Dacă se impune o creștere a rezistenței la întindere va rezulta o scădere a ductilității aliajului.

Tabel 2.2 Proprietățile mecanice necesare pentru aliajele de CoCr [9]

Proprietăți	CoCrMo	CoCrWNi	CoNiCrMo	
			Călit	Lucrat la rece
Rezistența la rupere [Mpa]	655	860	763-1000	1793 min.
Limita de curgere [Mpa]	450	310	240-655	1585
Elongație [%]	8	10	50	8
Gâtuirea [%]	8	-	65	35
Rezistența la oboseală [Mpa]	310	-	-	-

Resturile metalice eliberate din proteze datorită uzurii, coroziunii pot afecta organe și țesuturi locale. Studiile au arătat că în special cobaltul este toxic pentru celulele osteoblaste și inhibă sinteza de colagen tip I, osteocalcin și fosfataza alcalină [10].

Modulul de elasticitate a aliajelor CoCr prezintă valori între 220 și 234 Gpa, valori mai mari decât a altor biomateriale precum oțelul inoxidabil. Acest fapt poate avea influență asupra modurilor diferite de transfer a încărcării către os în articulațiile artificiale, deși studiile nu au clarificat legătura între un modul crescut și longevitatea fixării implanturilor. S-a observat o uzură scăzută a articulațiilor artificiale metal-metal în cazul acestor aliaje datorită proprietăților de duritate și reziliență ridicate [11].

c) Aliaje pe bază de Titan

Rezistența ridicată, greutatea scăzută și rezistența deosebită la coroziune determină utilizarea cu succes a titanului și aliajelor sale într-o diversitate de aplicații de o fiabilitate ridicată atât în mediul medical cât și în alte ramuri industriale precum automotive, industria chimică, extracții petroliere, sport. Astfel, în prezent titanul pur și aliajele sale sunt cele mai des utilizate biomateriale în fabricarea implanturilor.



Figura 2.3 Șuruburi dentare din titan - producător Dentatus

Suprafața implanturilor de titan constă dintr-un strat subțire de oxid a cărui microarhitectură și compoziție chimică este de o importanță ridicată din mai multe motive. Natura fizică a suprafeței determină aderența implantului la țesutul înconjurător, iar compoziția chimică a acestui strat permite diferite tipuri de atașament a biomoleculelor prin reacții chimice. Datorită acestei proprietăți de pasivare a titanului, implanturile din acest metal sunt foarte bine tolerate de organism deoarece stratul de oxid are rol de barieră între țesut și particulele de titan de sub strat. Interacțiunea între țesut și suprafață este dinamică, în special imediat după implantare până atinge un cvasiechilibru [12], [13].

Tabel 2.3 Proprietățile mecanice ale titanului și ale aliajelor sale [14]

Proprietate	Ti pur Gradul 1	Ti pur Gradul 2	Ti pur Gradul 3	Ti pur Gradul 4	Ti6Al4V	Ti13Nb13Zr
Rezistența la rupere [Mpa]	240	345	450	550	860	1030
Limita de curgere [Mpa]	170	275	380	485	795	900
Elongația [%]	24	20	18	15	10	15
Gâtuirea [%]	30	30	30	25	25	45

Proprietățile mecanice ale titanului sunt puternic influențate de conținutul de 20xygen din material. Spre exemplu un conținut de 0,27% 20xygen determină o rezistență de rupere la oboseală de 216 Mpa, pe când pentru același număr de cicluri la un procentaj de 20xygen de 0,40% rezistența de rupere la oboseală devine aproximativ 88 Mpa [15]. Totuși, prezența oxigenului în compoziția titanului are dezavantajul că scade prelucrabilitatea titanului.

Prezența altor elemente precum oxigenul, carbonul, azotul poate îmbunătăți proprietățile mecanice ale titanului. Azotul are efect de durificare a titanului asemenea oxigenului cu rezultate aproape duble.

Ti-6Al-4V este un aliaj al titanului ale cărui proprietăți depind de proporțiile fazelor alfa și beta, rezultate în urma tratamentelor la care a fost supus materialul. Pentru a stabili faza alfa se folosește aluminiul, iar pentru a stabili faza beta se introduce vanadiul.

Atunci când aliajul este încălzit până în domeniul fazei beta (peste 1000°C), iar apoi este răcit lent la temperatura ambiantă faza alfa precipită în graunții de fază beta. Dacă răcirea se face rapid se obține o împletire a celor două faze. Uzual aliajul se încălzește și se prelucrează la temperaturi apropiate de temperatura de formare a fazei beta, iar apoi se recoace pentru a obține o structură fină a graunților. Folosind acest procedeu, materialul rezultat, are o rezistență de rupere la oboseală ridicată.

TiNi, un aliaj cu memoria formei, este unul din cele mai speciale aliaje adoptate în industria implanturilor. În ciuda reticențelor cauzate de procentul ridicat de nichel, aliajul se comportă din punct de vedere al biocompatibilității similar cu titanul pur.

d) Alte metale

În anumite aplicații se folosesc și alte metale, precum tantalul a cărui structură este foarte asemănătoare cu cea a osului. Aplicațiile tantalului sunt totuși limitate datorită proprietăților mecanice scăzute și a densității ridicate.

Metalele din grupul platinei precum Pt, Pd, Rh, Ir, Ru și Os sunt extrem de rezistente la coroziune dar au proprietăți mecanice scăzute [16]. Sunt în principal folosite pentru electrozi datorită conductivității electrice bune.

De asemenea, diferite metale se folosesc pentru acoperirea implanturilor prin procedee precum pulverizarea cu jet de plasmă, implantarea de ioni, depunere chimică și fizică și depunere în pat fluidizat [17].

2.1.1.2 Biomateriale polimerice

Polimerii sunt potriviți pentru aplicații biomedicale datorită proprietăților lor diverse, respectiv pentru că sunt similari materialelor naturale, cum ar fi matricele extracelulare bazate pe proteine. De exemplu, doar printr-o mică variație la legăturile chimice sau la structură, polimerii pot fi flexibili sau rigizi, respectiv pot avea rezistență mare sau mică. În funcție de modificările suprafeței, resping legăturile cu proteine sau, din contră, sunt predispuse la acestea. Polimerii pot fi biodegradabili sau permanenți, putându-se forma în structuri complexe folosind numeroase tehnologii de fabricație.



Figura 2.4 Cupă acetabulară din UHMWPE - producător Ortho Development

Printre dezavantajele polimerilor se numără rezistența lor inferioară metalelor sau ceramicelor, respectiv tind să se deformeze în timp. Anumite tipuri de polimeri se pot deteriora în cursul procesului de sterilizare și se pot descompune în corp în mod catastrofal, sau prin eliberarea unor compuși toxici [18]. Prin urmare, examinarea înainte și după implantare a devenit procedura standard în cazul dezvoltării oricărui nou dispozitiv medical fabricat din polimeri.

Tabel 2.4 Aplicații ale polimerilor [19], [20]

Aplicații	Polimeri
Implanturi cardiovasculare	Polietilena, polivinil, policlorhidră, poliester, cauciuc siliconal, politetrafluoritlenă
Implanturi ortopedice	Polietilenă, polimetil, polimetacrilat,
Farmaceutică (ambalaje medicamente)	Polilactite, policoglicoide
Țesuturi artificiale	Acid polilactic, acid poliglicol, polilactidă, policoglicoide

Marile macromolecule din compoziția polimerilor disponibili în comerț sunt sintetizate prin combinarea mai multor (poli) molecule (meri) mai mici printr-un proces denumit *polimerizare*. Polimerizarea poate fi de două feluri: polimerizare prin adiție (sau reacție în lanț), atunci când monomerii sunt atașați unul câte unul, respectiv polimerizare prin condensare (reacție în trepte), atunci când mai multe lanțuri de monomeri sunt combinate și se generează un produs secundar, cum ar fi apa. În scopul îmbunătățirii proprietăților mecanice, chimice și fizice, în sintetizarea polimerilor se folosesc aditivi cum ar fi agenți de umplere, plastifianți, stabilizatori și coloranți [21]. În momentul de față este cunoscut faptul că unii aditivi folosiți în fabricarea recipientilor din plastic pentru apă provoacă dereglări hormonale sau sunt cancerigeni, acesta fiind un exemplu clar pentru care aditivii polimerilor folosiți în aplicații biomedicale trebuie să fie atent verificați înainte de implantarea într-un pacient.

Proprietățile mecanice ale materialelor polimerice depind de mai mulți factori, și anume compoziția și structura lanțurilor macromoleculare precum și masa

atomică a acestora. Tabelul de mai jos redă câteva din cele mai importante proprietăți ale unor biomateriale polimerice.

Tabel 2.5 Proprietățile polimerilor biomedicali [20]

Polimer	Absorbția de apă [%]	Modulul de elasticitate [Gpa]	Rezistența la rupere [Mpa]	Elongația la rupere [%]	T _g [K]	T _m [K]
Polietilenă	0.001-0.02	0.8-2.2	30-40	130-500	160-170	398-408
Polipropilenă	0.01-0.035	1.6-2.5	21-40	100-300	243-270	433-453
Polidimetil-siloxan	0.08-0.1	-	3-10	50-800	148	233
Poliuretan	0.1-0.9	1.5-2	28-40	600-720	200-250	453-523
Politetrafluoro-etilen	0.01-0.05	1-2	15-40	250-550	293-295	595-600
Polivinil-clorură	0.04-0.75	3-4	10-75	10-400	250-363	423
Poliamidă	0.25-3.5	2.4-3.3	44-90	40-250	293-365	493-540
Polimetil-metacrilat	0.1-0.4	3-4.8	38-80	2.5-6	379-388	443
Policarbonat	0.15-0.7	2.8-4.6	56-75	8-130	418	498-523
Polietilen-tereftalat	0.06-0.3	3-4.9	42-80	50-500	340-400	518-528

Proprietățile de tracțiune ale polimerilor pot fi caracterizate de comportamentul lor la deformare. Polimerii amorfi, cu structură de cauciuc sunt moi și extinderea lor este reversibilă. Libertatea de mișcare a lanțului polimeric este limitată local, pe când structura rețelei rezultate din împletirea lanțurilor previne mișcarea sau curgerea la scară macro. Astfel, polimerii cu structură de cauciuc au de obicei rigiditate scăzută și o extensibilitate de câteva sute de procente. Materialele de cauciuc prezintă o creștere a tensiunii înainte de rupere datorită cristalizării și a reorientării moleculare în direcția tensiunii. Polimerii sticloși și semicristalini au rigiditate mai mare și o extensibilitate mai scăzută.

Proprietățile mecanice maxime la deformație ale polimerilor sunt importante în selecția unui material specific pentru aplicații medicale. Comportarea la oboseală este de asemenea importantă pentru evaluarea aplicațiilor. De exemplu, polimerii folosiți în inima artificială trebuie să reziste la multe cicluri de mișcări pulsatile.

Materialele polimerice pot fi clasificate drept *termoplastice* respectiv *termorigide*. Un polimer termoplastic are structură liniară sau ramificată. În stare solidă se aseamănă unei farfurii cu spaghetti, lanțurile putând aluneca unele peste altele. Odată încălzite, lanțurile alunecă mai ușor, polimerul curgând sau topindu-se. Prin urmare, polimerii termoplastici pot fi încălziți, topiți, turnați și reciclați. Proprietăți diferite pot fi obținute prin adăugarea anumitor liganzi. PVC este mai rigid decât PE datorită faptului că atomii de clor sunt mai mari și împiedică alunecarea moleculelor peste celelalte. Polimetilmetacrilat (PMMA) este mult mai rigid și casant decât UHMWPE, din cauza faptului că doi dintre atomii de hidrogen sunt înlocuiți, unul cu un grup metilic (CH₃), iar celălalt cu un grup acrilic (COOCH₃). Creșterea rezistenței și a modulului de elasticitate se poate explica prin faptul că

aceste grupuri de dimensiuni mari fac alunecarea mult mai anevoioasă. De asemenea, orientarea tipic cristalină a moleculelor este și ea implicată, astfel PMMA (plexiglas-ul) are structură amorfă, prin urmare este transparent.

Polimerii termoplastici se pot degrada în corpul uman printr-o reacție de hidroliză, în cursul căreia apa provoacă descompunerea lanțului de polimer. Poly (D,L-lactide-coglicolide) sau PLGA este un poliester termoplastic care se regăsește în majoritatea instrumentelor medicale, cum ar fi suturile chirurgicale respectiv șuruburile și plăcile ortopedice de fixare. Suturile din vicril sunt realizate dintr-un copolimer al PLGA, acesta fiind compus în proporție de 90:10 din acid glicolic respectiv lactic. Acidul poliglicolic se absoarbe mai repede decât acidul polilactic, iar prin variația raportului acizilor amintiți în copolimer, expertul în biomateriale poate ajusta compoziția astfel încât să se ajungă la rata dorită de descompunere. În timpul descompunerii PLGA se eliberează compuși prezenți în mod normal în corpul uman, dar care provoacă o scădere locală a pH-ului, ceea ce poate împiedica formarea de țesuturi noi.

Spre deosebire de cele prezentate anterior, un polimer termorigid este compus din lanțuri reticulate. Aceștia se descompun mai degrabă decât să se topească cu creșterea temperaturii. Termenul *rigid* presupune existența unei reacții chimice, de multe ori implicând schimb de căldură, care duce la rigidizarea materialului într-o structură reticulată tridimensională. Un exemplu uzual pentru asemenea materiale este „rășina epoxy 5-minute”. Când două părți sunt amestecate, catalizatorul provoacă rigidizarea rășinii într-o structură reticulată. Odată rigidizat, nu mai poate fi încălzit pentru reutilizare [22]. Gradul de reticulare influențează direct proprietățile mecanice. Folosind rășini cu grad scăzut de reticulare se fabrică mănușile de cauciuc, respectiv cu un grad și mai ridicat și adăugând mai mult sulf se obțin anvelope pentru autovehicule. Cu un grad și mai mare de reticulare se pot obține structuri rigide de exemplu pentru fabricarea carcaselor bateriilor auto.

Datorită multitudinii aplicațiilor în domeniul biomedical, hidrogelii, structuri polimerice reticulate destinate pe bază de apă, au fost studiați extensiv în ultima perioadă. Hidrogelii sunt obținuți prin reticularizarea lanțurilor polimerice aflate într-o soluție apoasă, cu ajutorul radiațiilor sau prin metode chimice, în scopul realizării unei rețele polimerice completate cu molecule de apă. Cel mai des utilizat hidrogel este polihidroxietilmetacrilat (PHEMA) reticulată. PHEMA are conținut de apă similar cu cel al țesuturilor vii, rezistă la degradare, nu se absoarbe în corp, rezistă la sterilizarea termică fără degradări și se poate realiza într-o varietate largă de forme și dimensiuni. Aplicații ale hidrogelilor sunt lentilele de contact, capsule pentru transportul medicamentelor, materiale adezive pentru vindecarea rănilor, materiale pentru reconstrucția organelor genitale, membrane de rinichi artificial și materiale pentru înlocuirea corzilor vocale. Gradul de reticulare este un parametru critic în cazul hidrogelilor, determinând raportul de destindere și rezistența mecanică [23].

O multitudine de tehnologii sunt aplicate pentru obținerea instrumentelor medicale bazate pe polimeri. Tehnologia folosită depinde de o serie de factori, cum ar fi caracterul termoplastic sau termorigid al materialului, iar în cazul termoplastic, de temperatura de curgere. Polimerii termorigizi trebuie pregătiți în formă lichidă liniară și turnați într-o matrită. După acest pas nu mai pot fi supuse la niciun procedeu de formare. În schimb, polimerii termoplastici pot fi prelucrați repetat (prin comprimare, injectare, extrudare, etc), turnați și formați în fibre sau pelicule prin extrudare urmată de ambutisare sau laminare cu scopul îmbunătățirii proprietăților mecanice, cum ar fi rezistența la rupere [21].

Abilitatea de a forma structuri complexe și posibilitatea de a controla proprietățile materialului la diferite scări, respectiv faptul ca sunt degradabili, fac din polimeri alegerea numărul unu în ceea ce privește materialele pentru ingineria țesuturilor.

Proprietățile mecanice, chimice și fizice ale materialelor polimerice sunt de o relevanță ridicată pentru performanța diferitelor aparate utilizate în clinicile medicale. Polimerii reprezintă o familie diversă și mare de materiale care prezintă caracteristici ce le permit utilizarea în aplicații atât pentru țesuturi moi cât și țesuturi tari. Mulți cercetători au modificat cu succes proprietățile chimice și biologice ale polimerilor, prin imobilizarea anticoagulanților precum heparina sau proteinelor precum albumina, pentru a lărgi spectrul lor de aplicații [23], [24].

2.1.1.3 Biomateriale ceramice

Bioceramicele și biosticla sunt materiale ceramice biocompatibile [25]. Bioceramicele sunt folosite pentru o varietate mare de aplicații, de la oxizi ceramici inerti implantați în organism, până la materiale resorbabile. Totuși aplicația lor principală este pentru implanturi dentare și ortopedice [26].



Figura 2.5 Implant de șold ceramică-ceramică - producător Finsbury Orthopaedics

Spre deosebire de metale și polimeri, ceramicele sunt greu de deformat plastic datorită naturii ionice și covalente a legăturilor și a numărului mic de sisteme de alunecare. Aceste caracteristici fac ca ceramicele să fie nonductile și sunt responsabile pentru deformarea prin alunecare aproape inexistentă la temperatura ambiantă [27].

Conductivitatea electrică și termică a acestor materiale se explică prin legăturile interatomice de tip ionic. De asemenea slaba mobilitate a dislocațiilor explică proprietatea de plasticitate redusă. Această lipsă a plasticității conferă ceramicelor proprietatea de fragilitate care determină materialele ceramice să își păstreze forma și dimensiunile până la rupere.

Ceramicele sunt foarte sensibile în privința microfisurilor deoarece în loc să se deformeze plastic fisurile se propagă formând fracturi. Astfel, la punctul de inițiere a crăpăturii se formează un concentrator de tensiune care slăbește materialul considerabil. De aceea este greu să se estimeze rezistența la rupere a materialului ceramic. Tot din acest considerent bioceramicele au rezistență de rupere la tracțiune scăzută comparativ cu rezistența de rupere la compresiune. Dacă

totuși, o ceramică este fără defecte este un material foarte puternic chiar și supus unor încărcări mari. Fibrele de sticlă fără defecte au rezistența la rupere mai mare decât oțelul de rezistență ridicată [27].

Ceramicile sunt de obicei dure. Măsurarea durtății acestora se face tot prin calibrare cu materiale ceramice. Diamantul este cel mai dur material ceramic, iar talcul este cel mai puțin dur. Materialele ca alumina și cuarțul au valori ale durtății în acest interval.

Alte caracteristici ale materialelor ceramice sunt temperatura ridicată de topire și conductivitate scăzută la temperatură și electricitate. Aceste caracteristici se datorează legăturilor chimice din ceramice.

Tabel 2.6 Proprietățile mecanice ale unor bioceramice de referință [19]

Materiale	Alumina	Biosticla	Fosfat de calciu	Carbon pirolitic
Modulul Young[Gpa]	380	22	40-117	18-28
Rezistența la compresiune [Mpa]	4500	500	510-896	517
Rezistența de rupere la tracțiune [Mpa]	350	56-83	69-193	280-560

Pentru a fi considerate bioceramice, materialele ceramice trebuie să fie nontoxice, noncarcinogenice, nonalergenice, noninflamatoare, biocompatibile, biofuncționale pe toată perioada de viață a dispozitivului pentru care au fost utilizate.

Categoriile de bioceramice sunt: ceramice bioinerte sau neabsorbabile, ceramice absorbabile, ceramice bioactive.

Bioceramicele bioinerte prezintă o bună comportare la coroziune, valori ridicate ale densității, modulului lui Young, a durtății. Din cadrul acestor ceramice fac parte alumina (Al_2O_3) și oxidul de zirconiu (ZrO_2). Ele sunt de obicei folosite în cazul implanturilor ortopedice, implanturilor dentare și în chirurgia maxilo-facială.

Bioceramicele absorbabile au ca principal component fosfații de calciu sub diferite modificări structurale. Datorită solubilității acestora, care asigură degradarea ionică, ele sunt utilizate în aplicații care stimulează creșterea oaselor pe material. Problema cea mai frecventă în privința acestor ceramice este corelarea ratei de dizolvare a materialului cu viteza de creștere a țesutului osos din jurul implantului.

Bioceramicele bioactive sunt formate din fosfați și sticle ceramice. Se folosesc de obicei pentru acoperirea implanturilor, tijelor și șuruburilor de fixare, pentru a permite țesutului uman să adere la suprafața implantului. Din această categorie fac parte hidroxiapatita și bioglass-ul. Ele formează legături care permit transferul solicitărilor de întindere și forfecare de-a lungul interfeței țesut-implant, proprietate ce vine în avantajul ancorării implantului la țesutul înconjurător.

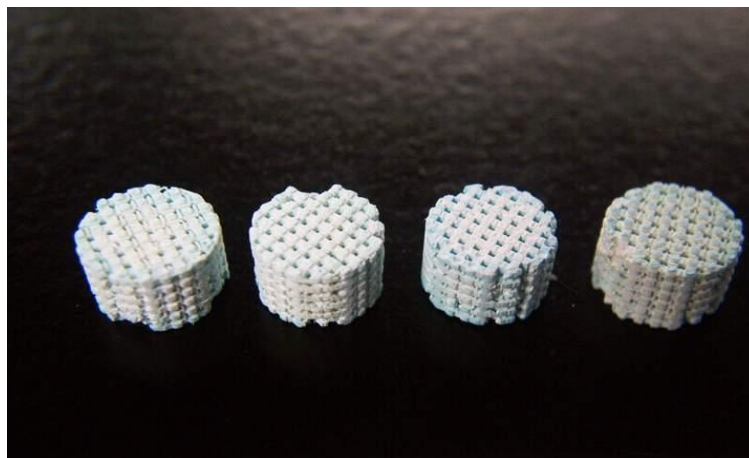


Figura 2.6 Bioglass- structură scaffold

A patra grupă este reprezentată de *ceramice pe bază de carbon* cu diferite structuri, în funcție de tehnologia de procesare. Principalul avantaj al acestei grupe de materiale este că sunt total inerte față de țesutul viu. Din această grupă fac parte carbonul, carburile și nitruurile de carbon.

Bioceramicele nu sunt supuse coroziunii dar se pot degrada în mediul fiziologic în funcție de tipul materialului, după cum se arată în clasificarea de mai sus. Chiar și alumina, care este considerată în general un material bioinert, își schimbă proprietatea de rezistență mecanică când este inserată într-un mediu salin. Ceramicele bioactive cât și materialele sticloase sunt degradabile în organismul uman ele fiind absorbite datorită activității osteoblastelor (celule răspunzătoare cu modelarea țesutului osos). Acest fenomen are loc deoarece particulele de fosfat de calciu se aseamănă cu particulele minerale ale țesutului osos [22].

Alumina, cel mai utilizat material al categoriei de ceramice bioinerte are proprietăți mecanice foarte bune, dar asemenea tuturor ceramicelor are o rezistență la rupere scăzută în comparație cu metalele. Totuși avantajul principal al aluminei este faptul că are un coeficient de frecare scăzut și o rezistență mare la uzare.

Hidroxiapatita și sticla bioactivă sunt la polul opus privind proprietățile mecanice, față de alumina. De aceea, acestea sunt utilizate în aplicații care necesită un proces de osteointegrare.

Există metode speciale care simulează condiții simultane de tensiune, uzare și mediu coroziv, pentru a determina comportarea bioceramicelor pe termen lung, într-un mediu biologic. Astfel se pot determina aplicațiile cele mai potrivite pentru fiecare categorie. Totuși, în ultima perioadă, acolo unde bioceramicele nu reușesc să îndeplinească toate cerințele, se folosesc compozite ceramice care aduc cu sine avantajele ceramicelor îmbinate cu anumite proprietăți de la celelalte faze din compozit.

2.1.1.4 Biomateriale compozite

Materialele compozite sunt compuse din două sau mai multe părți distincte. Cu toate că și materialele pure pot avea subunități structurale distincte, cum ar fi grăunții sau moleculele, termenul *compozit* se folosește exclusiv în cazul unor materiale compuse din doi sau mai mulți constituenți distincți din punct de vedere

chimic, separați de o interfață clar identificabilă. Exemple de materiale compozite folosite în aplicații biomedicale sunt: polietilenă ranforsată cu fibre de carbon și polimeri pe bază de acid polilactic ranforșați cu particule de hidroxiapatită, pentru aplicații de vindecare osoasă. Faza discontinuă se numește material de ranforsare deoarece este de regulă mai rezistentă decât faza continuă.

Pentru situații în care se dorește absorbția unuia dintre componenții din compozit, se realizează compozite cu matrice absorbabile. Se utilizează pentru aplicații când este necesară administrarea de medicamente pentru a expune suprafețe unor țesuturi [28]. Motivele principale pentru utilizarea acestor compozite sunt de a obține proprietăți mecanice care variază în timp și de a asigura dizolvarea completă a unor piese pentru a elimina preocupările cu biocompatibilitatea. Un exemplu tipic este folosirea compozitelor absorbabile pentru fixarea fracturilor [29].

Compozitele cu matrice neabsorbabilă sunt de obicei folosite în implanturi care trebuie să ofere proprietăți mecanice specifice care nu pot fi obținute cu materiale omogene. Spre exemplu, în cimenturi s-au utilizat particule și bucăți de fibre pentru a întări și durifica structuri care sunt supuse unor solicitări mari.

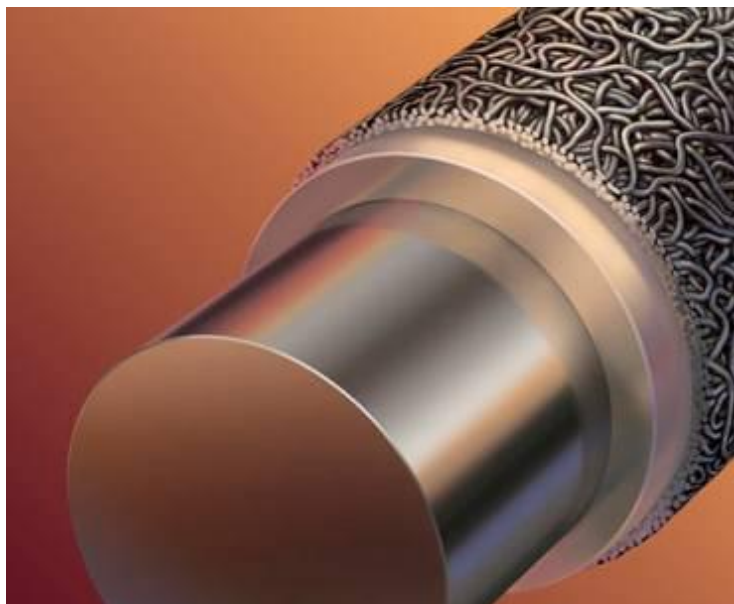


Figura 2.7 Componentă a protezei de sold ranforsată cu fibre de metal Reed Sprunger©

Materialele compozite se pot folosi cu succes la fabricarea unor instrumente la care este necesară o combinație de proprietăți mecanice imposibil de obținut în cazul unor materiale pure, cum ar fi protezele totale de șold, plombele dentare și plăcile pentru oase. Marele avantaj al compozitelor constă în posibilitatea proiectării proprietăților astfel încât să corespundă exact aplicației dorite; cu toate acestea, este practic imposibilă crearea unui compozit cu o structură perfectă. De regulă apar probleme legate de dispersia celei de-a doua faze sau prezența unor legături slabe dintre cele două faze, ceea ce conduce la scăderea proprietăților mecanice și implicit la eficiență redusă a produsului finit. În ciuda acestor probleme, în cele mai multe

cazuri proprietățile compozitelor sunt totuși net superioare biomaterialelor pure, prin urmare devin tot mai des utilizate în aplicații biomedicale.

Proprietățile unui compozit depind de forma neomogenităților, de volumul ocupat de ele și de interfața dintre constituenți. Geometria materialului de ranforsare se clasifică în: particule, fără dimensiuni lungi, fibre, cu o dimensiune lungă, și plăcuțe cu două dimensiuni lungi. Incluziunile pot varia în mărime și formă în cadrul categoriei. De exemplu, incluziunile de particule pot fi sferice, elipsoide, poliedrice sau neregulate. Particulele au o natură nefibroasă și sunt aproximativ echiaxiale.

Fibrele sunt materiale de ranforsare a căror lungime este mult mai mare decât secțiunea. Laminele sunt structuri compozite care se formează prin suprapunerea fibrelor sau a plăcilor după o orientare care să producă un element structural. Caracteristicile și numărul plăcilor sunt astfel alese încât să corespundă cerințelor de proiectare. Din punct de vedere mecanic, fibrele sunt mult mai efective față de particule. Compozitele cu fibre de polimer pot avea o reziliență sau o rezistență comparabilă cu cea a metalelor sau chiar mai mare. De asemenea, ce trebuie remarcat este că materialele compozite ranforsate cu particule sunt izotropice pe când cele ranforsate cu fibre sunt anizotrope.

Pentru a îndeplini anumite cerințe se caută realizarea compozitelor cu proprietăți diferite pe direcții diferite. La nivel molecular, țesuturile din oase, tendoane, vase de sânge sunt compozite cu proprietăți anizotropice, iar singura metodă de a le substitui este prin materiale compozite.

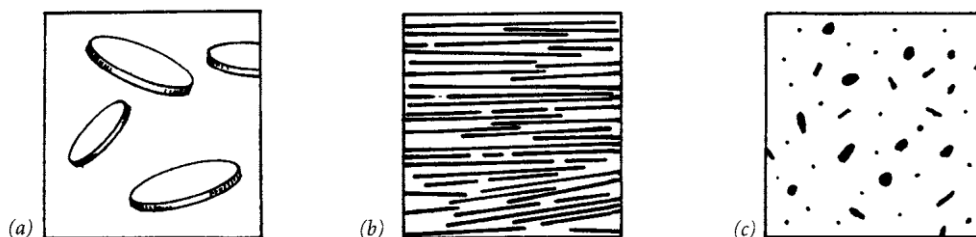


Figura 2.8 Incluziuni folosite în materiale compozite: (a) particule, (b) fibre, (c) plăcuțe (platelet) [22]

Deși fiabilitatea și biocompatibilitatea compozitelor sunt problematice, ele oferă avantaje unice privind proiectarea și fabricarea lor. Aceste avantaje pot fi utilizate pentru construirea de proteze isocompliant pentru artere [30] sau plăcuțe de fixare și șuruburi cu o rigiditate controlată [31]. Și proprietatea lor de radioluminescență se dovedește a fi de mare importanță pentru anumite aplicații precum fixarea fracturilor, deoarece astfel se poate urmări fractura prin imagistica cu raze X.

Compozitele polimerice sunt materialele ideale pentru orteze și proteze ortopedice datorită acestor proprietăți de flexibilitate a proiectării și rezistenței, întrucât se pot realiza astăzi proteze pentru persoane cu performanțe atletice [32].

Materialele compozite se realizează prin amestecarea a doi constituenți, urmată de turnarea, compactarea sau supunerea lor la o reacție chimică. Dacă faza primară de ranforsare este alcătuită din fibre, de regulă se acoperă sau se impregnează cu cealaltă fază, astfel încât compozitul să poată fi încălzit și presat pentru a se ajunge la densitatea dorită. O altă modalitate de a obține compozite este printr-o reacție chimică, atunci când a doua fază se crează chiar în timpul

reacției. În cazul formării unor tuburi de înaltă rezistență, se utilizează procedeul înfășurării unui filament în jurul unui miez, urmat de densificarea structurii.

Biocompozitele au proprietăți speciale care nu permit folosirea directă a materialelor existente în industrie. De cele mai multe ori compozitele se proiectează particular pentru fiecare aplicație în parte. Acest fapt duce la costuri suplimentare, un dezavantaj ce se adaugă la problemele de biocompatibilitate a biocompozitelor.

Datorită costului ridicat, biocompozitele sunt probabil singurele biomateriale care se proiectează și fabrică exclusiv pentru dispozitive medicale.

2.1.1.5 Biomateriale naturale. Țesutul osos

Materialele naturale sunt sintetizate de un organism sau plantă și sunt de regulă mai complicate din punct de vedere chimic și structural decât materialele sintetice.

Proteinele și polizaharidele reprezintă de fapt polimerii produși de natură, putând fi astfel clasificate în categoria polimerilor. Proteinele, grupul principal de molecule care fac viața posibilă, sunt construite din lanțuri lungi formate din doar 20 de aminoacizi legați între ei de peptide. Proteinele au nenumărate funcții în corpul uman. Pot avea rolul de enzime care catalizează mii de reacții chimice importante esențiale pentru viață. Moleculele de semnalizare ale celulelor (cell signaling molecules), responsabile pentru migrarea celulelor sunt formate din proteine. Proteinele sunt elementele de construcție ale matricii extracelulare de suport a mai multor țesuturi. Schimbări ale nivelului de proteine sau în structura lor conduc la funcționare defectuoasă, cauzând prin urmare multe boli. Implantarea unui produs natural confecționat din proteine este de dorit în detrimentul polimerilor sintetici, tocmai datorită capacității proteinelor de a comunica cu celulele vii.

Legăturile direcționale din proteine dau naștere unor proprietăți mecanice ridicate ale polimerilor naturali. De exemplu, rezistența la rupere a mătăsii este mai mare decât a nylon-ului tras, unul dintre cei mai rezistenți polimeri sintetici. Mai mult decât atât, modulul de elasticitate al mătăsii este de 13 ori mai mare decât valoarea corespunzătoare nylon-ului. La fel ca în cazul polimerilor sintetici, gradul de reticulare afectează semnificativ proprietățile mecanice. De exemplu, elastina, care se găsește în pielea umană, este compusă din proteine înfășurate cu puține legături reticulare. Această caracteristică structurală conferă elastinei flexibilitate mult mai mare decât a colagenului de tip I, care se găsește în oasele umane și care este formată din molecule tip bară asamblate într-o structură cristalină repetitivă cu grad ridicat de reticulare.

În aplicațiile biomedicale se mai folosesc și materiale ceramice naturale. Ceramicele naturale sunt de regulă pe bază de calciu, cum ar fi cristalele osoase din fosfat de calciu purificat sau corali din carbonat de calciu, ambele materiale fiind utilizate în aplicații ortopedice pe post de înlocuitor de material osos. Osul intact este de fapt un compozit compus din material ceramic natural și polimeri naturali, ceea ce face ca osul să fie mult mai rezistent la fisurare decât ceramicele sintetice, datorită structurii sale multistrat, care împiedică propagarea fisurilor. Cristalele ceramice mici sunt aliniate cu precizie și sunt separate de straturi subțiri de material de bază organic, care formează astfel interfața dintre cristale. Propagarea unei fisuri în acest material este foarte anevoioasă tocmai datorită faptului că trebuie să urmărească conturul neregulat al interfeței dintre cristale.

Țesutul osos – compozit natural

Compoziția țesutului osos este aproximativ 60% materie anorganică, 30% organică și 10% apă, cu ușoare variații, în funcție de vârstă, sex, tipul de os și starea fiziologică a organismului. Celulele osoase sunt intergate într-o matrice fibroasă de proteine întărită prin mineralizare. Acest fapt îi conferă osului caracter de compozit. El poate fi considerat ca fiind format din materie celulară (15%) și o matrice extracelulară (85%).

Celulele osoase, osteoblastele și osteocitele, sunt responsabile de procesele de sinteză, modelare, întreținere și remodelare. Pentru a obține proprietățile mecanice caracteristice osului, precum duritate și rezistență se dezvoltă matricea extracelulară [33].

Osteoblastele sunt celule mononucleate de formă cubică sau cilindrică ce comunică între ele și se formează în măduvă. Ele au rolul de a controla mineralizarea și de a sintetiza proteinele necesare bunei dezvoltări a țesutului osos. Poziția lor este în exteriorul osului. După realizarea funcției specifice, fie rămân încastrate în matricea creată, transformându-se în osteocite, fie se opresc din funcționare prin fenomenul de moarte programată, fie migrează la suprafața osteonului pentru a forma stratul ce împiedică solubilizarea cristalelor minerale din os.

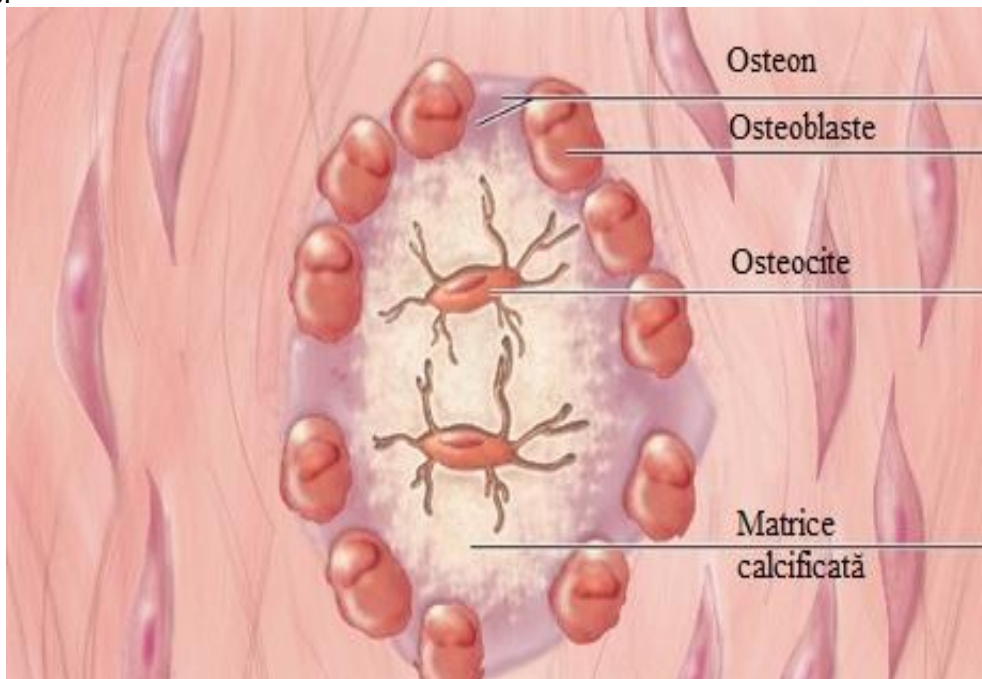


Figura 2.9 Compoziția osoasă: osteoblaste, osteocite, matricea calcificată

Rolul osteocitelor este de întreținere a osului. Ele sunt interconectate asemenea osteoblastelor comunicând și cu acestea. Din aceste celule se formează osteoclastele mature cu rol în demineralizarea și prin urmare reconstrucția și remodelarea osoasă.

