Instytut Fizyki im. A. Chełkowskiego
Uniwersytet Śląski

Fotofunkcjonalizacja powierzchni biomateriałów

Jerzy Kubacki

Katowice 25.02.2021

Plan Prezentacji

• Wprowadzenie

- biomateriały na bazie stopów tytanu,
- Implanty dentystyczne,
- fotofunkcjonalizacja powierzchni implantów dentystycznych,
- proces osteointegracji,

• Wyniki doświadczalne

- próbki: dyski tytanowe, dyski ceramiczne ZrO_2, PEEK
- stosowane techniki badawcze: powierzchniowo-czułe

  tj. XPS, AES, SEM, EDS, AFM; struktura krystaliczna XRD;

  własności powierzchni - kąt zwilżania,

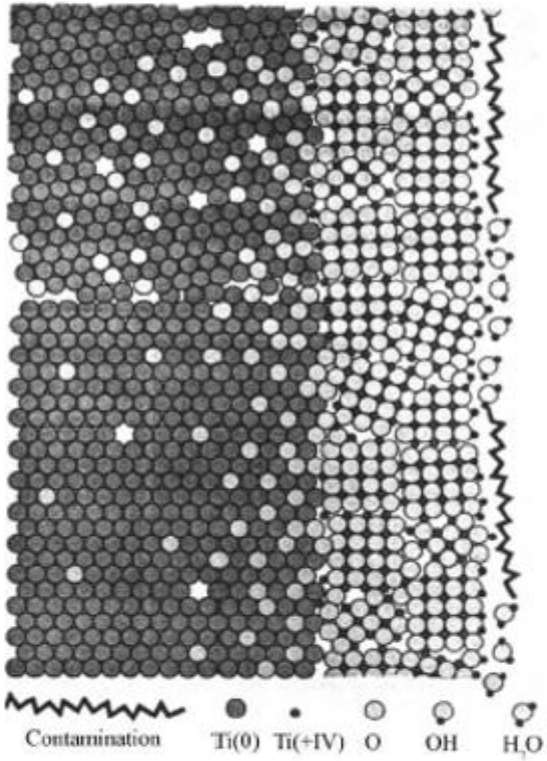
• Podsumowanie

Implanty dentystyczne

Biokompatybilność – cecha substancji lub materiału warunkująca jego prawidłowe działanie w żywym organizmie.
Tytan i jego stopy są materiałami o dobrej biokompatybilności, stąd zazwyczaj są używane do produkcji tzw. ***implantów korzeniowych.***

Fig. 3. Schematic diagram of the screw-shaped artificial tooth.

Powierzchnia implantu tytanowego:



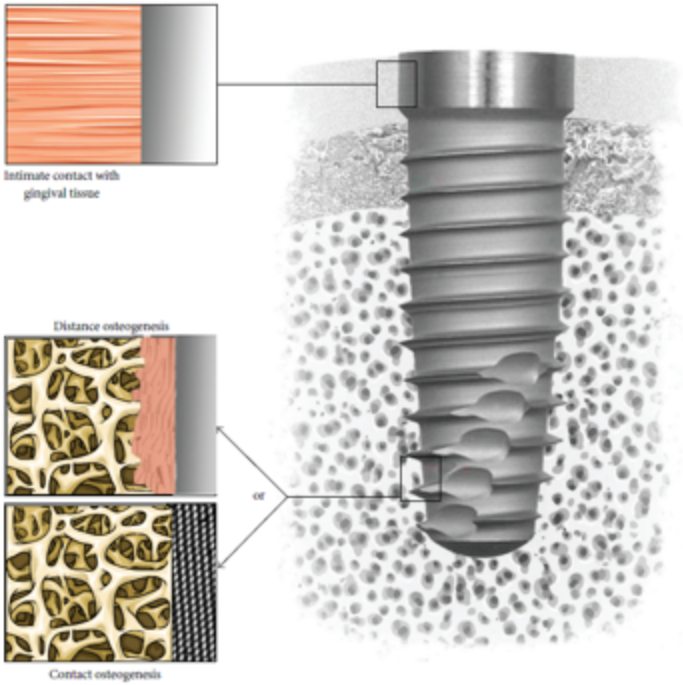
wnętrze (bulk) | warstwa przejściowa | adsorbaty

1. Warstwa amorficznego tlenku TiO_2 o grubości 3-7 nm.
2. Warstwa przejściowa TiO_2/Ti, gdzie stosunek koncentracji O/Ti zmienia się z 2 na 1 od warstwy tlenku do podłoża Ti.
3. Warstwa wodorotlenków lub cząsteczek wody związanych z jonami tytanu wiązaniami fizysorpcyjnymi.
4. W zewnętrznej warstwie wierzchniej mogą występować także związki organiczne tj. ***węglowodory*** lub ***związki organiczne tytanu***, których stężenie zależy od stanu powierzchni (***czystości***) oraz ***czasu ekspozycji*** na działanie powietrza i ***jakości atmosfery*** podczas przechowywania.

M. Textor, C. Sittig, V. Frauchiger, S. Tosatti, D.M. Brunette, in:
D.M. Brunette, P. Tengvall, M. Textor, P. Thomsen
(Eds.), Titanium in Medicine, Springer, Berlin, 2001, pp. 171–230.

Osseointegracja (osteointegracja) – bezpośrednie strukturalne i czynnościowe połączenie pomiędzy uporządkowaną, żywą kością i powierzchnią implantu. Proces osteointegracji jest ściśle związany ze wskaźnikiem kontaktu kości z implantem (BIC, ang. bone-implant -contact).
Uważa się, że tlen zawarty w tkance kostnej tworzy na powierzchni tytanowego implantu warstwę dwutlenku tytanu, na której może odkładać się nowa, mineralizująca się tkanka kostna tworząca właściwe mocowanie implantu.
Integracja powierzchni wszczepu z kością jest procesem ciągłym i polega na ustawicznej resorpcji i absorpcji tkanki kostnej.

W celu ***poprawy zdolności*** osteointegracji implantów dentystycznych stosuje się rózne technologie modyfikacji powierzchni implantów:
- metody mechaniczne (piaskowanie)
- metody chemiczne (trawienie chemiczne)
- metody fizyczne (np.. implantacja jonów)
- osadzanie dodatkowej warstwy wierzchniej (np.warstwy HAP)
- funkcjonalizacja i bio-funkcjonalizacja powierzchni implantu
- **fotofunkcjonalizacja**
- fluoryzacja

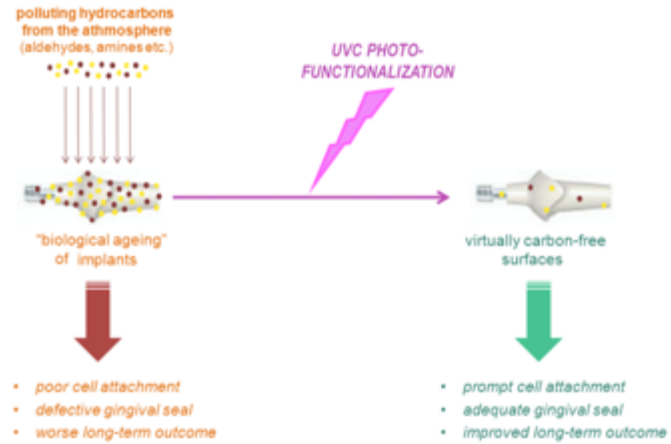


International Journal of Biomaterials
Volume 2010, Article ID 915327,

Powierzchnie implantów tytanowych niewątpliwie podlegają procesowi ***starzenia biologicznego*** co powoduje ***zmniejszenie wartości BIC***. Po ***4 tygodniach*** od wyprodukowania implantów, ich powierzchnie zanieczyszczone są ***weglowodorami i poliwęglanami.*** Związki te modyfikują ich właściwości fizyczne i chemiczne, co prowadzi do znacznego obniżenia wartości ***BIC (45-75%).***

Prawdopodobny wydaje się fakt, że zanieczyszczenia te powodują, iż ***mniejsza liczba komórek macierzystych integruje się z powierzchnią implantu***.Jednakże ***fotofunkcjonalizacja*** (napromienianie UV) powierzchni implantu tytanowego może zahamować proces starzenia biologicznego. Ponadto wartość BIC osiąga wtedy prawie 100%, a prędkość osteointegracji znacznie wzrasta. Zjawisko to określane jest jako ***super-osteointegracja***.

Fotofunkcjonalizacja UV definiowana jest jako zjawisko występujące na powierzchni tytanu po zadziałaniu promieni UV, powodujące zmianę jego właściwości fizyko-chemicznych i biologicznych.

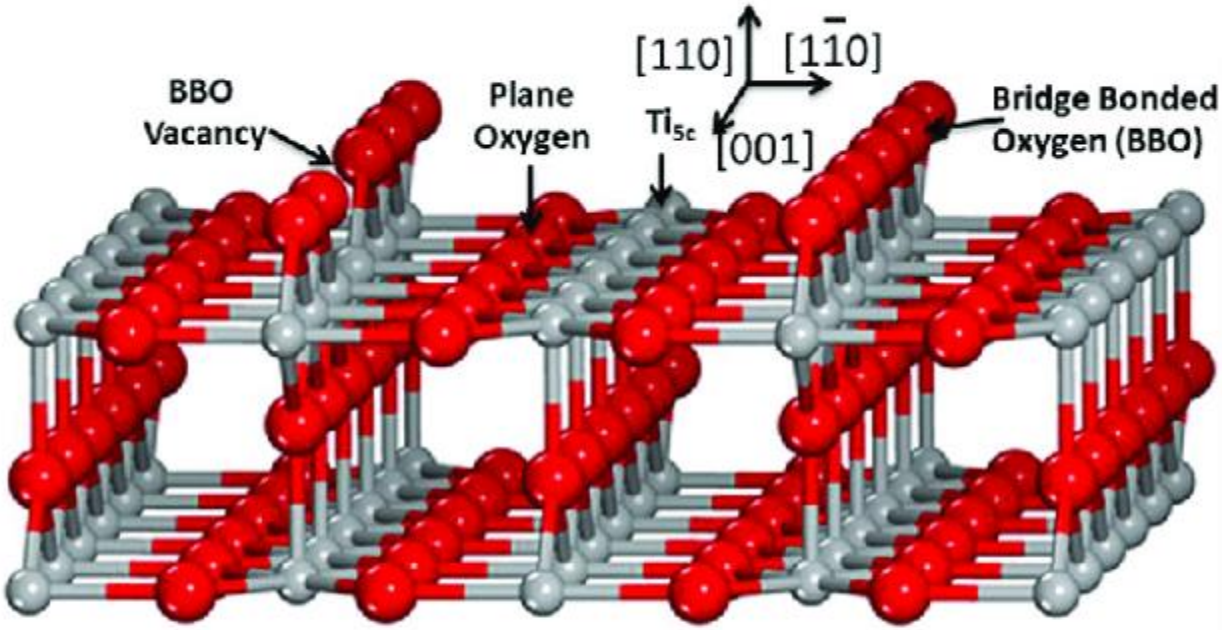


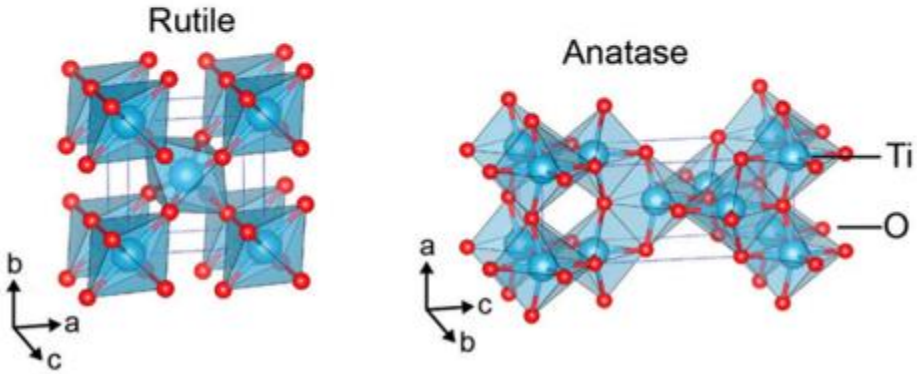
Zmiany właściwości metalu wywołane przez promieniowanie UV działające na powierzchnię tytanu, ***zwiększa zdolność wchłaniania białka, zwiększa siłę przylegania osteoblastów, ich proliferację i mineralizację***. Wszystkie te, nowo wyindukowane właściwości tytanu, pozwalają określić go jako ***materiał bioaktywny***, zmieniając znaczenie pojęcia 'biologicznie obojętny' używanego w dzisiejszej medycynie.

Model wyjaśniający proces działania światła UV na tytan zakłada, że jego ***ujemnie naładowana powierzchnia*** ładuje się ***dodatnio***, a zatem ***przyciąga białka***, takie jak ***albumina***, które są niezbędne do zapoczątkowania procesu różnicowania osteoblastów. Większość białek i komórek ciała jest naładowanych ujemnie, promieniowanie UV bezpośrednio generuje mechanizm przylegania do powierzchni tytanowej, unikając mostków z kationów dwuwartościowych, takich jak Ca^{2+} pojawiających się na niepoddanym żadnym procesom tytanie.

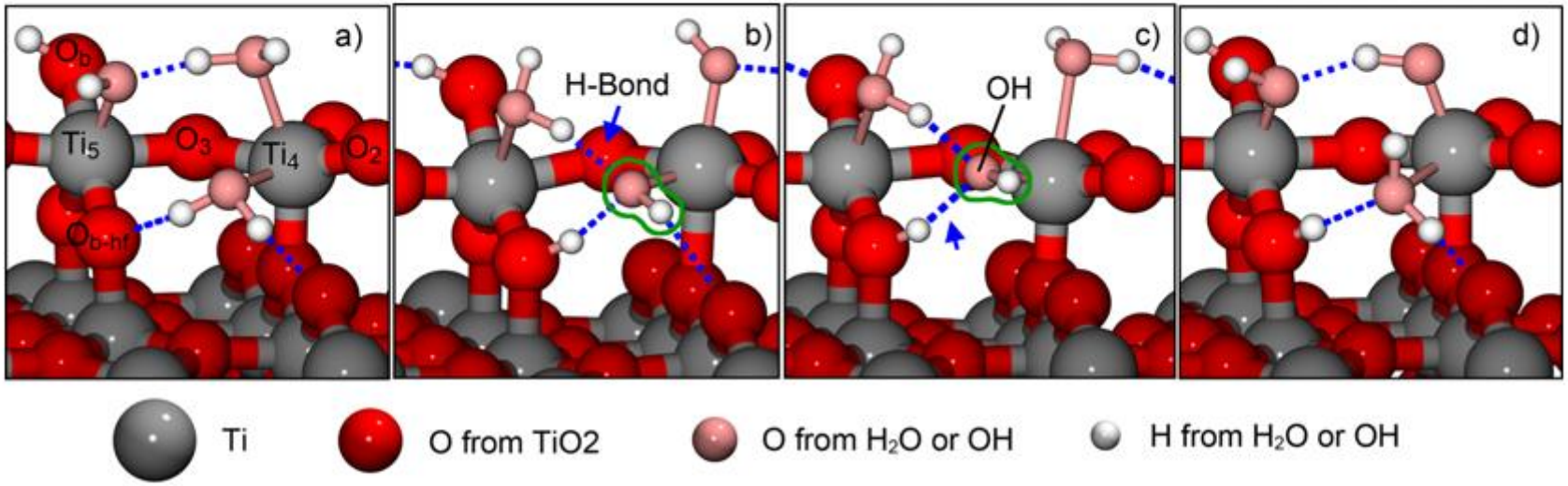
Journal of Stomatology 2014; 67, 5: 682-691

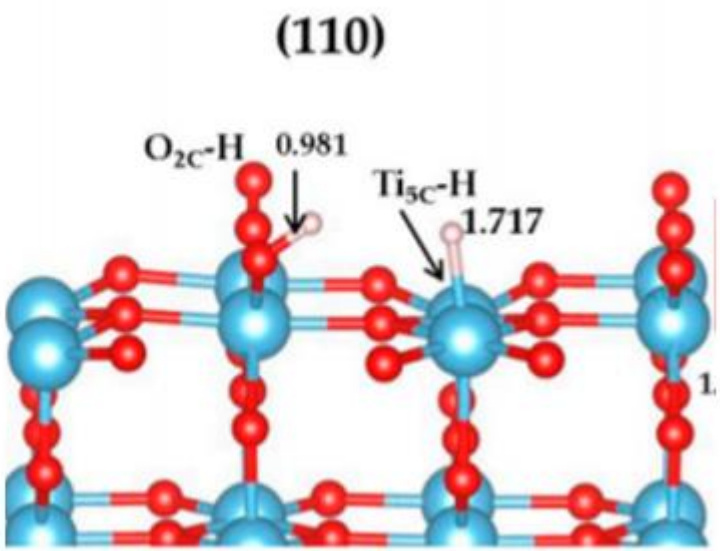
Ułożenie atomów na powierzchni (110) warstwy TiO_2





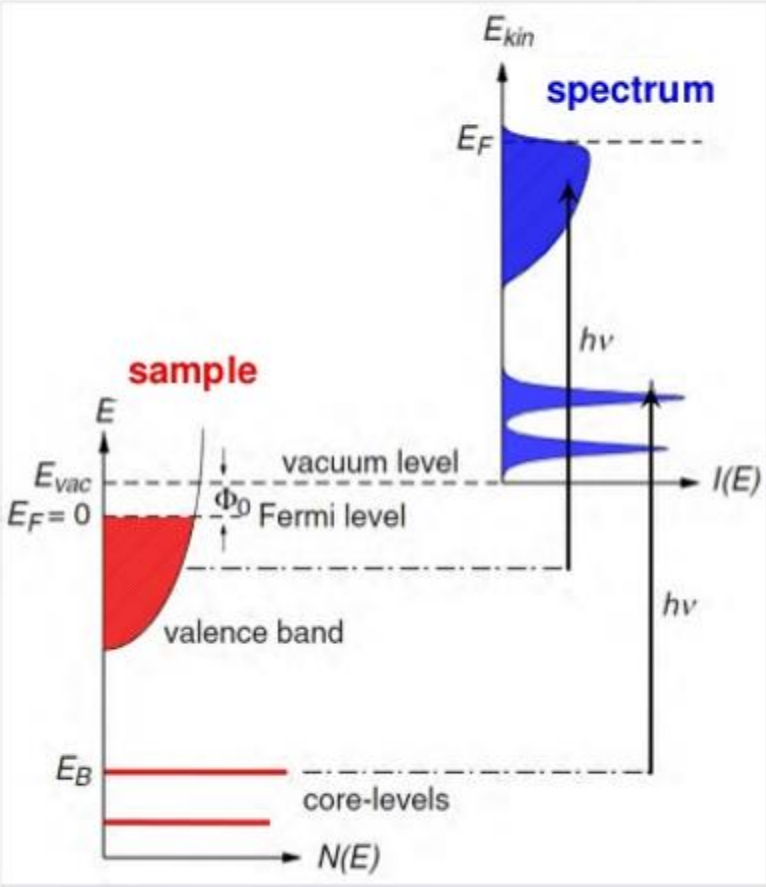
Możliwe konfiguracje wiązań molekuł H_2O na powierzchni (110) warstwy TiO_2