Osul este una dintre cele mai dure structuri din organismul animal. Culoarea lui, în stare vie, este roz albicios în exterior și roșu puternic în interior. La

examinarea unei secțiuni în os se observă că este compus din două feluri de țesuturi, unul de natură densă, osul compact, iar celalalt constă din fibre și lamele, ce se unesc într-o structură reticulară, osul trabecular.

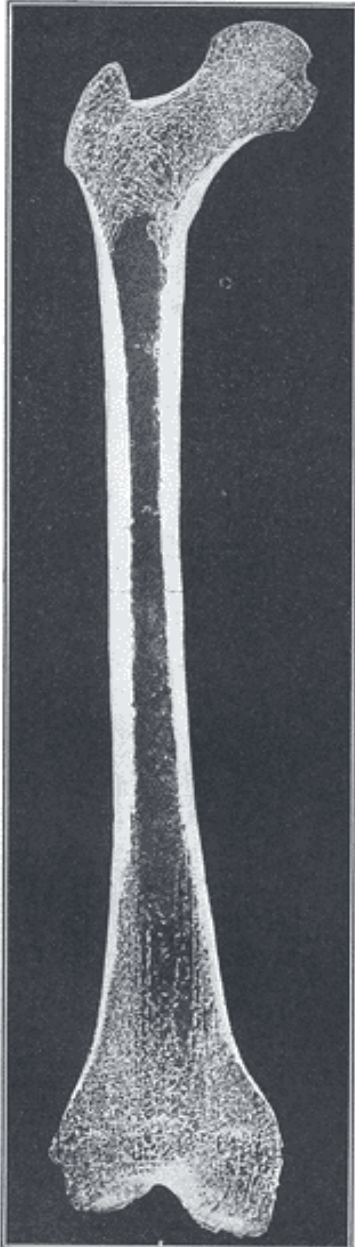


Figura 2.10 Structura oaselor lungi: țesut compact și spongios
[35]

Țesutul compact este mereu pe partea exterioară a osului, iar țesutul trabecular pe interior. Cantitatea relativă a acestor două feluri de țesuturi variază în funcție de os, sau partea din același os după cerințele necesare. Examinarea atentă a țesutului compact arată că este extrem de poros, astfel că diferența față de osul trabecular este cantitatea de materie solidă și numărul de spații din fiecare. Spațiile sunt mici și materia solidă consistentă în osul compact, iar în osul trabecular spațiile sunt mari iar materia solidă este într-o cantitate mai mică.

În timpul vieții, osul este permeat de vase sanguine și este înglobat într-o membrană fibroasă denumită periost. Excepție fac părțile acoperite cu cartilaj articular. Dacă se dă jos periostul de pe os se observă mici puncte roșii, unde vasele de sânge intră în os. Dacă osul viu ar fi secționat, se poate observa sângele ieșind din vasele ramificate în os. Interiorul oaselor lungi ale membrilor este o cavitate cilindrică umplută cu măduvă, înconjurată de o structură aleolară puternic vascularizată denumită membrana medulară.

Proprietățile mecanice ale osului împacă (îmbină) rigiditatea și elasticitatea ridicată într-o formă care încă nu a putut fi reprodusă cu un material sintetic. S-au găsit specimene de os cortical cu o rezistență la tracțiune de 78.8-151 Mpa în direcție longitudinală și 51-56 Mpa în direcție transversală. Elasticitatea osului este de asemenea importantă pentru funcționarea osului, deoarece îi conferă abilitatea de a rezista la impact. Estimări ale modulului de elasticitate a specimenelor de os arată o elasticitate între 17-20 Gpa în direcție transversală și 6-13 Gpa în direcție transversală [34]. Aceste proprietăți remarcabile ale osului se datorează naturii compozite în care cristalele minerale sunt orientate în direcție longitudinală oferind osului o rezistență și rigiditate mai mare în direcția longitudinală decât în direcția transversală.

Luând în considerare raporturile care există între cele trei dimensiuni ale oaselor, ele pot fi împărțite în: oase lungi, oase late, oase scurte și oase mixte.

Oasele lungi au lungimea mult mai mare față de grosime și lățime. Dintre acestea fac parte

femurul, tibia, peroneul, humerusul, etc. Ele sunt alcătuite dintr-un corp sau *diafiză* și din două extremități numite *epifize*. Majoritatea oaselor din organismul uman intră în această categorie.

Oasele late au lățimea și lungimea mai predominantă față de grosime. Dintre acestea fac parte oasele craniului, omoplatul, sternul și coxalul.

Oasele scurte se caracterizează prin faptul că lungimea, grosimea și lățimea sunt aproape egale. În această categorie intră oasele tarsiene, carpiene și vertebrele.

Oasele mixte au o formă neregulată, care nu se încadrează în niciuna din celelalte categorii. Printre oasele mixte se enumeră osul maxilar, osul zigomatic, mandibula, etc.

Pentru a-și îndeplini rolul, oasele prezintă numeroase elemente precum proeminențe, suprafețe articulare și scobituri.

Oricare ar fi forma oaselor, ele prezintă numeroase elemente ce contribuie la îndeplinirea rolului lor. Dintre acestea, cele mai comune sunt: suprafețele articulare, proeminențele și scobiturile.

Modelarea și reconstrucția osoasă

Țesutul osos este treptat înlocuit cu unul nou, microfisurile și fracturile sunt reparate la o viteză care scade cu vârsta. Până la finalul adolescenței, aceste procese de formare de țesut nou și resorbție se concentrează pe creșterea și modelarea oaselor, la maturitate aceste procese sunt responsabile pentru remodelarea oaselor. Înlocuirea țesutului are loc fără a fi afectată forma osului. Acest fenomen poartă denumirea de legea lui Wolff de remodelare a osului [36].

Remodelarea are loc la nivelul suprafețelor spongioase și ale osteonilor prin acțiunea concentrată a osteoblastelor și osteoclastelor și sub controlul factorilor reglatori locali și sistemici. Secvența de remodelare decurge întotdeauna după același tipar. Într-o primă etapă sunt activate osteoclastele care inițiază resorbția unei anumite porțiuni osoase. După o anumită perioadă de timp (de regulă 2-3 săptămâni) osteoclastele își reduc activitatea și mor prin apoptoză, iar suprafața afectată este pregătită pentru etapa formatoare, de exemplu prin producerea de linii de cimentare. Remodelarea se încheie prin refacerea țesutului osos sub acțiunea osteoblastelor, care este un proces mult mai lent (3-4 luni). Săptămânal se reciclează astfel între 5 și 7% din masa osoasă, cu înlocuirea completă a conținutului unui os spongios la fiecare 3-4 ani și a unui os compact la fiecare 10 ani [37].

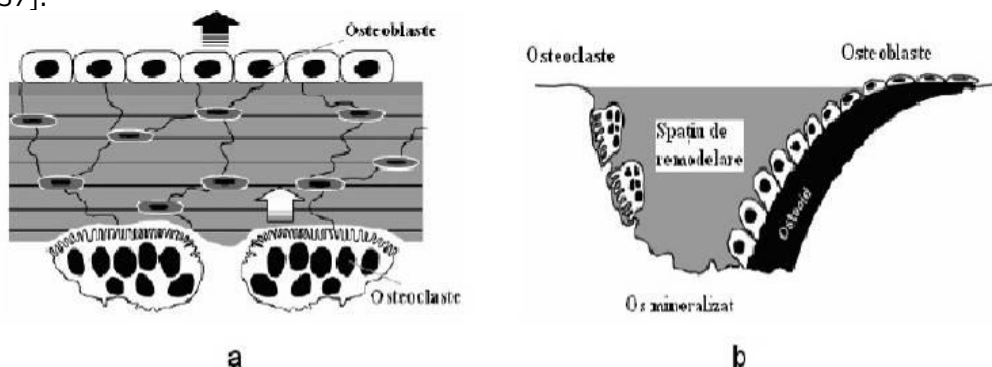


Figura 2.11 Modelarea și remodelarea osoasă

La suprafața osteoblastelor se găsește o enzimă, fosfataza alcalină, care intervine în calcificarea matricei osoase prin clivarea pirofosfatului – un inhibitor al mineralizării osoase [38]. Fosfataza alcalină osoasă este un indicator sensibil și fidel al metabolismului osos. Un nivel ridicat este întâlnit în perioada de creștere osoasă, în cursul procesului de vindecare a fracturilor, cât și în afecțiuni ale sistemului osos caracterizate prin hiperactivitate osteoblastică și remodelare osoasă, cum ar fi boala Paget, rahitism, osteomalacie, acromegalie, osteosarcom, sarcom Ewing, metastaze osoase [39].

2.1.2 Biocompatibilitatea

Biocompatibilitatea este o proprietate unică a biomaterialelor. Din păcate nu putem defini și măsura precis biocompatibilitatea. De cele mai multe ori biocompatibilitatea este definită în funcție de performanța sau succesul unei aplicații specifice. Astfel, un pacient care nu se adaptează la implantul lui poate susține că respectiva proteză nu este biocompatibilă.

O astfel de evaluare operațională ne oferă puține informații pentru a proiecta noi implanturi cu biocompatibilitate ridicată. Tragem concluzia că o definiție mai precisă a biocompatibilității implică un proces de definire luând fiecare aplicație în parte.

Prin urmare, biocompatibilitatea s-a definit general ca fiind proprietatea biomaterialelor de a nu produce reacții adverse cu țesuturile înconjurătoare din organismul în care au fost implantate [2].

Conform cercetătorilor Wintermantel și Mayer (1999), biocompatibilitatea poate fi împărțită în două categorii: **biocompatibilitate intrinsecă** și **biocompatibilitate extrinsecă** [40]. Biocompatibilitatea intrinsecă implică o corespondență între proprietățile chimice, fizice și biologice ale implantului cu țesutul înconjurător sau organul care îl înlocuiește. Biocompatibilitatea extrinsecă implică o corespondență între proprietățile mecanice ale materialului și mediul în care este implantat. O biocompatibilitate optimă se obține atunci când compatibilitatea structurală și a suprafeței este îndeplinită.

Tabel 2.7 Caracteristici ale biocompatibilității

Biocompatibilitate	Factori determinanți
Intrinsecă	Insolubilitate Rezistența la coroziune la un pH de 6,6-7,5 Neutralitate electrică Rezistență mecanică
Extrinsecă	Biostabilitate Formă macroscopică Structură micromorfologică de suprafață

Printre factorii care influențează biocompatibilitatea sunt sănătatea și vârsta pacientului, proprietățile țesutului înconjurător, factorii imunologici, caracteristicile implantului (rugozitatea și porozitatea materialului, reacțiile chimice, proprietățile de coroziune, toxicitatea acestuia).

Materialele biocompatibile trebuie să fie stabile din punct de vedere chimic, trebuie să aibă o bună rezistență la coroziune. În organismul uman, compoziția mediului variază fiind imposibil de estimat precis în condiții de laborator. Poate avea

caracter acid sau bazic iar coroziunea microbiologică trebuie de asemenea luată în calcul.

Coroziunea poate apărea și la oboseală atunci când materialele sunt supuse la solicitări mecanice constante și ciclice sau putem vorbi de coroziune electrochimică atunci când proprietățile electrochimice ale țesuturilor afectează materialul impantului (apare frecvent la aliajele dentare).

Din punct de vedere al proprietăților fizice, materialele biocompatibile trebuie să prezinte o conductivitate termică scăzută pentru a reduce șocurile termice. Acest deziderat se realizează folosind un izolator termic între țesut și implant.

Potențialul ABE (Anodic Back Electromotive Force – forță electromotoare anodică de reacție) este un bun indicator al biocompatibilității caracterizând procesele de coroziune electrochimică. În tabelul de mai jos sunt prezentate potențialele ABE pentru diferite metale. Limita de biocompatibilitate se situează în jurul unui potențial ABE de 3000 mV. Astfel se poate ușor observa că cel mai biocompatibil metal din tabel este titanul.

Tabel 2.8 Potențiale ABE ale unor metale și aliaje metalice

Materialul	Potențial ABE [mV]	Materialul	Potențial ABE [mV]
Titan	+ 3500	Zirconiu	+ 320
Niobiu	+ 1850	V2A	+ 300
Tantal	+ 1650	Nichel	+ 200
Platină	+ 1450	Inox (17%Cr)	+ 75
Paladiu	+ 1350	Cupru	- 30
Radiu	+ 1150	Staniu	- 200
Iridiu	+ 1150	Cobalt	- 350
Aur	+ 1000	Oțel carbon	- 480
Crom	+ 750	Fier	- 500
Vitaliu (Cr-Co-Mo)	+ 650	Zinc	- 1150

Pe lângă potențialul ABE, un material biocompatibil trebuie să îndeplinească un anumit grad de toxicitate. S-a arătat, în cercătări asupra celulelor vii, că foarte puține metale sunt netoxice pentru organism. Printre aceste metale netoxice se enumeră titanul, zirconiu și tantalul. Cele mai toxice metale sunt cobaltul vanadiul și nichelul [41].

Luând toate acestea în considerare trebuie avută o grijă suplimentară la declararea unui material ca fiind biocompatibil deoarece aceasta este specifică funcțiilor și mediului unde se implantează materialul. Astfel, un biomaterial compatibil pentru o aplicație poate fi dăunător pentru o alta.

2.2 Bioceramica

Bioceramica poate fi definită ca și un material de origine ceramică biocompatibil și osteoconductor iar cele mai uzuale întrebuițări sunt în înlocuirea articulațiilor sau țesutului osos. De asemenea pot fi folosite ca și strat de acoperire pentru alte materiale pentru a îmbunătăți biocompatibilitatea materialelor metalice [44], [45]. Pot fi utilizate și ca implanturi care se resorb și oferă un suport temporar pentru refacerea țesutului propriu [46-49]. Unele bioceramici se pot utiliza chiar și ca modalitate de livrare a unor substanțe medicamentoase în organism [50], [51].

Prima bioceramică testată la scară mai largă a fost ghipsul, deși multe din implanturi au eșuat datorită infecțiilor care au fost favorizate de aceste materiale, deoarece sistemul de apărare al corpului nu putea acționa în acele regiuni inaccesibile. Prin urmare, utilizarea biomaterialelor nu a devenit o practică obișnuită până la introducerea tehnicilor chirurgicale aseptice de către J. Lister, în anul 1860. În plus există și o lipsă de informații referitoare la toxicitatea acestor materiale.

În acest context aplicațiile ortofosfaților calciici devin logice datorită similitudinii cu faza minerală a osului și dinților [55-59]. Aceștia nu sunt toxici și nu cauzează moarte celulară în țesutul înconjurător. Prima încercare de utilizare a acestor materiale a fost realizată în anul 1920 cu fosfat tricalcic (TCP), iar aplicația era repararea defectelor cauzate chirurgical la iepuri [60]. Deși studiul anterior a fost primul realizat nu există detalii în privința acestuia și nu se știe dacă materialul a fost un precipitat sau o ceramică și dacă a fost sub formă granulară sau de pudră. Al doilea raport clinic a fost publicat 30 de ani mai târziu [61], iar peste 20 de ani a fost raportată prima aplicație în chirurgia dentară a ortofosfatului de calciu (descriș greșit ca și TCP) în cazul defectelor periodontale cauzate chirurgical [62] și utilizarea cilindrilor de HA densă pentru substituția rădăcinii dentare [63].

Conform bazelor de date științifice, prima lucrare care conținea termenul de bioceramică în abstract a fost publicată în anul 1971 [64], iar prima care conținea acest termen în titlu în anul 1972 [65], [66] deși aplicațiile ceramicilor ca și proteze erau cunoscute anterior [67], [68].

În data de 26 aprilie 1988 a avut loc primul simpozion internațional de bioceramică în Kyoto, Japonia.

Comercializarea bioceramicilor fosfocalcice (în principal HA), cu aplicații dentare și chirurgicale, a început în anii '80 datorită eforturilor lui Jarcho [69], [70] în SUA, De Groot [71], [72], [73] în Europa și Aoki [74], [75] în Japonia. Imediat după aceea, HA a devenit o bioceramică de referință în grupul ortofosfaților de calciu pentru aplicații medicale. Prepararea și aplicațiile biomedicale ale apatitelor ce provin din coral [76], [77] și os bovin [78], au fost raportate în același timp [79].

Deoarece odată cu vârsta apare o deteriorare a țesuturilor, există o nevoie crescătoare de materiale înlocuitoare pentru corpul uman. Osul este unul din principalele țesuturi care se înlocuiesc deoarece este vulnerabil la fracturi la persoanele în vârstă, datorită pierderii densității și rezistenței mecanice. Acest fenomen se întâmplă mai ales în cazul femeilor, datorită schimbărilor hormonale ce apar datorită menopauzei. Densitatea osoasă scade deoarece celulele producătoare de țesut (osteoblastele) devin progresiv tot mai neproductive în fabricarea de țesut nou și vindecarea microfisurilor existente. Această problemă de densitate cauzează implicit alte probleme de natură mecanică și consecințele sunt numeroasele fracturi de șold sau vertebre tasate și probleme ale coloanei vertebrale [44].

Reactivitatea suprafeței este una din cele mai cunoscute caracteristici ale bioceramicilor și contribuie la abilitatea acestora de a crea legături cu osul înconjurător și de a stimula creșterea țesutului. În timpul implantării au loc diferite reacții la interfața implant-țesut care duc la schimbări în timp a caracteristicilor de suprafață ale implanturilor și a țesutului înconjurător (învecinat)[80].

Biomaterialele ceramice fosfocalcice sunt necesare pentru a înlătura durerea din țesuturile calcificate bolnave (oase și țesut dentar) și pentru a restaura funcțiile normale în organism. Cea mai mare provocare din acest domeniu este înlocuirea țesutului îmbătrânit și defectuos cu un material care poate funcționa pe toată durata vieții pacientului, și în mod ideal care poate fi înlocuit de os matur fără a periclita suportul mecanic [81].

Deoarece durata medie de viață este de peste 80 de ani, în prezent și nevoie pentru înlocuirea unor părți ale organismului începe la vârsta de aproximativ 60 de ani, implantul ceramic neresorbabil trebuie să reziste cel puțin 20 de ani. Această cerință de durabilitate este greu de realizat luând în considerare condițiile dure ale mediului în care este implantat materialul: soluții saline corozive la 37°C, încărcări mecanice multiaxiale și ciclice. Performanțele bioceramicilor realizate special pentru asemenea condiții clinice, reprezintă una dintre cele mai importante realizări în cercetare din ultimul secol [44].

Deoarece bioceramica fosfocalcică face parte din grupa ceramicilor bioactive care sunt folosite pentru oseointegrare, în mod special este cea mai potrivită pentru orice tip de substituție osoasă pentru că promovează formarea de țesut nou și creează legături puternice cu țesutul înconjurător.

Acestea sunt produse din materiale sintetice prin diferite metode de procesare, iar ceramica finală va avea proprietăți foarte similare cu osul, precum porozitatea și structura. Prezintă de asemenea o excelentă biocompatibilitate și osteoconductivitate.

În procesul de fabricație al bioceramicelor fosfocalcice se pot varia diferiți parametrii pentru a obține goluri sau porozități în interiorul materialului, în vederea optimizării proprietăților mecanice și de dezvoltare a osului [82], [83]. Este posibilă obținerea unui material cu aceleași proprietăți mecanice ca și osul deși acestea au dezavantajul că sunt casante și mai puțin capabile de a absorbi energia înaintea ruperii [83].

Cea mai importantă proprietate a fosfaților de calciu este solubilitatea acestora în apă. Dacă aceasta este inferioară celei a părții minerale a osului, se va degrada extrem de lent, poate chiar deloc [84].

Există multe tipuri de bioceramici în această grupă utilizate în regenerarea țesutului osos, dar cea mai răspândită este hidroxiapatita (HA) datorită compoziției sale cu stoechiometrie identică cu cea a osului și smalțului dentar. Aceasta are formula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$ și face parte din grupa numită apatite [85].

Diferite forme de fosfați de calciu au fost testate pentru uz clinic, începând cu mono-, di-, tri-, tetra-, octo- etc. Și formele anhidre și hidrate ale acestora. Formele care se utilizează în prezent sunt cele cu raportul Ca/P între 1.50 și 1.67 din cauza similitudinii cu osul.

În tabelul următor avem o exemplificare a principalelor ceramici din grupa fosfaților de calciu.

Tabel 2.9 Ortofosfați de calciu existenți și principalele lor proprietăți [49], [86]

Ca/ P mol %	Compusul	Formula chimică	Solubilitatea la 25°C, -log(K _s)	Solubilitatea la 25°C, g/L	Stabilitate a pH-ului în soluții apoase la 25°C
0,5	Monocalciu fosfat monohidrat (MCPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	1,14	~18	0,0-2,0
0,5	Monocalciu fosfat anhidru (MCPA)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	6,59	~0,088	2,0-6,0
1,0	Dicalciu fosfat bihidrat (DCPD), brușită minerală	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	6,59	~0,088	2,0-6,0

1,0	Dicalciu fosfat anhidru (DCPA), monetită minerală	CaHPO_4	6,90	$\sim 0,048$	[c]
1.33	Octocalciu fosfat (OCP)	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	96,6	$\sim 0,0081$	5,5-7,0
1,5	α -Tricalciu fosfat (α -TCP)	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	25,5	$\sim 0,0025$	[a]
1,5	β -Tricalciu fosfat (β -TCP)	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	28,9	$\sim 0,0005$	[a]
1,0-2,2	Fosfat de calciu amorf (ACP)	$\text{Ca}_x\text{H}_y(\text{PO}_4)_z \cdot n\text{H}_2\text{O}$. $n=3-4,5$; 15-20% H_2O	[b]	[b]	$\sim 5-12^{[d]}$
1,5-1,67	Hidroxiapatită deficientă în calciu (CDHA) ^[e]	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}^{[f]}$ ($0 < x < 1$)	$\sim 85,1$	$\sim 0,0094$	6,5/9,5
1,67	Hidroxiapatită (HA, Hap sau OHAp)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	116,8	$\sim 0,0003$	9,5-12
1,67	Fluorapatită (FA sau Fap)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$	120,0	$\sim 0,0002$	7-12
1,67	Oxiapatită (OA sau Oap)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}$	~ 69	$\sim 0,087$	[a]
2,0	Tetracalcium fosfat (TTCP sau TetCP) Hilgenstochită minerală	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	38-44	$\sim 0,0007$	[a]

[a] Acești compuși nu pot fi precipitați din soluții apoase;

[b] Nu se poate realiza o măsurătoare exactă. Totuși, următoarele valori au fost găsite: $25,7 \pm 0,1$ (pH=7,40), $29,9 \pm 0,1$ (pH=6,00), $32,7 \pm 0,1$ (pH=5,28) > Comparăția disoluției în buffer acid este: ACP >> α -TCP >> β -TCP > CDHA >> HA > FA;

[c] Stabil la temperaturi de peste 100°;

[d] Întotdeauna metastabil;

[e] Ocazional CDHA este denumită HA precipitată;

[f] În cazul în care $x=1$ (condiția ca Ca/P=1,5), formula chimică a CDHA arată în modul următor: $\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5(\text{OH})$.

Familia fosfaților de calciu se poate împărți în 4 subcategorii [87]:

(A) hidroxiapatite;

(B) fosfați tricalcici;

(C) fosfați calcici bifazici;

(D) cimenturi de fosfați calcici.

Datorită proprietăților deosebite pe care le are hidroxiapatita în reconstrucția osoasă, aceasta este materialul cel mai des utilizat și obiectul prezentului studiu.

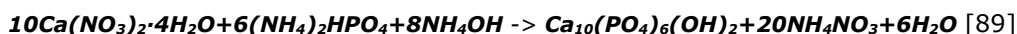
2.3 Hidroxiapatita

Apatita este un nume general pentru a defini un grup mai mare de materiale ceramice cu proprietăți chimice diferite, dar structură cristalină asemănătoare; hidroxiapatita fiind parte din acest grup.

Aceasta este o ceramică bioactivă care se utilizează la acoperirile pe implanturi sau ca și substitut osos datorită capacității excelente de a stimula regenerarea osoasă și proliferarea celulelor.

Un material bioactiv este capabil de a stimula regenerarea osoasă la contactul dintre acesta și mediul biologic, și poate fi utilizat în diferite aplicații ortopedice sau în medicina dentară.

Hidroxiapatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ este unul din materialele cele mai utilizate în ultimele decenii pentru regenerarea și înlocuirea de țesuturi osoase, datorită asemănării cu structura anorganică a osului uman [45], [88].



Această bioceramică are proprietăți excelente de biocompatibilitate în organismul uman și se utilizează mai ales pentru implanturile de oase și dinți [90], [91].

Deși hidroxiapatita se utilizează în mod normal în reconstrucția osoasă, aceasta nu este singura sa aplicație, fiind răspândită în mai multe ramuri ale domeniului medical și în afara lui. O altă aplicație importantă pentru hidroxiapatită este sistemul „drug-delivery” pentru antibiotice [92] și factori de creștere [93]. Aceasta se utilizează și în alte domenii, precum în electronică, ca și catalizator, cromatografie etc.

Deși se poate utiliza os natural de la același pacient (autogrefă) sau de la un pacient diferit (alogrefă), acestea sunt în cantități limitate și implică o procedură chirurgicală în plus. O altă posibilitate este să se folosească os de proveniență animală (xenogrefă), dar și acesta are dezavantaje cum ar fi contaminările pe care le poate produce. Toate produsele obținute sintetic au numeroase avantaje ca și cantitatea disponibilă nelimitată, sterilizare și depozitare facilă [94]. Ca și toate materialele utilizate în implantologie, și hidroxiapatita sintetică produce un răspuns inflamator care depinde de compoziție, dimensiune și proprietățile de suprafață ale materialului, deși în mod normal acesta este nesemnificativ din punct de vedere clinic. Problemele întâmpinate sunt datorită resturilor de material osteoconductiv produse în urma uzării care pot conduce la resorbție osoasă similară cu cea întâlnită în cazul protezelor totale de articulații [87].

2.3.1 Proprietățile hidroxiapatitei

Cel mai mare dezavantaj al hidroxiapatitei este dat de proprietățile mecanice nesatisfăcătoare care limitează aplicațiile, în mod special rezistența mecanică și tenacitatea [95]. Pentru a înlătura această limitare, hidroxiapatita se utilizează în combinație cu oxizi ceramici sau metale în dispersie care au rolul de a crește proprietățile mecanice [96], [97], [98].

Mediul în care sunt implantate aceste materiale este foarte important deoarece este necesară o fixare rigidă foarte apropiată de osul pacientului pentru o încorporare adecvată a implantului. Orice micromișcare împiedică întrepătrunderea

dintre materialul implantat și os astfel afectând negativ proprietățile mecanice ale ansamblului și favorizează țesut granular și fibroza la interfața dintre cele două [87], [99], [100].

În mod ideal un substitut osos ar trebui să aibă următoarele proprietăți [85], [101].

- 1) Biocompatibilitate
- 2) Osteoconductivitate
- 3) Osteogenicitate
- 4) Bioabsorbabilitate
- 5) Capabil de a asigura suport mecanic
- 6) Ușor de utilizat clinic
- 7) Cost acceptabil

Hidroxiapatita are o structură cristalină cu simetrie hexagonală cu grupul spațial $P6_{3/m}$ și parametrii celulei $a = 9.418 \text{ \AA}$, $c = 6.881 \text{ \AA}$, $b = 120^\circ$ și densitate $d = 3.156 \text{ g/cm}^3$, unitatea celulară fiind orientată de-a lungul axei c justificând orientarea preferențială care creează un aspect acicular [102]. Structura apatitică este contruită dintr-un schelet hexagonal de ioni ortofosfați PO_4^{3-} care creează două tunele libere pentru așezarea ionilor de calciu. Cei 6 cationi Ca^{2+} vor forma un tunel principal în care sunt prezente grupările hidroxil. Aceste tunele conferă hidroxiapatitei proprietatea de a accepta schimburi ionice [103], [104].

Existența tunelelor în care se află ionii de OH dau apatitei anumite proprietăți apropiate de ale zeolitelor. Din acest motiv apatitele prezintă proprietăți de schimbări ionice (OH – fluor – clor etc.). Aceste tunele pot acomoda și molecule mici ca și H_2O sau glicina [105].

Această abilitate de substituție, prin înlocuirea golurilor din structură, permite hidroxiapatitei nestoechiometrice să existe în domeniul dintre fosfatul apatitic octocalcic și hidroxiapatita stoechiometrică.

Nestoechiometria are următoarele consecințe:

- Prezența golurilor în locațiile cationice și OH;
- Un conținut de OH mai scăzut decât două grupări pe circuit;
- Cu cât se îndepartează mai tare de hidroxiapatita stoichiometrică starea de cristalinitate scade;
- Cu cât se îndepărtează mai tare de hidroxiapatita stoechiometrică crește solubilitatea.

Hidroxiapatita care este produsă prin precipitație rapidă nu va fi stoechiometrică deoarece are nevoie de o perioadă de maturare în mediul apos unde are loc un fenomen de suprafață care crește stoechiometria și descrește solubilitatea.

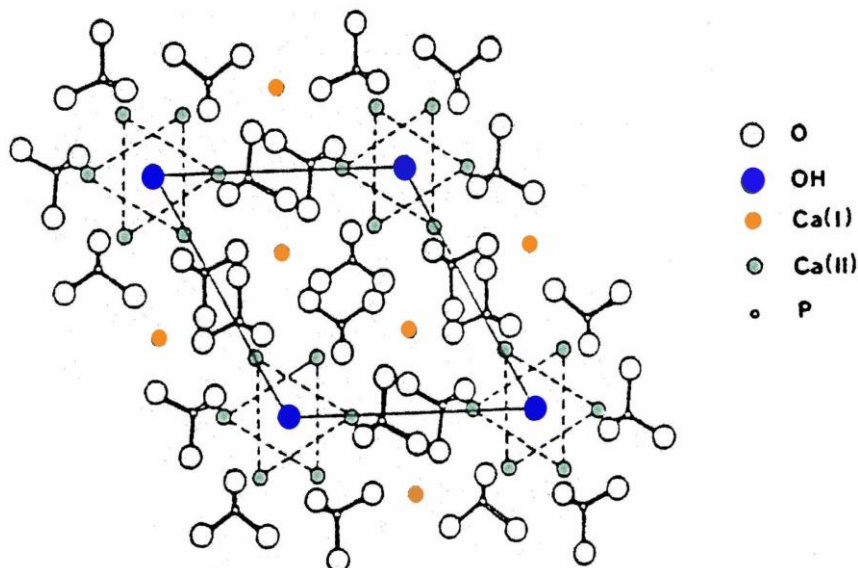


Figura 2.12 Structura cristalografică a HA

Hidroxiapatita conține 39.84 % calciu în masă și 18.52 % fosfor. Raportul atomic Ca/P a hidroxiapatitei stoechiometrice este de 1.67 [79]. Stoechiometria hidroxiapatitei este extrem de importantă deoarece și cea mai mică abatere de la această proporție poate favoriza apariția de TCP după tratamentul termic.

Spre deosebire de celelalte materiale din familia fosfaților de calciu, hidroxiapatita este stabilă în condițiile fiziologice și este termodinamic stabilă la pH-ul fiziologic având un rol activ în remodelarea osoasă prin formarea de legături chimice puternice cu osul înconjurător [106]. Deși inițial acest material implantat are proprietăți mecanice mai scăzute ca osul, s-a demonstrat după un experiment in vivo timp de 6 luni, că după această perioadă, datorită legăturilor produse, rezistența mecanică poate fi superioară celei a osului pacientului [100].

Hidroxiapatita de origine naturală

Aceasta poate provenii din corali sau os bovin și are structura similară cu osul cortical și spongios.

Hidroxiapatita care provine din coral este un material bioinert în ciuda originii biologice și stimulează creșterea osului în contact direct cu suprafața. Dimensiunea și configurarea porilor creează un mediu ideal pentru întrepătrunderea dintre material și țesutul osos înconjurător. Osteoblastele sunt identificate inițial direct pe suprafața implantului în timpul osteoconducției [101].

Proprietățile mecanice ale hidroxiapatitei din coral sunt scăzute, ceea ce face ca materialul să fie casant și este necesară fixarea cu plăcuțe sau șuruburi pentru a evita încărcarea ciclică. Acestea au fost utilizate cu succes la reconstrucția unor defecte de metafiză și în artroplastii de revizie sau ca material de umplere pentru donatorii de os din centura iliaca.

Rata de probleme de infecție, probleme de interacțiune cu țesutul moale, nesudare sau sudare întârziată, sudare greșită sau de probleme mecanice este similară cu cea a autograftului. În plus, acest material de coral are o rată de

refracturare mai mare decât osul provenit de la același pacient. Acest material este utilizat în general ca și implant osteoconductiv [107].

Hidroxiapatita de origine sintetică

Este de obicei preparată într-un laborator, cel mai des prin metoda de precipitare apoasă și este după aceea sinterizată la temperaturi mai mari de 1000°C. Aceasta poate fi fabricată sub formă densă sau macroporoasă în funcție de aplicație. Tensile strength a hidroxiapatitei dense variază între 79 și 106 MPa și pentru cea poroasă este 42 MPa, cea a osului cortical fiind între 69 și 110 Mpa [87]. Hidroxiapatita sintetică se poate utiliza sub formă de blocuri sau granule și utilizând tehnica „plasma spray” (pulverizare prin plasmă) poate fi folosită pentru acoperirea diferitelor implanturi dentare sau ortopedice.

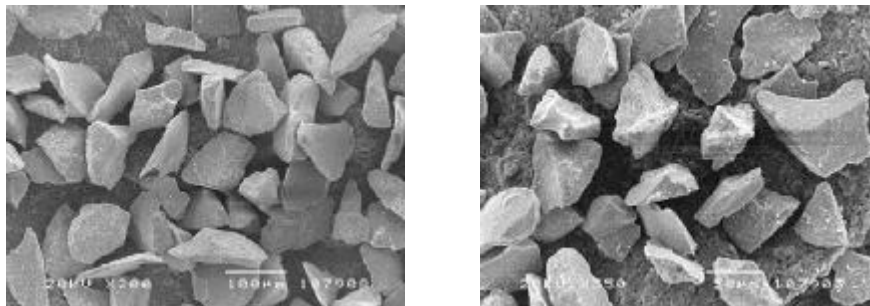


Figura 2.13 Hidroxiapatita: SEM x200 și SEM x350 (Firma Teknimed)

Avantajele hidroxiapatitei sintetice constau în faptul că se elimină riscurile de contaminare care existau la materialele preluate din corpul uman sau animal și se poate produce în cantitate nelimitată. De asemenea, datorită faptului că este produsă într-un laborator, condițiile experimentale pot fi controlate astfel încât să se obțină forma și proprietățile dorite.

Hidroxiapatita a fost studiată clinic și experimental sub formă densă, poroasă și granulară, rezultatele indicând că structura formei poroase permite creșterea țesutului fibrovascular în interiorul structurii, ceea ce produce o stabilitate și rezistență la micromișcare in vivo [93], [108]. Comparativ, structura densă este mai puțin stabilă și nu există creștere de țesut în interiorul materialului pentru a ancora implantul (Holmes et al, 1987). În plus, forma implanturilor din material poros sau dens este mai dificil de realizat cu mare precizie și este nevoie de graft osos în jurul piesei pentru a promova vindecarea și stabilitatea, când nu există interfață osoasă [109].

Hidroxiapatita granulară este utilizată pentru « spinal fusion », tratamentul chisturilor osoase și în chirurgia maxilofacială pentru refacerea țesutului osos. Avantajul utilizării acestui material este dat de faptul că poate fi fabricat în diferite dimensiuni și forme și poate fi întrebuințat și în cazul cavităților de formă neregulată. Amestecarea granulelor de hidroxiapatită cu sânge permite obținerea unei paste care se poate modela ușor în forma dorită. De asemenea, granulele de 1-2 mm permit o întrepătrundere osoasă mai bună în comparație cu cele de dimensiuni mai mici. Acest aspect se poate datora volumului liber între granulele adiacente care este mai mare și permite transportul nutrienților către țesutul care se dezvoltă [110], [111].

Hidroxiapatita și osul

Deși partea minerală a osului este aproape identică cu hidroxiapatita sintetică, există unele diferențe care se manifestă atât la nivel biologic cât și la nivel mecanic.

În tabelul următor avem o comparație a proprietăților mecanice pentru osul natural, hidroxiapatita sintetică, bioglas și alumina policristal.

Tab. 2.10 Proprietăți mecanice ale unor implanturi ceramice [87]

	Rezistența la încovoiere (MPa)	Rezistența la compresiune (MPa)	Modul de elasticitate (GPa)
Os natural	30-90	90-230	3.8-17
HA sintetică	110-170	500-900	35-120
A-W GC	200-220	1000	120
Alumina policristal	300-400	2500-3000	350-380

Alumina are cele mai ridicate proprietăți mecanice și o biocompatibilitate excelentă, dar utilizarea sa se limitează la capul femural al protezei de sold și la câteva alte aplicații ale protezelor. Hidroxiapatita sub formă de granule nu are proprietăți mecanice foarte bune și ca urmare se utilizează pentru umplerea defectelor osoase. Deși unele tipuri de hidroxiapatită au proprietăți mecanice mai scăzute decât osul, altele se apropie, și chiar depășesc unele proprietăți mecanice ale osului. Hidroxiapatita densă poate fi fabricată astfel încât să aibă proprietăți mecanice similare cu osul și prin modificări în structura acesteia poate aduce multiple îmbunătățiri.

2.3.2 Modalități de sinteză a hidroxiapatitei

Există câteva metode diferite de a sintetiza hidroxiapatita și fiecare are avantajele și dezavantajele ei, prin urmare și biomaterialele obținute vor avea proprietăți diferite.

Principalele căi de sinteză sunt:

- Reacția solid-solid (metoda uscată);
- Reactive în săruri coalescente;
- Metoda sol-gel;
- Precipitarea pe cale apoasă;
- Metoda cimenturilor.