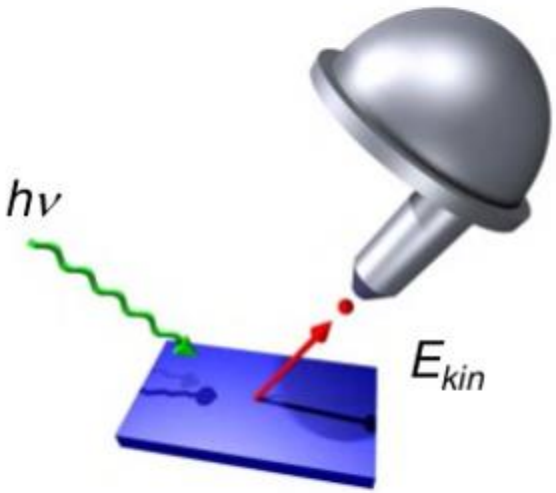




Dysocjacja molekuł H_2O

Spektroskopia fotoemisyjna XPS

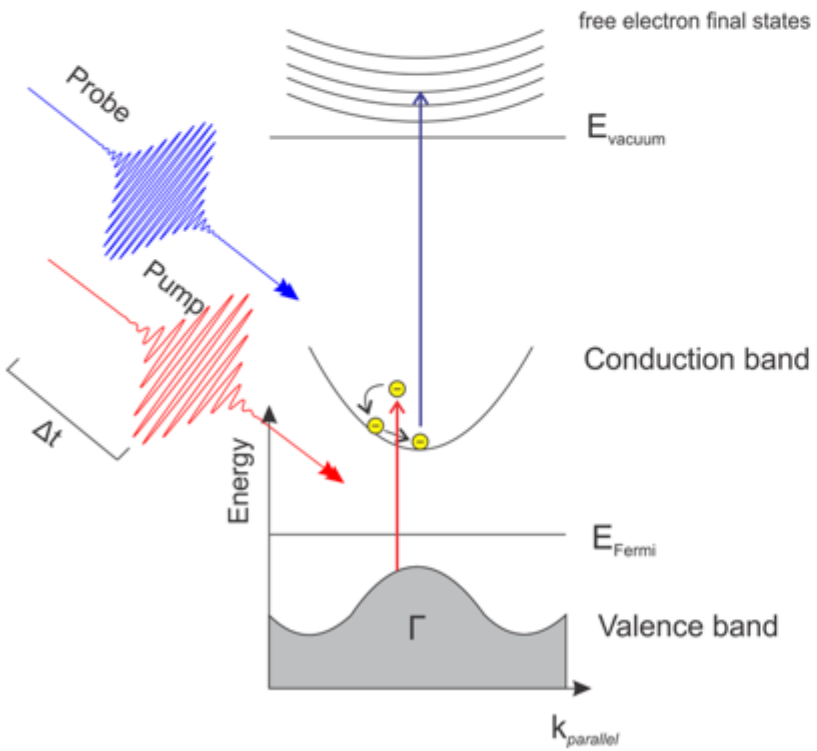


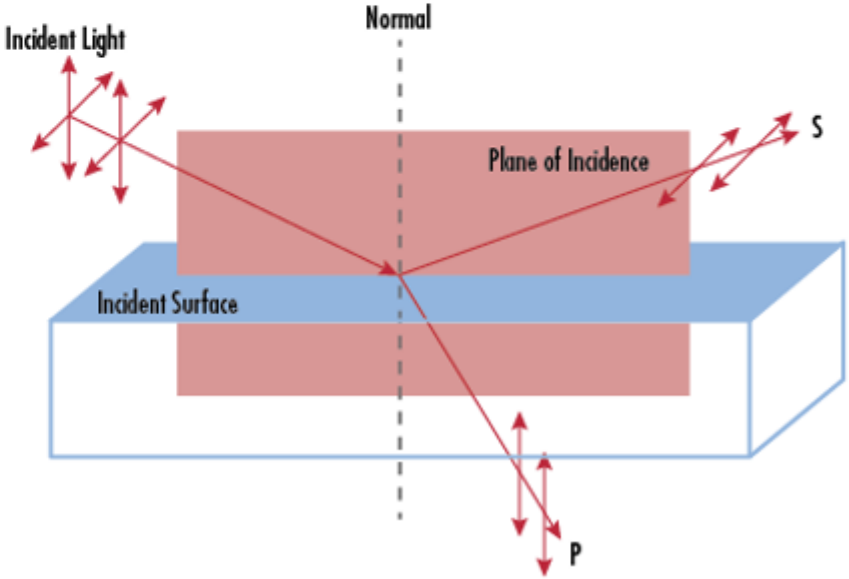


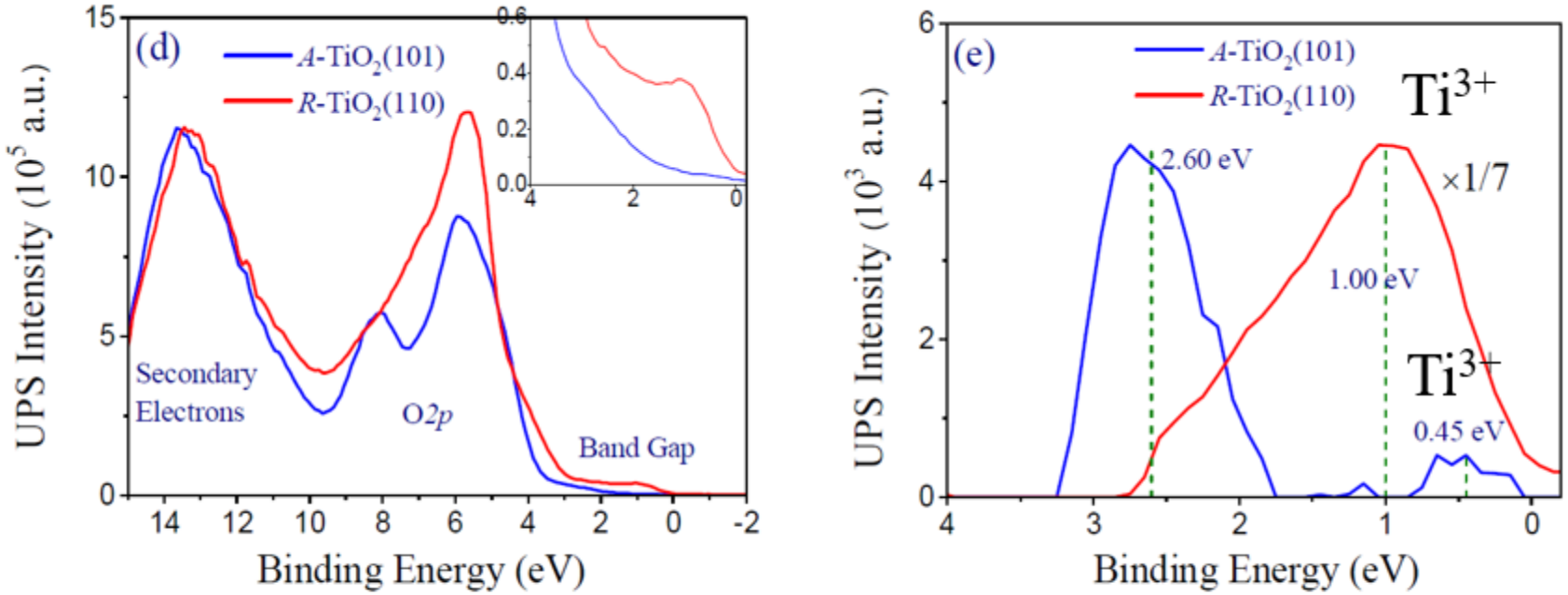
$$E_{kin} = h\nu - E_B - \Phi_0$$

measure kinetic energy distribution of photoelectrons

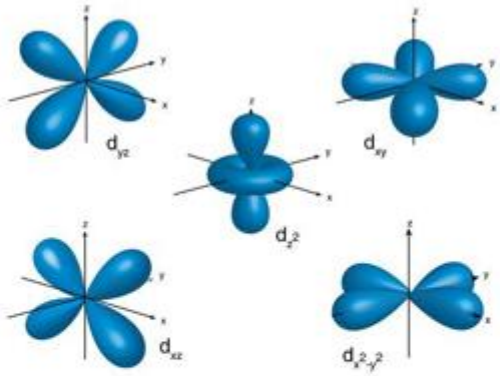
Spektroskopia fotoemisji dwufotonowej (2PPE)

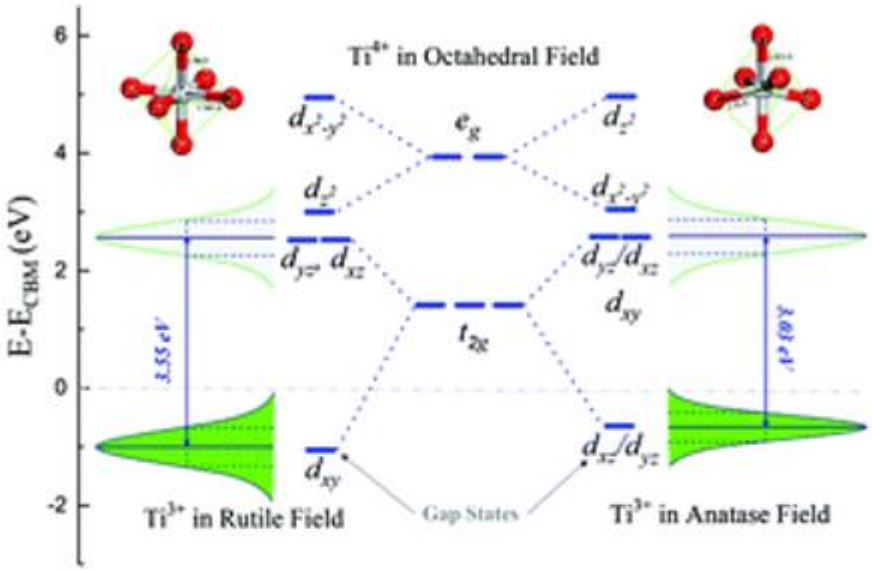


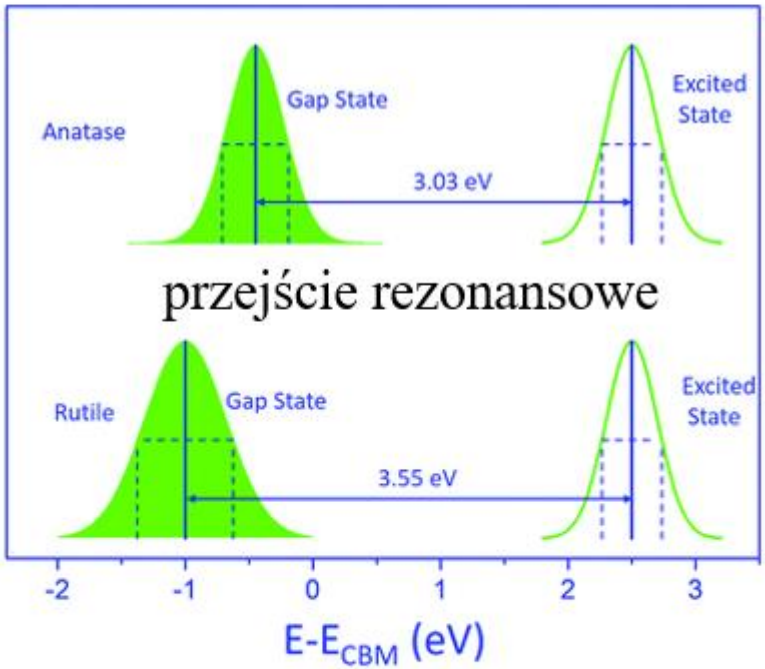




Phys. Chem. Chem. Phys., 2018, 20, 17658--17665





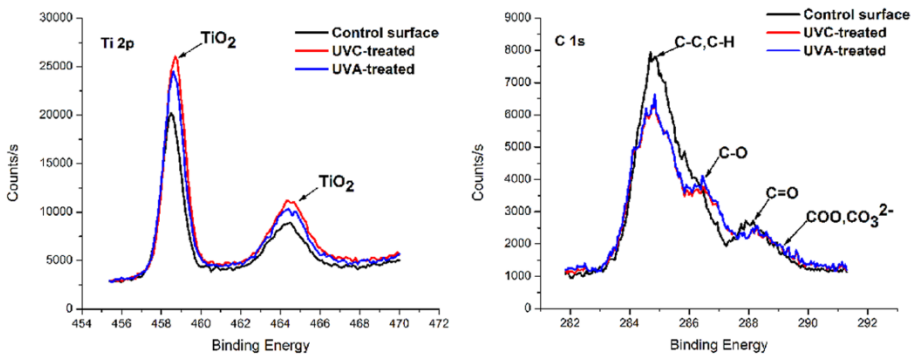


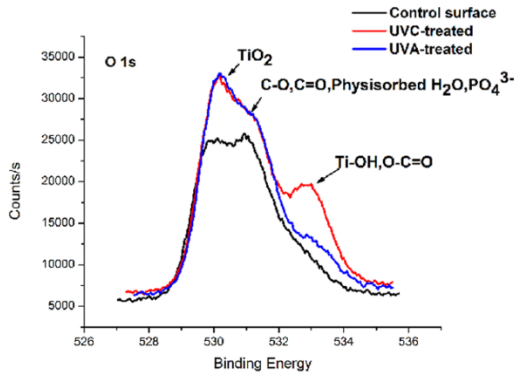
Phys. Chem. Chem. Phys., 2018, 20, 17658--17665

Charakterystyka użytego promieniowania UVC

UVC, Ushio Therabeam® SuperOsseo, Japan, t=12 min.

Dane literaturowe wpływu fotofunkcjonalizacji na stan powierzchni:



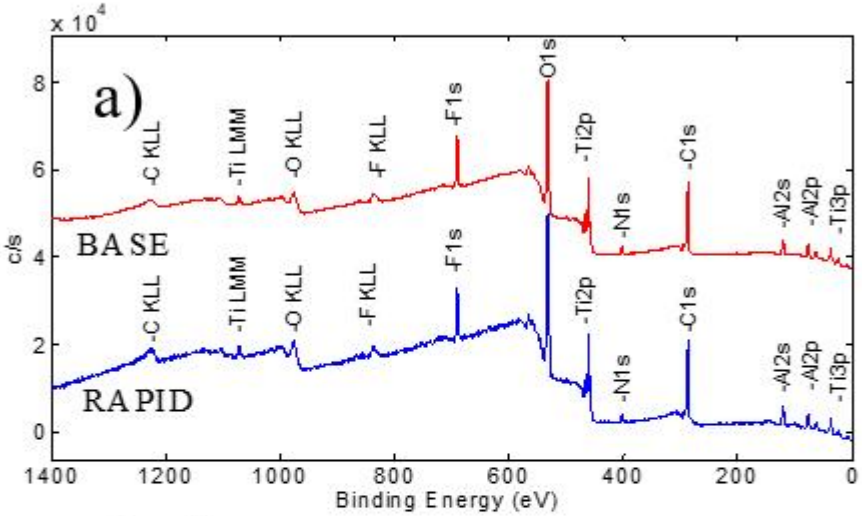


λ_{UVA} = 360 nm ~ 3.4 eV
λ_{UVC} = 250 nm ~ 4.9 eV
Czas ekspozycji 24h.

PlosOne 8 (2013) e68086

Charakterystyka powierzchni komercyjnie dostępnych Osteoplant Base™ and Rapid ™ (Polska) implantów dentystycznych (tytanowych):

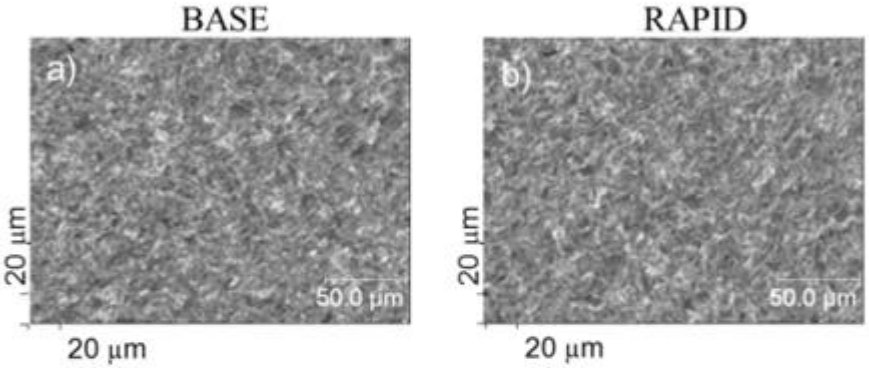
Skład chemiczny:



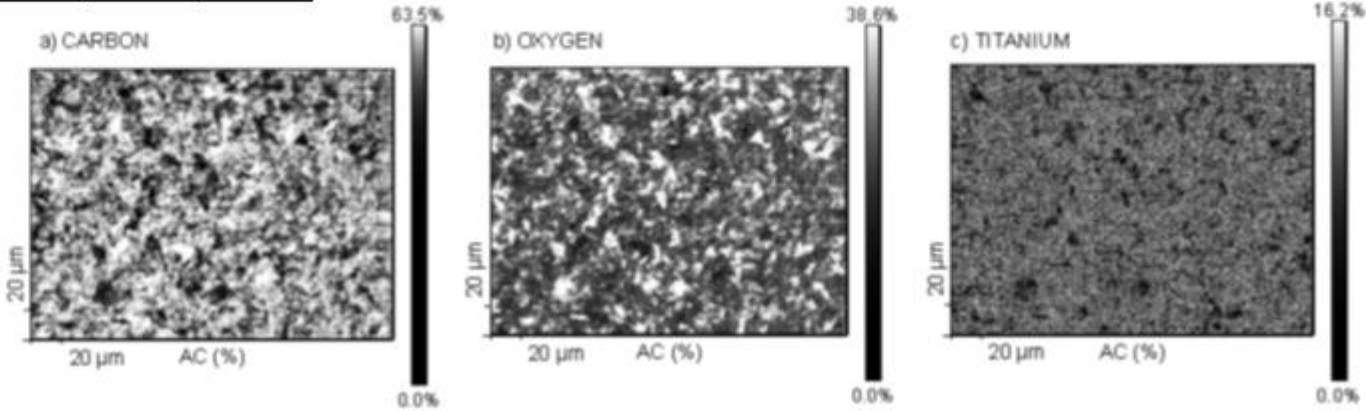
XPS, Al. K_{α}, hν=1486 eV

	Carbon	Nitrogen	Oxygen	Aluminum	Titanium	Fluoride
BASE	39 %	2 %	37 %	8 %	7 %	7 %
RAPID	39 %	2 %	38 %	8 %	6 %	7 %

Morfologia powierzchni:

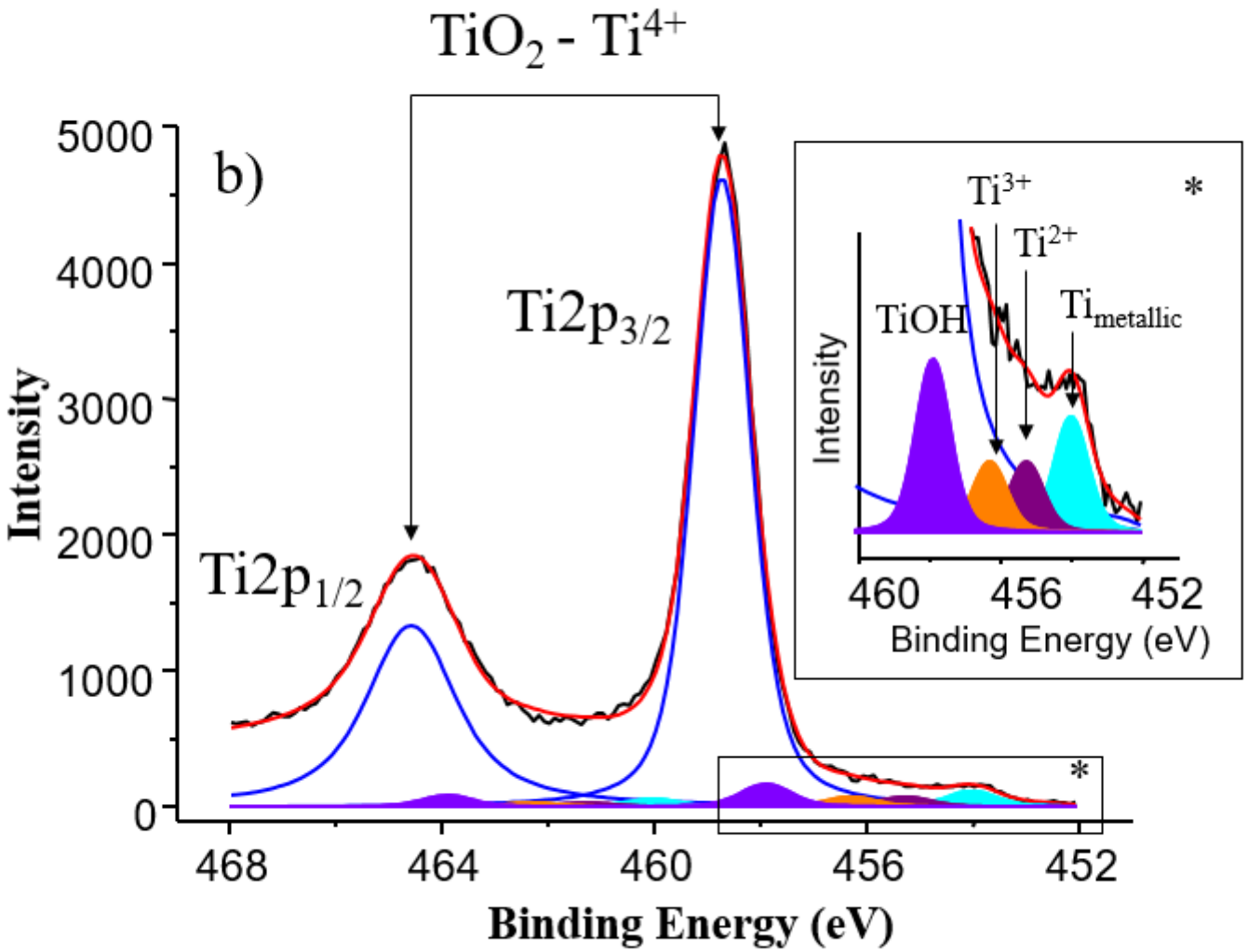


SEM, AES_{map} ,10 kV, 20 nA



PlosOne 11 (2016) e0157481,

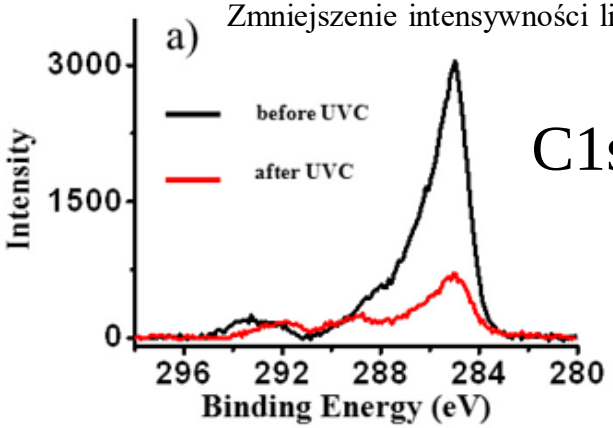
Stany elektronowe tytanu na powierzchni implantu:

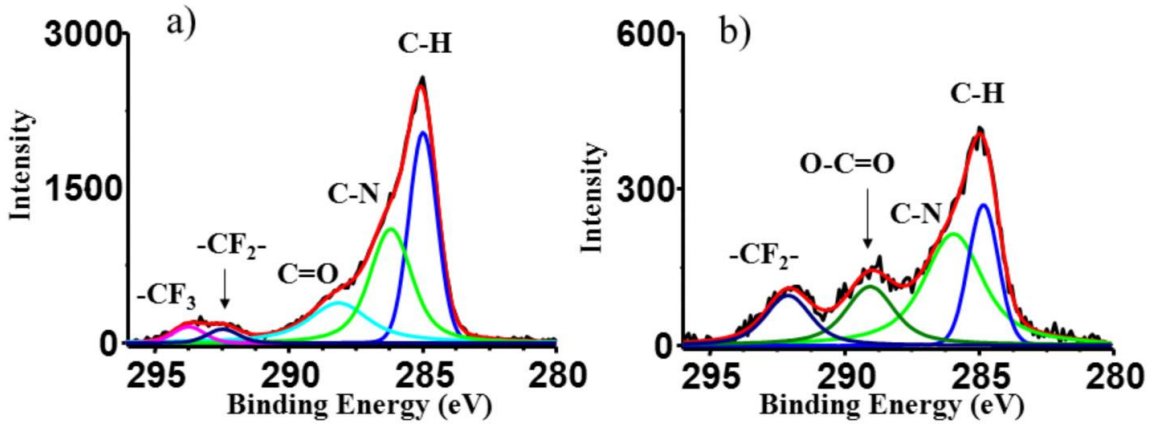


PlosOne 11 (2016) e0157481,

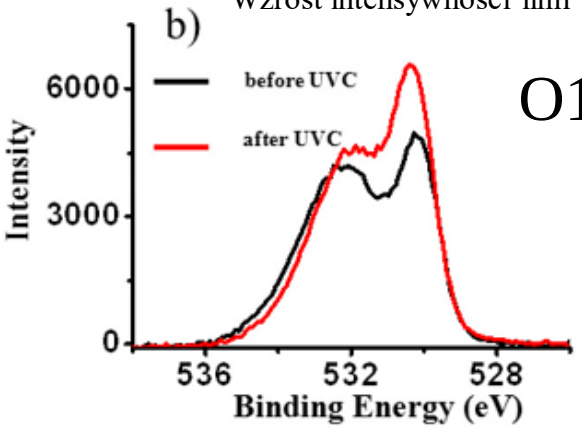
Zmiany chemiczne w warstwie powierzchniowej na skutek działania promieniowania UVC

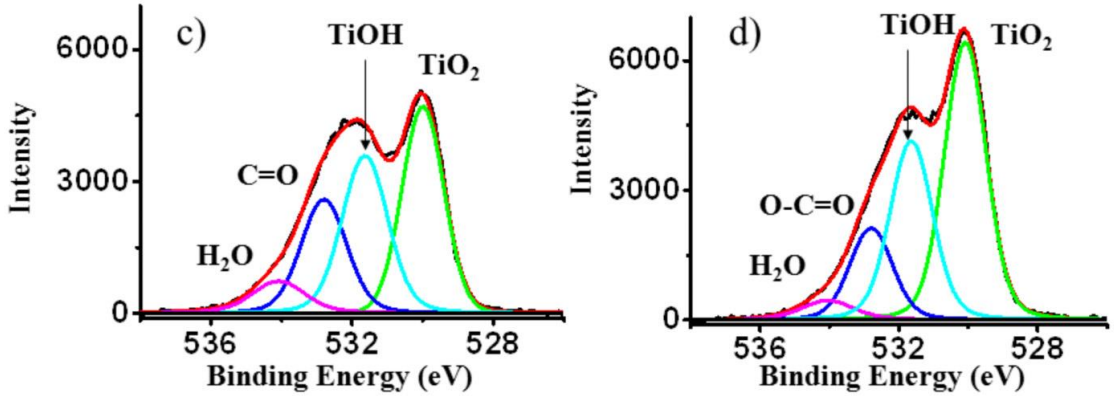
Zmniejszenie intensywności linii C1s





Wzrost intensywności linii O1s





	Carbon	Nitrogen	Oxygen	Titanium
AES/XPS *aken out of the box*	47/43	XPS - 2	45/47	8/8
AES/XPS *UVC 12 min cycle*	13/14	XPS - 1	75/69	11/13

Brak wyraźnego wpływu naświetlania promieniowaniem UVC na stany Ti2p.