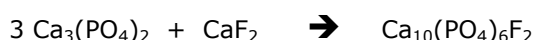
Pentru reacția solid-solid materialele utilizate pentru sinteză sunt următoarele: $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ sau $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ și CaCO_3 sau Ca(OH)_2 . Sinteza se realizează

la temperaturi înalte (1200-1300°C) timp de 2-3 ore sub presiune parțială de apă (3 KPa) conform reacției:



Sinteza prin reacție solid-solid constă în încălzirea unui amestec reactiv format din diferite săruri de cationi și anioni într-un raport Me/XO₄ de 1.67. Amestecul trebuie să fie perfect omogen pentru a favoriza o reacție totală.

Conform Wallaeyns o fluoroapatită fosfocalcică a fost sintetizată din fosfat tricalcic și fluorură de calciu prin următoarea reacție [112]:



Această reacție are loc la 900°C timp de câteva ore.

În cazul reacțiilor solid-gaz, cel din urmă provine ori din sublimarea unei săruri solide conținute în amestecul reactiv – sinteza poate avea loc într-o incintă închisă - sau poate proveni din exterior prin introducerea unui gaz de reacție.

Reacția în săruri coalescente este apropiată de condițiile naturale în care se formează hidroxiapatita. Fosfații metalici cu structură apatitică se pot fabrica în acest mod. Se pot obține cristale amestecate cu reactivii inițiali.

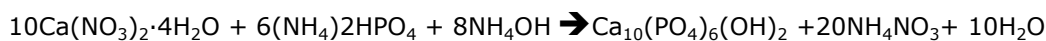
Metoda sol-gel se bazează pe polimerizarea precursorilor organo-metalici de tipul M(OR)_n alcoxid. După hidroliza controlată a acestei soluții de alcoxid, condensarea monomerilor produce legături oxo și ulterior un oxid organic. Polimerizarea progresivă a precursorilor formează oligomeri, apoi polimeri, crescând astfel vâscozitatea.

Aceste soluții polimerice au ca rezultat un gel care ușurează formarea materialelor (dense, filme transparente, pudră ultra fină, ceramică etc.) și are numeroase aplicații tehnologice [118].

Pe cale lichidă se folosește în mod normal precipitarea apoasă, datorită faptului că toți parametrii pot fi controlați independent [113].

Pentru sinteza prin precipitare apoasă, materialele de la care se pornește sunt:

- soluție de nitrat de calciu tetrahidrat [Ca(NO₃)₂· 4H₂O];
- soluție amoniacală de hidrogenfosfat de amoniu [(NH₄)₂HPO₄] este adăugată picătură cu picătură, sub mixare ușoară.



Sinteza din faze apoase se produce prin două procese diferite: prin dublă decompoziție sau prin neutralizare. Aceste două procese se utilizează în mod curent pentru producția hidroxiapatitei la nivel industrial.

Metoda dublei decompoziții [114], [115], [116] constă în adăugarea unui soluții saline de cationi Me într-un mod controlat într-o soluție salină de anioni XO₄. Precipitatul este spălat după aceea și uscat. Această tehnică permite și obținerea apatitelor mixte (care conțin două tipuri diferite de cationi) prin controlul raportului Me₁/Me₂.

Cationii sunt introduși simultan în bioreactor în raportul dorit, permițând evitarea segregării din timpul precipitației. Principalul dezavantaj al acestei metode

constă în implementarea acesteia, care necesită o cantitate mare de echipamente și în viteză scăzută de sinteză.

Metoda neutralizării constă în neutralizarea suspensiei de hidroxid de calciu prin adăugarea soluției de acid fosforic. Această reacție permite obținerea rapidă a unor cantități mari de hidroxiapatită fosfocalcică utilizând un echipament restrâns [117].

Metoda cimenturilor: cimenturile fosfocalcice sunt cimenturi minerale hidraulice care se întăresc prin reacțiile acid-bază dintre fosfatul de calciu de natură acidă și fosfatul de calciu de natură bazică, pentru obținerea unei hidroxiapatite fosfocalcice „single phase”.

2.3.3 Îmbunătățirea hidroxiapatitei

Deși acest material are proprietăți excelente în ce privește biocompatibilitatea și legăturile ce le creează cu osul înconjurător, favorizează integrarea acesteia în țesut. Într-un timp scurt apar și unele dezavantaje ale acestui material. Hidroxiapatita nu are rezistența mecanică necesară pentru a putea fi utilizată în aplicații care sunt supuse solicitărilor ciclice și intense. Pentru a înlătura acest dezavantaj, cercetătorii au elaborat tot felul de tehnici în ultimele 2 decenii, pentru a spori proprietățile mecanice fără a afecta biocompatibilitatea și bioactivitatea acestei ceramici.

Aceștia au încercat să îmbunătățească proprietățile acestui material în mai multe feluri, printre care amintim:

- Metoda de sinteză;
- Metoda de sinterizare;
- Hidroxiapatita bifazică;
- Dopanți în structura cristalină.

2.3.3.1 Hidroxiapatita bifazică

Două dintre cele mai populare materiale utilizate pentru a realiza HA bifazică sunt oxidul de zirconiu (ZrO_2) și alumina (Al_2O_3).

Prepararea unui material compozit de scară micrometrică este o idee atrăgătoare pentru îmbunătățirea proprietăților mecanice ale hidroxiapatitei.

Pentru sintetizarea unei matrici ceramice funcționale, trebuie îndeplinite 3 condiții:

- Rezistența mecanică și tenacitatea materialului de ranforsare trebuie să fie mai mare decât cele ale matricii;
- Stratul interfacial dintre matrice și ranfort trebuie să fie în concordanță și cu reacție limitată, producând o legătură nici prea puternică, nici prea slabă;
- Coeficienții de expansiune termică trebuie să fie în concordanță cu fazele componente pentru a nu produce microfisuri la răcire.

În cazul în care aceste condiții nu sunt îndeplinite, apar defecte microstructurale ducând la deteriorarea proprietăților mecanice ale compozitului [145].

ZrO₂ – Oxid de zirconiu

ZrO₂ este o ceramică inertă în stare pură, care dobândește niște proprietăți extraordinare dacă este dopată cu oxizi stabilizatori precum ytriu, magneziu și calciu. Acesta este un polimer care se poate întâlni în 3 forme:

- Monoclinic;
- Teragonal;
- Cubic.

În mod normal la temperatura ambiantă, ZrO₂ este monoclinic, această fază fiind stabilă până la 1170°C. Peste această temperatură, se transformă în tetragonală, iar peste 2370°C în cubică. Când are loc răcirea, transformarea tetragonal-monoclinică se produce în intervalul de 100°C - 1070°C. Proprietățile mecanice îmbunătățite în urma acestei transformări, se utilizează în realizarea de biocompozite și în aplicații convenționale de ceramică datorită biocompatibilității bune.

Proprietățile de interes în utilizarea acestor ceramice sunt:

- Rezistența mecanică;
- Duritatea;
- Tenacitatea;
- Rezistența la uzare;
- Proprietățile termice.

Tipul și cantitatea de aditivi pentru a stabiliza ZrO₂ în starea tetragonală este o variabilă importantă în compoziție care afectează toate proprietățile mecanice. Conținutul de ytriu este cea mai importantă variabilă în ZrO₂ stabilizată cu Y. Pentru a avea proprietăți mecanice bune este important ca microstructura să nu conțină faze monoclinice care ar avea un comportament similar cu defectele, aceasta dictând nivelul minim de stabilizator care se poate adăuga (aprox 1,8 mol% Y în soluție solidă pentru a stabiliza starea tetragonală și a îmbunătății proprietățile mecanice).

ZrO₂ tetragonal se degradează când este în contact cu apa la temperaturi de 200-300°C, datorită măturării fazei metastabile care restricționează utilizarea sa în aplicații pe termen lung [146].

Dintre toți oxizii ceramici, ZrO₂ biomedical are cele mai bune proprietăți mecanice, existând peste 600000 de capuri femurale implantate, realizate din acest material la nivel mondial.

Deoarece ZrO₂ este bioinert, acesta nu creează legături cu osul natural.

ZrO₂ parțial stabilizat este un material utilizat ca ranforsare pentru numeroase ceramici, datorită rezistenței mecanice ridicate și tenacității, de asemenea datorită bioinertiei. Totuși, aplicația acestui material este limitată deoarece acesta reacționează cu hidroxiapatita, formând TCP și ZrO₂ stabilizat complet, acesta fiind un mare dezavantaj.

Materialele ranforsate cu ZrO₂ se pot fabrica prin mai multe metode: mixare mecanică, metode sol-gel, mixare solid-lichid și metode de precipitare urmate de uscare, calcinare, formare și sinterizare.

Adăugarea de ZrO₂, scade temperatura de descompunere a HA [147].

Al₂O₃ – Oxid de aluminiu sau Alumină

Aceasta este o ceramică biocompatibilă, cu proprietăți mecanice foarte bune și care se utilizează mai ales în părți ale corpului unde există un risc mare de uzură.

Aceasta este o ceramică inertă care se utilizează pentru aplicații unde apar solicitări mecanice ca și protezele de șold sau implanturile dentare.

Alumina se poate utiliza pentru aplicații de termen lung datorită biocompatibilității excelente de care dispune și datorită capsulei fine care se formează care permite fixarea necimentată a protezelor. De asemenea, aceasta are un coeficient de frecare extrem de scăzut și de uzură la fel.

Proprietățile excelente ale aluminei se datorează dimensiunii grăunților foarte redusă de aproximativ 4 micrometri și datorită distribuției înguste a mărimii grăunților care duc la o rugozitate foarte scăzută.

Rezistența mecanică, rezistența la oboseală și tenacitatea alfa-aluminei policristaline, depinde de mărimea și puritatea grăunților. Cu o dimensiune de 4 micrometri și puritate de 99,7% se obține o bună rezistență flexurală, excelentă rezistența la oboseală dinamică și de impact, rezistență la propagarea fisurilor subcritice și o excelentă rezistență la compresiune [148].

Aplicațiile clinice ale aluminei includ proteze de genunchi, os și șuruburi dentare, reconstrucție maxilofacială și alveolă dentară, substituit de oase osiculare, înlocuiri de segmente osoase.

Modulul elastic ridicat al aluminei crează tensiuni (stress shielding) care duc la destabilizarea implantului la pacienții cu osteoporoză.

În cazul adăugării de alumina sub formă de „platelets” mari, tenacitatea HA a crescut fără să existe reacții semnificative între faze, deși îmbunătățirea rezistenței mecanice a fost minimă datorită formării microfisurilor în jurul „platelets” din cauza coeficientului de expansiune termică diferit.

În cazul utilizării pudrei fine de Al_2O_3 nu au apărut microfisuri, dar proprietățile mecanice nu au fost îmbunătățite semnificativ datorită limitării proprietăților aluminei.

Conform Ji et al., 1992, când pudre de alumina și HA sunt amestecate și sinterizate în aer la 1100-1400°C, HA se descompune și reacționează cu alumina, creând faze secundare nedorite [149]. Din acest motiv, pentru a crea aceste materiale bifazice, se utilizează un dopant în HA care stabilizează termic produsul până la temperaturi mai ridicate. Un exemplu de asemenea dopant este dat de Mg^{2+} .

La temperaturi peste 1300°C Al_2O_3 reacționează complet cu HA creând aluminați. Această reacție poate fi evitată prin adăugarea de CaF_2 în amestecul de pudre [150].

2.3.3.2 HA/ Al_2O_3

Datorită proprietăților mecanice ale acestei ceramici bioinerte și a excelentei biocompatibilități, este una dintre cele mai utilizate pentru a crea materiale bifazice pentru substituția osoasă. Deși există și studii care utilizează alte ceramici pentru asemenea aplicații cum ar fi ZrO_2 , alumina este mai bine tolerată în organism pe termen lung.

Materialele bifazice HA- Al_2O_3 au arătat rezistență la încovoiere îmbunătățită raportată la HA [151].

Kim et al. [152] au obținut o rezistență la încovoiere de 255 MPa în cazul HA conținând 40 vol% de Al_2O_3 după presare la cald timp de 2 ore la 30 MPa și 1200°C.

Li et al. [151] au obținut o rezistență la încovoiere de 250 MPa în cazul HA conținând 30 vol% de αAl_2O_3 după presare izostatică la cald cu 200 MPa la 1275°C, deși în mod normal presarea HA sinterizate se face la 100 MPa [153].

Conform Evis et al., densificarea materialelor bifazice HA- α -Al₂O₃ când temperatura de sinterizare a crescut de la 1100 la 1200°C. Porozitatea a crescut de asemenea odată cu creșterea cantității de alumină, pentru a reduce acest aspect probele au fost presate la cald la 60 MPa în vid, densificarea a fost superioară față de sinterizarea în aer. Între 1100-1200°C stabilitatea fazei HA a descrescut dramatic și în toate materialele realizate (10 wt%, 25 wt%, 40wt%) Ha s-a transformat aproape în totalitate în α TCP, apărând aluminați de calciu (CaAl₂O₄, Ca₂Al₂O₅). Se crede că s-a format inițial CaO în tranziția HA- α TCP care după aceea a reacționat cu α -n-Al₂O₃ formând acești aluminați. În cazul materialelor cu 10 și 25% α -n-Al₂O₃, HA a fost stabilă după presarea la cald la 1100°C, descompunându-se abia între 1100 și 1200°C. După sinterizarea în aer la 1100°C volumul unității de celule hexagonale s-a schimbat, ceea ce a sugerat că HA netransformată era deficientă în Ca²⁺ și OH⁻. La 1200°C sinterizare în aer, nu mai există HA în structură. Microduritatea a crescut pentru materialele conținând 10 și 25 % Al₂O₃ după creșterea temperaturii de sinterizare de la 1100°C la 1200°C. Proba de 40 wt% afișează o sinterabilitate și duritate scăzută comparată cu celelalte compoziții din cauza porozității mai ridicate, ceea ce necesită o temperatură mai ridicată pentru a se densifica. O tenacitate maximă K_{IC} de 2 MPa/m a fost observată în materialul conținând 40 wt% Al₂O₃. Aceștia au rezumat prin faptul că presarea la cald în vid îmbunătățește densificarea și înlătură riscurile descompunerii HA în faze secundare. Pe măsură ce cantitatea de alumină a crescut, sinterabilitatea a scăzut. Presarea la cald la 1200°C a dat cele mai bune proprietăți mecanice (microduritate și tenacitate) raportat la presarea la 1100°C [154].

Conform Kim et al., adiția de 5 vol% de MgF₂ în materialele bifazice, împiedică complet tranziția de fază, observându-se formarea de MgAl₂O₄. În cazul probelor cu conținut de 20 vol% alumină, disocierea HA a fost inhibată complet până la temperaturi de 1400°C. Densificarea materialului a fost crescută, ceea ce a influențat pozitiv și proprietățile mecanice (rezistența la încovoire 170 MPa, duritatea Vickers 7 GPa) [155].

Kim et al., raportează faptul că fabricarea materialelor bifazice HA-Al₂O₃ cu adiție de CaF₂ îmbunătățește proprietățile mecanice (duritate, modul de elasticitate, rezistență mecanică și tenacitate) față de cele fără aditivi. De asemenea, celulele „osteoblast-like” au avut o activitate favorabilă de proliferare și diferențiere pe probele conținând 20 vol% Al₂O₃, indicând o viabilitate și activitate celulară comparabilă cu HA [150].

2.3.3.3 Hidroxiapatita dopată

Una dintre tehnicile de îmbunătățire a proprietăților HA este doparea acestora cu cantități mici de ioni care afectează enorm proprietățile produsului final, chiar dacă sunt în concentrații mici (1-5%).

În tabelul următor avem câteva exemple de substanțe care pot crea substituții în rețeaua cristalină a hidroxiapatitei.

Tabel 2.10 Principalele substituții ionice care se pot realiza în structura hidroxiapatitei

Me			XO ₄			Y		
Ca ²⁺	REE ³⁺	Na ⁺	SiO ₄ ⁴⁻	CO ₃ F ³⁻	SO ₄ ²⁻	CO ₃ ²⁻	OH ⁻	O ₂ ⁻
Sr ²⁺	□	AsO ₄ ³⁻	HPO ₄ ²⁻	S ₂ ²⁻	F ⁻	H ₂ O

Pb ²⁺	...			PO ₄ ³⁻	CO ₃ ²⁻	O ²⁻	Cl ⁻	N ₂
Mg ²⁺				VO ₄ ³⁻	I ⁻	□
Ba ²⁺				...			Br ⁻	...

În plus, dopajul cu ioni influențează și celelalte proprietăți ale hidroxiapatitei, nu doar pe cele mecanice, cum ar fi solubilitatea, biocompatibilitatea, stabilitatea termică și bioactivitatea.

Faza apatitică care constituie componenta inorganică a țesutului osos, poate fi descrisă ca și o apatită fosfo-calcică multisubstituțională în care substanțele ionice ca și carbonatul, fluorul, magneziul, sodiul, etc. au un rol important în mineralizarea osoasă și acestea reflectă istoria regimului alimentar, sau expunerea la materiale periculoase ca și în cazul plumbului și stronțului [119]. Tipul și cantitatea de substituții ionice din osul natural variază de la persoană la persoană în funcție de sursa de apă, regimul alimentar și posibilele afecțiuni medicale.

Tabel 2.11 Compoziția chimică a diferitelor țesuturi osoase [87]

Compoziție	Smalț	Dentină	Os
Calciu, Ca ²⁺	36,5	35,1	34,8
Fosfor, P	17,7	16,9	15,2
Sodiu, Na ⁺	0,5	0,6	0,9
Magneziu, Mg ²⁺	0,44	1,23	0,72
Potasiu, K ⁺	0,08	0,05	0,03
Ion carbonat, CO ₃ ²⁻	3,5	5,6	7,4
Fluoruri, F ⁻	0,01	0,06	0,03
Cloruri, Cl ⁻	0,30	0,01	0,13
Pirofosfat, P ₃ O ₇ ⁴⁻	0,022	0,10	0,07
Alte elemente: Sr ²⁺ , Pb ²⁺ , Zn ²⁺ , Cu ²⁺ , Fe ³⁺ , Al ³⁺	<0,01	<0,01	<0,01
Total anorganic	97	70	65
Total organic	1,5	20	25
Apă adsorbită	1,5	10	10

Încorporarea unor ioni poate crește (ex. CO₃²⁻, Mg²⁺ or Sr²⁺) sau descrește (ex. F⁻) solubilitatea hidroxiapatitei și prin aceasta biodegradabilitatea [122].

Studii au arătat că răspunsul biologic și activitatea hidroxiapatitei pot fi stimulate prin substituția în cantități mici cu ioni ca și siliciul, carbonat sau magneziu [123], [124].

În cele mai multe cazuri, doparea HA cu diferiți ioni cauzează apariția fazelor secundare de αTCP și βTCP, și în unele cazuri mai grave (doparea cu Li și Si), apar și faze ca și CaO, care sunt de nedorit în ceramicile fosfocalcice.

Hidroxiapatita dopată cu 2 tipuri de ioni în același timp a înregistrat o rată de disoluție mai scăzută decât HA nedopată sau dopată cu un singur tip de ioni, când a fost expusă la condiții fiziologice simulate timp de 21 de zile [125].

Conform Webster et al, schimbările ce intervin în volumul hidroxiapatitei dopate, implică faptul că fiecare dopant (Mg^{2+} , Zn^{2+} , La^{3+} , Y^{3+} , In^{3+} și Bi^{3+}), înlocuiește calciul în structura HA, având în vedere că ionii mai mici decât cei ai calciului (Mg^{2+} , Zn^{2+} , In^{3+} , Y^{3+}) corespund cu o micșorare a volumului cristalin, iar ionii mai mari (Bi^{3+} , La^{3+}) corespund unei creșteri a volumului cristalin. Această observație este în conformitate și cu studiul realizat de Ergun et al, din care rezultă că Mg^{2+} , Zn^{2+} și Y^{3+} vor substitui calciul în structura HA. De asemenea, conform Webster et al, mărimea grăunților hidroxiapatitei dopate, diferă în diametru, Mg-HA și Zn-HA având grăunții mai mari decât HA și celelate eșantioane dopate cu La^{3+} , Y^{3+} , In^{3+} și Bi^{3+} , având grăunții mai mici [125], [126].

Carbonat (CO_3^{2-})

Ionii de carbonat se găsesc din abundență în interiorul și în jurul țesutului mineral al osului (8 wt%) și sunt fie adsorbiți la suprafața cristalelor minerale, fie sunt prezenți ca și o fază amestecată de $CaCO_3$ sau $MgCO_3$ [110].

Ionii de carbonat constituie parte integrală din structura mineralului osos și au posibilitatea de a crea mai multe tipuri de substituții (hidroxil sau fosfat) în condiții fiziologice [127]. De asemenea, creșterea concentrației locale de ioni de calciu și fosfor poate duce la o precipitare spontană de apatită, prin urmare substituția cu ioni de carbonat a ionilor de fosfat sau hidroxil va crește concentrația locală de ioni de fosfat în teorie, ducând la mineralizare osoasă. Alte studii au arătat că hidroxiapatita dopată cu carbonat se resoarbe în condiții fiziologice, permițând precipitarea de mineral osos în aceste zone de resorbție, devenind astfel mai bioactivă decât hidroxiapatita densă care are o resorbabilitate minimă după sinterizare [109].

Conform Kanaan et al, încorporarea de carbonați în HA alături de alți ioni esențiali (Na^+ , Mg^{2+} , K^+ , F^- , Cl^-), scade atât proprietățile mecanice cât și întârzie proliferarea osteoblastelor MC3T3 raportat la HA nedopată, deși această HA dopată cu carbonați este biocompatibilă [128].

Siliciu (Si)

Studii in vivo și in vitro au arătat cât de important este acest element pentru formarea de țesut osos nou și calcificarea acestuia. Studii realizate cu microscopul electronic cu baleiaj au demonstrat că în osul care se află în creștere activă se găsește siliciu în concentrație de până la 0,5 wt%. Ca urmare a acestor rezultate, putem trage concluzia că încorporarea de siliciu sau a unor grupuri de silicați în structura hidroxiapatitei are potențialul de a îmbunătăți bioactivitatea. Un aspect important în realizarea acestor substituții este riscul de a crea instabilitatea termică a produsului dopat și descompunerea Si-HA după sinterizare în faze secundare nedorite, ca și CaO sau TCP [129].

O hidroxiapatită dopată cu siliciu a fost dezvoltată de Gibson et al. (1999) prin încorporarea unei cantități mici de siliciu (0,4 wt%) în structura HA printr-o metodă de precipitare apoasă. Raportul Ca/(P+Si) de 1,67 fiind echivalent cu cel al hidroxiapatitei pure și nu au fost observate faze secundare la sinterizarea Si-HA la 1200°C timp de 2 ore. Studiile inițiale in vitro au indicat că Si-HA a stimulat formarea unui strat superficial apatitic într-o soluție fiziologică artificială și că aceasta a stimulat răspunsul celular comparativ cu HA stoechiometrică [123].

Bioactivitatea in vivo a granulelor de hidroxiapatită a fost stimulată de substituția grupurilor de silicati în structura HA, ducând la creșterea semnificativă a

întrepătrunderii osoase și la acoperirea granulelor Si-HA, comparativ cu granulele de HA [111].

Zinc (Zn²⁺)

A fost raportat de Webster et al. că doparea HA cu 2 mol% de Zn poate crește semnificativ adeziunea osteoblastelor comparativ cu HA nedopată [130].

Ito et al. au determinat că doparea cu Zn în cantități de 0,6-1,2 wt% a intensificat proliferarea celulelor „osteoblast-like” în cazul materialului bifazic TCP/HA [131].

Un alt studiu similar a descoperit că Zn este un inhibitor in vitro a resorbției osoase osteoclastice [132].

Conform Webster et al., doparea cu Zn a creat în HA o rată foarte mare de disoluție, pierzând 13% din masă în 21 de zile în condiții biologice simulate, contrar cercetărilor lui Ito et al., care raportau o disoluție mai scăzută, deși sunt diferențe între cele două experimente și nu poate exista o comparație directă [125], [131], [132].

Ytriu (Y³⁺)

Webster et al. au raportat că în cazul hidroxiapatitei dopate cu 2 mol% de ytriu, adeziunea osteoblastelor a fost cu 28% mai mare decât pentru hidroxiapatita nedopată. Cantități mai semnificative de Y dau rezultate mai bune de adeziune celulară, dar efectul nu arată creșteri semnificative peste 5-7 mol% [130].

De asemenea, conform Webster et al., doparea cu ytriu crește adeziunea osteoblastelor [125].

Indiu (In³⁺)

Conform Hidaka et al. și Webster et al., In³⁺ scade cristalinitatea HA și prin urmare crește rata de disoluție. De asemenea, conform Webster et al. doparea cu indiu crește adeziunea osteoblastelor. Conform Webster et al. Zn-HA a scăzut cu 8% în masă după 21 de zile în condiții biologice simulate [125], [133].

Mangan (Mn)

Gradul de descompunere a Mn-HA depinde de cantitatea de Mn introdusă în pudra inițială și de temperatura de calcinare. HA conținând 0,1-1 wt% Mn nu s-a descompus până la 800°C. Au fost identificate insule izolate de Mn în faza cristalină în structura hidroxiapatitei dopate.

Proliferarea celulară este mai scăzută decât în cazul HA, dar celulele au morfologia corectă determinată de aderență și răspândire [134].

Influența Mn depinde de asemenea de compoziția chimică a constituentului de bază care este introdus în structura HA.

Influența Mn asupra proprietăților mecanice este controversată și depinde de compusul chimic din care provine Mn.

Fluor (F⁻)

Ionii de F înlocuiesc gruparea OH în structura HA, scăzându-i solubilitatea, ceea ce este de dorit în aplicațiile dentare de prevenire a deteriorării danturii [128].

Aceștia stimulează proliferarea și diferențierea celulelor osoase, deși în concentrații mari pot inhiba proliferarea celulară prin eliberarea de ioni de Ca^{2+} în HA datorită solubilității scăzute. De asemenea, concentrațiile mari pot provoca creșteri anormale de țesut și proprietăți mecanice scăzute. Concentrația optimă de F în HA pentru aplicații biomateriale fiind raportată ca 0,033-0,4 mol F/mol apatită. F îmbunătățește stabilitatea termică și crește modulul de elasticitate, ceea ce nu este de dorit în aplicațiile cu încărcări mecanice utilizate în cazul dinților și oaselor din cauza concentrării de tensiune.

Acest material se folosește și ca dopant în cazul compozitului HA-ZrO₂ deoarece stabilizează termic HA împiedicând descompunerea acesteia la temperaturi mai ridicate, astfel se pot obține proprietăți mecanice mai bune datorită densificării la temperaturi mai mari.

Bismut (Bi^{3+})

Conform Webster et al. acest dopant are cele mai bune proprietăți de compatibilitate biologică, dar deoarece nu este un element întâlnit în mod normal în corpul omenesc este nevoie de studii pentru determinarea utilității sale în domeniul materialelor utilizate în ortopedie și medicină dentară [125].

Magneziu (Mg^{2+})

Doparea hidroxiapatitei cu magneziu prin metoda implantării cu flux de ioni, mărește rata de creștere osoasă [135] și abilitatea de a crea legături cu osul [124]. Mecanismul exact nu este cunoscut dar există studii care arată că aportul de magneziu întărește oasele la oameni și animale [136] și că deficiența în acest element poate cauza osteoporoză la om și șobolani. Acesta este un element întâlnit în mod normal în structura osului și procentul este de 0,44-1,23 % în funcție de tipul de țesut osos, smalțul dentar conține 0,44 %, dentină 1,23 % și osul 0,72 % magneziu [57].

Adiția de magneziu în straturile de acoperire cu HA utilizate în cazul implanturilor din aliaje de titan crește în mod simțitor legăturile osoase la șase săptămâni după implantare în femurul de iepure. Rezistența la alunecare a interfeței în cazul implanturilor acoperite cu Mg-HA a fost de $3,54 \pm 1,41$ MPa, comparativ cu $1,97 \pm 1,17$ MPa în cazul acoperirilor cu HA [124].

Încorporarea de magneziu poate afecta de asemenea cristalinitatea acoperirilor cu HA și poate avea un rol important în adeziunea celulară. Molecule ca și intregina și fibronectina interacționează cu acesta favorizând atașamentul celular și proliferarea celulară crescând bioactivitatea implanturilor de titan acoperite cu Mg-HA [124].

Conform Webster et al., doparea cu 2 mol% de Mg crește semnificativ adeziunea osteoblastelor comparat cu HA nedopată [130].

Serre et al. a descoperit că adaosul de 20 wt% de Mg reduce osteoconductivitatea ceramicii apatitice față de celulele „osteoblast-like”, indicând că o cantitate prea mare de dopant poate fi defavorabilă materialului final, deși în cantități mici are efecte dorite [137].

De asemenea, conform Webster et al. doparea cu magneziu crește adeziunea osteoblastelor. Mg-HA are fosfataza alcalină aproape identică cu cea a HA după 7 zile, dar după 21 este aproape dublă, dar mai scăzută decât HA dopată cu ioni trivalenți, acesta fiind un semn al adeziunii celulare mai crescute [125].

Ionii de Mg^{2+} stabilizează faza β -TCP în timpul tratamentului termic și tind să stabilizeze HA cu o singură fază în prezența ionilor de CO_3 chiar și la $1300^\circ C$ [138].

2.3.3.4 Magneziul ca și dopant

Magneziul este unul dintre cei mai importanți ioni bivalenți care ajută la menținerea sănătății dinților și stimulează transformarea osului imatur (amorf) într-un os matur și cristalin [128]. Acesta este de asemenea cunoscut pentru prevenirea fracturilor osoase datorită creșterii elasticității oaselor.

Ca și rezultat al studiului realizat asupra principalilor dopanți utilizați în cazul hidroxiapatitei, acest element a reieșit că aduce cele mai multe avantaje. În primul rând acesta stabilizează descompunerea HA la temperaturi de sinterizare mai ridicate, ceea ce va permite densificarea ceramicii la temperaturi superioare și implicit proprietăți mecanice mai bune [139].

De asemenea, s-a observat că proprietățile biologice sunt similare cu cele ale hidroxiapatitei și chiar superioare în unele studii, cu condiția să nu se utilizeze o cantitate prea mare de dopant.

În cazul bioceramicilor bifazice HA/ β TCP, acesta previne tranziția β TCP- α TCP până la temperaturi mai ridicate.

Un aspect important de menționat este faptul că o cantitate prea mare de Mg va reduce osteoconductivitatea și solubilitatea va crește, rezultând că este important de determinat cantitatea de Mg optimă pentru fiecare aplicație [137].

În majoritatea studiilor realizate pentru Mg-HA, apare β TCP ca și fază secundară, deoarece temperatura de tranziție a HA în TCP scade cu creșterea conținutului de Mg, astfel 0,25Mg-HA este stabilă până la $840^\circ C$, 0,5 Mg-HA până la $760^\circ C$ și 1,0 Mg-HA până la $660^\circ C$ comparat cu HA care este stabilă până la $960^\circ C$ [138], [140].

Doparea cu 2,5-7,5 vol% prezintă densități de osteoblaste ridicate.

Conform Tan et al. Mg-HA care conține 1 % Mg prezintă cele mai bune proprietăți mecanice (modulul de elasticitate de 136,3 GPa, duritate Vickers de 7,66 GPa, tenacitatea $1,48 MPam^{1/2}$ comparat cu HA 113,57/7,10/1,08), deși acesta a studiat doar compoziții de Mg-HA conținând între 0,05-1 wt% Mg. De asemenea nu este raportată descompunerea HA chiar și după sinterizare la temperaturi de $1400^\circ C$. Toate compozițiile au o densitate teoretică de 98% când sunt sinterizate la temperaturi peste $1050^\circ C$ [141].

Cacciotti et al. a studiat Mg-HA conținând între 0,6-2,4 wt% Mg și a demonstrat că gradul de cristalinitate scade progresiv cu creșterea conținutului de Mg. Această lucrare arată apariția fazei β TCP la concentrații mai mari de 0,5 wt% Mg și densitățile finale ale Mg-HA sunt mai scăzute decât ale HA din cauza porozității reziduale [140].

În cantitate redusă magneziul îmbunătățește bioactivitatea [142].

Kalita et al. indică că procentajul de Mg optim pentru a obține proprietăți mecanice îmbunătățite este de 1 wt%, deși experimentează cu un conținut de Mg de până la 4 %. Densitatea maximă obținută este de $3,29 g/cm^3$ în cazul probei de 1 wt% Mg-HA, și duritatea crește cu 20% față de HA și rezistența la compresiune crește cu 34% față de HA. De asemenea, în acest experiment se demonstrează că în jurul temperaturii de $500^\circ C$ are loc cristalizarea completă a hidroxiapatitelor obținute. De asemenea, lucrarea relevă faptul că datorită adăugării de Mg a crescut

gradul de cristalinitate și nu au apărut faze secundare în HA dopată cu 1 wt% Mg [143].

Tabel 2.12 Proprietățile comparate ale HA, osului și MgHA 1%

Proprietăți	HA densă	Os		MgHA 1%
		Paralel	Normal	
Densitatea teoretică [g/cm ³]	3,156	-		-
Duritate [GPa]	7,10	-		7,66
Rezistența la tracțiune [MPa]	40-100	124-174	49	-
Rezistența la încovoiere [MPa]	20-80	160	-	-
Rezistența la compresiune [MPa]	100-900	170-193	133	1200
Tenacitatea [MPa/m ^{1/2}]	~1	2-12	-	1,48
Modulul lui Young [GPa]	70/120	17-18,9	11,5	136,3

Conform Ryu et al., conținutul mai ridicat de MgO împiedică creșterea grăunților de HA/TCP și scade sinterabilitatea, rezultând că optim ar fi o cantitate de 1 wt% Mg. De asemenea, Mg-HA are o bună biocompatibilitate fără citotoxicitate [144].

Ca și concluzie a literaturii studiate putem spune că magneziul este recomandat ca și dopant pentru hidroxiapatită din următoarele motive:

- Îmbunătățește proprietățile mecanice ale HA;
- Mg²⁺ stabilizează faza β-TCP crescând temperatura de tranziție a α-TCP până la 1600°C;
- Biocompatibilitate fără citotoxicitate și bune proprietăți de biodegradare;
- Magneziul este în strânsă legătură cu mineralizarea țesuturilor calcificate stimulând direct proliferarea osteoblastelor.

Riscurile care pot apărea la utilizarea Mg pentru doparea HA sunt următoarele:

- O cantitate prea mare de Mg poate scădea gradul de cristalinitate, cristalitele devenind mai mici și neregulate, formând aglomerate datorită dimensiunii;
- Creșterea cantității de Mg poate induce apariția TCP la temperaturi mai scăzute;
- Un conținut crescut de MgO inhibă creșterea grăunților de HA/TCP și scade sinterabilitatea.

3 MATERIALE ȘI METODE

3.1 Sinteza bioceramicii

În urma studierii literaturi și a metodelor existente de sintetizare a hidroxiapatitei s-a ales metoda de sintetizare prin precipitarea apoasă. Această metodă de sintetizare oferă posibilitatea de a varia parametrii reacției independent unul de celălalt și asigură o bună reproductibilitate a procesului [125].

Astfel, se pot modifica următorii parametri:

- Cantitatea de reactivi și implicit stoechiometria;
- pH-ul;
- Temperatura la care se realizează reacția;
- Viteza de rotație;
- Durata de maturare a soluției.

Un alt avantaj al acestei metode constă în faptul că oferă o siguranță mai mare în desfășurarea experimentului deoarece se poate alege o temperatură de reacție mai scăzută. Acest parametru mai scăzut poate crea condiții mai sigure, atât pentru persoana care realizează experimentul, cât și pentru instalația utilizată care se poate uza mai repede la temperaturi mai ridicate.

Sinteza este realizată pornind de la următorii reactivi:

- Calciu nitrat tetrahidrat $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Carlo Erba Reagenti SpA, Italia);
- di-Amoniu hidrogen fosfat soluție $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (Carlo Erba Reagenti SpA, Italia);
- Magneziu nitrat hexahidrat $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (AppliChem G.m.b.H., Germania).

Etapele în care se amestecă diferiții compuși chimici sunt foarte importante și acestea ne dau rezultatul dorit și stoechiometria corespunzătoare (raportul dintre Ca și P) în substanța finală, raportul Ca/P al hidroxiapatitei pure fiind de 1,667 [157], [158].

3.1.1 Bioreactorul

Procesul de sinteză a hidroxiapatitei este realizat utilizând un bioreactor cu pereți dubli prin care circulă un fluid termoconductiv cu ajutorul unui termostat (Unistat Tango, Huber G.m.b.H., Germany). Acest termostat este un circulator etanș pentru fluidul care va încălzi uniform pereții bioreactorului în timpul experimentului. Același termostat se poate utiliza și pentru experimente care utilizează o cuvă neizolată de exterior [156].

Capacitatea bioreactorului utilizat este de 4,5 litri și temperatura la care s-a realizat experimentul este de 50°C. Această temperatură a fost aleasă în urma unor experimente la diferite temperaturi care au demonstrat că rezultatele sunt asemănătoare și această temperatură oferă o siguranță mai mare a aparaturii și a utilizatorului. Fiecare experiment realizat la această temperatură are o durată de 20 de ore (timp de maturare) și viteza de rotație este de 220 rotații/minut.

Procesul este început cu apă deionizată care este turnată în bioreactor și adusă la temperatura dorită de 50°C în cazul nostru. A doua etapă constă în adăugarea $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ și pornirea paletei de rotație pentru a dizolva cristalele de nitrat de calciu. În acest punct încep să apară diferențe în funcție de produsul pe care dorim să îl obținem, în cazul în care dorim hidroxiapatită pură sau hidroxiapatită dopată cu magneziu.