Koncentracja atomowa:

3 - krotne zmniejszenie koncentracji atomowej węgla

•Peptydy – produkty reakcji pomiędzy cząsteczkami α-aminokwasów (reakcja peptyzacji) – peptyzacja jest reakcja kondensacji, obok produktu głównego powstaje małocząsteczkowy produkt uboczny, (w przypadku kondensacji aminokwasów tym produktem jest cząsteczka wody).

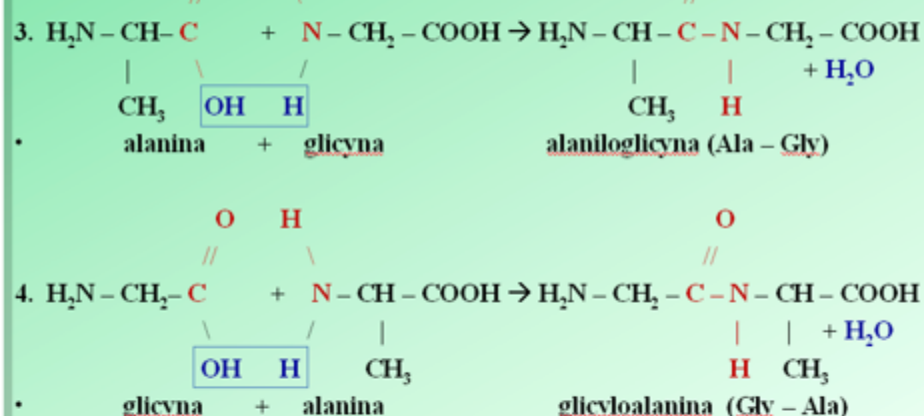
•Jednostką powtarzalna w strukturze bialek sa aminokwasy.

•Dipeptyd – produkt kondensacji dwóch aminokwasów, jeżeli mieszaninie reakcyjnej znajdują się dwa różne aminokwasy, to w reakcji kondensacji mogą powstać 4 różne dipeptydy.

Przyklady – dipeptydów

- Mieszanina reakcyjna zawiera: alanine (Ala), glicyne (Gly) : dipeptydy, które powstac: 1)Ala – Ala; 2) Gly – Gly; 3) Gly – Ala; 4) Ala-Ggly:

Przyklady – dipeptydów cd



Wiązania niekonwalencyjne występujące w układach biologicznych:
- elektrostatyczne
- wodorowe
- Van der Waalsa

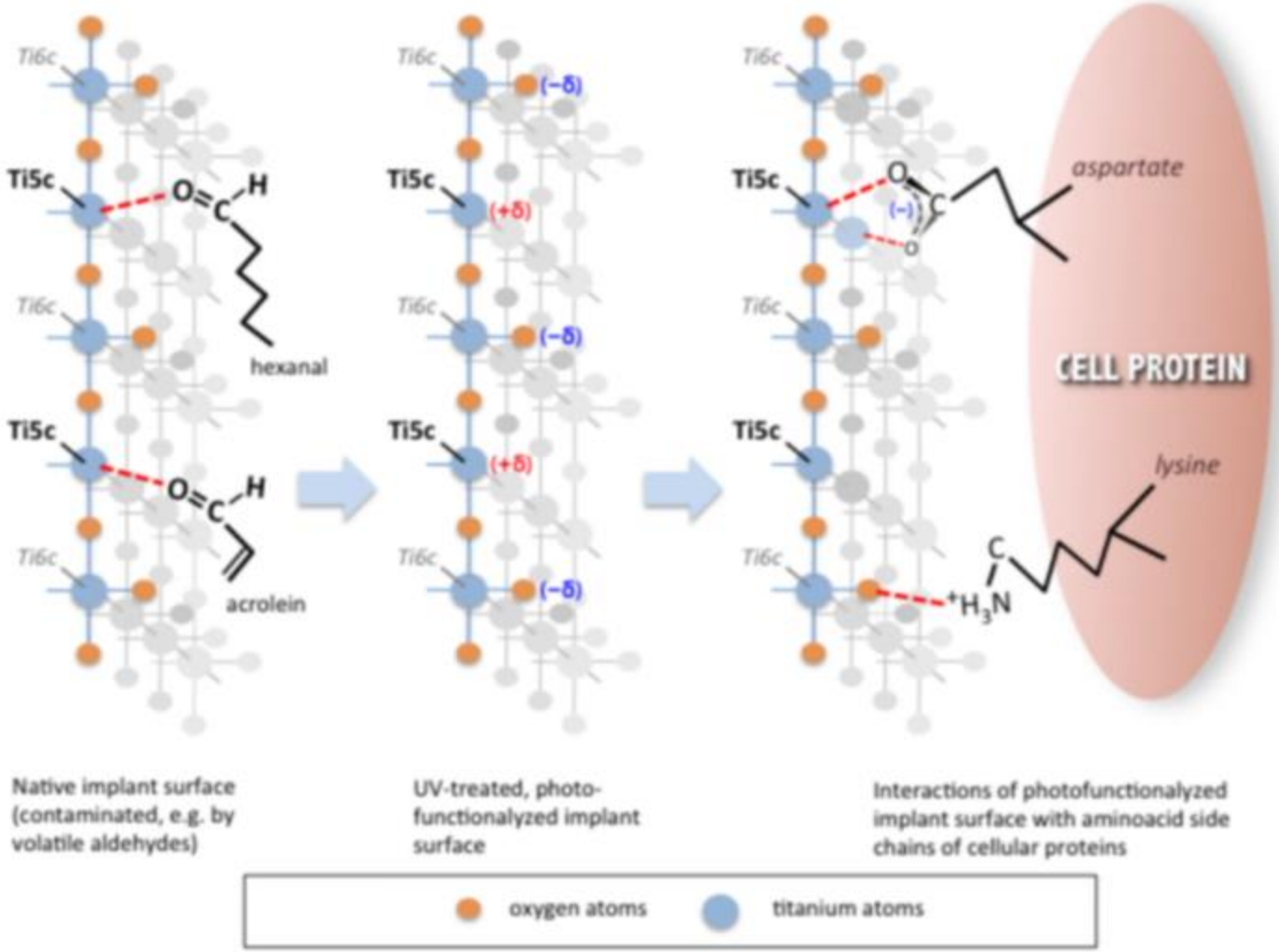
Siła wiązań:
elektrostatyczne > wodorowe > Van der Waalsa

Oddziaływania decydujące o strukturze białek:
kowalencyjne > elektrostatyczne > wodorowe > Van der Waalsa

W białkach występuje około 20 różnych aminokwasów:

Dla białka zbudowanego z 400 aminokwasów
$20^{400} \sim 10^{540}$ kombinacji

Model fotofunkcjonalizacji



$TiO_2 + h\nu \rightarrow e^-_{CB} + h^+_{vb}$

$e^-_{CB} + Ti^{4+} \rightarrow Ti^{3+}$

$h^+_{vb} + O^{2-} \rightarrow O^-$

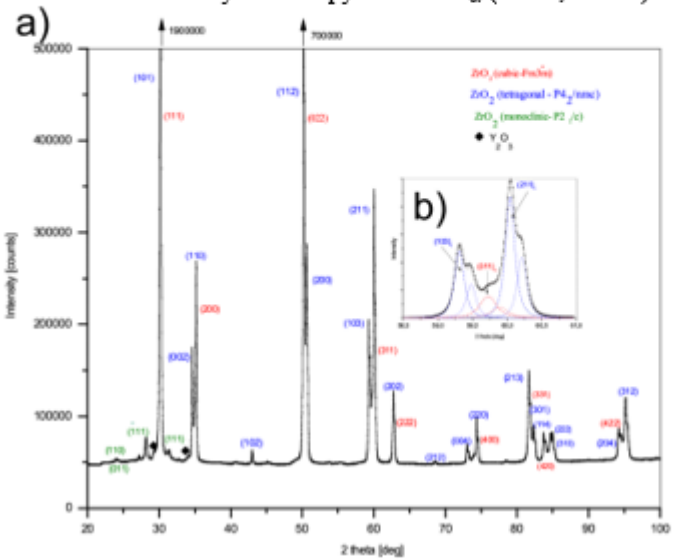
$4h^+_{vb} + 2O^{2-} \rightarrow O_2\uparrow$