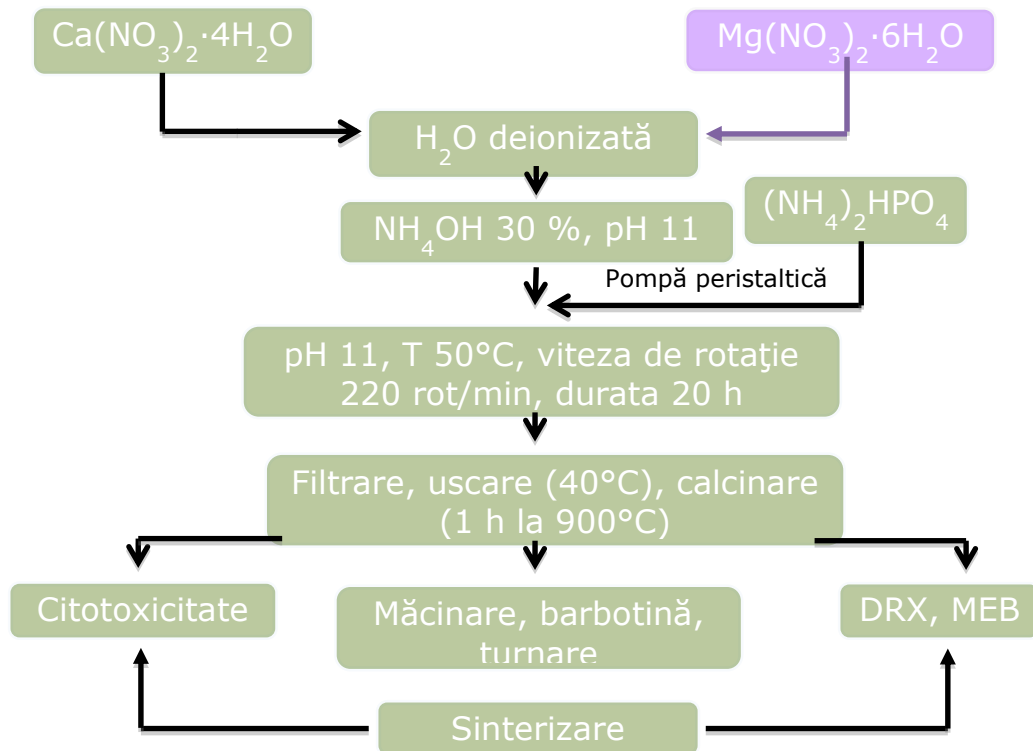


Figura 3.1 Schema obținerii produsului final

a) Pentru a obține hidroxiapatită pură se adaugă soluție de hidroxid de amoniu NH_4OH (Carlo Erba Reagenti SpA, Italia) cu concentrația de 30 % pentru a aduce pH-ul la 11, după care se va adăuga soluția de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ cu ajutorul pompei peristaltice (Masterflex easy-load L/S, USA) pentru a fi asimilată treptat cu viteza de aproximativ 25 ml/minut.

b) Pentru a obține hidroxiapatită dopată, în primul rând trebuie realizat calculul de înlocuire a calciului din nitratul de calciu cu magneziu din nitratul de magneziu. Așadar în conformitate cu procentajul de magneziu pe care îl dorim vom adăuga $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ imediat după ce nitratul de calciu s-a dizolvat și după vom echilibra din nou pH-ul ca mai sus și se va adăuga soluția de fosfat în același mod.



Figura 3.2 Bioreactorul și termostatul la care este conectat

Având în vedere volumul bioreactorului pentru sinteza de hidroxiapatită pură s-au utilizat aproximativ 3,5 moli de nitrat de calciu. Pentru sinteza de hidroxiapatită dopată s-a înlocuit 1wt%, 2 wt%, 5 wt% și respectiv 10 wt% din cantitatea de calciu cu magneziul din nitratul de magneziu, astfel pentru fiecare procent de calciu înlocuit s-a adăugat aproximativ 15 grame de nitrat de magneziu.



Figura 3.3 Motorul agitatorului utilizat, IKA RW20, Germania

3.1.2 Filtrarea

După ce trec cele 20 de ore de maturare se filtrează soluția obținută cu o pompă de vacuum (VWR vacuum gas pump, USA) și se lasă la uscat în incubator (Heraeus incubator, Germania) la 40°C timp de 24-48 de ore.



Figura 3.4 Instalația de filtrare alcătuită din pompa de vacuum și suportul ceramic de filtrare



Figura 3.5 Pudra de hidroxiapatita după filtrare

Instalația de filtrare este formată dintr-un suport ceramic care are perforații, pentru scurgerea părții lichide din soluție, și din filtre de hârtie foarte fine care sunt

dimensionate conform diametrului necesar. Suportul ceramic este plasat peste un vas de scurgere realizat cu două orificii, unul pentru așezarea dispozitivului cu substanța de filtrat și celălalt pentru plasarea tubului pompei de vacuum care va realiza filtrarea. După ce soluția obținută în bioreactor este maturată se scoate prin partea inferioară a aparatului unde are un șurub de eliminare a conținutului. Deoarece soluția realizată are un volum mai mare decât suportul utilizat pentru filtrare, această etapă se realizează de 3-4 ori pentru fiecare sinteză.

Și acest proces are două etape:

- Prima constă în filtrarea părții lichide din soluție;
- A doua constă în spălarea părții solide rămase și filtrarea pentru eliminarea lichidelor din nou.

În final vom obține o „turtă” de substanță solidă, care în literatura științifică se mai numește și „cake”, care se poate vedea în figura de mai jos. Aceasta conține încă umiditate și de aceea e nevoie de uscare și calcinare pentru a purifica ceramica obținută.

3.1.3 Calcinarea

După ce pudra obținută este uscată, se mărunțește și se calcinează în cuptor (Nabertherm, Germania) cu mediu atmosferic la 900°C timp de 1 oră și cu o rată de creștere a temperaturii de 5°C pe minut. Deci procesul durează în total mai mult de 7 ore cu tot cu perioada de încălzire treptată și răcire treptată.

Această etapă este necesară deoarece după sinteză nu obținem hidroxiapatită cu proprietățile dorite deoarece încă există impurități din soluție care vor dispărea doar după creșterea temperaturii peste 450°C și prin această calcinare se obține și cristalizarea pudrei. Deci apa reziduală și nitratul de amoniu sunt eliminate în jur de 450°C și la 900°C se obține o cristalizare care ne permite analiza ulterioară prin difractometrie.

Următorul pas este testarea pudrelor cu difractometrul cu raze X pentru a verifica puritatea hidroxiapatitei și analiza cu microscopul electronic cu baleiaj va evidenția mărimea grăunților și structura produsului obținut.

Pentru verificarea produsului obținut din punct de vedere biologic se va realiza un test de citotoxicitate pe diferitele compoziții obținute.



Figura 3.6 Vase realizate din alumina pentru calcinarea pudrelor de

3.1.4 Realizarea esantioanelor

După ce pudrele obținute sunt validate, acestea se pot turna în mulaje pentru a fi testate ca și eșantioane de hidroxiapatită densă după etapa de sinterizare. Deoarece pudra conține particule aglomerate în urma tratamentului de calcinare, aceasta trebuie în prealabil măcinată pentru a putea fi realizată o barbotină și turnată.

După această etapă se poate realiza amestecul necesar cu apă deionizată și agent dispersant în vederea turnării amestecului obținut în mulajele confecționate din ghips.

În etapa de realizare și turnare a barbotinei trebuie așteptat pentru a se usca eşantioanele în mulaj, după care poate fi înlăturat cofragul și șlefuite probele de eventualele neregularități.

Ultimul pas în obținerea eşantioanelor este sinterizarea acestora cu ajutorul unui cuptor care poate urca până la temperaturi de 1400°C.

3.1.4.1 Măcinarea pudrei

După etapa de calcinare pentru a putea realiza forma eşantioanelor, avem nevoie de un amestec de substanță uscată cu apă distilată numit barbotină, dar acesta nu poate fi realizat fără ca pudra rezultată să fie măcinată pentru a desprinde particulele care au fuzionat în urma tratamentelor prin care au trecut. Pentru a mărunți pudra vom utiliza o instalație formată dintr-un suport cu 2 bare care se rotesc cu ajutorul unui motor, și deasupra va fi plasat containerul cilindric cu amestecul de măcinat. Datorită rotirii barelor și containerul se va roti timp de 3 ore până ce pudra va avea granulația potrivită pentru eşantioane. În interiorul cilindrului din polipropilenă de densitate mare se introduc bile de alumina care au rolul de a mărunți, se introduc 500 ml de apă distilată și 100 de grame de pudră calcinată.

După perioada de 3 ore, amestecul se filtrează din nou și se așează în incubator pentru uscare timp de 24 ore.



Figura 3.7 Instalația utilizată pentru mărunțirea pudrei obținute după calcinare, și pentru realizarea amestecului de barbotină
Pompa de vacuum (VWR vacuum gas pump, USA)



Figura 3.8 Pudra de hidroxiapatita după macinare

3.1.4.2 Realizarea barbotinei

După ce pudra obținută este uscată, are granulația necesară pentru a realiza barbotina în modul următor:

- În interiorului cilindrii se introduc bilele necesare măcinării, iar pentru un amestec de 100 de grame se vor introduce 29 ml de apă distilată;
- Deoarece dorim ca amestecul să conțină 70% masă uscată se va utiliza un agent dispersant (Darvan 7-N, R.T. Vandebilt company, USA) în proporție de 1%, deci 1 ml în cazul de față;
- Se adaugă treptat pudra obținută până la încorporarea completă, după care cilindrul se închide etanș cu ajutorul capacului și se pornește instalația.

După ce am obținut barbotina formată din 70% masă solidă, aceasta va fi turnată în formele pregătite pentru realizarea de eșantioane. Acestea au fost realizate din gips, locașurile pentru turnarea discurilor de hidroxiapatită au fost realizate cu un burghiu cu diametrul de 16 milimetri. A fost aleasă această dimensiune deoarece cutiile de cultură celulară au diametrul de 15 mm și după tratamentul termic final probele realizate se vor retracta puțin. Fiecare set de mulaj cuprinde o placă de bază și 2 plăcuțe perforate fiecare cu câte 2 coloane de 6 locașuri, în total obținând un număr maxim de 24 de probe pe set.

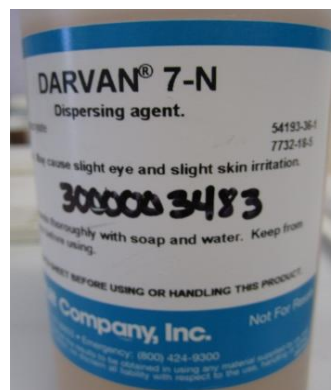


Figura 3.9 Agent dispersant, Darvan 7-N, R.T. Vandebilt company, USA



Figura 3.11 Motorul instalației de marunțire



Figura 3.11 Bile de alumina

După recuperarea amestecului, acesta se extrage cu ajutorul unei pipete și se plasează în fiecare locaș câteva picături până nu se mai vede fundul, se lasă să se usuce puțin după care se mai adaugă puțin pentru a nu se forma un gol în mijlocul discului. După ce tot amestecul a fost repartizat în mulaje se așteaptă aproximativ o oră până ce probele se usucă puțin, astfel încât să nu fie deteriorate la demulare.



Figura 3.12 Placă de ghips



Figura 3.13 Mulaje de ghips



Figura 3.14 Modul de umplere a mulajelor



Figura 3.15 Eșantioane demulate

Discurile obținute după demulare au grosimi ușor diferite în funcție de cantitatea de substanță adăugată în locaș și pentru a rectifica aceasta se șlefuiască cu ajutorul hârtiei abrazive de diferite granulații. Prima dată se începe cu hârtia cu granulația cea mai mare pentru a lua marginile grosiere de pe discuri și pentru a scădea rapid grosimea. După ce s-a ajuns aproape de o grosime dorită se trece la o nouă hârtie cu granulație mai mică și tot așa până la hârtia cu granulația cea mai fină care doar va lustrui suprafața probei. În mod normal grosimea discurilor nu trebuie să fie mai mare de 3 mm deoarece după șlefuire aceasta trebuie să fie aproximativ 2 mm pentru testele biologice. În cazul în care discurile sunt mai groase au nevoie de mai mult timp de uscare în mulaj, sunt mai dificil de scos și e nevoie de mai multă șlefuire. Deoarece tot procesul de realizare a probelor se face manual și durează foarte mult, nu este recomandabil să se producă discuri foarte groase care ar îngreuna și mai mult procesul.



Figura 3.16 Hârtia abrazivă utilizată la șlefuire, Struers, Germania

După ce toate discurile au fost lustruite se așază cu grijă pe o hârtie curată și se notează numărul de probe din fiecare compoziție. Deși după demulare obținem un anumit număr de probe, acesta nu va fi cel final deoarece adesea în procesul de șlefuire unele discuri se rup din cauza fisurilor ce pot apărea la demulare sau manipulare.

3.1.4.3 Sinterizarea

În momentul în care avem toate probele pregătite și șlefuite, acestea vor fi tratate termic într-un cuptor la temperaturi ridicate în scopul obținerii proprietăților mecanice necesare.

Tratamentul de sinterizare are ca și rezultate o tenacitate crescută [159], densificarea materialului [160] și creșterea rezistenței mecanice [161], [162]. Aceste fenomene au loc din cauză că produsele nesinterizate conțin aer și alte gaze blocate în spațiile intergranulare, după tratamentul termic aceste gaze sunt eliminate, produsele crude scad în volum.



Model	STF 16/-/450
Maximum temperature (°C)	1600
Tube length (mm)	900
Heated length (mm)	450
Tube inside diameter (mm)	25/50/75
Uniform length (mm - ± 5°C)	350
Power rating (kW)	6.0
Outer measurements excluding tube (h x w x d - mm)	660/830/445
Heat up time (minutes)	85
Thermocouple type	
Weight (kg)	40

Figura 3.17 Cuptorul de sinterizare a probelor ceramice, Carbolite, UK

În marea majoritate a cazurilor, ortofosfații cu raportul Ca/P < 1,5 nu sunt sinterizați deoarece nu sunt stabili din punct de vedere termic, pe când sinterizarea HA deficiente în Ca sau a ACP duce la formarea de compuși bifazici (HA+ β -TCP [163] sau HA + α -TCP [164]).

Au fost realizate studii amanunțite ale efectelor temperaturilor și duratei de sinterizare asupra proprietăților hidroxiapatitei și a corelației dintre acestea și densitate, porozitate, mărimea grăunților, compoziția chimică și rezistența mecanică a implanturilor. Sinterizarea sub ~ 1000 °C are ca rezultat coalescența particulelor inițiale cu densificare puțină sau deloc și o pierdere semnificativă a suprafeței de contact și a porozității. Gradul de densificare depinde de temperatura de sinterizare, iar gradul de difuzie ionică depinde de durata de sinterizare [165]. De asemenea există aditivi de sinteză care pot crește temperatura de sinterizare a fosfaților de calciu [166], [167]. În mod neașteptat, un câmp magnetic în timpul sinterizării, s-a dovedit că influențează creșterea grăunților de HA [168].

Pudra de hidroxiapatită poate fi de asemenea sinterizată sub presiune la 1000–1200 °C până la atingerea densității teoretice. Procesarea la temperaturi mai crescute poate duce la creșterea excesivă a grăunților și la descompunerea HA deoarece aceasta devine instabilă la temperaturi peste ~ 1300 °C [71], [169], [170].

Temperatura de descompunere a bioceramicilor HA depinde de presiunea parțială a vaporilor de apă. Procesarea pudrelor în vid duce la descompunerea mai rapidă a acesteia, pe când procesarea sub presiune parțială de apă ridicată previne descompunerea. Pe de altă parte, prezența apei în atmosferă împiedică densificarea HA și accelerează creșterea grăunților [171], [172].

O corelație sigură a fost identificată între duritate, densitate și mărimea grăunților în HA sinterizată: în ciuda densității crescute, duritatea începe să scadă la o anumită limită critică a mărimii grăunților [173], [174].

Acest proces se realizează într-un cuptor care poate atinge temperaturi mai ridicate necesare pentru densificarea discurilor ceramice. Acest cuptor în formă de tub este produs de firma Carbolite și poate realiza tratamente termice de până la 1600°C. Acesta are ca elemente de încălzire carbură de siliciu, care sunt aranjate

uniform în jurul tubului de lucru pentru a asigura o încălzire uniformă. Este utilizat mai ales în cercetarea materialelor noi care necesită temperaturi exacte de tratament și diferite opțiuni de atmosferă.

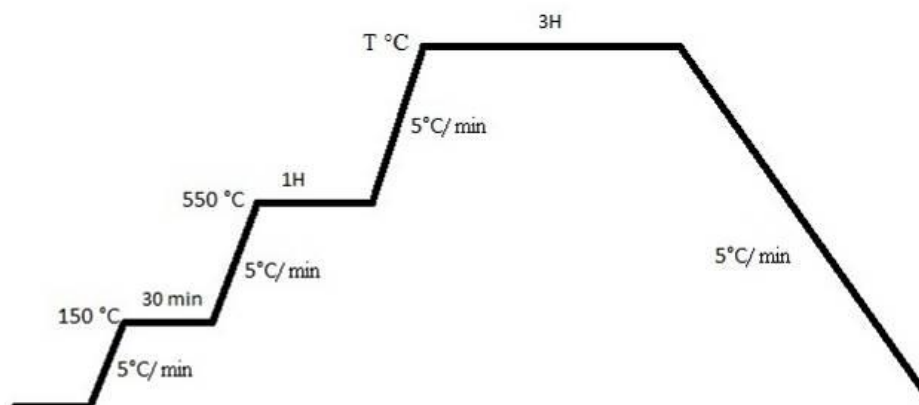


Figura 3.18 Tratamentul de sinterizare cu diferitele etape

Fiecare probă este plasată cu grijă în interiorul cuptorului și notată astfel încât să poată fi identificate la final. În funcție de conținutul ceramicii, temperatura de sinterizare va fi diferită și de asemenea rampele de creștere ale temperaturii sunt adaptate pentru fiecare material în parte.

În cadrul acestui proces de sinterizare au fost alese mai multe trepte de temperatură fiecare cu un anumit scop. Astfel, avem prima treaptă la 150°C timp de 30 de minute în cadrul căreia se va elimina apa rămasă în eșantioane, a doua treaptă de 550°C timp de o oră ajută la eliminarea tensiunilor interne și ultima și cea mai importantă etapă este temperatura de sinterizare care diferă în funcție de compoziția probelor.

Pentru eșantioanele realizate din hidroxiapatită pură, temperatura aleasă este de 1150°C, pe când pentru cea dopată cu diferite procente de magneziu (MgHA 1%, MgHA 2%, MgHA 5%) temperatura de sinterizare a fost crescută la 1250°C deoarece acest element este cunoscut pentru abilitatea sa de a stabili termic hidroxiapatita. În același timp alt set de probe de hidroxiapatită dopată au fost sinterizate și la 1350°C pentru a obține o densificare mai bună și pentru a studia dacă se poate urca până la această temperatură.

Pentru comparație au fost tratate termic și eșantioane realizate din alumină comercială la 1400°C.

Toate tratamentele de sinterizare au durată de tratament la temperatura maximă de 3 ore, pasul de creștere a temperaturii fiind de 5°C/minut.

În urma acestor etape se dorește obținerea unui produs densificat, fără conținut de alte substanțe utilizate în procesul de realizare a barbotinei (apă deionizată, dispersant, resturi de polipropilenă de la containerul folosit) și cu proprietăți mecanice și biologice corespunzătoare.

3.2 Caracterizarea materialului

În vederea validării materialelor obținute, acestea trebuie testate pentru a verifica compoziția rezultată și puritatea acestora, precum și a caracteristicilor de suprafață, a mărimii grăunților și a orientării acestora.

După ce am validat materialul obținut din punct de vedere al conținutului, mai trebuie testat și biologic pentru a verifica biocompatibilitatea și a elimina riscul de contaminare în timpul procesului de fabricație.

3.2.1 Caracterizarea fizică

Caracterizarea fizică a materialului se face în primul rând cu ajutorul difractometriei care ne dă informații valoroase referitoare la compoziția rezultată și existența unor faze secundare dorite sau nedorite. După ce știm ce material am obținut se face și o analiză a suprafeței cu ajutorul microscopului electronic cu baleiaj pentru a vedea forma și dimensiunea grăunților, precum și legăturile formate între aceștia.

3.2.1.1 Difractometria cu raze X

Tehnica difracției cu raze X este cel mai des aplicată pentru analiza materialelor cristaline, dar poate duce la obținerea unor date relevante și când sunt analizate materiale lichide sau solide amorfe.

Tubul în care sunt generate razele X conține un catod (filament de Wolfram) care este încălzit prin aplicarea unui voltaj (curent alternativ) în domeniul $5 \div 15$ V. Ca și anod este folosit un obiectiv răcit cu apă, confecționat din diverse elemente pure (de ex. Mo, Cu). Electronii sunt accelerați în vacuum la potențiale de 5.000 până la 80.000 V producând un spectru de tipul celui prezentat în figura 2. În momentul când electronii accelerați ating obiectivul (ținta), ei vor fi respinși de către electronii atomilor anodului producându-se astfel o scădere a vitezei sau chiar înfrânarea electronilor primari. Pentru a înfrâna un electron cu conservare de energie, acesta trebuie să fie capabil de a pierde energia într-o manieră proprie, și anume sub formă de radiație.

Scopul principal al măsurătorilor cu raze X este obținerea unor informații suplimentare despre structura fină a unui material.



**Figura 3.19 Difractometrul cu raze X
Bruker D8 Advance, SUA**

Pentru investigarea unei probe necunoscute se aplică în prima etapă o măsurătoare de ansamblu, de tip Bragg-Brentano (sau ceva similar), într-un domeniu larg al unghiului incident. Apariția unor semnale (peakuri) evidențiază existența unei probe cristaline, ceea ce înseamnă că se pot efectua atât determinări ale sistemului cristalin cât și ale structurii cristaline. Diagrama de difracție se va analiza în funcție de numărul, poziția, intensitatea respectiv forma peakului de difracție.

Evidențierea unor semnale foarte ascuțite indică existența unui material monocristalin. Apariția mai multor peakuri de difracție indică fie existența unui material cu structură cristalină asimetrică fie a unui material policristalin. Absența peakurilor de difracție apare în cazul materialelor amorfe, atunci când în microvolumul analizat nu există planuri cristalografice de difracție. Cazul clasic pentru definirea materialelor amorfe se raportează la mărimea cristalitelor orientate perpendicular pe suprafață ($< 20\text{nm}$ pentru elementele grele și $< 50\text{ nm}$ pentru elementele ușoare).

Determinarea fazelor cristaline prezente într-un material poartă denumirea de *analiză calitativă*. Aceasta se bazează pe diferențele structurilor cristaline ale elementelor din compoziția chimică respectiv ale legăturilor chimice formate. Aceste valori se compară cu diagramele standard de difracție folosind metoda amprentei (fingerprint). Fiecărui peak de difracție îi corespunde mai mult sau mai puțin o bandă de difracție (hkl) în scopul indexării spectrului de difracție. Determinarea parametrilor de rețea, a distribuției atomilor respectiv a gradului de simetrie în aranjarea atomilor în rețea, poartă denumirea de *analiza structurii cristaline*.

În cazul materialelor policristaline (polifazice) se pot efectua și determinări cantitative ale fiecărei faze în parte. *Analiza cantitativă* mai cuprinde și determinarea mărimii particulelor [175], [176].

În cazul de față s-a utilizat dispozitivul Bruker D8 Advance (USA) cu un tub de Cu și un detector cu scintilație.

3.2.1.2 Microscopia electronică

Microscopul electronic este un instrument performant care realizează imagini virtuale mărite ale obiectelor examinate, utilizând fluxuri de electroni accelerați. Cu ajutorul acestuia se poate efectua examinarea și caracterizarea atât a materialelor eterogene organice cât și a celor anorganice la scară nanometrică (nm) sau micrometrică (μm), în condițiile unor rezoluții foarte bune.

În cazul microscopului electronic cu baleiaj, pe suprafața supusă examinării este baleiat un fascicul fin focalizat de electroni accelerați, pentru generarea imaginilor. Atunci când se dorește efectuarea analizei chimice a unei anumite zone de pe probă, acest fascicul este static.

Radiația X caracteristică, emisă de suprafața probei în urma bombardamentului cu electroni, este utilizată în vederea efectuării analizei elementare calitative și cantitative a materialului aflat într-un volum cu diametrul și adâncimea egale cu aproximativ $1\mu\text{m}$.

Electronii incidenți pătrund cu mare energie în suprafața probei supuse examinării. În urma impactului acestor electroni primari cu suprafața probei, volumul de material în care se produce interacțiunea, emite mai multe tipuri de radiații:

- electroni secundari;
- electronii retrodifuzați;
- radiația X caracteristică a materialului;
- alți fotoni de energii diferite.

Toate aceste semnale sunt utilizate pentru a obține diferite caracteristici ale probei examinate precum: compoziție, topografia suprafeței, orientarea cristalelor [177].

Cele mai importante semnale de imagine sunt cele date de electronii secundari și de către cei retrodifuzați, deoarece ei sunt primii detectați în urma diferențelor topografiei suprafețelor. Efectul tridimensional reprodus de către electronii secundari este datorat adâncimii mari a câmpului microscopului electronic cu baleiaj și totodată efectului de umbră, permițând obținerea unor imagini cu rezoluție mare. Electronii retrodifuzați contribuie la formarea imaginilor bidimensionale bazându-se pe energia electronilor proveniți de la probă, respectiv a numărului atomic al elementelor detectate. Elementele cu număr atomic mic (energie scăzută) apar întunecate pe imagine (gri închis până la negru), iar odată cu creșterea numărului atomic (respectiv a energiei) nuanța de gri se deschide.

Microscopul electronic cu baleiaj permite, în egală măsură, examinarea suprafețelor lucioase, cu un înalt grad de prelucrare, cât și a celor neprelucrate, cu denivelări. El poate vizualiza elemente structurale aflate în plane diferite, păstrând în același timp perspectiva de ansamblu, și realizează astfel imagini tridimensionale ale suprafețelor examinate. De aici și popularitatea acestui aparat, indispensabil, la ora actuală, în microfractografie (analiza suprafețelor de rupere cu ajutorul microscopului).

Deși această metodă de analiză a materialelor este deseori folosită pentru analiza suprafețelor la mărimi de 10 – 10.000x, ea este mult mai complexă decât ne putem imagina [177]. Rezoluția instrumentală de ordinul 1 – 5 nm (10 – 50 Å) este considerată deja o rutină pentru instrumentele comerciale. În situații în care se studiază materiale minerale sau sintetice, se întâmplă să se atingă limitele rezoluției, ceea ce înseamnă un prag de mărire de 150.000-200.000x.

La pătrunderea fasciculului de electroni în probă, se produce interacțiunea acestuia cu câmpurile electrice ale atomilor materialului, ca specii încărcate negativ. Sarcina pozitivă a protonilor este concentrată în nucleu, în timp ce sarcina negativă a electronilor este distribuită în învelișul electronic.

Electronii de impact, care părăsesc ulterior proba, se numesc electroni secundari. De regulă, ei posedă o energie mai mică de 50 eV. Dacă locul de generare al acestor electroni se află la o adâncime mai mare de 10 nm în probă, scade probabilitatea de emisie a acestora și se produce o absorbție de energie a electronilor primari difuzați neelastic (electroni absorbiți). În cazul anumitor materiale este posibilă recombinația electronilor secundari, obținuți în urma difuziei neelastice, cu golurile de sarcină (vacanțele) rezultate în același timp, conducând la generare de fotoni în domeniul vizibil sau infraroșu apropiat. Aceste apariții luminescente sunt rezultatul unui proces de difuzie neelastic cunoscut sub denumirea de catodoluminescență (CL) [178].

Calitatea microgafiilor MEB depinde, în principal, de patru factori:

- diametrul spotului de electroni (d_s);
- intensitatea curentului fasciculului de electroni (i_F);
- unghiul de convergență al electronilor (α_C);
- tensiunea de accelerare a fasciculului de electroni (V_0 [kV]).

Majoritatea probelor necesită o preparare specială în vederea analizei cu ajutorul microscopului electronic cu baleiaj. Probele trebuie să fie perfect uscate,

lipsite de eventuale soluții sau substanțe ce gazifică în prezența vidului, producând contaminarea coloanei microscopului sau deteriorări ale sistemului de vidare. Foarte important pentru o bună analiză a probelor este pe de o parte modul de fixare a acestora în microscop iar pe de altă parte, conductibilitatea electrică a acestora.

Orice probă inertă în vid înaintat, ce nu se modifică în timpul bombardării cu electroni, iar pe suprafață nu apare efectul de încărcare, poate fi analizată în MEB. Pregătirea probelor pentru analiză MEB începe cu etapa de curățire a suprafeței, fiind urmată de fixarea preparatului care depinde de natura materialului și forma probei. Cea mai efektivă metodă de spălare a probelor este cea în baia ultrasonică, ajutând la îndepărtarea eventualelor particule de pe suprafața probei, cu dimensiuni sub 1 μm .

Fixarea probelor se face pe diferite suporturi speciale (de regulă din aluminiu), care asigură o bună conductibilitate electrică.

În cadrul examinărilor realizate s-a utilizat microscopul MEB FEG, Hitachi S4700, iar imaginea fiind realizată la 6 KV și 10 mA prin metalizare cu depunere de carbon.



Figura 3.20 Microscop cu baleiaj de electroni, MEB FEG Hitachi S4700

3.2.2 Examinare biologică

După caracterizarea cu raze X a probelor obținute și validarea compoziției pentru a vedea cum reacționează acestea cu mediul biologic este nevoie de realizarea unor teste *in vitro* care ne oferă mai multe informații despre comportamentul acestor substanțe în contact cu celule vii.

3.2.2.1 Test de citotoxicitate

Menținerea cantității de țesut osos este asigurată de două tipuri de celule, osteoblastele care formează matricea osoasă, și osteoclastele care o degradează pentru reconstrucție.

Testul de citotoxicitate constă în determinarea influenței unui material asupra viabilității celulare și au fost utilizate celule osoase osteoblaste MC3T3-E1.

Linia celulară MC3T3-E1

Celulele utilizate în experimente sunt osteoblaste MC3T3-E1 (Riken Gene Bank, Japonia), izolate de Kodama și Sudo în 1981 [180].

Această linie celulară netumorigenă provine din calota craniană a șoarecilor nou-născuți. Este recunoscută mai ales pentru caracteristicile „osteoblast-like”, adică sunt capabile să sintetizeze proteine ca și fosfataza alcalină, osteocalcină sau colagenul de tipul I, care sunt specifice fenotipului osteoblastic. Celulele sunt cultivate în mediu prezentat mai jos (proporțiile sunt date în volum) [181], [182].

- 45% MEM (Minimum Essential Media, Gibco, SUA) alpha cu Glutamax, cu conținut de fenol;
- 45% mediu DULBECCO (Gibco, SUA) cu conținut de fenol;
- 5% ser fetal bovin (Eurobio), de complementat la 56°C timp de 30 de minute;
- 5% ser bovin nou-născut (Eurobio), de complementat la 56°C timp de 30 de minute;
- Antibiotic: 50 μg/ml gentamicină (Panpharma);
- Antifungic: 250 μg/ml de mycostatine (Gibco).

Celulele se pun în cultură la o concentrație de 2000 de celule/cm², ceea ce înseamnă 150000 de celule într-un flacon de 75 cm² (Nunc) cultivate la 37°C în atmosferă umedă și conținând 5% CO₂ în incubator (Sanyo, SUA).



Figura 3.21 Incubatorul pentru păstrarea culturilor celulare, Sanyo

Culturile celulare sunt verificate în mod regulat și transplantate înainte de confluență pentru a evita orice risc de alterare a fenotipului. Morfologia osteoblastelor este prezentată în figura următoare după colorare cu cristal violet.

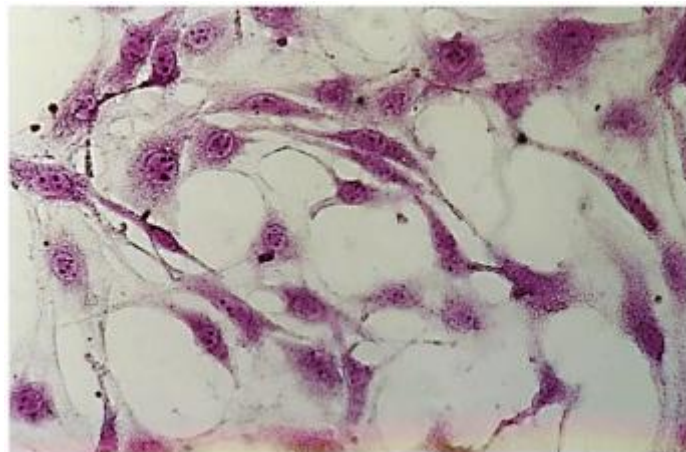


Figura 3.22 Morfologia osteoblastelor MC3T3-E1

Întreținerea liniei celulare

Când celulele nu sunt folosite, acestea sunt crio-conservate la -180°C în azot lichid în concentrația de $1,5-3 \cdot 10^6$ într-un mediu de congelare specific. Decongelarea trebuie realizată rapid la 37°C și după aceea suspensia se amestecă cu 10 ml de mediu de cultură. Celulele sunt centrifugate la 600 rotații/minut timp de 7 minute și repuse în suspensie în 15 ml de mediu de cultură într-un flacon de 75 cm^2 (Nunc).

Pentru a putea detașa celulele de pe flacon se folosește un amestec: tripsina (0,025% vol) - EDTA (0,01% vol, Gibco) timp de 7 minute, iar după se repun în cultură la concentrația de 150000 celule/15 ml. Fiecare proces de tripsinare și transplantare se calculează ca un ciclu de trecere și după fiecare decongelare este nevoie de 2 cicluri pentru ca celulele să revină la activitatea normală.

Supravegherea culturii celulare este realizată cu ajutorul microscopului optic (Nikon TMS), iar linia celulară se utilizează aproximativ 20 de cicluri, deoarece după asta poate apărea îmbătrânirea celulară.

Înainte de fiecare experiment celulele sunt însămânțate 48 de ore înainte pentru a lucra cu celule de același potențial și a obține o bună reproductibilitate a rezultatelor. Numărarea celulelor se realizează cu ajutorul unui aparat automat de numărare, Beckman Coulter Z2.

Dispozitivul de numărare (Beckman Coulter Z2) particule este utilizat pentru identificarea numărului de celule aflate în contact cu eșantioanele studiate. Acesta poate număra toate particulele de un diametru superior sau egal cu o valoare aleasă. Acesta este echipat cu o sondă de aspirat cu deschiderea de $100 \mu\text{m}$ și analizează un volum de $500 \mu\text{l}$ și diametre între $0,5$ și $50 \mu\text{m}$. În funcție de tipul celulelor utilizate se face o recalibrare a contorului de particule care este indispensabilă pentru a determina diametrul specific al fiecărei linii celulare. Pentru această calibrare este preparată o suspensie celulară conținând $3 \cdot 10^6$ celule/80 ml și se realizează numărătoarea variind diametrul de detecție a particulelor între 2 și $30 \mu\text{m}$ cu pasul de $0,25 \mu\text{m}$ și cu ceilalți parametri neschimbați. Curba de calibrare exprimă numărul de celule în funcție de diametrul particulelor, dimensiunea medie a osteoblastelor în suspensie este $17 \mu\text{m}$. Pragul inferior al diametrului pentru

numărarea osteoblastelor MC3T3-E1 este de 9 μm deoarece o dimensiune mai mică riscă să interfereze cu zgomotul de fond.



Figura 3.23 Dispozitiv de numărat particule Beckman Coulter Z2

Realizarea testului

Înainte de începerea testului celulele sunt menținute în mediul de cultură în incubator la 37 °C în atmosferă de 5% CO₂. Mediul de cultură este schimbat tot la două zile și celulele sunt transplantate când ating o confluență de 80 % pentru a limita diferențierea lor spontană.

Toți reactivii utilizați în cultura celulară (mediul de cultură, Trypsina EDTA, penicilina și streptomycină, acizi aminesesențiali și ser bovin fetal) au fost furnizați de firma Gibco Invitrogen.

Toate experimentele se realizează în plăci de cultură din polistiren steril non-toxic cu orificii numite godeuri în care se introduc mostrele noastre și substanțele de reacție sau de hrănire a celulelor depuse. Aceste plăci sunt fabricate în conformitate cu standardele europene și internaționale pentru a asigura calitate optică optimă și o dezvoltare uniformă și durabilă a celulelor [179].



Figura 3.24 Placă de cultură celulară de la firma CytoOne



Figura 3.25 Pudră de hidroxiapatită și hidroxiapatită dopată pentru testul de citotoxicitate

Mod de lucru

- Se începe prin a pune 5000 de celule în fiecare godeu din placa de cultură;
- Mediul de cultură (fără conținut de ser bovin fetal) este plasat în contact direct cu diferitele compoziții de pudră de hidroxiapatită sintetizată;
 - Cutia de cultură este plasată timp de 24 de ore în incubator în atmosferă cu 5% CO₂ pentru a permite mediului de cultură să interacționeze cu pudra;
 - După perioada de 24 de ore mediul de cultură este filtrat la 80 de rotații pe minut și se adaugă 10% ser bovin fetal;
 - Din mediul complet (care conține și ser bovin fetal) sunt plasați 200 μl în fiecare godeu cu strat de celule dezvoltat și se lasă 24 de ore în incubator;
 - Se adaugă 200 μl de soluție Blue Alamar și se pune din nou 3 ore în incubator;

- După ce placa de cultură este închisă cu capacul se înfășoară în folie de aluminiu pentru a fi protejată de lumină și se așează în incubator timp de 3 ore, timp în care substanța reacționează cu celulele și își va schimba proprietățile;

- După ce au trecut cele 3 ore de reacție se face verificarea cu fluorometrul (Berthold, Germania) pentru a vedea câte celule în stare bună de sănătate vor fi detectate pentru fiecare compoziție diferită. Pentru acest test se utilizează soluția de Blue Alamar de pe eșantioane, care se transferă cu ajutorul unei pipete într-o cutie „multiwell” cu 96 de micro-godeuri (wells). Acest suport este plasat în aparatul de măsură care este conectat la un computer și pe monitor apar colorate godeurile în funcție de vitalitatea celulară a fiecărei probe.

Reactivul Blue Alamar (Interchim) conține un indicator de creștere calorimetrică și a fluorescenței care se bazează pe detecția activității metabolice celulare. Soluția pătrunde prin pereții celulari până la mitocondrii unde întâlnește enzime care vor reduce substanța și aceasta își va schimba culoarea devenind roșiatică și cu proprietăți de fluorescență. Sistemul conține un indicator al reacției de oxidare/reducere care devine fluorescent și își schimbă culoarea ca răspuns al reacțiilor chimice din mediul de cultură. Această transformare nu poate fi realizată decât în prezența celulelor vii și intensitatea culorii este proporțională cu activitatea celulară. Indicatorul ratei de oxidare/reducere raportat la metabolismul celular indică schimbări clare și stabile. Un mare atu al acestui test este și faptul că nu este distructiv deși o mică toxicitate asupra celulelor a fost identificată, ceea ce permite continuarea culturii celulare după acest test.