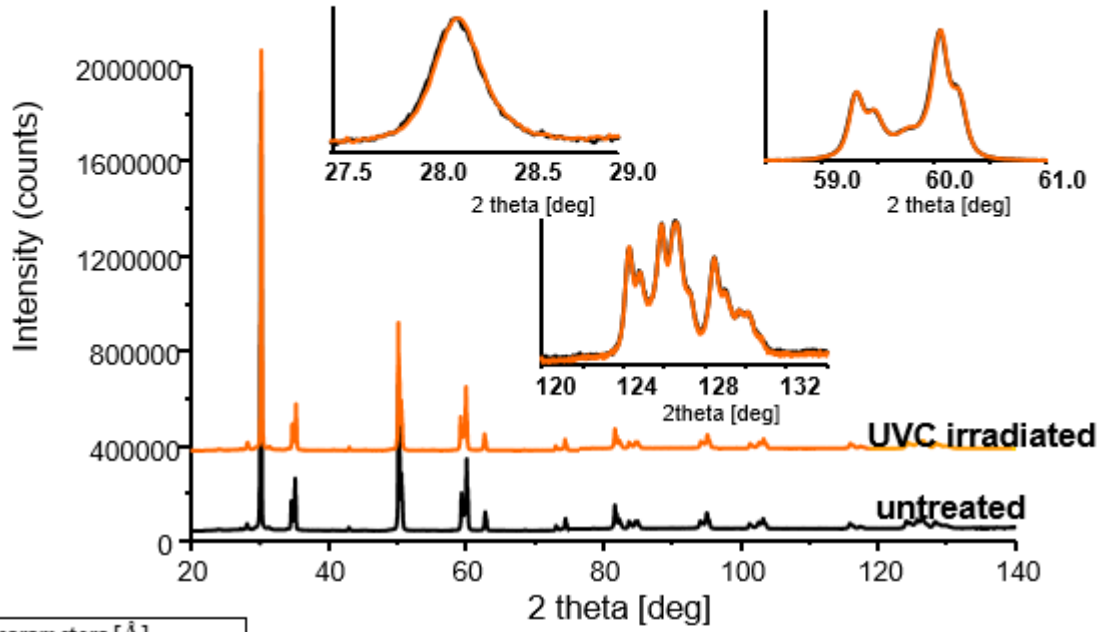
Lokalny ładunek dodatni

PlosOne 11 (2016) e0157481,

Fotofunkcjonalizacja powierzchni dysków ZrO_2 - badania XRD

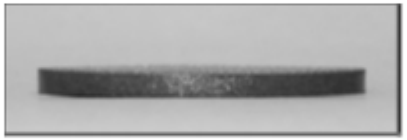
PANalytical Empyrean Cu K_α (40kV, 30mA)





Phase of ZrO_2	Lattice parameters [Å]
Cubic Fm-3m (No 225)	a=5.136(±0.006)
Tetragonal $P2_4/nmc$ (No 137)	a=3.606(±0.004) c=5.182(±0.001) c/a = 1,44
Monoclinic $P2_1/c$ (No 14)	a=5.149(±0.014) b=5.203(±0.009) c=5.318(±0.015) β=99.17°(±2.1)

Brak zmian w strukturze linii dyfrakcyjnych próbki naświetlanej promieniowaniem UVC

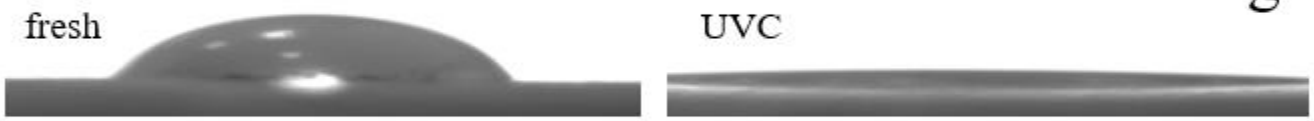


Komercyjnie dostępne bloki cyrkonianu Lava™Plus, 3M ESPE
powierzchnia polerowana, spiekana w piecu Lava™ Furnace 3M ESPE

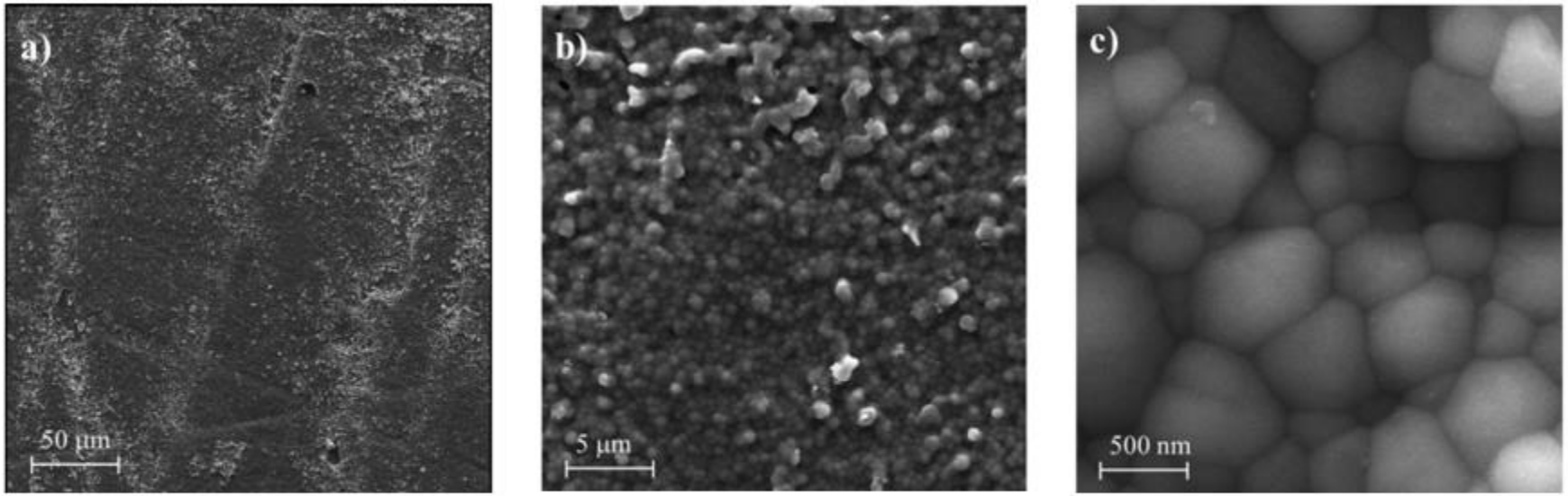
Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 156 (2017) 194-202

Fotofunkcjonalizacja powierzchni dysków ZrO_2 - struktura powierzchni i badania zwilżalności