3.2.2.2 Test cu fluid biologic simulat SBF

Acest test se folosește pentru a vedea comportamentul pe termen lung al discurilor realizate prin turnare în fluid biologic simulat.

Fluidul biologic simulat a fost preparat în laborator după rețeta revizuită a lui Kokubo din 2003 [183].

Pastilele din diferite compoziții densificate în urma procesului de sinterizare au fost plasate în containere sterile cu câte 7 ml de fluid biologic simulat.

Scopul acestui experiment este de a compara caracteristicile mecanice ale materialelor înainte și după 30 de zile de la imersarea în fluid, și de asemenea de a studia suprafața eșantioanelor cu microscopul electronic pentru determinarea precipitațiilor de suprafață.

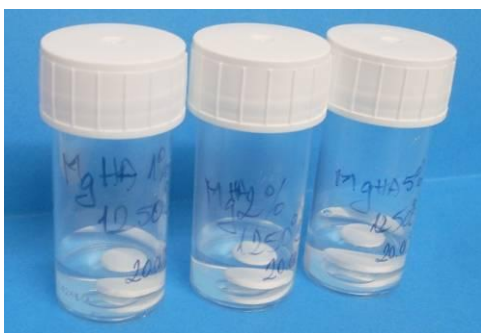


Figura 3.26 Containerele cu fluidul biologic simulat și eșantioanele studiate



Figura 3.27 Eșantioane utilizate pentru testul SBF

Toate probele sunt păstrate în incubator la 37°C în timpul experimentului. După această perioadă de 30 de zile probele sunt scoase din fluid și examinate pentru a vedea modificările ce intervin pe o perioadă mai lungă într-un mediu similar cu cel intern.

3.3 Testarea mecanică a eșantioanelor solidificate

După ce s-a validat compoziția obținută de hidroxiapatită și hidroxiapatită dopată cu magneziu și s-a verificat biocompatibilitatea, urmează etapa cea mai importantă de testare, și anume, testele proprietăților mecanice. Acestea reprezintă un aspect foarte important de material fiind esențiale în aplicațiile de implantologie.

Proprietățile care s-au verificat în această lucrare sunt: densitatea, microdurețarea Vickers și modulul de elasticitate.

În cazul modulului de elasticitate s-au utilizat două metode diferite de determinare, și anume: testarea la compresiune și testarea prin vibrații.

3.3.1 Densitatea eșantioanelor realizate

Pentru a calcula densitatea pastilelor realizate s-a utilizat metoda măsurării volumului și a masei.

Probele pentru care s-a făcut acest calcul au fost cele crude și cele sinterizate la diferite temperaturi.

Pentru a măsura masa eșantioanelor s-a folosit o balanță foarte precisă și pentru calculul volumului s-a măsurat diametrul mediu și înălțimea medie a eșantioanelor.

După calcularea densității s-a studiat și densitatea relativă la densitatea teoretică a hidroxiapatitei dense.

3.3.2 Microdurețarea Vickers

Duritatea se definește în tehnică drept rezistența opusă de material unei acțiuni de pătrundere mecanică exercitată din exterior prin intermediul unui alt corp.

În practică, se constată că materialele cu duritate mai mare pot aşchia (zgâria) materialele cu duritate mai mică, de asemenea rezistența la uzare este strâns legată de duritate.

Pentru determinarea durității se utilizează o serie de metode care pot fi clasificate după modul în care se desfășoară acțiunea de deformare a suprafeței.

Astfel, există încercări statice și încercări dinamice de determinare a durității; metodele statice sunt în general mai precise decât cele dinamice dar sunt mai laborioase și mai lente. Există și metode combinate de determinare a durității, spre exemplu prin rulare sau prin pendulare.

Metodele statice pentru determinarea durității sunt: metode prin zgâriere cu un corp mai dur și metode prin apăsare.

Metode de determinare a durității prin apăsare

Metodele de determinare a durității prin apăsare se deosebesc între ele, în principal prin forma penetratorului, condiții de lucru, dimensiuni caracteristice ale urmelor obținute.

Cele mai cunoscute și mai utilizate metode de determinare a durității prin apăsare sunt: Brinell, Vickers și Rockwell.

Metoda Vickers

Duritatea Vickers reprezintă rezistența pe care o opun metalele la pătrunderea unui penetrator piramidal de diamant, cu baza pătrată, cu unghiul la vârf prescris, sub acțiunea unei sarcini constante.

Duritatea Vickers se notează în mod obișnuit cu HV și exprimă raportul dintre forța F aplicată și aria suprafeței urmei remanente produse de penetrator. Unghiul fețelor opuse ale penetratorului, specific acestei metode este de 136° și a fost ales pentru a putea stabili o legătură cu duritatea Brinell.

Dacă exprimăm S în funcție de diagonala bazei piramidei și ținem cont de unghiul la vârf al piramidei obținem relația de calcul a durității Vickers:

$$HV = \frac{F}{d_2} = 1,8544 \cdot \frac{F}{d^2} \quad 3.1$$

Aprecierea durității constă în măsurarea diagonalei urmei. În acest scop se poate utiliza un microscop sau un proiector, iar pentru operativitate au fost realizate tabele în care se citește duritatea corespunzătoare.

În domeniul sarcinilor obișnuite, între 4,9 daN și 98 daN urmele obținute cu penetratoare cu unghiuri la vârf identice sunt asemenea, duritatea fiind deci independentă de sarcina aplicată în timpul încercării.

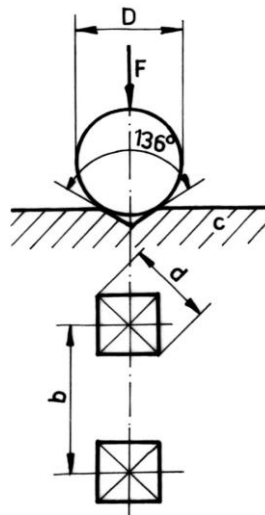


Figura 3.28 Urma lasată de penetratorul Vickers

Pot fi măsurate durități pornind de la 10 HV și mergând până la 1900 HV.

În ceea ce privește adâncimea de penetrare a piramidei Vickers, aceasta este de 1/7 d și ca urmare metoda se pretează și pentru efectuarea măsurărilor de duritate a pieselor subțiri, a straturilor subțiri obținute prin diferite procedee de depunere sau prin tratament termic.

Deși duritatea nu variază cu forța de apăsare, din motive practice au fost prescrise anumite valori discrete pentru sarcinile aplicate în timpul încercării. Acest lucru a condus la clasificarea încercărilor Vickers în trei categorii și anume: încercări de duritate Vickers; încercări de duritate Vickers cu sarcini mici și încercări de microduritate Vickers (cu microsarcini).

Această clasificare și valorile sarcinilor utilizate sunt prezentate în tabelul 2.1.

Tabel 3.1 Sarcini utilizate la încercarea Vickers [184]

Încercarea	Sarcina de încercare daN (kgf)					
Vickers	4,903	9,806	19,61	29,42	49,30	98,07
	5	10	20	30	50	100
Vickers cu sarcini mici	0,49	0,89	1,96	2,94	3,92	
	0,50	1,00	2,00	3,00	4,00	-
Vickers cu microsarcini	0,0049	0,0098	0,0196	0,049	0,098	0,196
	0,005	0,010	0,020	0,050	0,100	0,200

Pentru evitarea vicierii interpretării durității datorită influențării reciproce a urmelor prin existența zonelor durificate din jurul acestora, se recomandă păstrarea distanțelor b între centrele urmelor învecinate și distanțelor c între centrul urmelor și marginea piesei conform tabelului 2.2.

Tabel 3.2 Timpul de menținere a sarcinii și distanța admisă dintre urme, la determinarea durității Vickers [184]

Duritatea Vickers, HV	Timpul de menținere a sarcinii [s]	b	c
Peste 100	10-15	2,5 d	2,5 d
36-100	27-33	3,5 d	2,5 d
10-35	115-125	4,5 d	3,5 d
Sub 10	170-190	5,5 d	4,5 d

Pentru realizarea determinării se execută minim trei încercări pentru a obține trei urme, iar suprafața trebuie pregătită la o rugozitate care să asigure o măsurare în condiții bune a urmelor. Urmele trebuie să aibă conturul clar și nederanjat de urmele prelucrării.

Fiecare urmă se măsoară separat prin evaluarea celor două diagonale și prin calcul se obține diagonala medie.

Pentru valori ale durității sub 100 HV precizia cerută pentru exprimarea rezultatelor este 0,1 HV iar pentru durități mai mari zecimalele se neglijează. Valoarea durității este urmată de simbolul HV și de doi indici. Primul indice reprezintă sarcina de încărcare exprimată în daN iar al doilea timpul de menținere a sarcinii în secunde.

Datorită naturii probelor examinate trebuie utilizat un dispozitiv de măsură microduritatea Vickers folosind o sarcină de 200 de grame timp de 15 secunde. Dispozitivul utilizat pentru realizarea acestor este este microdurimetrul Wolpert 402MVD și microscopul electronic cu baleaj pentru a măsura diagonalele.



Figura 3.29 Microdurimetrul Vickers Wolpert 402MVD

3.3.3 Modulul de elasticitate

Modulul de elasticitate a fost măsurat datorită importanței sale majore în comportamentul oricărui material, acesta putând fi un indicator pentru mai multe aspecte mecanice care se pot determina cu ajutorul lui.

Un corp solid supus unei solicitări la întindere se deformează. Deformarea este elastică dacă în urma încetării acțiunii forței exterioare corpul revine la starea inițială. În caz contrar deformarea este inelastică. În cazul unei deformări elastice, în interiorul corpului deformat ia naștere o forță elastică F , care se opune solicitării exterioare reprezentate de forța F_e . Deformarea având valoarea Δl , forța elastică are expresia:

$$F = -k \cdot \Delta l = -F_e \quad \mathbf{3.2}$$

în care k este coeficient de proporționalitate, ce exprimă constanta elastică a materialului supus întinderii.

Când se realizează echilibrul mecanic forța elastică este egală și de semn contrar cu forța de solicitare exterioară. În cazul particular al unei bare ce are secțiunea normală S și lungimea inițială l_0 există relația:

$$k = E \cdot \frac{S}{l_0} \quad \mathbf{3.3}$$

unde E reprezintă modulul longitudinal de elasticitate sau modulul lui Young.

Raportul $\varepsilon = \Delta l/l_0$ se numește alungire relativă, iar raportul $\sigma = F_e/S$ este cunoscut sub numele de rezistență normală la întindere sau efort unitar. Utilizând aceste mărimi condiția de echilibru (1) ia forma:

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon} \quad \mathbf{3.4}$$

unde mărimea $\alpha = 1/E$ mai este cunoscută și sub numele de coeficientul de alungire. Conform relației (2) putem constata că dimensiunea modulului de elasticitate este $L^{-1}M T^{-2}$ unitatea sa de măsură fiind N/m^2 .

Pentru determinarea acestuia am utilizat două metode diferite pentru a vedea diferențele care apar în funcție de modalitatea de testare. Astfel, proba a fost testată prin compresiunea eșantioanelor și prin metoda vibrațiilor.

3.3.3.1 Testarea prin compresiune a eșantioanelor realizate

Acest test s-a realizat cu ajutorul echipamentului Test Xpert II Zwick Roell Z005 la o viteză de 1mm/min și forță maximă de 60N.



Figura 3.30 Echipament de încercări Zwick Roell Z005

Pentru a realiza această încercare s-a început prin a testa un eșantion pentru a vedea care este forța de rupere. Așadar o probă de MgHA 2% 1250°C a fost testată și aceasta s-a rupt la forța de 132,46N. După acest rezultat s-a hotărât păstrarea forței maxime de compresiune la 60N pentru a nu distruge probele care urmau să fie testate și prin altă metodă ulterior.

Pentru a calcula modulul de elasticitate, care este panta la linia din graficul forță-deformație, se utilizează valorile din zona liniată și se folosesc următoarele formule:

$$E = \frac{\sigma_2 - \sigma_1}{\varepsilon_2 - \varepsilon_1} \cdot 100 \quad 3.5$$

unde

σ = tensiunea aplicată [MPa]

ε = deformația [mm]

$$\sigma = \frac{F}{S} \quad 3.6$$

Unde

F= este forța rezultată de pe graficul tensiune-deformație [N]

S= aria suprafeței testate [mm²]

$$\varepsilon = \frac{\Delta l}{h} \cdot 100 \text{ [mm]} \quad 3.7$$

Unde

Δl = deformația măsurată pentru forța σ pe grafic [mm]

h= înălțimea eșantionului testat [mm]

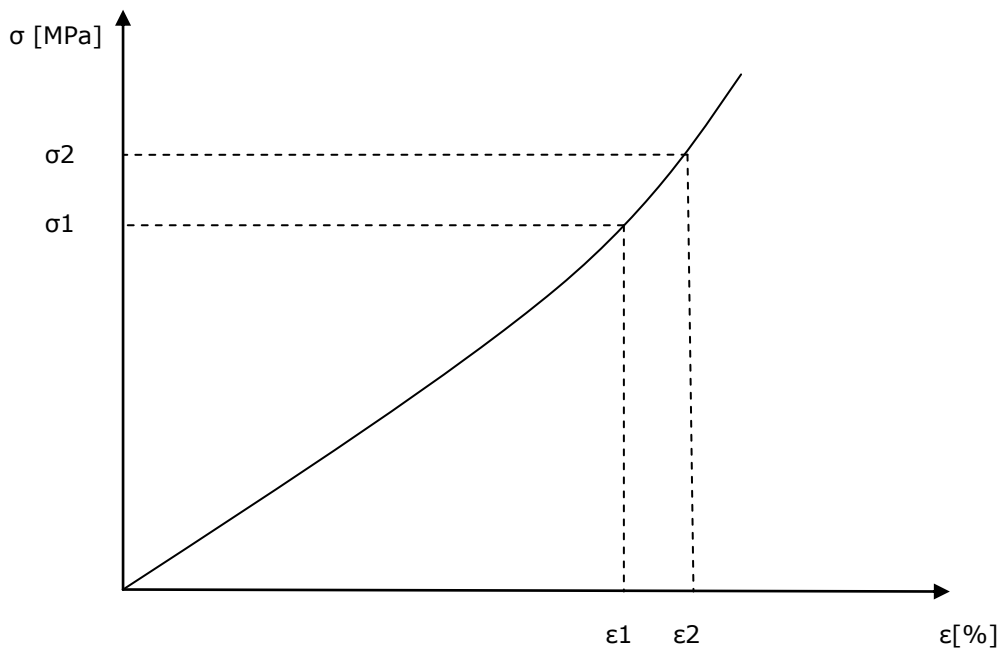


Figura 3.31 Exemplu de măsurare a modului de elasticitate cu ajutorul graficului tensiune-deformație

După trasarea curbelor tensiune-deformație pentru diferitele compoziții s-au realizat calcule pentru modulul de elasticitate utilizând domeniul linear al curbelor și s-a realizat comparația între valorile obținute pentru eșantioanele tratate termic și pentru cele care au fost imersate în fluid biologic simulat timp de 30 de zile.

3.3.3.2 Testarea prin vibrații a eșantioanelor realizate

Pentru a realiza această măsurătoare se utilizează metoda determinării experimentale a modulului Young din răspunsul la vibrații libere.

În cele ce urmează, probele de hidroxiapatită, se vor considera plăci cilindrice, având secțiunea circulară de rază constantă, și nesupuse unor solicitări exterioare. Pentru studiul vibrațiilor libere ale acestor plăci se iau în considerare diferite condiții de frontieră (de sprijin). Cele mai cunoscute cazuri în literatură sunt: placa încastrată pe contur, placă rezemată pe contur, placă rezemată în centrul său și placă liberă. Din punct de vedere experimental ultimele două cazuri sunt cele mai ușor de realizat, așa cum sunt prezentate modelele fizice ale acestora, în figurile de mai jos.

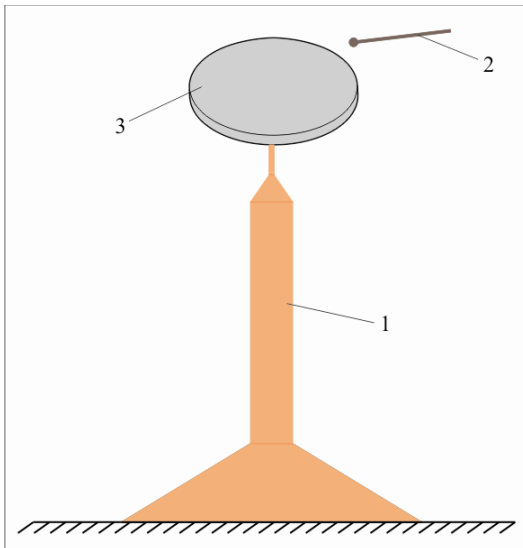


Figura 3.32 Modelul fizic placă - rezemată în centru

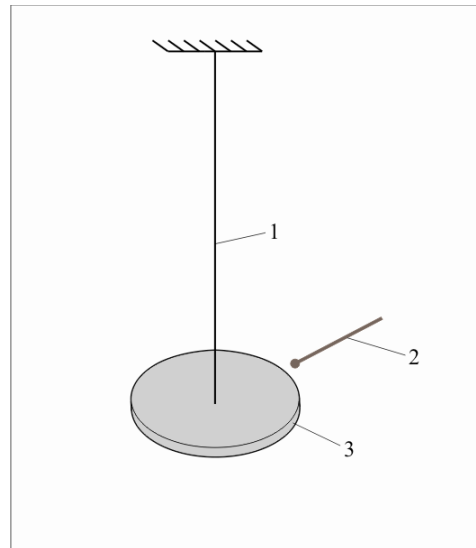


Figura 3.33 Modelul fizic - placă liberă

Considerând proba de HA, numărul 3 în figură, având conturul perfect liber și sprijinită în centrul său, pe suportul 3, aceasta poate fi adusă în starea de vibrație printr-un impuls aplicat prin intermediul unei bile 2, de dimensiuni și masă mici. Modul fundamental va avea frecvența [184]:

$$f = \frac{0,172d}{R^2} \cdot \sqrt{\frac{E}{\rho(1-\sigma^2)}} \quad 3.8$$

unde d este grosimea plăcii, R este raza acesteia, E este modulul de elasticitate, ρ este densitatea, iar σ este coeficientul lui Poisson.

Se constată că pe baza acestei formule, având determinată frecvența modului fundamental (cea mai joasă frecvență dintre frecvențele proprii, deci cea mai ușor de excitat), prin măsurători experimentale, se poate determina modulul de elasticitate longitudinal (Young).

În mod asemănător dacă se consideră proba legată printr-un fir (de ață), fără proprietăți elastice, în centrul său se poate considera că aceasta se va comporta ca o placă liberă. Pentru această situație modul fundamental va avea frecvența [184]:

$$f = \frac{0,412d}{R^2} \cdot \sqrt{\frac{E}{\rho(1-\sigma^2)}} \quad 3.9$$

Instrumentația de măsură utilizată

Pentru efectuarea măsurătorilor de vibrații s-au realizat două standuri experimentale după cum se poate vedea în figurile următoare.



Figura 3.34 Standul experimental pentru înregistrarea răspunsului sonor: a. placă liberă; b. placă rezemată în centru



Figura 3.35 Standul experimental pentru înregistrarea semnalului prin fascicul laser: a. placă liberă; b. placă rezemată în centru

Cele două standuri experimentale s-au creat pentru măsurătorile de vibrații pe sistemele mecanice reale corespunzătoare celor două modele fizice prezentate în figurile 8 și 9. Pentru amândouă situații s-au făcut măsurători de vibrații atât prin înregistrarea sonoră a semnalului, cât și prin convertirea frecvenței acestuia, prin intermediul unui laser, într-un fascicul laser modulată în frecvență proporțională cu viteza instantanee a probei.

Pentru prima situație s-a folosit un microfon condensator, datorită sensibilității și fidelității sale de măsură în domeniul frecvențelor înalte.

Răspunsul sonor captat a fost introdus în calculator cu ajutorul unei plăci de sunet de bună calitate. Pentru a obține informații cât mai precise, placa de sunet a fost setată pe o frecvență de eșantionare $v_e = 44100$ Hz la o precizie de 16 biți. Setarea s-a făcut prin programul de achiziție *CoolEdit*.

Pentru a elimina frecvențele joase din semnalele înregistrate am aplicat semnalelor achiziționate un filtraj de tip FFT cu caracteristică de trecere plată cuprinsă în banda de frecvențe (400,20000) Hz.

Semnalele au fost stocate în fișiere cu format *wav* și *txt* în perechi având inclus atât momentul de timp, cât și valoarea măsurată.

Au fost de asemenea măsurate vibrațiile libere ale probelor cu ajutorul unui vibrometru laser OMETRON de tip Industrial Vibrometer VQ-400-A. Acesta este echipat cu un laser de 1 mW, cu lungimea de undă $\lambda=633$ nm (roșu). Acest dispozitiv măsoară viteza instantanee într-un punct pe baza efectului Doppler pe direcția fascicolului laser.

Ca principiu de funcționare la vibrometru apare între fasciculul laser incident și cel reflectat de obiectul în mișcare o diferență de frecvență proporțională cu viteza obiectului: $\Delta v = k v(t)/\lambda$. Prin compunerea cele două fascicule apare fenomenul de bătaie, rezultând o modulare a intensității fasciculelor de lumină amestecate, cu o frecvență proporțională cu viteza instantanee. Cu un convertor frecvență-tensiune rezultă o tensiune proporțională cu:

$$U(t) = \frac{k v(t)}{\lambda} \quad \mathbf{3.10}$$

Dispozitivul măsoară în banda de frecvențe (2-20000) Hz măsurând viteza în domeniul 0-100 mm/s, fără posibilitatea de a modifica scala de măsură. Dispozitivul scoate la ieșire semnal analogic, în domeniul 0-5 V. Semnalul de la ieșire a fost introdus de asemenea în calculator prin placa de sunet.

Măsurătorile efectuate cu VQ-400-A au o calitate mai proastă datorită schimbării necontrolate a fascicolului laser reflectat generat de mișcările lente ale discului după impact și datorită imposibilității de a regla scara de măsură a vitezei.

Determinarea pulsațiilor proprii din răspunsul liber

Se va considera un sistem vibrant cu un grad de libertate căruia i se aplică un impuls scurt, și se înregistrează răspunsul acestuia, $x(t)$ sub forma discretă $x_k = x(t_k)$, la momente discrete de timp $t_k = k\Delta t$, unde $k = 0, 1, 2, 3, \dots$.

În cazul vibrațiilor probei, $x(t)$ reprezintă presiunea sonoră înregistrată cu microfonul sau viteza instantanee măsurată cu vibrometrul laser într-un punct de pe discul studiat.

Înregistrarea se poate face cu un accelerometru, semnalul fiind amplificat, integrat de două ori și introdus în calculator. În acest caz $v_e = 1/\Delta t$ reprezintă frecvența de eșantionare.

Valorile experimentale ale răspunsului măsurat se notează cu x_k , corespunzătoare momentelor de timp t_k , unde $k = 0, 1, 2, 3, \dots$.

Deoarece sistemul investigat reprezintă un sistem vibrant cu amortizare vâscoasă, având n grade de libertate, răspunsul liber se poate scrie în funcție de parametrii sistemului, sub forma:

$$x_k = A_0 e^{-rt_k} \cdot \cos(pt_k + \phi), \quad 3.11$$

unde r este factorul de amortizare, iar p este pseudopulsția vibrațiilor libere ale sistemului.

Acest răspuns se poate pune și sub formă complexă:

$$X_k = A e^{(-r \pm ip)k\Delta t} = A e^{\lambda k\Delta t} \quad 3.12$$

unde $\lambda_{1,2} = r \pm ip$ sunt cantități complex conjugate, care apar în perechi, partea reală reprezentând coeficientul de amortizare, iar partea imaginară reprezentând pseudopulsția.

Se introduc notațiile:

$$S_1 = -(\lambda_1 + \lambda_2) = 2r \quad 3.13$$

$$S_2 = \lambda_1 \lambda_2 = r^2 + p^2 \quad 3.14$$

Se demonstrează ușor că parametrii $S_{1,2}$ se obțin rezolvând întâi sistemul liniar de ecuații:

$$\begin{bmatrix} x_0 & x_1 \\ x_1 & x_2 \end{bmatrix} \begin{Bmatrix} S_1 \\ S_2 \end{Bmatrix} = \begin{Bmatrix} -x_2 \\ -x_3 \end{Bmatrix}, \quad 3.15$$

care, pentru mărirea preciziei poate fi generalizat la sistemul supradeterminat:

$$\begin{bmatrix} x_0 & x_1 \\ x_1 & x_2 \\ \dots & \dots \\ x_{2n-1} & x_{2n} \end{bmatrix} \begin{Bmatrix} S_2 \\ \dots \\ S_1 \end{Bmatrix} = \begin{Bmatrix} x_{2n} \\ x_{2n+1} \\ \dots \\ x_{4n} \end{Bmatrix}, \quad 3.16$$

Rezolvând sistemul supradeterminat

$$[A]\{s\} = \{b\} \quad 3.17$$

obținem $\{S_1, S_2\}$

$$\{s\} = ([A]^t[A])^{-1}[A]^t\{b\} \quad 3.18$$

ale căror soluții sunt:

$$r = \frac{s_1}{2}, \quad \mathbf{3.19}$$

$$p = \pm \sqrt{s_2 \left(\frac{s_1}{2}\right)^2} \quad \mathbf{3.20}$$

Trebuie să se observe că pseudopulsațiile vor apărea în perechi de semn contrar. Metoda poate fi generalizată pentru sisteme cu mai multe grade de libertate.

Experimental se dorește să se stabilească pulsația fundamentală a unui disc corespunzător cazului în care discul este liber.

Această frecvență este legată de modulul lui Young, E , și de densitate așa cum s-a văzut în secțiunea precedentă, printr-o relație care ne va permite să determinăm E . Similar se poate face și pentru alte frecvențe proprii.

Pentru obținerea unei mișcări vibratorii s-a aplicat cu o bilă mică rigidă un impact discului.

Răspunsul la vibrații poate conține mai multe moduri, motiv pentru care se poate extrage componenta fundamentală a răspunsului (f_{\min}), prin filtraj, sau să se aplice metoda (16) pentru cazul cu mai multe grade de libertate.

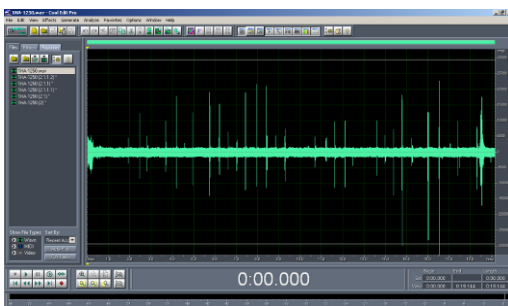


Figura 3.36 Captură semnal înregistrat de pe monitor

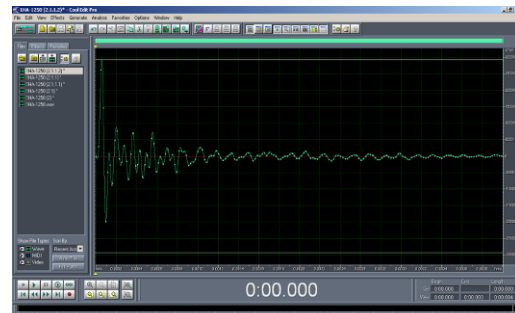


Figura 3.37 Eșantion din semnalul înregistrat

3.4 Testarea termografică

Intrucât eșantioanele realizate prezintă diferite proprietăți în funcție de compoziție a fost realizat și un test cu ajutorul camerei de termografie pentru a studia evoluția temperaturii în funcție de cantitatea de dopant adăugată și de asemenea omogenitatea structurii.

Termografia presupune preluarea imaginii termice a obiectului și convertirea imaginii obținute în frecvențe din domeniul vizibil, pentru care ochiul prezintă sensibilitate spectrală.

Din punct de vedere tehnic, termograful este un aparat optoelectronic, care conține următoarele subansambluri principale:

- obiectiv de preluare a imaginii;

- matrice de elemente fotosensibile IR (traductor termic, care transmite un semnal electric proporțional cu temperatura);
- modul de paletă de culoare (care transformă semnalul transmis de traductorul termic în semnal optic în domeniul vizibil).

Termograful FLIR A40M este echipamentul cu ajutorul căruia se realizează aceste măsurători. FLIR A40M este o cameră în infraroșu, accesibilă, cu precizie, care produce imagini mai clare decât camerele precedente și are posibilitatea de măsurare a temperaturii în domeniul industrial și în procesele de monitorizare în verificarea produselor și în aplicații de securitate.



Figura 3.38 Cameră termografică FLIR THERMOVISION A40M

Camera a fost creată astfel încât să poată fi montată în orice loc și în orice poziție să depindă doar de factorii din încăperea, cum ar fi temperatura și umiditatea. Adaptabilă la orice tip de măsurători, are rezoluția de 320x240 pixeli, interfață IEEE-1394 ce captează pe PC o imagine monocromă de 8/16 bit cu o viteză de 60Hz.

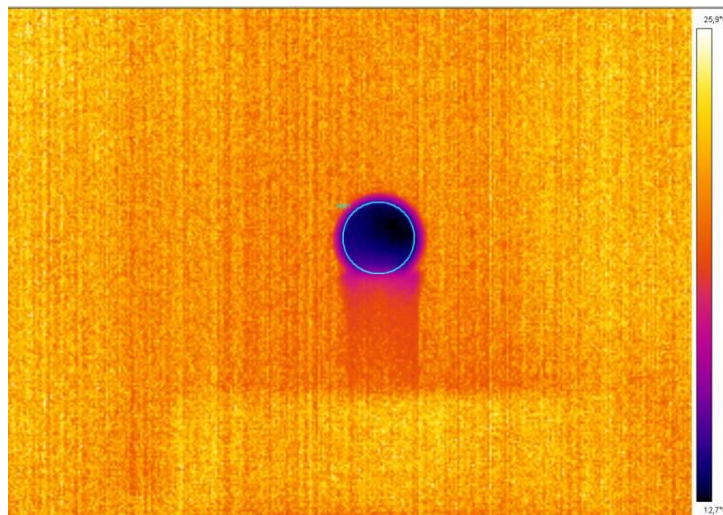


Figura 3.39 Imaginea în infraroșu a eșantionului

Echipamentul folosește o tehnică de detecție avansată prin microbolometrul FPA produce imagini intense pe o undă lungă într-o paletă de culori multiple care îți permit să observi variațiile mici de temperatură, cum ar fi $0,08^{\circ}\text{C}$. Captarea imaginii în timp real la camerele standard (60Hz) pot identifica rapid evenimente tranzitorii termice și pot genera imagini clare al obiectelor aflate în mișcare [185].

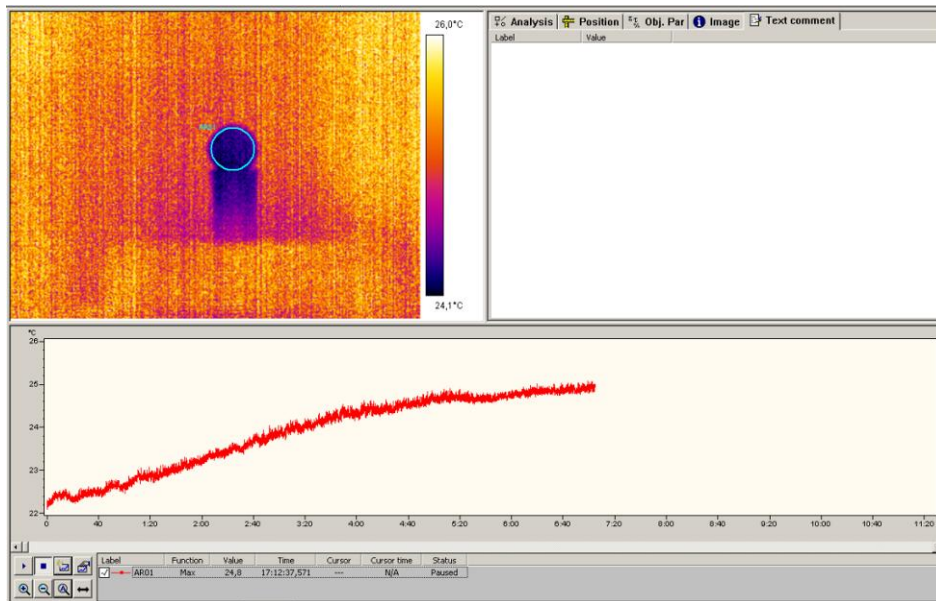


Figura 3.40 Imaginea în infraroșu a eșantionului și graficul temperatură-timp

Pentru testul eșantioanelor de hidroxiapatită și hidroxiapatită dopată, acestea se răcesc în prealabil cu ajutorul unui frigider și după se vizualizează cu termograful și se înregistrează fluctuația temperaturii timp de aproximativ 7 minute. În timpul înregistrării camera preia informații care ulterior pot fi analizate pentru a trasa graficul evoluției temperaturii în timp și de asemenea se poate observa cum fluctuează temperatura în funcție de suprafața probei. Dacă încălzirea este uniformă atunci vom avea de-a face cu o structură omogenă și dacă acest lucru nu se întâmplă atunci putem determina care compoziții prezintă neomogenități.

Aceste aspecte de conductivitate termică și stabilitate termică pot fi de interes în cazul implanturilor realizate din aceste compoziții, deoarece acestea vor fi în contact cu țesutul și o diferență de mai mult de câteva grade celsius între implant și țesut poate provoca reacții inflamatorii și implicit un răspuns de respingere a corpului străin.

4 REZULTATE ȘI DISCUȚII

4.1 Materiale obținute

A. Metoda de sinteză aleasă

În urma studierii literaturii și a metodelor existente de sintetizare de hidroxiapatită s-a ales metoda de sintetizare prin precipitarea apoasă. Această metodă de sintetizare oferă posibilitatea de a varia parametrii reacției independent unul de celălalt.

Astfel se pot modifica următorii parametri:

- Cantitatea de reactivi și implicit stoechiometria
- PH-ul
- Temperatura la care se realizează reacția
- Viteza de rotație
- Durata de maturare a soluției

Un alt avantaj al acestei metode constă în faptul că oferă o siguranță mai mare în desfășurarea experimentului deoarece se poate alege o temperatură de reacție mai scăzută. Acest parametru mai scăzut poate crea condiții mai sigure atât pentru persoana care realizează experimentul cât și pentru instalația utilizată care se poate uza mai repede la temperaturi mai ridicate.

Deoarece interesul acestei lucrări este de a adăuga dopanți în structura hidroxiapatitei pure, această metodă are din nou un avantaj permițându-ne încorporarea unei cantități semnificative de dopanți și integrarea acestora la nivelul structurii cristaline a hidroxiapatitei, nu doar o amestecare mecanică.

Rezultatul acestui tip de sinteză este o pudră nanometrică care încă nu este cristalizată din cauza resturilor de nitrat de amoniu rezultat în urma reacției. Deci produsul final va fi sub formă amorfă și va trebui trecut printr-un tratament termic pentru eliminarea acestor compuși nedorți și pentru cristalizare.

Un alt atuș oferit de metoda prin precipitare în soluție apoasă este dat de cantitatea de produs final obținută, aceasta fiind în jur de 400-500 grame de produs uscat după filtrare. Alte metode permit obținerea unor cantități mult mai mici de produs final.



Figura 4.1 Pudra de hidroxiapatită după filtrare („cake“)



Figura 4.2 Instalația de sinteză a hidroxiapatitei compusă din bioreactor și termostat

În experimentul de față am ales să păstrăm constanți unii parametrii (pH, viteza de rotație) și să variem unul sau mai mulți din ceilalți (stoechiometrie, temperatură, durată de maturare).

Temperatura și durata de sinteză

Prin varierea temperaturii și duratei de sinteză am dorit să vedem ce efect va avea aceasta asupra produsului final și care temperatură este recomandabilă.

Experimentele au fost realizate la două temperaturi diferite (50°C și 88°C) și două durate diferite de maturare (20 h și 1 h) fiind studiate produsele rezultate pentru a vedea dacă există diferențe. Rezultatul difractometriei cu raze X a arătat că ambele pudre sunt hidroxiapatită și că fazele nu sunt modificate din cauza temperaturilor diferite. Singura diferență observată a fost în cristalinitatea pudrei obținute imediat după filtrare, cea sintetizată la 88°C fiind mai cristalină decât cea la 50°C lucru care va fi oricum uniformizat după tratamentul termic.

Astfel am ales metoda cu temperatura mai scăzută din cauza condițiilor de securitate sporite a metodei și a materialului.

Varierea stoechiometriei

Pentru a obține un material bifazic am ales să modificăm cantitățile inițiale de reactivi și astfel am obținut ceramică bifazică hidroxiapatită-tricalciufosfat (HA-TCP). Acest material este apreciat pentru îmbunătățirea osteoinducției deoarece combinația dintre hidroxiapatită foarte puțin resorbabilă și TCP-ul resorbabil creează combinația perfectă pentru dezvoltarea treptată a țesutului osos în locul TCP-ului care se va resoarbe, fără să piardă complet suportul mecanic care este asigurat de hidroxiapatită.

Prin urmare metoda de sintetizare este adaptată atât pentru obținerea hidroxiapatitei pure cât și pentru obținerea materialelor bifazice sau dopate, reacțiile având loc la nivel structurii cristalografice și nu doar prin mixare mecanică.

Prin orice deficit de calciu în reacția inițială produsul final va conține mai mult sau mai puțin TCP, în funcție de rezultatul dorit și de aplicația medicală.

B.Doparea cu magneziu

Pentru a îmbunătăți proprietățile mecanice ale hidroxiapatitei am ales dopajul cu magneziu din mai multe motive:

- Acesta este un element care există deja în țesutul osos natural în proporție de 0.44-1.22 % în funcție de tipul osului
- Conform literaturii științifice acesta îmbunătățește proprietățile mecanice ale hidroxiapatitei
- Are rol de stabilizator în cadrul tratamentelor termice stopând transformările nedorite de fază
- Nu creează probleme de biocompatibilitate
- Este folositor și în cazul materialelor bifazice HA-Al₂O₃ deoarece oprește apariția aluminaților în urma tratamentelor de sinterizare până la temperaturi de 1400°C
- Deși comportamentul hidroxiapatitei a fost studiat în mii de articole în ultimele decenii, cel al hidroxiapatitei dopate cu magneziu este încă relativ necunoscut și aceasta nu se găsește la scară largă în comerț încă

Deși doparea cu magneziu poate îmbunătăți proprietățile hidroxiapatitei trebuie avut în vedere și cantitatea de dopant utilizată, deoarece peste 2 % poate cauza probleme din cauza densificării insuficiente.

C.Realizarea barbotinei

A fost aleasă această formă de prelucrare a pudrei obținute deoarece ne permite o mare flexibilitate în realizarea de forme complexe. Pentru a putea realiza barbotina pudra a fost în prealabil calcinată și măcinată cu ajutorul instalației formate din container-ul de polipropilena cu bile de alumină.



Figura 4.3 Instalația de măcinare a pudrei obținute și de realizare a barbotinei



Figura 4.4 Bilele de aluminiă utilizate pentru măcinare și barbotina b) Containerul din polipropilenă în care este introdusă pudra și bilele de aluminiă

Barbotina a fost realizată într-o instalație de mixare într-un suport de polipropilena și cu ajutorul unor bile de aluminiă pentru omogenizare. Cantitatea de materie uscată utilizată în realizarea barbotinei variază în funcție de compoziție, s-a dorit încorporarea a 70 % de materie uscată dar hidroxiapatita dopată nu a putut fi încorporată decât în cantități de 65 % pentru MgHA 2 % respectiv 56 % pentru MgHA 5 %. Hidroxiapatita MgHA 1 % a putut fi încorporată în proporție de 70 % și MgHA 10 % nu a putut fi pusă sub formă de barbotină.

Deoarece dorim obținerea unei densități finale cât mai ridicate și materia crudă trebuie să aibe o anumită densitate de plecare și barbotinele care au o densitate inferioară vor da și produse finale de densitate inferioară. Din acest considerent densitatea crudă trebuie să se încadreze în intervalul 35-45 % din densitatea teoretică a hidroxiapatitei (3.15 g/cm³).

Prin acest proces de realizarea a formelor implanturilor se pot realiza forme pentru diferite regiuni ale corpului cum ar fi vertebrele, oasele craniului, regiunea maxilo-facială etc. Pe lângă formele complexe care se pot realiza putem de asemenea obține structuri macroporoase care favorizează creșterea țesutului osos (osteointegrarea) și fuzionarea cu materialul implantat. Aceste implanturi macroporoase se pot realiza cu ajutorul materialelor polimerice care se introduc în

barbotina și se elimină după tratamentul termic rămânând golurile ocupate de volumul acestora.

Și din această etapă putem observa că doparea cu magneziu în cantități prea mari nu este benefică pentru material deoarece nu poate fi încorporată toată cantitatea în structura cristalografică.

D. Realizarea de materiale bifazice cu Al₂O₃

Din dorința de a îmbunătăți proprietățile mecanice am realizat și materiale bifazice hidroxiapatita – alumina (HA-Al₂O₃) prin încorporarea de diferite procentaje de alumina în timpul realizării barbotinei.

Deoarece acest material bifazic devine instabil la temperaturi ridicate datorită apariției aluminaților peste 1200°C se adaugă alumina la hidroxiapatită dopată, magneziul fiind un bun stabilizator termic și în acest caz, permițând densificarea până la 1400°C fără apariția aluminaților.

E. Eșantioanele realizate

Deoarece în cadrul acestui experiment s-au modificat diferiți parametrii avem și diferite produse obținute, astfel am obținut hidroxiapatita pură la 50°C și 88°C, hidroxiapatita bifazică cu TCP și hidroxiapatita dopată cu magneziu.

Pudrele sintetizate

Tabel 4.1 Sinteze realizate

Nr	Denumire	Temp [°C]	Timp [h]	Compoziție	DRX	MEB	Biologie
1	FHA1T	50	20	HA			
2	FHA2T	50	20	HA			
3	FHA3T	50	20	HA			
4	FHA4T	50	20	HA			
5	FHA5T	50	20	HA	x	x	x
6	FHA6T	50	20	HA	x	x	x
7	FHA7T	50	20	HA	x	x	
8	FHA8T	50	20	HA			
9	FHA9T	50	20	HA			
10	FHA10T	50	20	HA			
11	FHA11T	88	1	HA			
12	FHA12T	88	1	HA			
13	FHA13T	50	20	HA			
14	FHA14T	50	20	HA-TCP	x		x
15	FHA15T	50	20	HA-TCP			

16	FHA16T	50	20	HA-TCP			
17	FHA17T	50	20	HA-TCP			
18	FMgHA1T	88	1	MgHA 1%	x	x	x
19	FMgHA2T	50	20	MgHA 5%	x	x	x
20	FMgHA3T	50	20	MgHA 1%			
21	FMgHA4T	50	20	MgHA 1%			
22	FMgHA5T	50	20	MgHA 1%	x		
23	FMgHA6T	50	20	MgHA 5%			
24	FMgHA7T	50	20	MgHA 2%	x		x
25	FMgHA8T	50	20	MgHA 1%			
26	FMgHA9T	50	20	MgHA 1%			
27	FMgHA10T	88	1	MgHA 10%	x		x

4.2 Validarea materialelor obținute

4.2.1 Validarea fizică

Caracterizarea cu raze X a pudrelor

Difracrometria cu raze X a fost realizată cu dispozitivul Bruker D8 Advance cu un tub de Cu și un detector cu scintilație.

În următoarele imagini avem difractogramele pentru pudre de hidroxiapatită pură cât și hidroxiapatita dopată cu magneziu în diferite concentrații.

Hidroxiapatita pură

Difractograma următoare este obținută de la o pudră de hidroxiapatită nedopată și calcinată la 900°C pentru a obține o cristalizare completă. Din imagine putem observa mai multe peak-uri de înaltă intensitate corespunzătoare planelor hidroxiapatitei (002), (211), (112), (300) și (213) corespunzătoare cu fișa standard PDF # 9-432 a hidroxiapatitei. Nu este detectată faza TCP sau CaO.

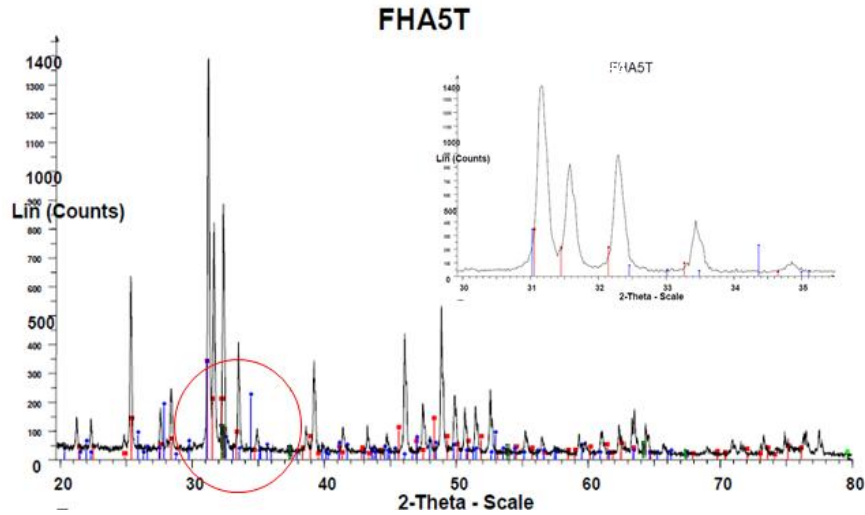


Figura 4.5 Difractograma pudrei de hidroxiapatita calcinată la 900 °C

Hidroxiapatita dopată cu 1% și 5% Magneziu

Pentru aceste două compoziții peak-urile de intensitate puternică se află în regiunea 31°, certificând faptul că am obținut o pudră cu grad ridicat de cristalinitate. Prezența MgO este identificată în dreptul 43° punând în evidență prezența dopantului în cele 2 compoziții studiate.

Pentru compoziția MgHA 1% nu a fost identificată nici o altă fază secundară.

Dimpotrivă pentru compoziția MgHA 5% apar trei peak-uri de β -TCP corespunzătoare planurilor (0210), (220) în conformitate cu fișa standard PDF # 9-169 a β -TCP.

Prezența acestei faze, care este perfect biocompatibilă, nu împiedică folosirea acestei compoziții ca biomaterial. Apariția acestor faze de β -TCP sau CaO induse de adăugarea dopanților este cunoscută din literatură.

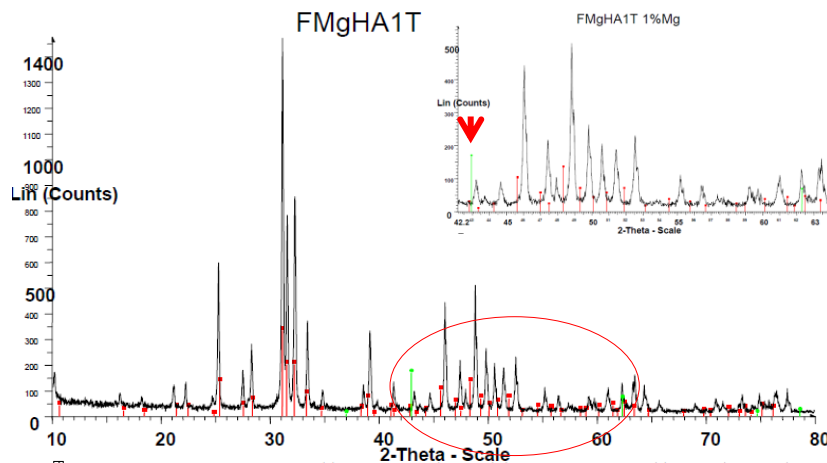


Figura 4.6 Difractograma pudrei de MgHA 1% calcinată la 900 °C

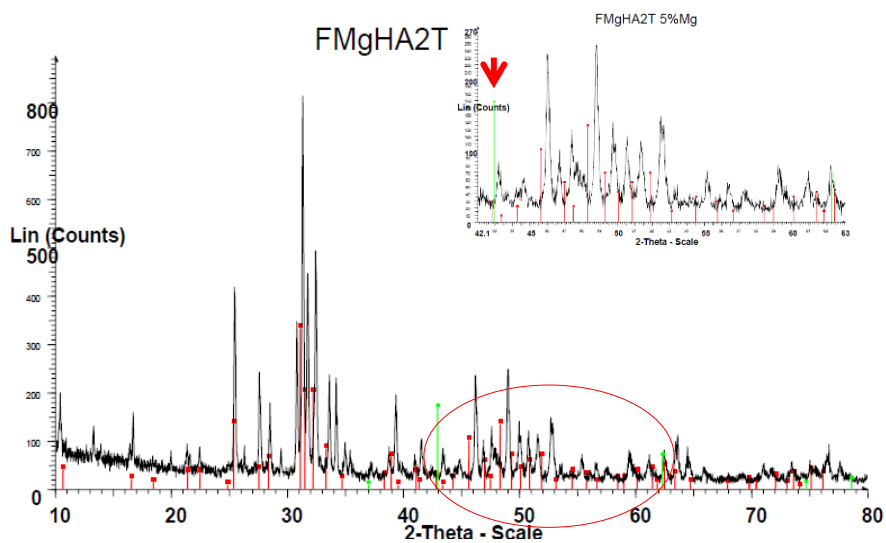


Figura 4.7 Difractograma pudrei de MgHA 5% calcinată la 900 °C

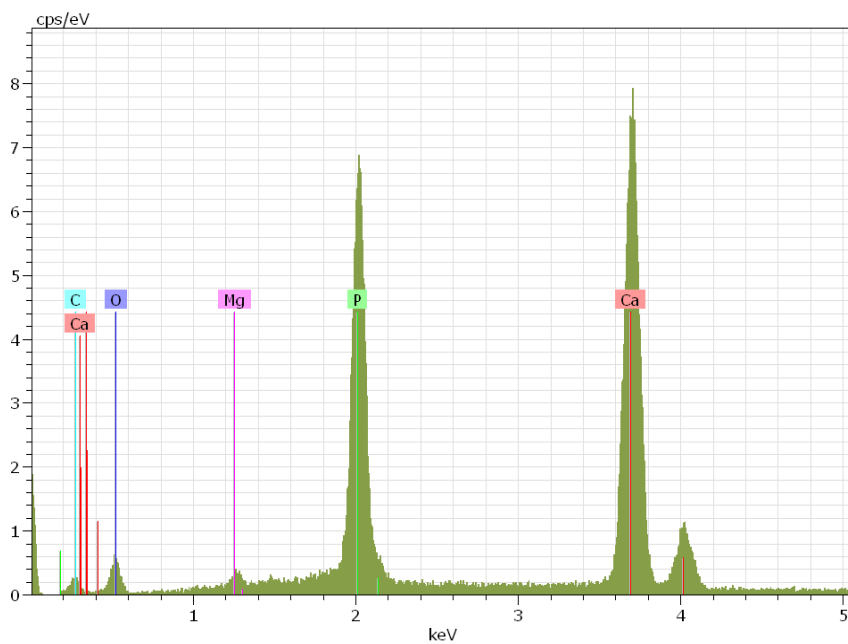


Figura 4.8 Analiza EDS a elementelor chimice prezente în pudra de MgHA 5% calcinată la 900 °C

Caracterizarea prin microscopie electronică cu baleiaj

Pentru a vedea structura pudrelor sintetizate și mărimea grăunților, acestea au fost analizate cu microscopul cu baleiaj de electroni MEB FEG, Hitachi S4700 la 6 KV și 10 mA prin metalizare cu carbon.

Din imaginile următoare putem vedea că am obținut o pudră cu granulație fină și care în urma procesului de calcinare formează conglomerate, deci trebuie macinată înainte de folosire în cadrul barbotinei. Din figurile 3.8 a, b și f putem vedea că mărimea graunților este mai mică de 1 μm și ca aceștia s-au cristalizat bine în urma tratamentului termic la 900° timp de o ora.

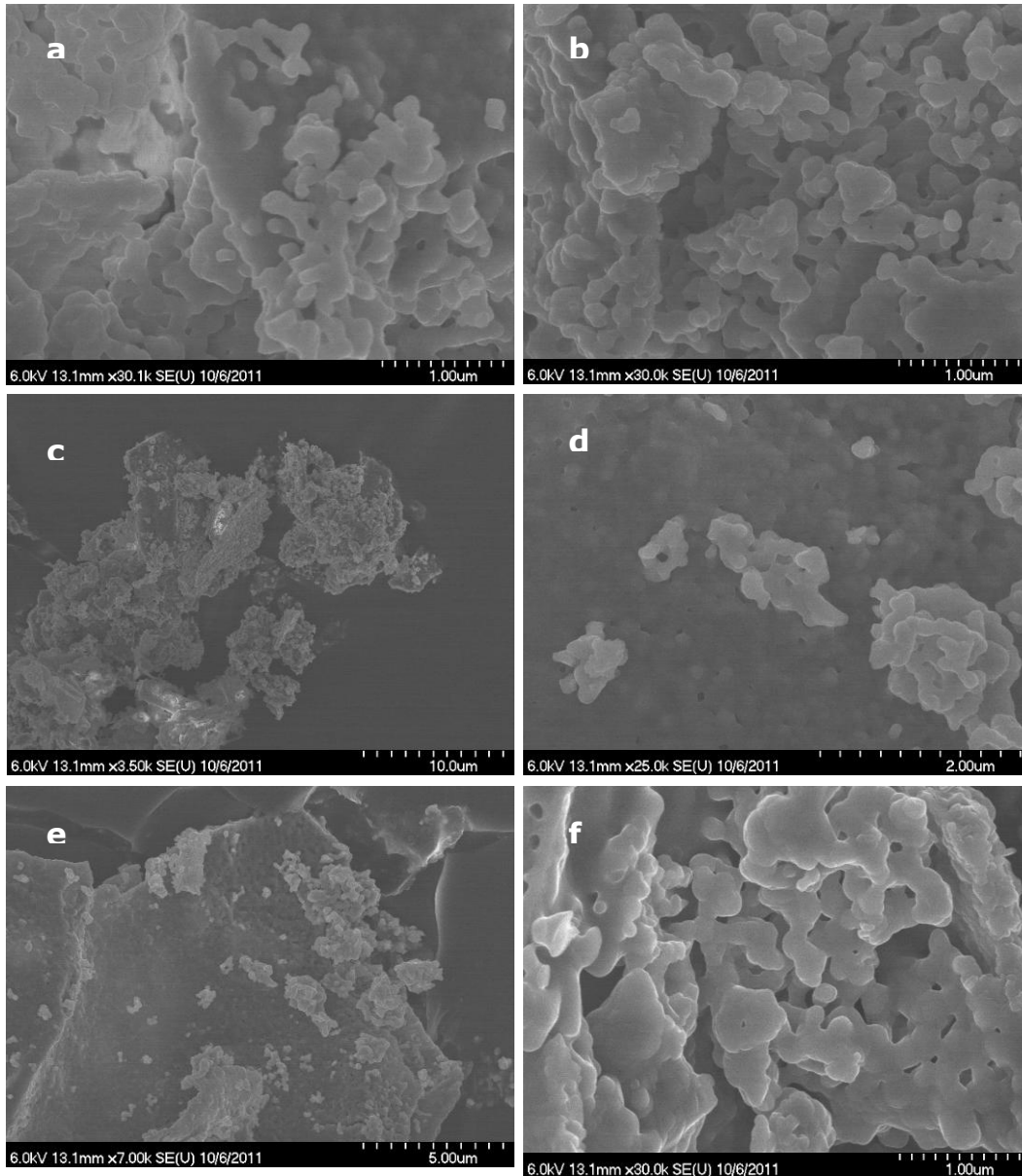


Figura 4.9 Imaginile pudrelor realizare cu microscopul cu baleiaj de electroni: a.HA; b.MgHA 1%; c.HA; d.MgHA 1%; e.MgHA 5%; f.MgHA 5%;

4.2.2 Validarea biologică

Pentru certificarea produselor de diferite concentrații sunt biocompatibile s-a recurs la testarea acestora în cadrul unui test de cotoxicitate și în fluid biologic simulat.

Test de citotoxicitate

Evaluarea răspunsului celular este realizată printr-un test indirect asupra pudrelor de hidroxiapatită realizate și calcinate o oră la 900°C și sterilizate timp de 45 de minute.

Pudrele sunt amestecate cu un mediu de cultură celulară (care nu conține ser bovin fetal) timp de 20 de ore la 37°C sub agitație (80 rot/min). Lichidul este extras și filtrat, se adaugă 10% ser bovin fetal și se așează peste celule (osteoblaste MC3T3-E1) aflate în cultură cu 24 de ore înainte. Câte 200 μl de mediu este pus în fiecare godeu și totul este lăsat la incubat timp de 24 de ore.

Este realizat un test calorimetric cu Blue Alamar prin spectrometrie (după incubarea reactivului timp de 3 ore) pentru măsurarea și cuantificarea activității celulare al osteoblastelor cu scopul de a identifica eventualele efecte citotoxice.

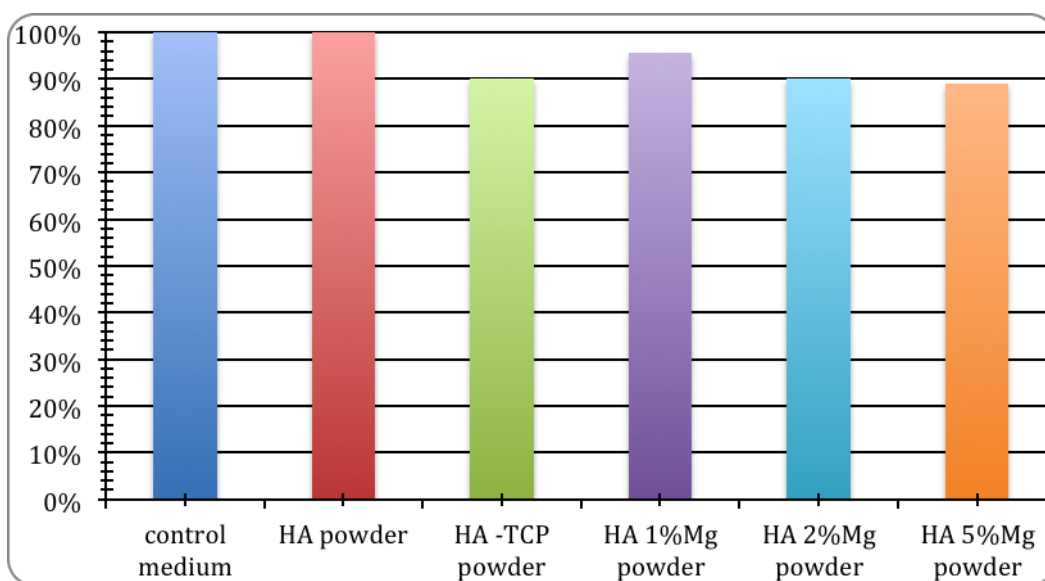


Fig. 4.10 Graficul testului de citotoxicitate realizat asupra pudrelor de diferite compoziții

După cum putem vedea și în graficul de mai sus toate pudrele sunt biocompatibile având procentajul de activitate celulară între 90-100% față de mediul de control. Desigur se pot observa unele diferențe mici între diferitele compoziții, hidroxiapatita pură are o activitate celulară de 100% pe când materialul bifazic HA-TCP este la doar 90 % și MgHA 5% doar 89%. Dintre celelalte eșantioane putem identifica cel mai bun răspuns în afara de hidroxiapatită în cazul MgHA 1%.

Pastile realizate

Din pudra sintetizată au fost realizate probe pentru a efectua teste asupra lor. Acestea au fost turnate în mulaje realizate din ghips și au diametrul de 16 mm și înălțimea de aproximativ 2-3 mm.



Figura 4.10 Pastile demulate; a. neșlefuite ; b. uscate și șlefuite

Aceste pastile au fost uscate în incubator după demulare și sinterizate la temperaturi înalte pentru a le densifica. Fiecare compoziție are o temperatură diferită de sinterizare în funcție de compoziția chimică.



Figura 4.11 Cuptorul utilizat pentru sinterizarea probelor

Tabel 4.2 Compozițiile pastilelor realizate pentru testele biologice și mecanice

Nr	Nume	Compoziție	Număr Eșantioane	Număr eșantioane sinterizate	Temperatura [°C]
S1	FHA5T	HA	35	30	1250
S2	FMgHA5T	MgHA 1% Mg	43	35	1250/1350
S3	FMgHA2T	MgHA 5% Mg	26	25	1250/1350
S4	FMgHA7T	MgHA 2% Mg	63	50	1250/1350
S5	FHA14T	HA-TCP	67	35	1120
S6	HA-Alumina1	98% HA+2% Alumina	29	25	1150
S7	HA-Alumina2	70% HA+30% Alumina	29	25	1150
S8	HA-Alumina3	50% HA+50% Alumina	23	20	1150
S9	HA-Alumina4	30% HA+70% Alumina	29	25	1150
S10	Alumina1	Al ₂ O ₃	37	30	1400

**Figura 4.12 Eșantioane de MgHA înainte și după sinterizare**

Testarea în fluid biologic simulat SBF

Pentru a studia comportamentul eșantioanelor densificate în fluid biologic simulat am creat o soluție de SBF în care am imersat probele pentru o perioadă de 30 de zile. După intervalul de 30 de zile se examinează probele pentru a vedea dacă au apărut precipitații pe suprafața acestora și dacă s-a modificat microduritatea.



Figura 4.14 Probele imersate în fluid biologic simulat

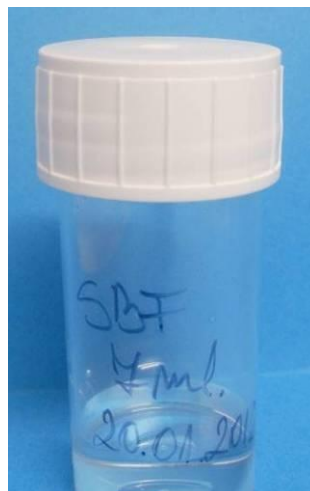


Figura 4.13 Container cu soluție SBF pentru referință

Dupa 30 de zile în acest incubator probele sunt scoase din fluidul biologic simulat și examinate din nou fizic și mecanic pentru a vedea influența acestuia pe termen mediu.

4.3 Proprietăți mecanice

Pentru evaluarea efectului parametrilor de sinteza și a cantității de dopant asupra produselor finale obținute s-au efectuat prima dată teste de caracterizare fizică pentru a certifica compoziția obținută, și după aceasta teste de verificare a citotoxicității.

După aceea pulberea obținută a fost validată ca fiind hidroxiapatită, respectiv hidroxiapatita dopată cu magneziu biocompatibilă. Dat fiind faptul că știm proprietățile fizice și biologice ale materialului se pot efectua teste mecanice pentru a vedea influența tuturor parametrilor asupra compozițiilor obținute. Astfel s-au realizat teste pentru determinarea densității și de asemenea pentru determinarea microdurității din care se poate deduce ulterior și tenacitatea.

A. Densitatea

Pentru a calcula densitatea am folosit metoda de măsurare a masei și a volumului probelor realizate.

Tabel 4.3 Densitatea eşantioanelor raportată la densitatea teoretică a hidroxiapatitei

Nr.	MgHA 1%	MgHA 2%	MgHA 5%	MgHA 1%	MgHA 2%	MgHA 5%	MgHA 1%	MgHA 2%	MgHA 5%
	Crude			Sinterizate la 1250°C			Sinterizate la 1350°C		
1	1,23	1,18	1,03	2,32	2,12	1,72	2,35	2,28	1,79
2	1,19	1,22	1,05	2,21	2,11	1,63	2,49	2,33	1,81
3	1,18	1,16	1,02	2,2	2,07	1,65	2,38	2,28	1,83
4	1,19	1,21	1,03	2,15	2,08	1,69	2,36	2,31	1,78
5	1,23	1,19	1,07	2,23	2,12	1,71	2,41	2,31	1,84
Media	1,204	1,192	1,04	2,222	2,1	1,68	2,398	2,302	1,81
% HA Teoretic	38.22	37.84	33.01	70.53	66.66	53.33	76.12	73.07	57.46

Putem observa că adaosul de magneziu în cantități prea mari afectează negativ densitatea inițială și finală a eşantioanelor. Acest lucru ne poate indica de asemenea că hidroxiapatita dopată cu magneziu are nevoie de temperaturi mai înalte de sinterizare pentru o densificare corespunzătoare.

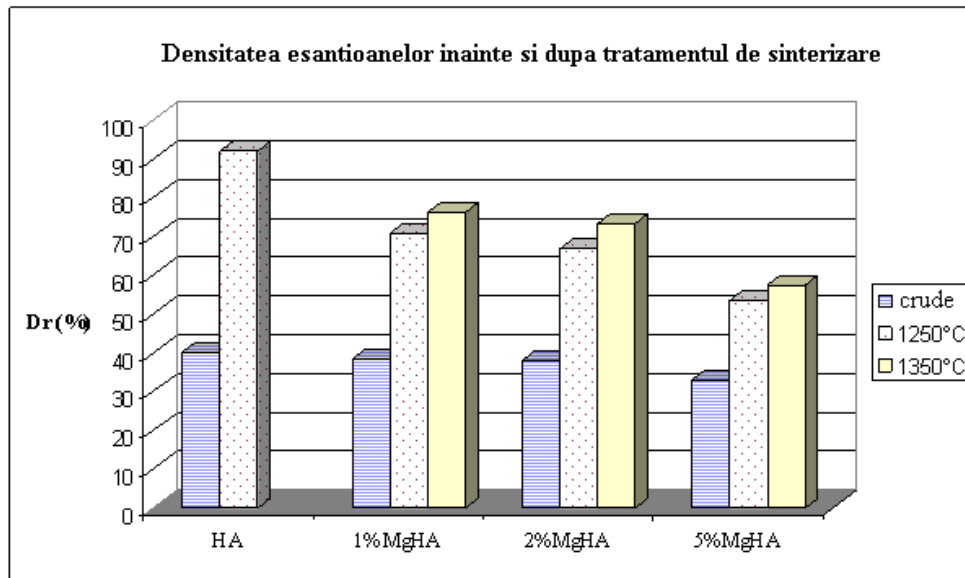


Figura 4.15 Graficul densităților probelor realizate și tratate termic la diferite temperaturi

Din figura 3.16 putem vedea cum densitatea este îmbunătățită la creșterea temperaturii de sinterizare și aceasta este afectată negativ de cantitatea de dopant adăugată. Este posibil ca din cauza diferențelor de dimensiuni ale ionilor de magneziu în structura cristalografică să creeze modificări structurale care se manifestă într-o pudră cu densitate mai mică, deci și produsul final va avea asemenea probleme.

B. Microdurețea Vickers

Pentru a vedea evoluția durezzații materialului în funcție de temperatura de sinterizare și de compoziție se utilizează un microdurimetru, microdurimetru Wolpert 402MVD, cu ajutorul căruia putem măsura diagonalele lăsate de vârful de indentare și astfel calcula valorile durezzații. Pentru vizualizarea acestor diagonale s-a utilizat microscopul electronic cu baleaj din cauza limitărilor microscopului optic.

Tabel 4.4 Valorile microdurezzații pentru eșantioanele de MgHA sinterizate înainte și după SBF

Compoziție	HV înainte de SBF	HV după SBF
MgHA 1% 1250°C	108.04	200.14
MgHA 1% 1350°C	263.79	237.77
MgHA 2% 1250°C	180.53	195.99
MgHA 2% 1350°C	260.19	212.14
MgHA 5% 1250°C	44.98	40.11
MgHA 5% 1350°C	60.28	63.82

A fost realizată o comparație a eșantioanelor în funcție de valorile obținute pentru a identifica mai ușor diferențele, astfel din figura următoare putem observa cum microdurețea prezintă valorile cele mai crescute în cazul MgHA 1% sinterizată la 1350°C, valoare cu aproximativ 20% superioară celei a HA nedopate. De asemenea o valoare superioară HA nedopate se identifică și în cazul MgHA 2% sinterizată la 1350°C. Valorile pentru eșantioanele MgHA 5% sunt extrem de scăzute și în raport cu hidroxiapatita pură.

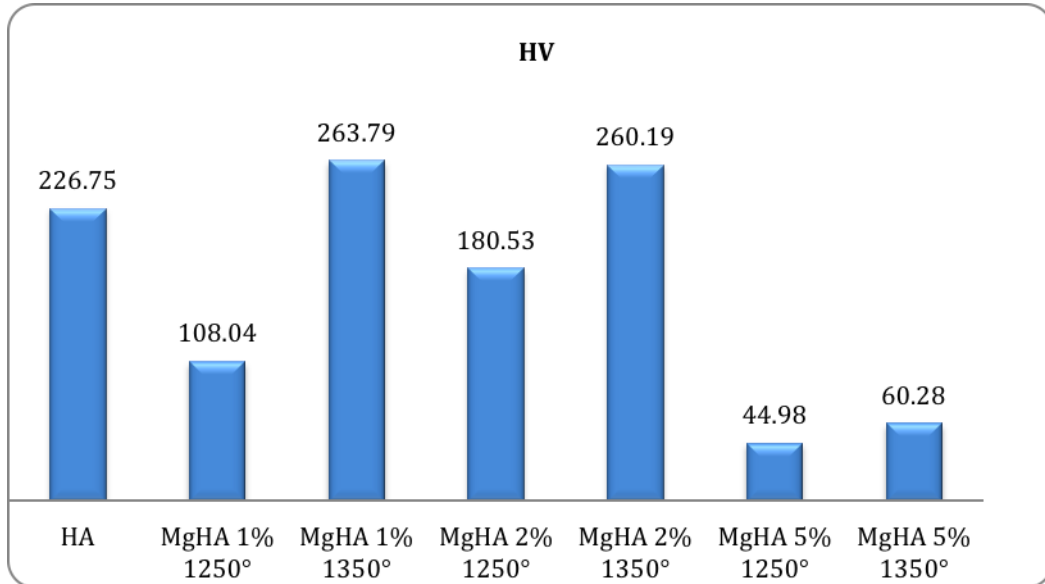


Figura 4.16 Graficul valorilor microdurității Vickers pentru eșantioanele sinterizate

Deoarece am imersat probele în fluid biologic simulat am dorit și determinarea proprietăților mecanice ale acestora după un interval de 30 de zile și compararea acestora cu valorile inițiale. Astfel în figura 3.18 și 3.19 putem vedea graficele de comparație între ale eșantioanelor tratate termic înainte de a fi imersate în fluid biologic similar și după 30 de zile.

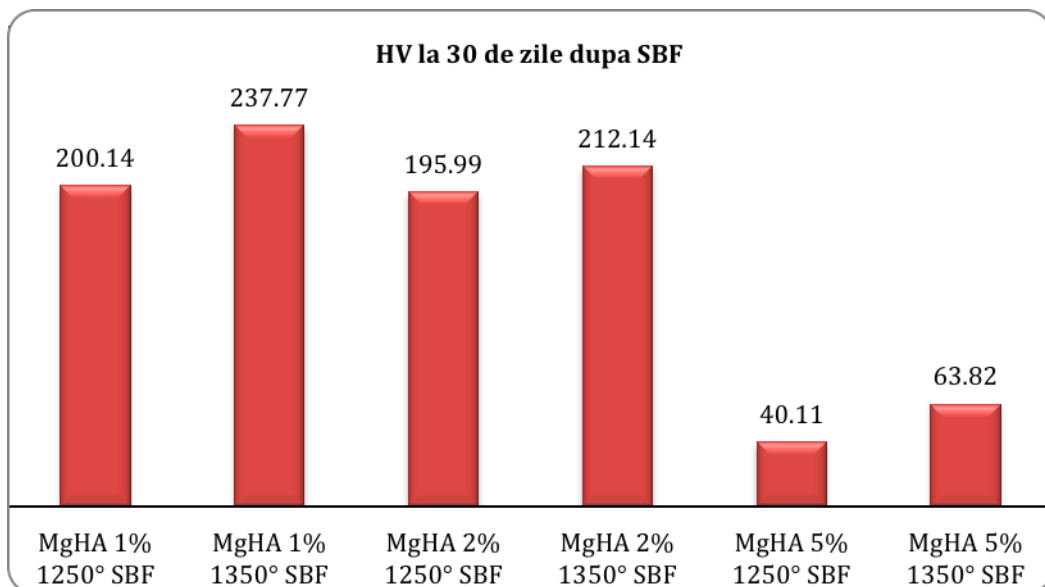


Figura 4.17 Graficul valorilor microdurității Vickers pentru eșantioanele sinterizate și imersate în SBF timp de 30 de zile

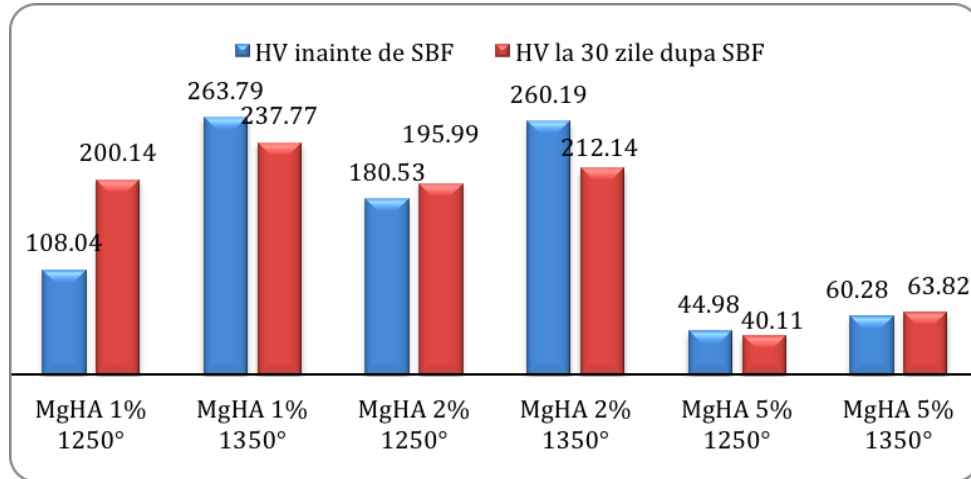


Figura 4.18 Graficul valorilor microdurații Vickers pentru esantioanele sinterizate înainte și după imersare în SBF timp de 30 de zile

C. Modulul de elasticitate

Determinarea prin compresiune

Acest test s-a realizat cu ajutorul echipamentului Test Xpert II Zwick Roell Z005 la o viteză de 1mm/min și forța maximă de 60N.

Diagrama tensiune - deformatie

●●●● HA 1250C — MgHA 1% 1250 — MgHA 1% 1350 — MgHA 2% 1250
 — MgHA 2% 1350 ● MgHA 5% 1250 — MgHA 5% 1350 — HA-Al2O3

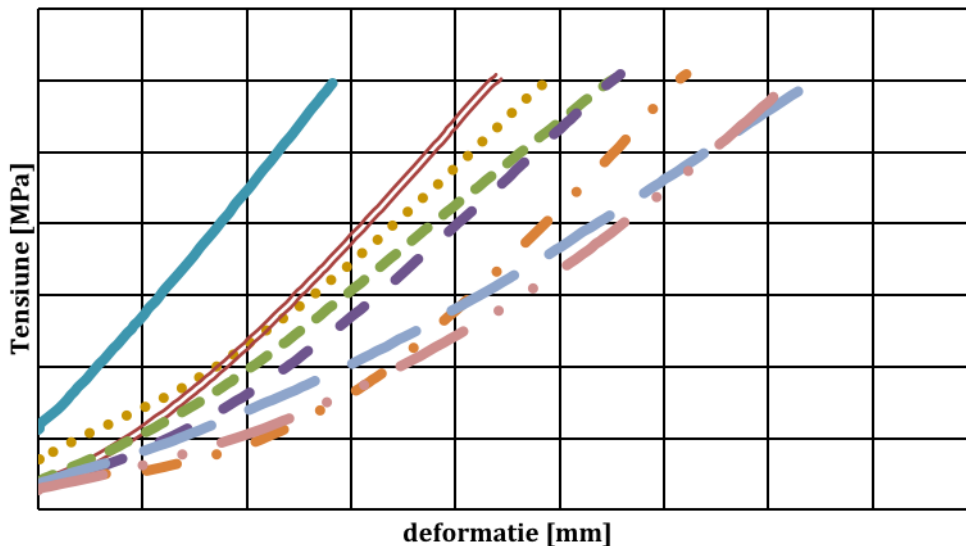


Figura 4.19 Graficul tensiune - deformatie pentru esantioanele sinterizate la diferite temperaturi

După trasarea curbelor tensiune-deformație pentru diferitele compoziții s-au realizat calculele pentru modulul de elasticitate utilizând domeniul liniar al curbelor și s-a realizat comparația între valorile obținute pentru eșantioanele tratate termic și pentru cele care au fost imersate în fluid biologic simulat timp de 30 de zile.

Din figura 3.22 putem observa că MgHA 2% 1350°C prezintă cea mai ridicată valoare de 92, pe când HA pură prezintă o valoare de mai puțin de jumătate cu 42. Nici compoziția de MgHA 1% 1250°C nu prezintă proprietăți scăzute față de HA, dimpotrivă are o valoare cu 75% mai ridicată.

Din figura 3.23 putem observa cum valorile modulului de elasticitate scade pentru toate eșantioanele după expunerea la mediul biologic simulat dar totuși rămâne superioară compoziție de HA pură.

În figura 3.24 avem alăturate toate valorile înainte și după 30 de zile în fluid biologic simulat pentru a putea vedea cum proprietățile variază la expunere, acestea scăzând cu aproape 30% în unele cazuri.

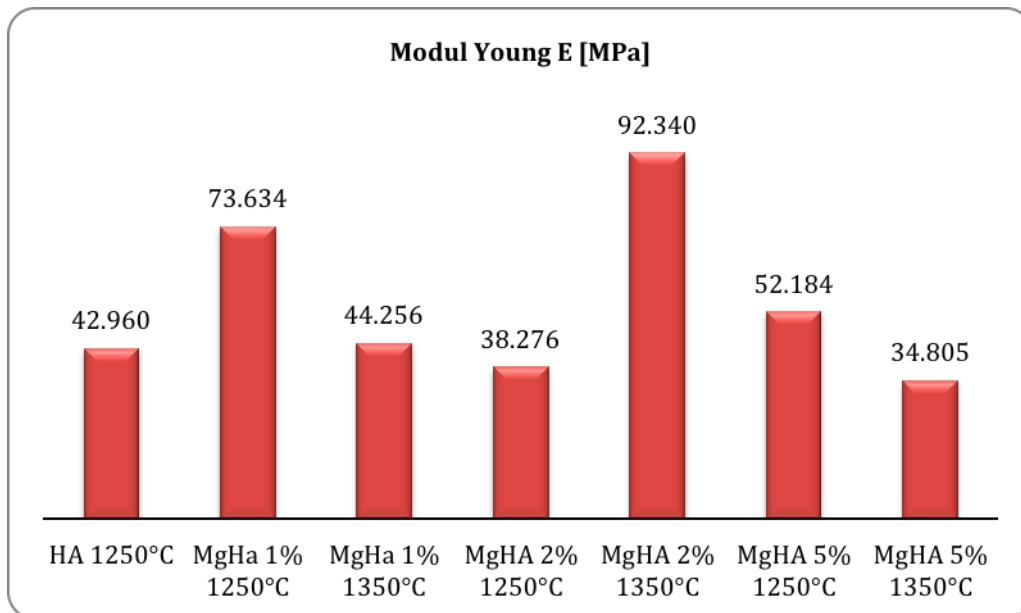


Figura 4.20 Comparație între valorile modulului de elasticitate pentru diferitele compoziții de materiale

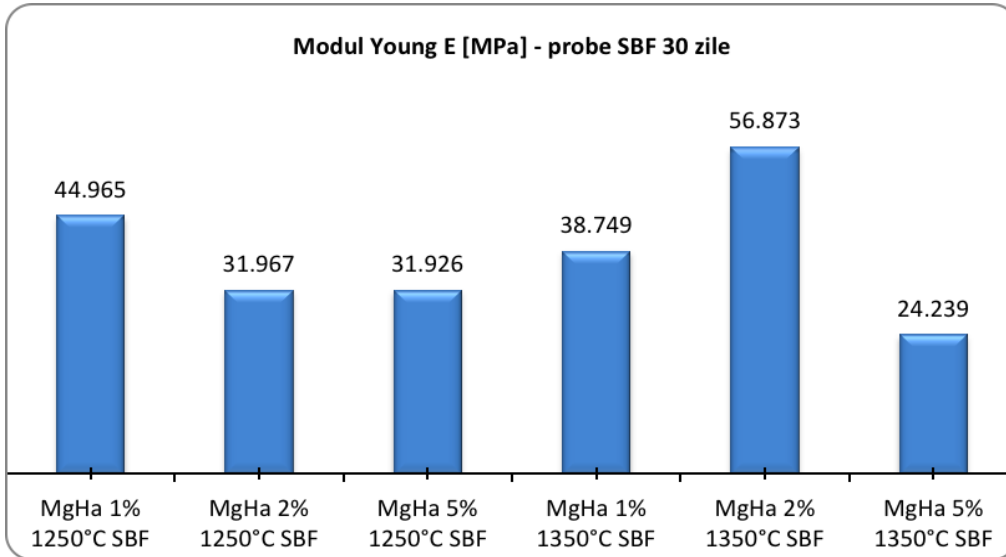


Figura 4.21 Comparație între valorile modului de elasticitate pentru diferitele compoziții de materiale după imersare în fluid biologic simulat timp de 30 de zile

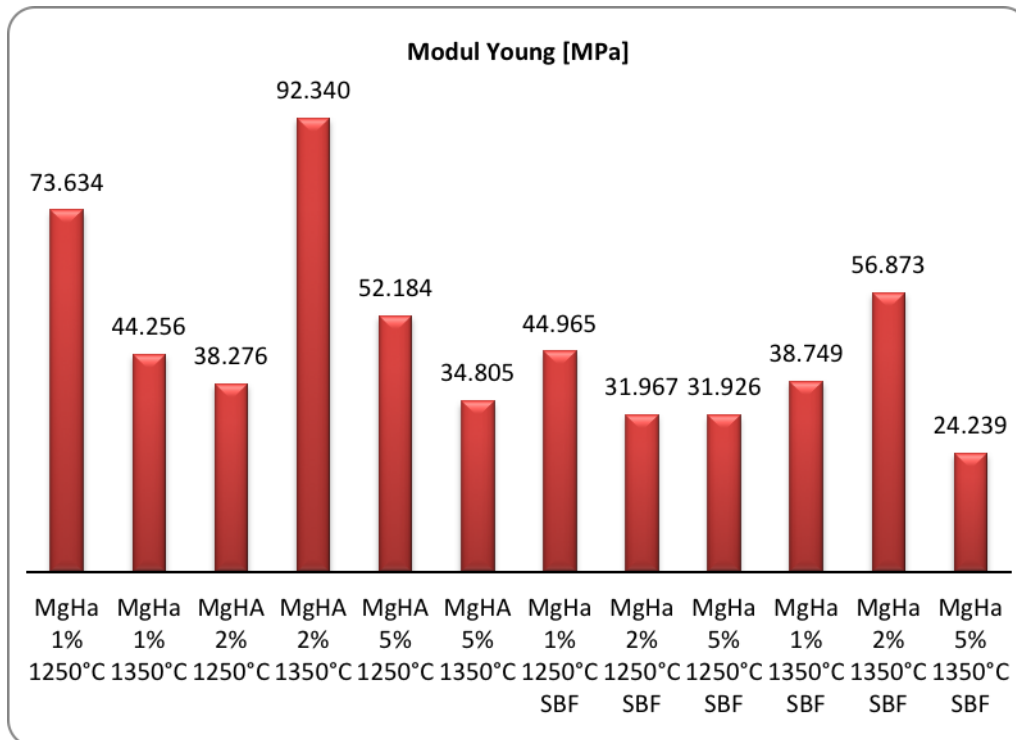


Figura 4.22 Comparație între valorile modului de elasticitate pentru diferitele compoziții de materiale înainte și după imersare în fluid biologic simulat timp de 30 de zile

Determinarea modului de elasticitate prin răspunsul la vibrații libere

Experimental se dorește să se stabilească pulsația fundamentală a unui disc corespunzător cazului în care discul este liber.

Această frecvență este legată de modulul lui Young, E , și de densitate așa cum s-a văzut în secțiunea precedentă, printr-o relație care ne va permite să determinăm E . Similar se poate face și pentru alte frecvențe proprii.

Pentru obținerea unei mișcări vibratorii s-a aplicat cu o bilă mică rigidă un impact discului. Răspunsul la vibrații poate conține mai multe moduri, motiv pentru care se poate extrage componenta fundamentală a răspunsului (f_{\min}), prin filtraaj sau să se aplice metoda (16) pentru cazul cu mai multe grade de libertate.

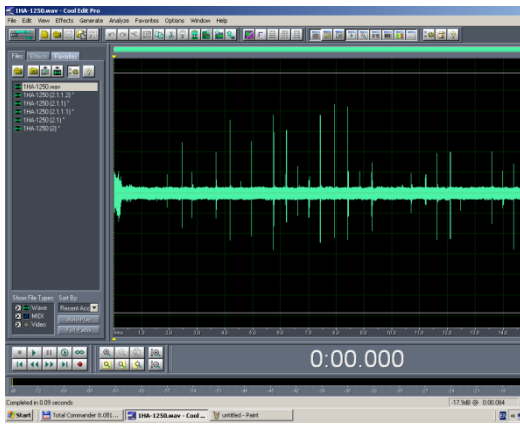


Figura 4.23 Captură semnal înregistrat de pe monitor

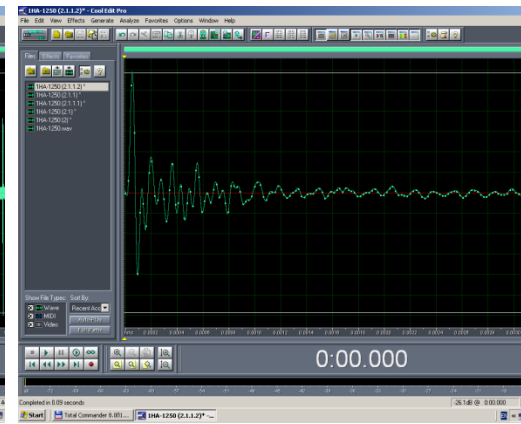


Figura 4.24 Eșantion din semnalul înregistrat

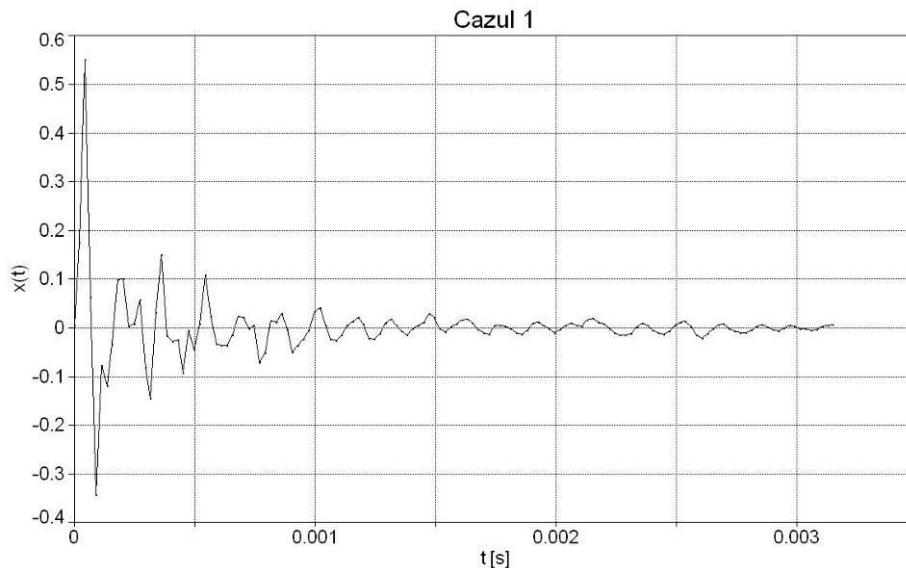


Figura 4.25 Semnalul de vibrații pentru HA-1250 OC

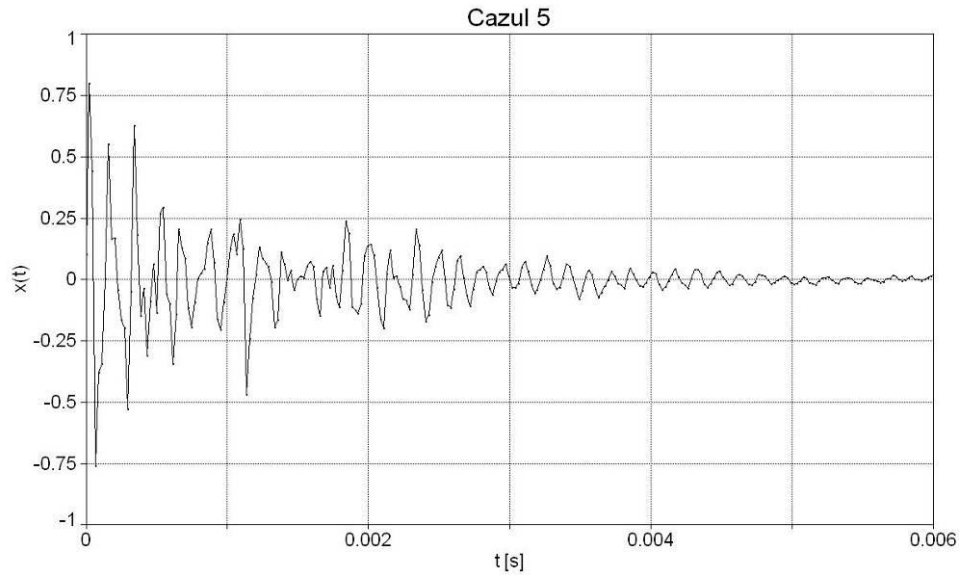


Figura 4.26 Semnalul de vibrații pentru HA 5%Mg -1250 0C

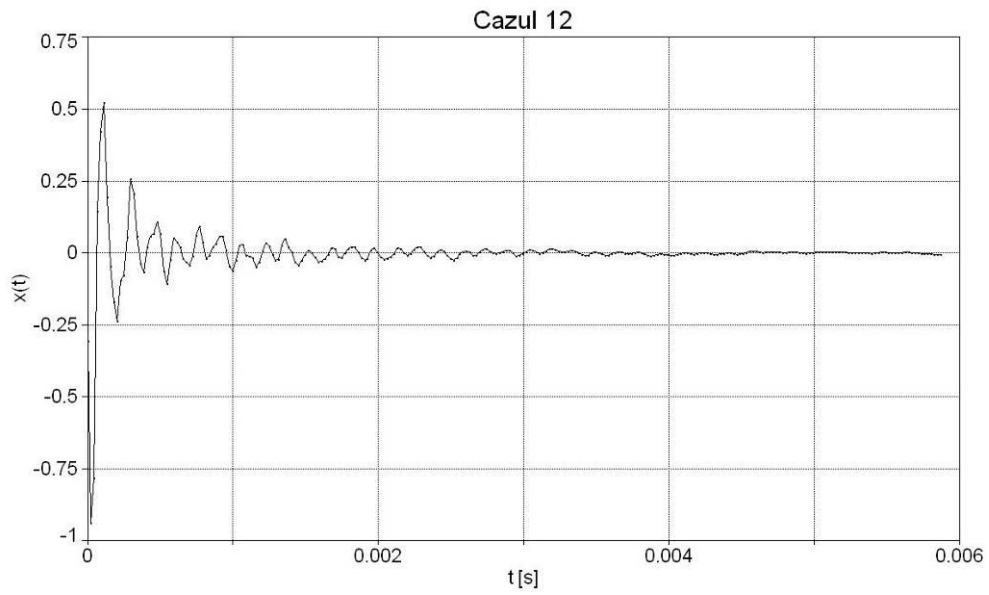


Figura 4.27 Semnalul de vibrații pentru HA5%Mg-12500C -SBF Suport

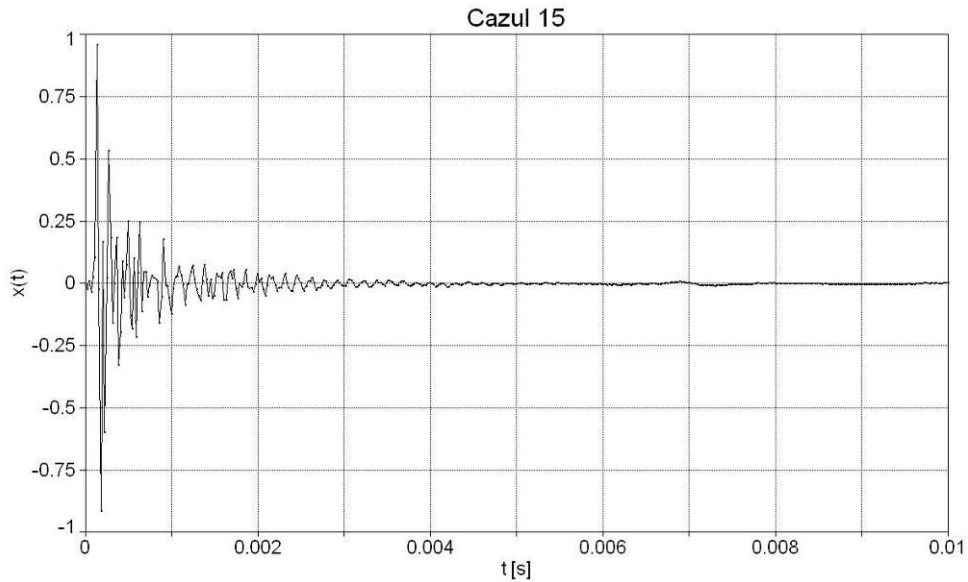


Figura 4.28 Semnalul de vibrații pentru HA5%Mg-12500C -SBF Liber

Tabel 4.5 Valorile modului de elasticitate (Young) determinate pe baza măsurătorilor de vibrații

Nr.	Nume fișier	r [s^{-1}]	f_1 [s^{-1}]	$R \times 10^{-3}$ [m]	$d \times 10^{-3}$ [m]	E [MPa]
1	HA-1250 Liber	866.977	4183.580	6.0	2.2	52.81
2	HA-1250 Suport	1524.215	3954.325	6.0	2.2	57.14
3	MgHA01-1350 Liber	1073.67	3983.579	6.0	2.1	57.99
4	MgHA02-1250 Liber	1159.270	3297.693	6.0	2.0	39.77
5	MgHA02-1350 Liber	1152.7543	6135.010	6.0	2.1	96.30
6	MgHA05-1250 Liber	1086.452	4235.29	6.0`	2.0	65.53
7	MgHA05-1350 Liber	1044.341	3218.404	6.0	2.0	39.31
8	HA-Al ₂ O ₃ -1150 Liber	2368.284	6015.566	6.5	2.8	93.12
9	MgHA01-1250SBF Liber	1371.039	4015.386	6.0	2.0	58.99
10	MgHA02-1250SBF Liber	1292.309	3407.538	6.0	2.0	42.46
11	MgHA02-1350SBF Liber	1726.6037	3985.922	6.0	2.0	58.21
12	MgHA02-1350SBF Suport	1063.605	1785.641	6.0	2.0	67.32

13	MgHA05-1250SBF Suport	1288.1465	4463.032	6.0	2.0	34.89
14	MgHA01 1350SBF Liber	1152.369	1528.214	6.0	2.0	45.36
15	MgHA05-1250SBFLiber	1453.289	2985.589	6.0	2.0	32.71
16	MgHA01-1250 Suport	1115.855	4271.095	6.0	2.0	55.55

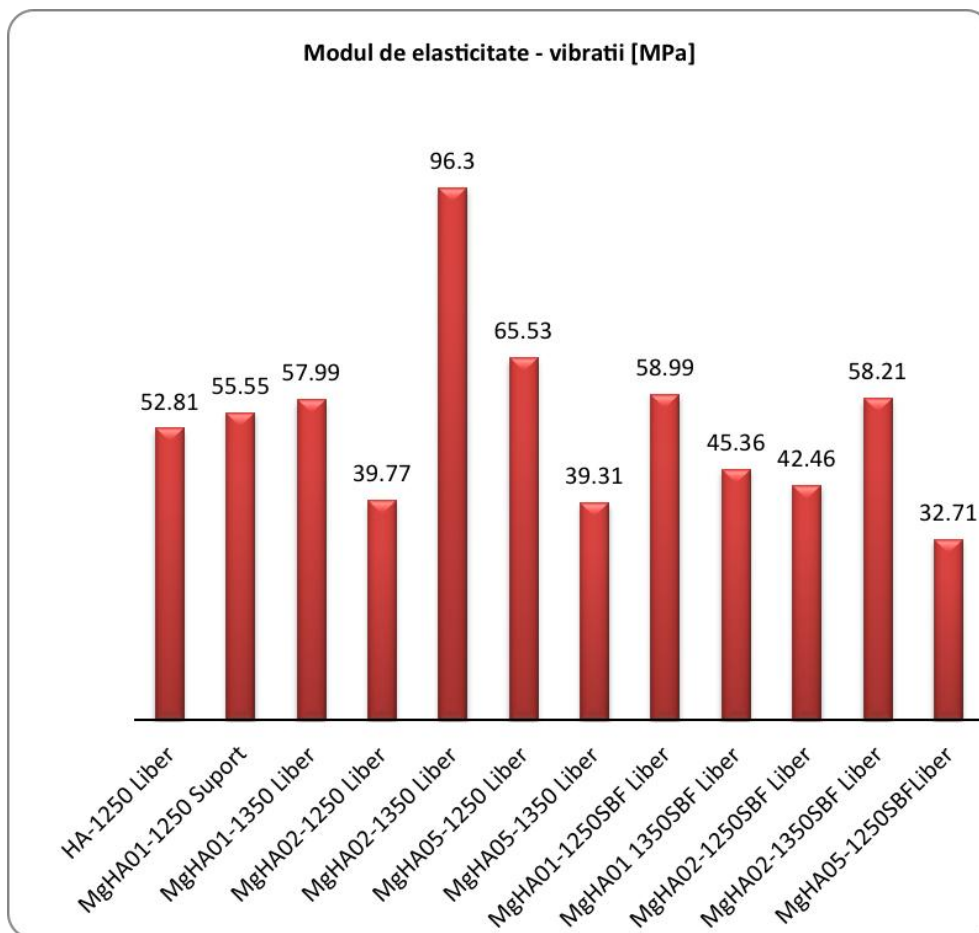


Figura 4.29 Modulul de elasticitate determinat prin metoda vibrațiilor

4.4 Testarea termografică

Această măsurătoare s-a făcut cu ajutorul echipamentului FLIR Thermovision A40M.

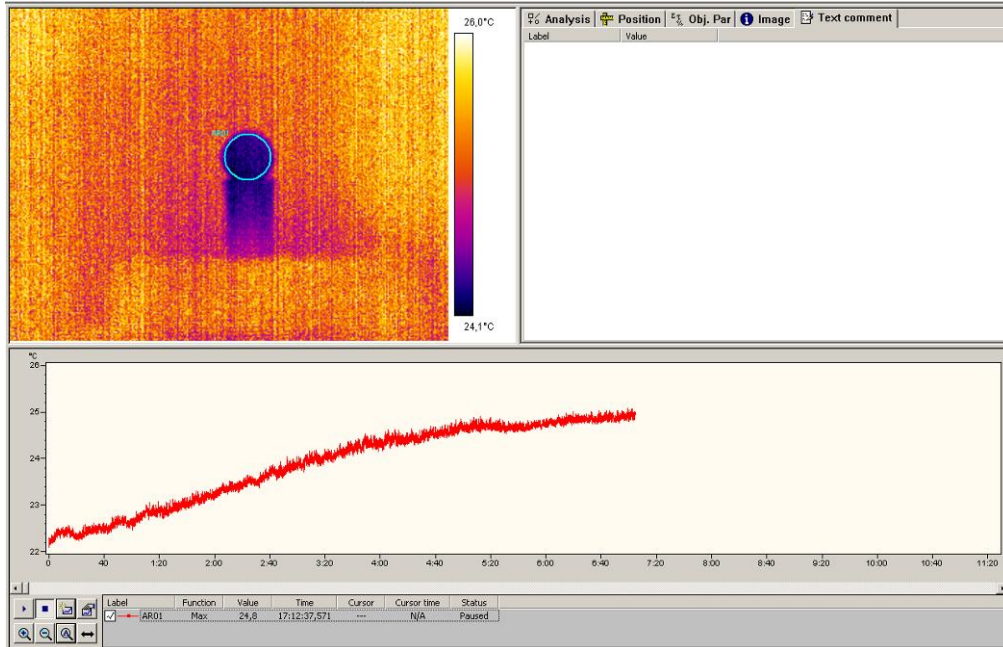


Figura 4.30 Evoluția temperaturii pe aria examinată pentru HA pură

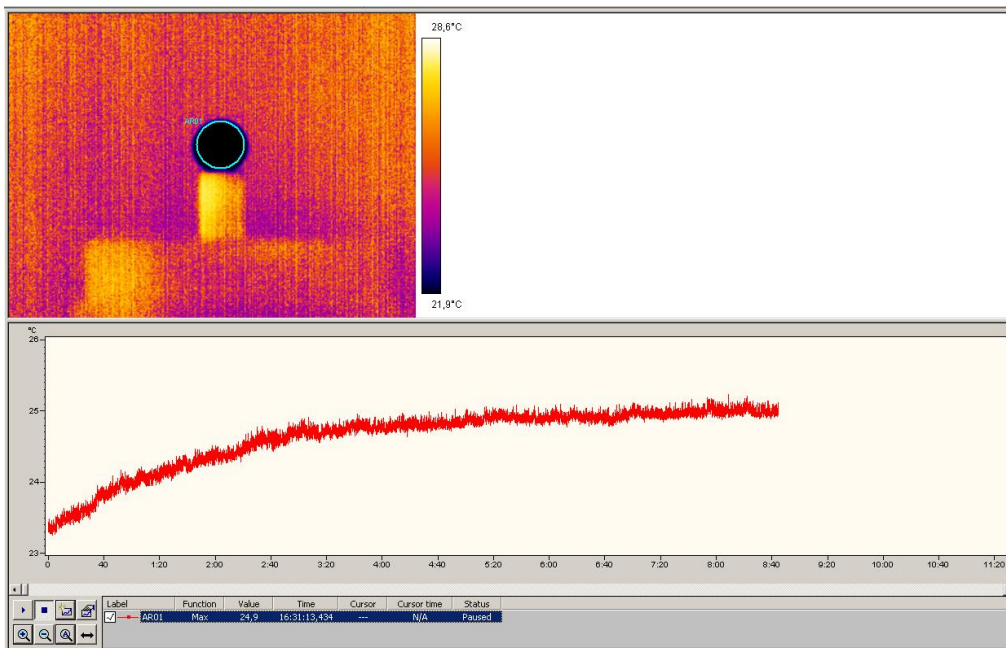


Figura 4.31 Evoluția temperaturii pe aria examinată pentru MgHA 2% sinterizată la 1250°C

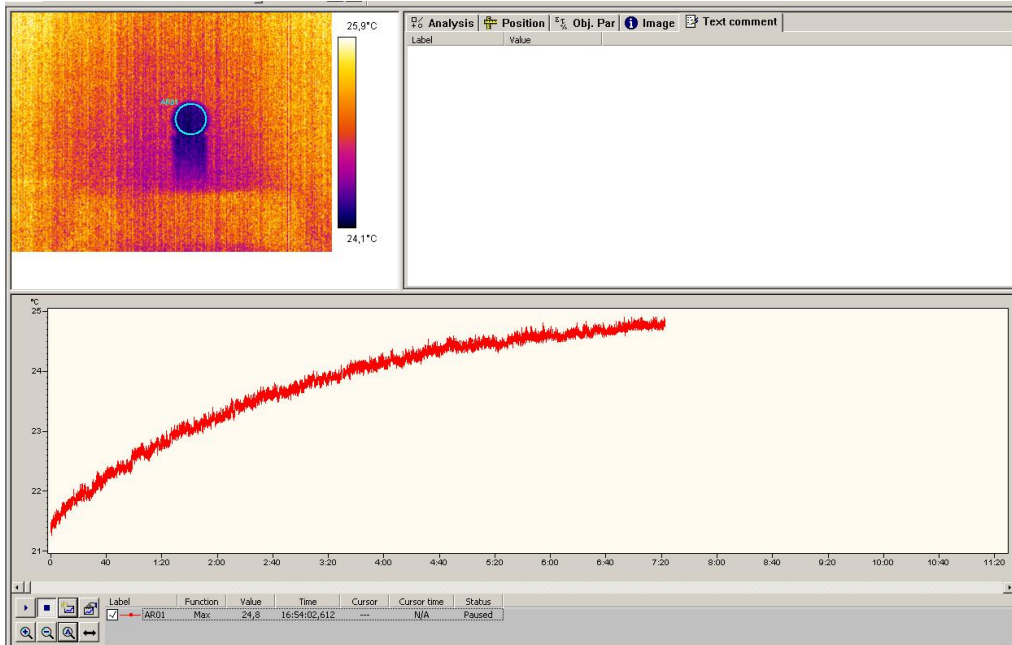


Figura 4.32 Evoluția temperaturii pe aria examinată pentru MgHA 5% sinterizată la 1250°C

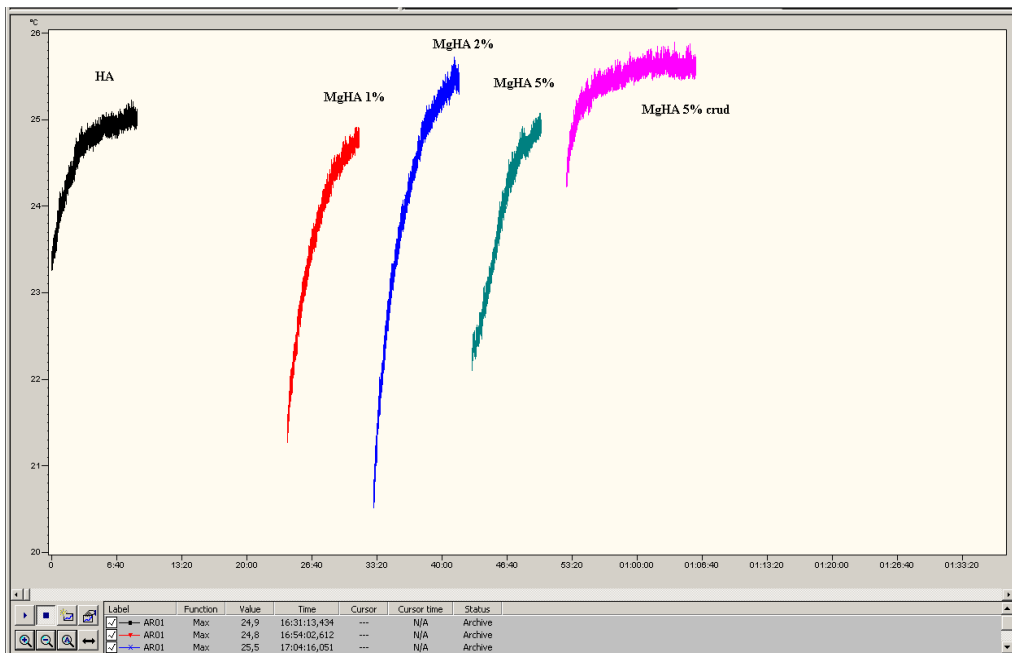


Figura 4.33 Evoluția temperaturii pe aria examinată pentru toate eșantioanele comparate

4.5 Formarea unei aplicații de implant osos

Pentru a exemplifica una din aplicațiile acestor produse a fost realizat un implant vertebral din hidroxiapatită dopată c 1% magneziu cu ajutorul unui mulaj de gips.

Aceste tipuri de implanturi se pot realiza atât dense cât și cu structura macroporoasă cu ajutorul bilelor de PMMA.

Pentru formarea implantului se începe de la un mulaj metallic realizate pe o mașină cu comanda numerică și în funcție de ce tip de implant se dorește avem doua posibilități:

- a. Dacă se dorește obținerea unui implant dens se realizează un mulaj de gips pornind de la mulajul metallic și se realizează o barbotină de MgHA 1% care se toarnă în acesta
- b. Pentru obținerea unui implant macroporos mai întâi trebuie obținută stuctura organică și de abia ulterior se adaugă barbotina de MgHA și se tratează termic pentru eliminare bilelor de PMMA care lasă goluri sub forma sferică cu diametrul de 500-600 μm .



Figura 4.34 Mulaj de gips pentru turnarea implanturilor osoase



Figura 4.35 Mulaj metallic pentru implant osos



Figura 4.36 Implant dens realizat din MgHA 1%



Figura 4.37 Suportul organic din bile de PMMA pentru implanturile macroporoase

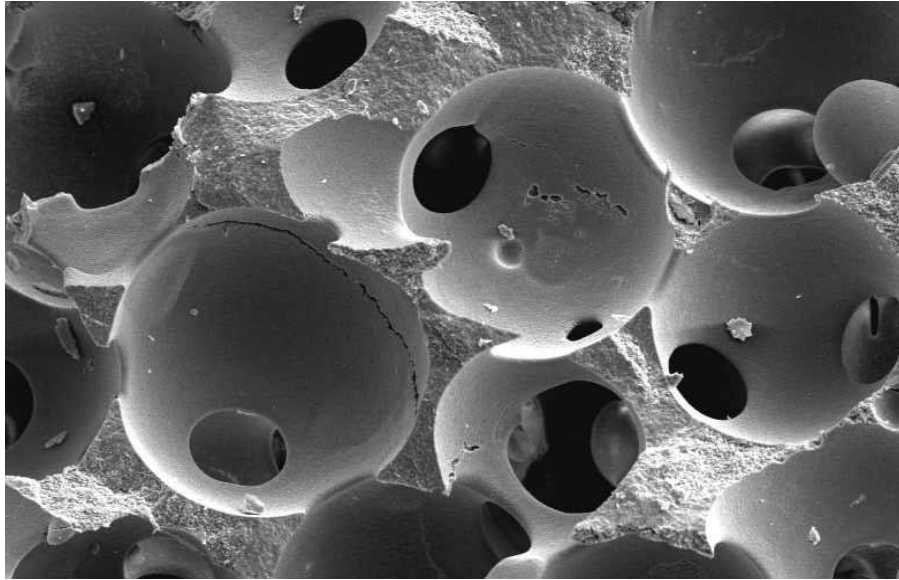


Figura 4.38 Structura macroporoasă

5 CONCLUZII ȘI PERSPECTIVE

A.Sinteza prin precipitare

Avantajele cele mai importante ale acestei metode sunt următoarele:

- Parametrii pot fi modificați independent unul de celalalt
- Asigură o siguranță mai mare a sintezei
- Pudra obținută este nanometrică
- Se pot încorpora cantități semnificative de dopanți la nivelul matricii cristaline
- Se pot obține cantități importante de produs în funcție de dimensiunea bioreactorului utilizat

Temperatura de sinteză a fost variată pentru a vedea efectul acesteia asupra pudrelor, rezultând că aceasta nu schimbă compoziția produsului final. Varierea stoechiometriei pentru HA a fost realizată printr-un deficit de Ca care a rezultat în apariția unei HA-TCP bifazice care poate avea proprietăți de osteointegrare mai bune datorită resorbției treptate a TCP-ului care permite osului să crească în locul acestuia.

B.Posibilitățile de dopaj

De ce magneziu?

Acesta este un element chimic care se ragăsește și la nivelul osului natural și stabilizează termic beta TCP-ul și evită formarea alfa TCP-unul și apariția aluminaților în compozitele HA-Al₂O₃.

În același timp există numeroase studii care indică îmbunătățire proprietăților mecanice prin acest dopaj. [138-143] Prin metoda de sinteză aleasă magneziul poate fi incorporat în structura cristalină a hidroxiapatitei.

C.De ce am lucrat cu barbotine?

Putem a obține o densitate crudă mai bună raportată la probele obținute prin presaj uniaxial s-au realizat barbotine cu până la 70% conținut de materie uscată. Se pot obține bune densități crude de aproximativ 35-45%.

Se pot fabrica forme complexe: discuri intervertebrale, oasele craniului etc.

Cantitatea de materie uscată foarte ridicată de 70% s-a obținut prin măcinarea pudrei în avans în dispozitivul de polipropilenă cu bilele de alumina în interior deoarece în urma calcinării grăunții sunt aglomerati și nu se pot utiliza în barbotină încă.

Au aparut modificări în cazul HA dopate în realizarea barbotinei deoarece cantitatea de materie uscată totală încorporată a fost mai scăzută și cu materialul de MgHA 10 % nu s-a putut realiza barbotina din cauza densității scăzute a acestuia care nu permite încorporarea de cantități semnificative în barbotină.

D. De ce am realizat materiale bifazice cu alumina?

Pentru a îmbunătăți proprietățile mecanice ale hidroxiapatitei pentru aplicații în care apar eforturi ciclice este nevoie de un material de dopaj sau de un material bifazic pe baza de HA. Deoarece alumina este un biomaterial inert care este utilizat deja în implantologie.

E. Realizarea unei aplicații de implant

Pentru a exemplifica una din aplicațiile acestor produse a fost realizat un implant vertebral din hidroxiapatita dopată cu 1% magneziu cu ajutorul unui mulaj de gips.

Aceste tipuri de implanturi de pot realiza atât dense cât și cu structura macroporoasă cu ajutorul bilelor de PMMA.

Concluzie generală

Ca și concluzie generală putem spune că pudre de hidroxiapatită și hidroxiapatită dopată au fost sintetizate prin metoda precipitații apoase și că hidroxiapatita a fost dopată cu diferite cantități de magneziu (1%, 2%, 5% și 10%). Această metodă de sinteză a hidroxiapatitei permite un control al parametrilor (stoechiometria reactivilor, temperatura, viteza de rotație, și pH) mai bun și o bună reproductibilitate.

Efectul dopării cu magneziu a fost studiat prin:

- Difrakție cu raze X pentru pudrele calcinate la 900°C
- Morfologia a fost observată cu ajutorul microscopului cu baleiaj de electroni
- Densitățile au fost măsurate și comparate prin metoda calculului volumului și masei
- Au fost realizate teste de citotoxicitate pe liniile osteoblastice
- S-au măsurat caracteristicile mecanice ale eșantioanelor turnate și densificate prin sinterizare la temperaturi înalte

Pentru pudrele cu magneziu în cantități mai mari a fost evidențiată prin difractometrie cu raze X prezența β TCP-ului care nu afectează negativ biocompatibilitatea, dimpotrivă poate permite o mai bună osteointegrare deoarece acest este resorbabil și permite osului natural creșterea în legătura strânsă cu implantul fără să dispară prea repede deoarece suportul de hidroxiapatită rămâne pentru a asigura stabilitate.

Pentru concentrația de 1 wt% magneziu nu a fost identificată nici o fază secundară.

Un alt aspect al creșterii cantității de dopant se observă și în densitatea eșantioanelor realizate și sinterizate sau crude, aceasta scade direct proporțional cu creșterea cantității de magneziu, astfel pentru MgHA 10% nu au putut fi realizate eșantioane deoarece pudra nu a putut fi pusă sub formă de barbotină.

Etapa următoare a constat în studiul pudrelor de hidroxiapatită dopate pentru evaluarea proprietăților mecanice și biologice. Pentru a putea realiza aceste teste hidroxiapatita a fost pusă în forma pe cale lichidă cu ajutorul unei barbotine. Această metodă de formare a eșantioanelor solide de hidroxiapatită este adesea utilizată pentru concepția implanturilor osoase macroporoase utilizate pentru osteointegrare. În prealabil pudrele obținute au fost calcinate la 900°C timp de o ora

și macinate timp de 3 ore pentru spargerea aglomerațiilor formați în urma tratamentului termic.

Înainte de formarea eșantioanelor de hidroxiapatită solide pudra a fost testată la citotoxicitate cu linia celulară de osteoblaste MC3T3-E1. În urma acestei examinări a fost evidențiată biocompatibilitatea produselor sintetizate, dar există o diminuare a proliferării celulare în cazul eșantioanelor care conțin cantități mari de magneziu (10%). Dimpotrivă în cazul hidroxiapatitei dopate cu 1% magneziu se observă o creștere a numărului de celule proliferate față de hidroxiapatita pură acest lucru indicând o îmbunătățire a biocompatibilității la doparea cu cantități mici de magneziu.

Pudrele sunt puse în suspensie apoasă și barbotina astfel preparată prezintă un conținut de materie uscată de 60-70%. După turnarea amestecului în mulajele acestea se lasă la uscat o ora și se demulează, ulterior fiind tratate termic prin sinterizare la 1250°C și 1350°C.

Finalitatea acestui studiu este de a studia proprietățile mecanice ale diferitelor compoziții pentru a determina combinația ideală care nu afectează negativ proprietățile biologice.

Eșantioanele solide realizate din MgHA 5% au creat dificultăți la punerea în formă și acestea se manifestă și în proprietățile mecanice scăzute.

Densitatea eșantioanelor realizate este invers proporțională cu procentajul de Mg²⁺ încorporat.

Microduratea Vickers este cea mai bună în cazul eșantioanelor cu 1% Mg și 2% Mg sinterizate la 1350°C.

Modulul de elasticitate cel mai mare îl are MgHA 2% sinterizat la 1350°C, cel al MgHA 1% fiind și el superior HA.

Din analiza termografică putem observa un anumit grad de neomogenitate în structura MgHA 5% care se poate datora și barbotinei cu conținut insuficient de materie uscată. De asemenea eșantioanele de HA pură și MgHA 5% cruda ating mai repede un nivel de prag al temperaturii decât celelalte compoziții datorită schimbului mai rapid de temperatură cu mediul ambiant. Creșterea conținutului de magneziu face ca acest schimb de temperatură să fie mai lent.

Deoarece combinația dintre proprietățile biologice și cele mecanice este cea mai bună în cazul MgHA 1% aceasta a fost utilizată pentru realizarea implantului osos

În ultima etapă a fost fabricată o aplicație din pudra MgHA 1% sub forma unui implant vertebral cu ajutorul unor mulaje metalice și din ghips.

Perspective de viitor

Aceste teste asupra materialelor sintetizate se pot continua utilizând o mai mare varietate de parametrii de tratament termic și de realizare a eșantioanelor solide, precum și prin realizarea unor forme mai complexe.

Testele mecanice pot fi realizate în diferite condiții și de asemenea se pot realiza teste de oboseală pentru studiul influenței eforturilor ciclice asupra structurii. Având în vedere că există posibilitatea de a obține implanturi macroporoase acestea se pot testa mecanic pentru studiul influenței gradului de porozitate asupra modulului de elasticitate și a celorlalte proprietăți.

Aceste materiale se pot combina cu alte ceramici, metale sau polimeri în vederea obținerii unui material compozit cu proprietăți mecanice sau biologice superioare.

6 BIBLIOGRAFIE

- [1] 2nd Consensus Conference on Biomaterials, Chester (UK), 7-8 September 1991
- [2] D.F. Williams, The Williams Dictionary of Biomaterials, Liverpool University Press, Liverpool, 1999
- [3] H.J. Breme, V. Biehl, J.A. Helsen, Metals and implants, in: J.A. Helsen, H.J. Breme (Eds.), Metals as Biomaterials, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 1998, pp. 37-71
- [4] X.Y. Liu, P.K. Chu, C.X. Ding, Mater. Sci. Eng. R 47 (2004) 49-121
- [5] P. Tengvall, I. Lundstrom, Clin. Mater. 9 (1992) 115-134
- [6] Williams, D. F. (1982). Biocompatibility in Clinical Practice (Boca Raton, FL: CRC Press)
- [7] Biomateriale si biocompatibilitatea acestora cu organismul uman, <http://www.scribd.com/doc/41463101/Biomateriale-Si-tea-Acestora-Cu-Organismul-Uman>
- [8] American society for Testing and Materials, F139-86, p.61, 1992
- [9] American Society for Testing and Materials, F75-87, F90-87, F562-84, 1992
- [10] Granchi, D., Ciapetti, G., Savarino, L., Cavedagna, D., Donati, M. E., and Pizzoferrato, A. (1996). Assessment of metal extract toxicity on human lymphocytes cultured in vitro. J. Biomed. Mater. Res. 31, 183-191
- [11] Schmalzried, T. P., Peters, P. C., Maurer, B. T., Bragdon, C. R., and Harris, W. H. (1996). Long-duration metal-on-metal total hip arthroplasties with low wear of the articulating surfaces. J. Arthroplasty 11, 322-331
- [12] Hazan, R., Brener, R., and Oron, U. (1993). Bone growth to metal implants is regulated by their surface chemical properties. Biomaterials 14, 570-574;
- [13] Kasemo, B. and Lausma, J. (1988). Biomaterial and implant surface: a surface science approach. Int. J. Oral Maxillofac Impl. 3, 247-259
- [14] American Society for Testing and Materials, F67-89, F136-84, 1992
- [15] Comte, T. W. 1984. Metallurgical observations of biomaterials, in Contemporary Biomaterials, Boretos, J. W. and Eden, M., Eds, Noyes, Park Ridge, NJ
- [16] Wynblatt, P. (1986). Platinum Group Metals and Alloys. In: Encyclopedia of Materials Science and Engineering, M. B. Bever, Ed. (Oxford, Cambridge: Pergamon Press), pp. 3576-3579
- [17] Smith, W. F. (1993). Structure and Properties of Engineering Alloys, 2nd ed. (New York: McGraw-Hill)
- [18] B. Basu, D.S. Katti, A. Kumar, Advanced Biomaterials, American Ceramic Society, Wiley and Sons, Hoboken, New Jersey, 2009
- [19] Biomateriale si biocompatibilitatea acestora cu organismul uman, <http://www.scribd.com/doc/41463101/Biomateriale-Si-tea-Acestora-Cu-Organismul-Uman>
- [20] Buddy D. Ratner et al, Biomedical Engineering desk reference, Elsevier Academic Press, 2009
- [21] M.A. Meyers, P.Y. Chen, A.Y.M. Lin, Y. Seki, Biological Materials: Structure and Mechanical Properties, Prog. Mater. Sci. 53 (2008) 1-206

- [22] J.B. Park, J.D. Bronzino, *Biomaterials Principles and Applications*, CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, Florida, 2003
- [23] Sperling, L.H. (1992). *Introduction to Physical Polymer Science*, 2nd ed. Wiley-Interscience, New York
- [24] Black, J., and Hastings, G. (1998). *Handbook of Biomaterial Properties*. Chapman and Hall, London
- [25] P. Ducheyne, G.W. Hastings (editors) (1984) *CRC metal and ceramic biomaterials vol 1* ISBN 0-8493-6261-x
- [26] J.F. Shackelford (editor)(1999) *MSF bioceramics applications of ceramic and glass materials in medicine* ISBN 0-87849-822-2
- [27] Park JB and Lakes RS. 1992. *Biomaterials—An Introduction*, 2nd ed., Plenum Press, New York
- [28] Yasko, A., Fellingner, E., Waller, S., Tomin, A., Peterson, M., Wang, E., and Lane, J. (1992), Comparison of biological and synthetic carriers for recombinant human BMP induced bone formation. *Trans. Orth. Res. Soc.* 17: 71
- [29] Daniels, A. U., Melissa, K. O., and Andriano, K. P. (1990). Mechanical properties of biodegradable polymers and composites proposed for internal fixation of bone. *J. Appl. Biomater.* 1(1): 57–78
- [30] Gershon, B., Cohn, D., and Marom, G. (1992). Compliance and ultimate strength of composite arterial prostheses. *Biomaterials* 13: 38–43
- [31] Veerabagu, S., Fujihara, K., Dasari, G. R., and Ramakrishna, S. (2003). Strain distribution analysis of braided composite bone plates. *Composites Sci. Technol.* 61: 427–435
- [32] Dawson, D. K. (2000). Medical devices. in *Comprehensive Composite Materials*, Vol. 6, A. Kelly, ed. Elsevier, pp. 1–32
- [33] Advanced biomaterials for skeletal tissue regeneration: Instructive and smart functions F. Barre`re, T.A. Mahmood, K. de Groot, C.A. van Blitterswijk, *Materials Science and Engineering R* 59 (2008) 38–71
- [34] K.A. Athanasiou, C. Zhu, D.R. Lanctot, C.M. Agrawal, X.Wang, *Tissue Eng.* 6 (2000) 361–381
- [35] *Grays Anatomy*
- [36] Wolff, J. 1986. *The Law of Bone Remodeling*, R. Maquet and R. Furlong (trans.), Springer-Verlag, Berlin
- [37] Brighton, C.T. 1984. Principle of fracture healing, In *Instructional Course Lectures*, J. Murray (Ed.), pp. 60–106, The American Academy of Orthopaedic Surgeons
- [38] Lothar Thomas. Enzymes. In *Clinical Laboratory Diagnostics-Use and Assessment of Clinical Laboratory Results*. TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, Frankfurt /Main, Germany, 1 Ed., 1998, 36-45
- [39] Richard A. McPetersen, Matthew R. Pincus. Biochemical Markers of Bone Metabolism. *Clinical Enzymology*. In *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods – Saunders Elsevier* 21-Ed 2007, 181, 255-257
- [40] Wintermantel E, Mayer J, Ruffieux K, et al. Biomaterials, human tolerance and integration. *Chirurgie.* 1999;70:847-857
- [41] Williams, D. F. (1998). General concepts of biocompatibility, *Handbook of Biomaterial Properties*, J. Black, and G. Hastings, eds. Chapman and Hall, London, pp. 481–489
- [42] Hummel, R.E. (1997). *Understanding Materials Science*. Springer-Verlag, New York

- [43] Newey, C., and Weaver, G. (1990). *Materials Principals and Practice*. Butterworth-Heinemann Ltd., Oxford, UK
- [44] Hench, L.L. Bioceramics. *J. Am. Ceram. Soc.* 1998, *81*, 1705-1728.
- [45] Hench, L.L. Bioceramics: From concept to clinic. *J. Am. Ceram. Soc.* 1991, *74*, 1487-1510.
- [46] Cao, W.; Hench, L.L. Bioactive materials. *Ceram. Int.* 1996, *22*, 493-507.
- [47] Pinchuk, N.D.; Ivanchenko, L.A. Making calcium phosphate biomaterials. *Powder Metall. Metal Ceram.* 2003, *42*, 357-371.
- [48] Heimann, R.B. Materials science of crystalline bioceramics: A review of basic properties and applications. *CMU J.* 2002, *1*, 23-46.
- [49] Dorozhkin, S.V. Bioceramics based on calcium orthophosphates. *Glass Ceram.* 2007, *64*, 442-447.
- [50] Salinas, A.J.; Vallet-Regí, M. Evolution of ceramics with medical applications. *Z. Anorg. Allg. Chem.* 2007, *633*, 1762-1773.
- [51] Tomoda, K.; Ariizumi, H.; Nakaji, T.; Makino, K. Hydroxyapatite particles as drug carriers for proteins. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 2010, *76*, 226-235.
- [52] Huebsch N.; Mooney, D.J. Inspiration and application in the evolution of biomaterials. *Nature* 2009, *462*, 426-432.
- [53] Ring, M.E. *Dentistry: An Illustrated History*; Harry, N., Ed.; Abrams: New York, NY, USA, 1992; p. 320.
- [54] Bobbio, A. The first endosseous alloplastic implant in the history of man. *Bull. Hist. Dent.* 1970, *20*, 1-6.
- [55] Lowenstam, H.A.; Weiner, S. *On Biomineralization*; Oxford University Press: Oxford, UK, 1989; p. 324.
- [56] Weiner, S.; Wagner, H.D. Material bone: Structure-mechanical function relations. *Ann. Rev. Mater. Sci.* 1998, *28*, 271-298.
- [57] LeGeros, R.Z. *Calcium Phosphates in Oral Biology and Medicine*; Karger: Basel, Switzerland, 1991; p. 108, 201.
- [58] Weiner, S.; Dove, P.M. An overview of biomineralization processes and the problem of the vital effect. In *Biomineralization, Series: Reviews in Mineralogy and Geochemistry*; Dove, P.M., De Yoreo, J.J., Weiner, S., Eds.; Mineralogical Society of America: Washington, DC, USA, 2003; Volume 54, pp. 1-29.
- [59] Weiner, S.; Traub, W.; Wagner, H.D. Lamellar bone: Structure-function relations. *J. Struct. Biol.* 1999, *126*, 241-255.
- [60] Albee, F.H. Studies in bone growth: Triple calcium phosphate as a stimulus to osteogenesis. *Ann. Surg.* 1920, *71*, 32-39.
- [61] Ray, R.D.; Ward, A.A., Jr. A preliminary report on studies of basic calcium phosphate in bone replacement. *Surg. Form.* 1951, *3*, 429-434.
- [62] Nery, E.B.; Lynch, K.L.; Hirthe W.M.; Mueller; K.H. Bioceramic implants in surgically produced infrabony defects. *J. Periodontol.* 1975, *46*, 328-347.
- [63] Denissen, H.W.; De Groot, K. Immediate dental root implants from synthetic dense calcium hydroxylapatite. *J. Prosthet. Dent.* 1979, *42*, 551-556.
- [64] Blakeslee, K.C.; Condrate, R.A., Sr. Vibrational spectra of hydrothermally prepared hydroxyapatites. *J. Am. Ceram. Soc.* 1971, *54*, 559-563.
- [65] Garrington, G.E.; Lightbody, P.M. Bioceramics and dentistry. *J. Biomed. Mater. Res.* 1972, *6*, 333-343.
- [66] Cini, L.; Sandrolini, S.; Paltrinieri, M.; Pizzoferrato, A.; Trentani, C. Materiali bioceramici in funzione sostitutiva. Nota preventiva. (Bioceramic

- materials for replacement purposes. Preliminary note). *Chir. Organi Mov.* 1972, 60, 423-430.
- [67] Rivault, M.A. Evolution, conception et technologie des travaux de prothèse fixe, réalisés en céramo-métallique. (Evolution, conception and technology of fixed prosthesis made of ceramic and metal). *Rev. Fr. Odontostomatol.* 1966, 13, 1367-1402.
- [68] Hench, L.L.; Splinter, R.J.; Allen, W.C.; Greenlee, T.K. Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. *J. Biomed. Mater. Res.* 1971, 2, 117-141.
- [69] Jarcho, M.; Bolen, C.H.; Thomas, M.B.; Bobick, J.; Kay, J.F. Doremus, R.H. Hydroxylapatite synthesis and characterization in dense polycrystalline form. *J. Mater. Sci.* 1976, 11, 2027-2035
- [70] Jarcho, M. Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics. *Clin. Orthop. Rel. Res.* 1981, 157, 259-278
- [71] De Groot, K, *Bioceramics of Calcium Phosphate*; Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 1983; p. 146.
- [72] De Groot, K. Bioceramics consisting of calcium phosphate salts. *Biomaterials* 1980, 1, 47-50.
- [73] Rejda, B.V.; Peelen, J.G.J.; De Groot, K. Tricalcium phosphate as a bone substitute. *J. Bioeng.* 1977, 1, 93-97.
- [74] Aoki, H.; Kato, K.M.; Ogiso, M.; Tabata, T. Studies on the application of apatite to dental materials. *J. Dent. Eng.* 1977, 18, 86-89.
- [75] Akao, M.; Aoki, H.; Kato, K.; Sato, A. Dense polycrystalline β -tricalcium phosphate for prosthetic applications. *J. Mater. Sci.* 1982, 17, 343-346.
- [76] Roy, D.M.; Linnehan, S.K. Hydroxyapatite formed from coral skeletal carbonate by hydrothermal exchange. *Nature* 1974, 247, 220-222.
- [77] Elsinger, E.C.; Leal, L. Coralline hydroxyapatite bone graft substitutes. *J. Foot Ankle Surg.* 1996, 35, 396-399.
- [78] Shipman, P.; Foster, G.; Schoeninger, M. Burnt bones and teeth: An experimental study of color, morphology, crystal structure and shrinkage. *J. Archaeol. Sci.* 1984, 11, 307-325.
- [79] LeGeros, R.Z. LeGeros, J.P. Calcium phosphate bioceramics: Past, present, future. *Key Eng. Mater.* 2003, 240-242, 3-10.
- [80] Ducheyne, P.; Qiu, Q. Bioactive ceramics: The effect of surface reactivity on bone formation and bone cell function. *Biomaterials* 1999, 20, 2287-2303.
- [81] Bohner, M. Resorbable biomaterials as bone graft substitutes. *Mater. Today* 2010, 13, 24-30.
- [82] LeGeros RZ (2002) Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates, *Clin. Ortho.* 395:81-98.
- [83] Davy DT (1999) Biomechanical issues in bone transplantation, *Ortho. Clin. North Am.* 30:553-563
- [84] BohnerM (2000) Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements, *Injury* 31:37^17.
- [85] Cornell CN (1999) Osteoconductive materials and their role as substitutes for autogenous bone grafts, *Ortho. Clin. North Am.* 30:591-598.
- [86] Dorozhkin, S.V. Calcium orthophosphates in nature, biology and medicine. *Materials* 2009, 2, 399-498.
- [87] Aziz Nather, BONE GRAFTS AND BONE SUBSTITUTES, Basic Science and Clinical Applications, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., Singapore, 2005, 450

- [88] POSNER A.S. The mineral of bone. *Clin. Orthop Relat Res*, 1985, 200:87-89
- [89] Paul W. Brown, Brent Constantz - Hydroxyapatite and related materials, 1994, CRC Press
- [90] L.L. Hench, EC Ethridge, *Biomaterials: An interfacial Approach*, Academic press, New York, 1982
- [91] R.Z. Legeros, Apatites in biological systems, *Prog. Cryst. Growth Charact.* 4, 1981, 1-45
- [92] Queiroz AC, Santos JD, Monteiro FJ, Gibson IR and Knowles JC (2001) Adsorption and release studies of sodium ampicillin from hydroxyapatite and glass-reinforced hydroxyapatite composites, *Biomaterials* 22:1393-1400.
- [93] Damien E, Hing K, Saeed S and Revell PA (2003) A preliminary study on the enhancement of the osteointegration of a novel synthetic hydroxyapatite scaffold *in vivo*, *J. Biomed. Mater. Res.* 66A:241-24
- [94] Block JE and Thorn MR (2000) Clinical indications of calcium-phosphate biomaterials and related composites for orthopedic procedures, *Calcif. Tissue Int.* 66: 234-238
- [95] K. De Groot, C. De Putter, P. Smith, A. Driessen, Mechanical failure of artificial teeth made of dense calcium phosphate, *Sci. Ceram. &&*, 1981, 433-437
- [96] J. Huaxia, P.M. Marquis, Sintering behaviour of Hydroxyapatite reinforced with 20% Al₂O₃, *J. Mater. Sci.* 28, 1993, 1941-1945
- [97] Y.M.Kong, S. Kim, H.E. Kim, Reinforcement of hydroxyapatite bioceramics by addition of ZrO₂ coated with Al₂O₃, *J. Am. Ceram. Soc.* 82, 1999, 2963-2968
- [98] R. Ramachandra Rao, T.S. Kanaan, Synthesis and sintering of hydroxyapatite - zirconia composites, *Mater. Sci. Eng., C* 20, 2002, 187-193
- [99] Bauer TW and Muschler GF (2000) Bone graft materials. An overview of the basic science, *Clin. Ortho.* 371:10-27
- [100] Fleming JE Jr., Cornell CN and Muschler GF (2000) Bone cells and matrices in orthopedic tissue engineering, *Ortho. Clin. North Am.* 31:357-374.
- [101] OShors EC (1999) Coralline bone graft substitutes, *Ortho. Clin. North Am.* 30: 599-613.
- [102] Kay M.I, Young R.A, Posner A.S, Crystal structure of hydroxyapatite, *Nature*, 204, 1050-1052, (1964)
- [103] Young R.A, Some aspects of crystal structural modeling of biological apatites, *Coll. Intern. CNRS, Paris*, 230, 21-39, (1975)
- [104] Legeros R.Z, Taheri M.H, Quiroigico G.B, Legeros J.P, Formation and stability of apatites : effects of some cationic substituants, *Intern. Cong. Phosphorus Compounds*, Boston, 89-103, (1980)
- [105] Rey C, Etude des relations entre apatites et composés moléculaires, Thèse d'état, INPT, (1984)
- [106] Holmes RE, Bucholz RW and Mooney V (1987) Porous hydroxyapatite as a bone graft substitute in diaphyseal defects: A histometric study, *J. Orthop. Res.* 5:114-121
- [107] Bucholz RW (2002) Nonallograft osteoconductive bone graft substitutes *Clin. Ortho.* 395:44-52.
- [108] Hing KA, Damien E, McInnes T and Revell PA (2002) Biological evaluation of a morphologically distinct porous hydroxyapatite bone graft substitute, in: *Proc. of the European Society for Biomaterials Confi*, p. 150.
- [109] Hasegawa M, Ohashi T, Tani T and Doi Y (2000) *Proc. of the 13th Int. Symp. On Ceramics in Medicine* 13:453-457

- [110] Patel N, Gibson IR, Hing KA, Best SM, Damien E, Revell PA and Bonfield W (2001b) The *in vivo* response of phase pure hydroxyapatite and carbonate substituted hydroxyapatite granules of varying size ranges, *Bioceramics* 14:383-386.
- [111] Patel N, Gibson IR, Hing KA, Best SM, Damien E, Revell PA and Bonfield W (2002) A comparative study on the *in vivo* behaviour of hydroxyapatite and silicon substituted hydroxyapatite granules, *J. Mater. Set Mater. Med.* 13:1199-1206.
- [112] Wallaey R, « Contribution à l'étude des apatites phosphocalciques », *Ann. Chim.* 7, pp. 808-848, (1952)
- [113] RABU B. Contribution à l'étude de l'hydroxyapatite frittée, préparation et propriétés du composite particulaire $\text{Ca}(\text{PO}_4)_3 \text{OH}-\text{Ca}_2\text{SiO}_4$, Création de micropores par frittage sous pression. Thèse, Université de Mulhouse, 1986
- [114] Hayek E., Newesely H., Pentacalcium monohydroxyorthophosphate-hydroxyapatite. *Inorg. Syntheses*, vol.7, pp :63-65 (1963)
- [115] Trombe J.C, Contribution à l'étude de la décomposition et de la réactivité de certaines apatites, Thèse, Université Paul-Sabatier Toulouse, (1972)
- [116] Arends J., Christoffersen J., Christoffersen M.R., Eckert H., Fowler O., Heughebaert J.C., Nancollas G.H., Yesinowski J.P., Zawacki S.J., a calcium hydroxyapatite precipitated from aqueous solution-an international multimethod analysis. *J.Crystal Growth*, vol 84, pp. 515-532, (1987)
- [117] Osaka A., Miura Y., Takeuchi K., Asada M. et Takahashi K., « Calcium apatite prepared from calcium hydroxyde and orthophosphoric acid », *J.Mater. Sci.Mat.Med.*, 2, pp.51-55, (1991)
- [118] Livage, Sanchez, *journal of non-crystalline solides*, 145(1992), 11-19, (1992)
- [119] Guyton AC. Textbook of medical physiology, 8th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1991
- [120] D. Beltran-Aguilar, L. K. Barker, M. T. Canto, B. A. Dye, B. F. Gooch, S. O. Griffin, J. Hyman, F. Jaramillo, A. Kingman, R. Nowjack-Raymer, R. H. Selwitz, T. Wu, *MMWR Surveill Summ* 54 (2005)
- [121] Cooper, *Osteoporos Int* 9 Suppl 2 (1999) S2
- [122] LeGeros, R.Z. Calcium phosphate-based osteoinductive materials. *Chem. Rev.* 2008, 108, 4742-4753
- [123] Gibson IR, Best SM and Bonfield W (1999a) Chemical characterization of siliconsubstituted hydroxyapatite, *7. Biomed. Mater. Res.* 15:422-428
- [124] Revell PA, Damien E, Zhang XS, Evans P and Howlett CR (2003) The effect of magnesium ions on bone bonding to the hydroxyapatite coating on titanium alloy implants, *Bioceramics* 16:447-450
- [125] Thomas J. Webster, Elizabeth A. Massa-Schlueter, Jennifer L. Smith, Elliot B. Slavovich, Osteoblast response to hydroxyapatite doped with divalent and trivalent cations, *Biomaterials* 25 (2004) 2111-2121
- [126] Ergun C, Webster TJ, Bizios R, Doremus RH. Hydroxyl apatite with substituted magnesium, zinc, cadmium, and yttrium I: structure and microstructure. *J Biomed Mater Res* 2002;59 305-11.
- [127] Gibson IR and Bonfield W (2002) Novel synthesis and characterisation of an AB type carbonate-substituted hydroxyapatite, *J. Biomed. Mater. Res.* 15:697-708
- [128] S. Kannan, S.I. Vieira, S.M. Olhero, P.M.C. Torres, S. Pina, O.A.B. da Cruz e Silva, J.M.F. Ferreira, Synthesis, mechanical and biological

- characterization of ionic doped carbonated hydroxyapatite/ β -tricalcium phosphate mixtures, *Acta Biomaterialia* 7 (2011) 1835–1843
- [129] Elsie Damien and Peter A Revell, Enhancement of the Bioactivity of Orthopaedic Biomaterials: Role of Growth Factors, Ion Substitution and Implant, *BONE GRAFTS AND BONE SUBSTITUTES*, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., Singapore, 2005, 481
- [130] Webster TJ, Ergun C, Doremus RH, Bizios R. Hydroxyl apatite with substituted magnesium, zinc, cadmium, and yttrium II: mechanisms of osteoblast adhesion. *J Biomed Mater Res* 2002; 59:312–7
- [131] Ito A, Ojima K, Naito H, Ichinose N, Tateishi T. Preparation, solubility, and cytocompatibility of zinc-releasing calcium phosphate ceramics. *J Biomed Mater Res* 2000;50:178–83.
- [132] Ito A, Kawamura H, Miyakawa S, Layrolle P, Aomori R, Tsutsumi S. Resorbability reduction by the incorporation of zinc into tricalcium phosphate. *Key Eng Mater* 2001;192–195: 199–202.
- [133] Hidaka S, Okamoto Y, Abe K, Miyazaki K. Effects of indium and iron ions on in vitro calcium phosphate and crystallinity. *J Biomed Mater Res* 1996;31:11–8.
- [134] Czesława Paluszkiwicz, Anna Słózarczyk, Dawid Pijocha, Maciej Sitarz, Mirosław Bucko, Aneta Zima, Anna Chróścicka, Małgorzata Lewandowska-Szumieł, Synthesis, structural properties and thermal stability of Mn-doped hydroxyapatite, *Journal of Molecular Structure* 976 (2010) 301–309
- [135] Zhang XS, Revell PA, Evans P, Tanner KE and Howlett CR (1998) Magnesium-ion implantation of HA-coated implants enhances bone ingrowth in rabbits, *Transac. Soc. Biomaterials* 21: p. 187
- [136] Toba Y, Kajita Y, Masuyam R, Takada Y, Suzuki K and Aoe S (2000) Dietary magnesium supplementation affects bone metabolism and dynamic strength of bone in ovariectomised rats, *J. Nutr.* 130:216–220
- [137] Serre CM, Papillard M, Chavassieux P, Voegel JC, Boivin G. Influence of magnesium substitution on a collagen-apatite biomaterial on the production of a calcifying matrix by human osteoblasts. *J Biomed Mater Res* 1998;42:626–33.
- [138] Gibson IR, Bonfield W. Preparation and characterization of magnesium/carbonate co-substituted hydroxyapatites. *J Mater Sci Mater Med* 2002;13:685–93.
- [139] Fadeev, I. V., Shvorneva, L. I., Barinov, S. M. and Orlovskii, V. P., Synthesis and structure of magnesium-substituted hydroxyapatite. *Inorg. Mater.*, 2003, 39(9), 947–950.
- [140] Ilaria Cacciotti, Alessandra Bianco, Mariangela Lombardi, Laura Montanaro, Mg substituted hydroxyapatite nanopowders: Synthesis, Thermal stability and sintering behaviour, *Journal of the European Ceramic Society* 29 (2009)
- [141] C.Y. Tan, K.L. Aw, W.H. Yeo, S. Ramesh, M. Hamdi and I. Sopyan, "Influence of Magnesium Doping in Hydroxyapatite ceramics" in *Biomed*, 2008, pp.326–329
- [142] Landi E, Tampieri A, Mattioli-Belmonte M, Celotti G, Sandri M, Gigante A, et al. Biomimetic Mg- and MgCO₃-substituted hydroxyapatites: synthesis, characterization and in vitro behaviour. *J Eur Ceram Soc* 2006;26:2593e601

- [143] Samar J. Kalita , Himesh A. Bhatt, Nanocrystalline hydroxyapatite doped with magnesium and zinc: Synthesis and characterization, *Materials Science and Engineering C* 27 (2007) 837–848
- [144] Hyun-Seung Ryu, Kun Sun Hong, Deug Joong Kim et al, Magnesia-doped HA/ β -TCP ceramics and evaluation of their biocompatibility, *Biomaterials* 25 (2004)
- [145] Kim CH (1999) Experimental study of PDGF's effect on healing of the commercial xenogeneic bone powders transplanted in the calvarial defect of the rat, Thesis, Dankook University
- [146] A.W. Paterson, R. Stevens, Preferred orientation of the transformed monoclinic phase in fracture surfaces of Y-TZP ceramics, *International Journal of High Technology Ceramics*, Volume 2, Issue 2, 1986, Pages 135–142
- [147] A. Rapacz-Kmita, A. Slosarczyk, Z. Paszkiewicz, Mechanical properties of HAp-ZrO₂ composites, *Journal of the European Ceramic Society* 26 (2006) 1481–1488
- [148] Buddy D. Ratner et al, *Biomaterials science : an introduction to materials in medicine* 2nd edition, Elsevier Academic Press, 2004
- [149] H.Ji, P.M. Marquis, *Biomaterials* 13-11, 1992, 744
- [150] Hae-Won Kim, Young-Hag Koh, Seung-Beom Seo, Hyoun-Ee Kim, Properties of fluoridated hydroxyapatite–alumina biological composites densified with addition of CaF₂, *Materials Science and Engineering C* 23 (2003) 515–521
- [151] J. Li, B. Fartash, L. Herrnansson, Hydroxyapatite-alumina composites and bone-bonding, *Biomaterials* 16 (1995) 417-422
- [152] S. Kim; Y. Kong, I. Lee, H. Kim, *J mater Sci, Mater Med*, 13, 2002, 307
- [153] M.B. Thomas, R.H. Doremus, 1981, 258
- [154] Z. Evis, R.H. Doremus, A study of phase stability and mechanical properties of hydroxyapatite-nanosize α -alumina composites, *Materials science and Engineering C* 27, 2007, 421-425
- [155] Sung-Jin Kim, Hee-Gon Bang, Jun-Ho Song, Sang-Yeup Park, Effect of fluoride additive on the mechanical properties of hydroxyapatite/alumina composites, Volume 35, Issue 4, May 2009, Pages 1647–1650
- [156] *Cryothermostat Unistat Tango Nuevo instructions manual*, Huber G.m.b.H., Germany, 2007
- [157] AFNOR, Designation NF S94-066, *Determination quantitative du rapport Ca/P de phosphate de calcium*, AFNOR, Paris, 1998
- [158] S. Raynaud, E. Champion, D. Bernache-Assolant and J. Laval, "Determination of calcium/phosphorus atomic ratio of calcium phosphate apatites using X-ray diffractometry" in *J. Am. Ceram. Soc.* 84, 2001, pp. 355-366.
- [159] Khalil, K.A.; Kim, S.W.; Dharmaraj, N.; Kim, K.W.; Kim, H.Y. Novel mechanism to improve toughness of the hydroxyapatite bioceramics using high-frequency induction heat sintering. *J. Mater. Proc. Technol.* 2007, 187-188, 417-420.
- [160] Landi, E.; Tampieri, A.; Celotti, G.; Sprio, S. Densification behaviour and mechanisms of synthetic hydroxyapatites. *J. Eur. Ceram. Soc.* 2000, 20, 2377-2387
- [161] Ruys, A.J.; Wei, M.; Sorrell, C.C.; Dickson, M.R.; Brandwood, A.; Milthorpe, B.K. Sintering effect on the strength of hydroxyapatite. *Biomaterials* 1995, 16, 409-415

- [162] Van Landuyt, P.; Li, F.; Keustermans, J.P.; Streydio, J.M.; Delannay, F.; Munting, E. The influence of high sintering temperatures on the mechanical properties of hydroxylapatite. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 1995, 6, 8-13
- [163] Dorozhkina, E.I.; Dorozhkin, S.V. Mechanism of the solid-state transformation of a calcium-deficient hydroxyapatite (CDHA) into biphasic calcium phosphate (BCP) at elevated temperatures. *Chem. Mater.* 2002, 14, 4267-4272
- [164] Li, Y.; Kong, F.; Weng, W. Preparation and characterization of novel biphasic calcium phosphate powders (α -TCP/HA) derived from carbonated amorphous calcium phosphates. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 2009, 89B, 508-517
- [165] Mostafa, N.Y. Characterization, thermal stability and sintering of hydroxyapatite powders prepared by different routes. *Mater. Chem. Phys.* 2005, 94, 333-341
- [166] Suchanek, W.; Yashima, M.; Kakihana, M.; Yoshimura, M. Hydroxyapatite ceramics with selected sintering additives. *Biomaterials* 1997, 18, 923-933
- [167] Safronova, T.V.; Putlyaev, V.I.; Shekhirev, M.A.; Tretyakov, Y.D.; Kuznetsov, A.V.; Belyakov, A.V. Densification additives for hydroxyapatite ceramics. *J. Eur. Ceram. Soc.* 2009, 29, 1925-1932
- [168] Chen, S.; Wang, W.; Kono, H.; Sassa, K.; Asai, S. Abnormal grain growth of hydroxyapatite ceramic sintered in a high magnetic field. *J. Cryst. Growth* 2010, 312, 323-326
- [169] Brès, E., Hardouin, P. *Les Matériaux en Phosphate de Calcium. Aspects fondamentaux/Calcium Phosphate Materials. Fundamentals*; Eds.; Sauramps Medical: Montpellier, France, 1998; p. 176
- [170] Muralithran, G.; Ramesh, S. Effects of sintering temperature on the properties of hydroxyapatite. *Ceram. Int.* 2000, 26, 221-230
- [171] Suchanek, W.L.; Yoshimura, M. Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants. *J. Mater. Res.* 1998, 13, 94-117
- [172] Bernache-Assollant, D.; Ababou, A.; Champion, E.; Heughebaert, M. Sintering of calcium phosphate hydroxyapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ I. Calcination and particle growth. *J. Eur. Ceram. Soc.* 2003, 23, 229-241
- [173] Ramesh, S.; Tan, C.Y.; Bhaduri, S.B.; Teng, W.D.; Sopyan I. Densification behaviour of nanocrystalline hydroxyapatite bioceramics. *J. Mater. Proc. Technol.* 2008, 206, 221-230
- [174] Kobayashi, S.; Kawai, W.; Wakayama, S. The effect of pressure during sintering on the strength and the fracture toughness of hydroxyapatite ceramics. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2006, 17, 1089-1093
- [175] Lifshin, "X-ray Characterization of Materials", Wiley VCH, NY, 1999
- [176] H.P. Klug, L.E. Alexander, "X-ray Diffraction Procedures for Polycrystalline and Amorphous Materials", J. Wiley & Sons, USA, 1954
- [177] J. Goldstein et al., "Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis", Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York 2003;
- [178] S.L. Flegler, J.W. Heckman, Jr., K.L. Klomparens, "Elektronenmikroskopie/Grundlagen, Methoden, Anwendungen", Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg; Berlin; Oxford, 1995

-
- [179] NORME ISO 10993-5/EN 30993-5, NF S 99-505 Evaluation biologique des dispositifs médicaux. Partie 5 : Essais concernant la cytotoxicité : Méthodes in vitro. AFNOR, 1994, 7 p.
- [180] KODAMA H., AMAGAI Y., SUDO H., KASAI S. & YAMAMOTO S., Establishment of a clonal osteogenic cell line from newborn mouse calvaria. J. Oral Biol., 23, 1981, 899-901
- [181] DERUYTER L. Caractérisations physico-chimiques de surface de membranes utilisées pour la reconstruction osseuse guidée. Diplôme Ingénieur CNAM, Lille, 1999
- [182] LINEZ-BATAILLON P., MONCHAU F., ANSELME K., BIGERELLE M., BEAUVILLAIN J-C., HILDEBRAND H.F. Adhésion de cellules osseuses et états de surface des implants. Etude in vitro de l'adhésion d'une lignée de cellules osseuses de souris (MC3T3-E1) sur des échantillons de titane (TiAl6V4) de cinq rugosités différentes. Alpha Oméga News, 41, 1998, 11-13
- [183] Oyane A, Kim HM, Furuya T, Kokubo T, Miyazaki T, Nakamura T. Preparation and assessment of revised simulated body fluids. J Biomed Mater Res A 2003;65:188-95
- [184] Gheorghe Bădărău – Proprietățile materialelor metalice, 2007-2008
- [185] ThermoVision™ A40M Operator's manual, 2004