CAM101 goniometr

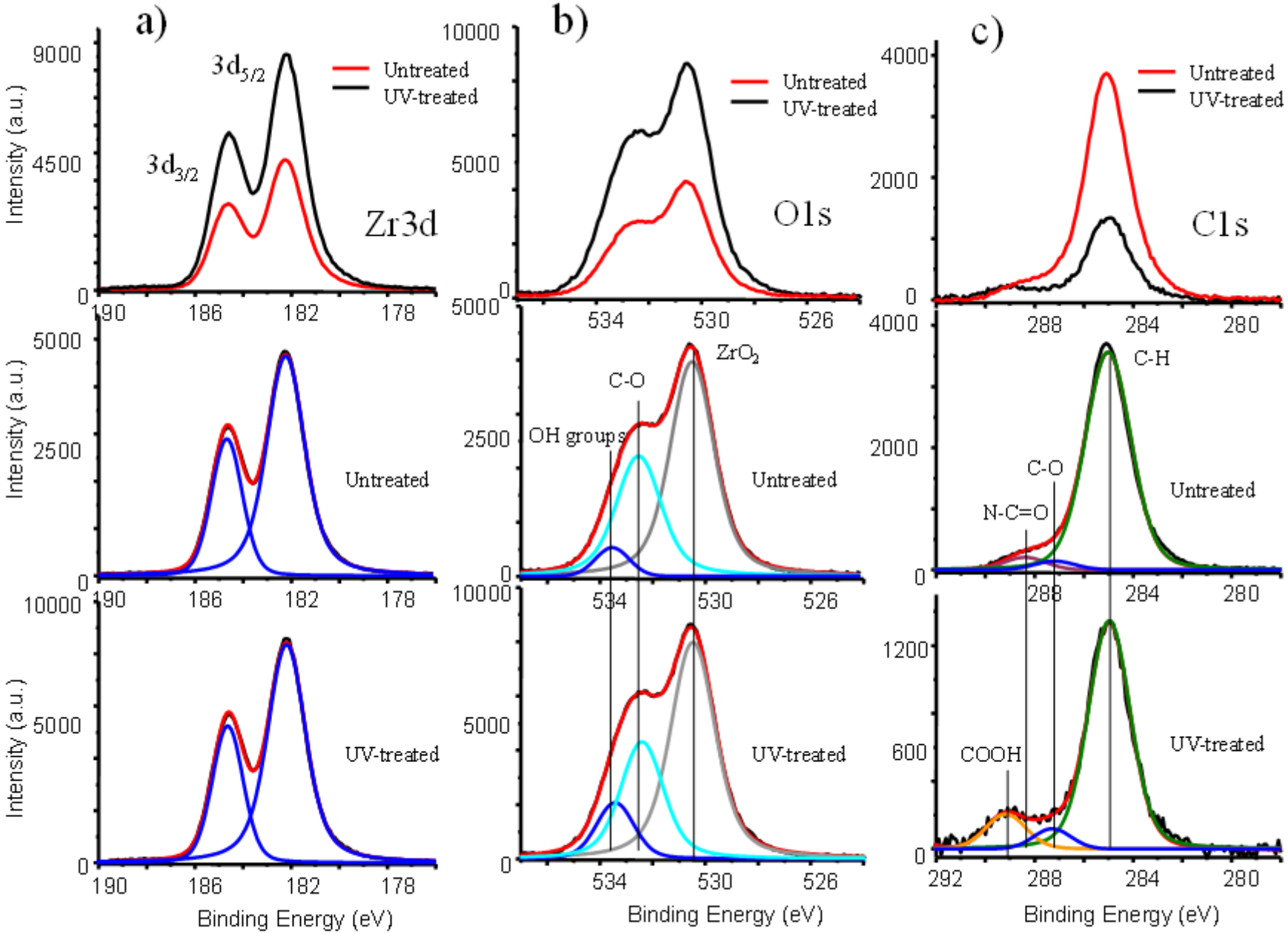


Struktura powierzchni - SEM (Mira Tescan)



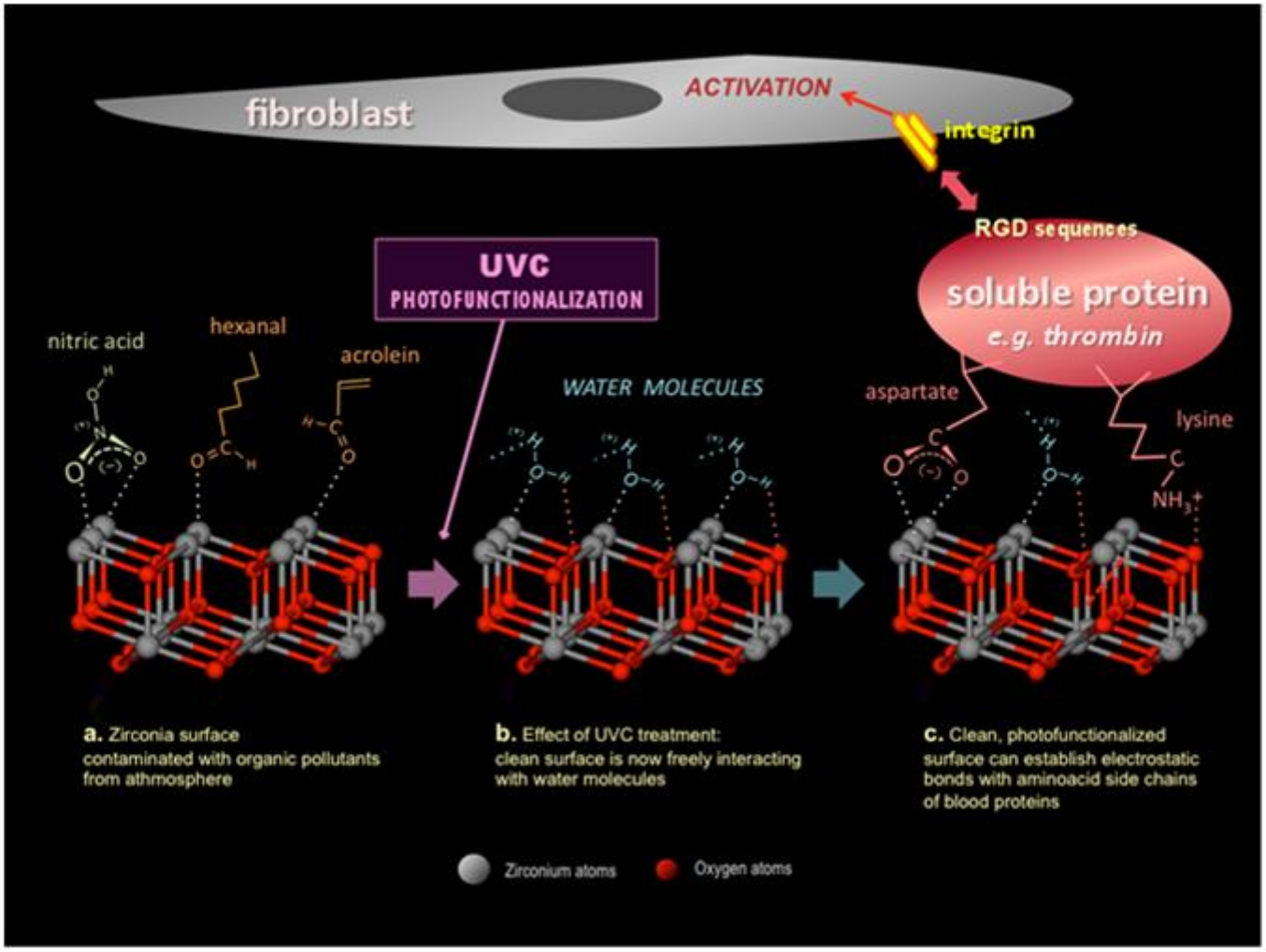
RMS 143nm

Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 156 (2017) 194-202



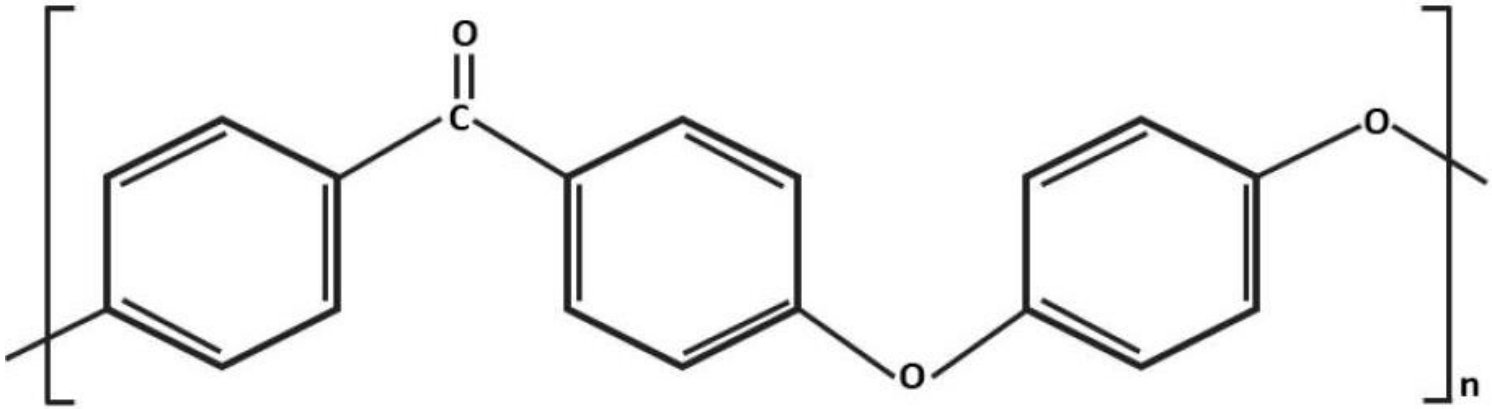
Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 156 (2017) 194-202

Model fotofunkcjonalizacji powierzchni ZrO_2

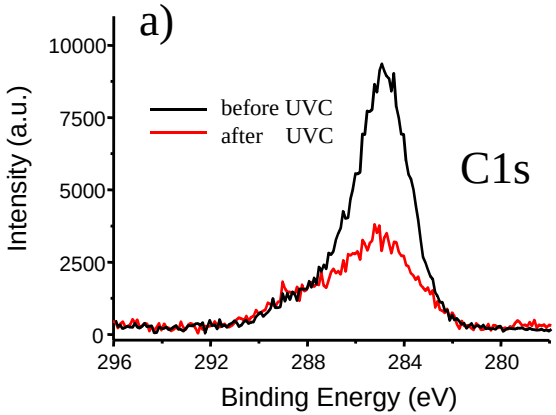


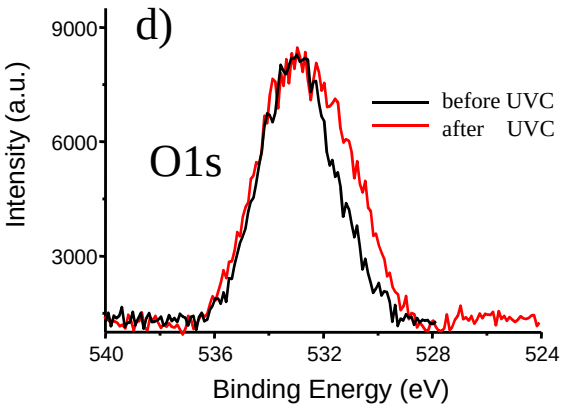
M. Roy, J. Kubacki at al.
Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 156 (2017) 194-202

Fotofunkcjonalizacja powierzchni materiału polimerowego PEEK



Struktura chemiczna polimeru PEEK



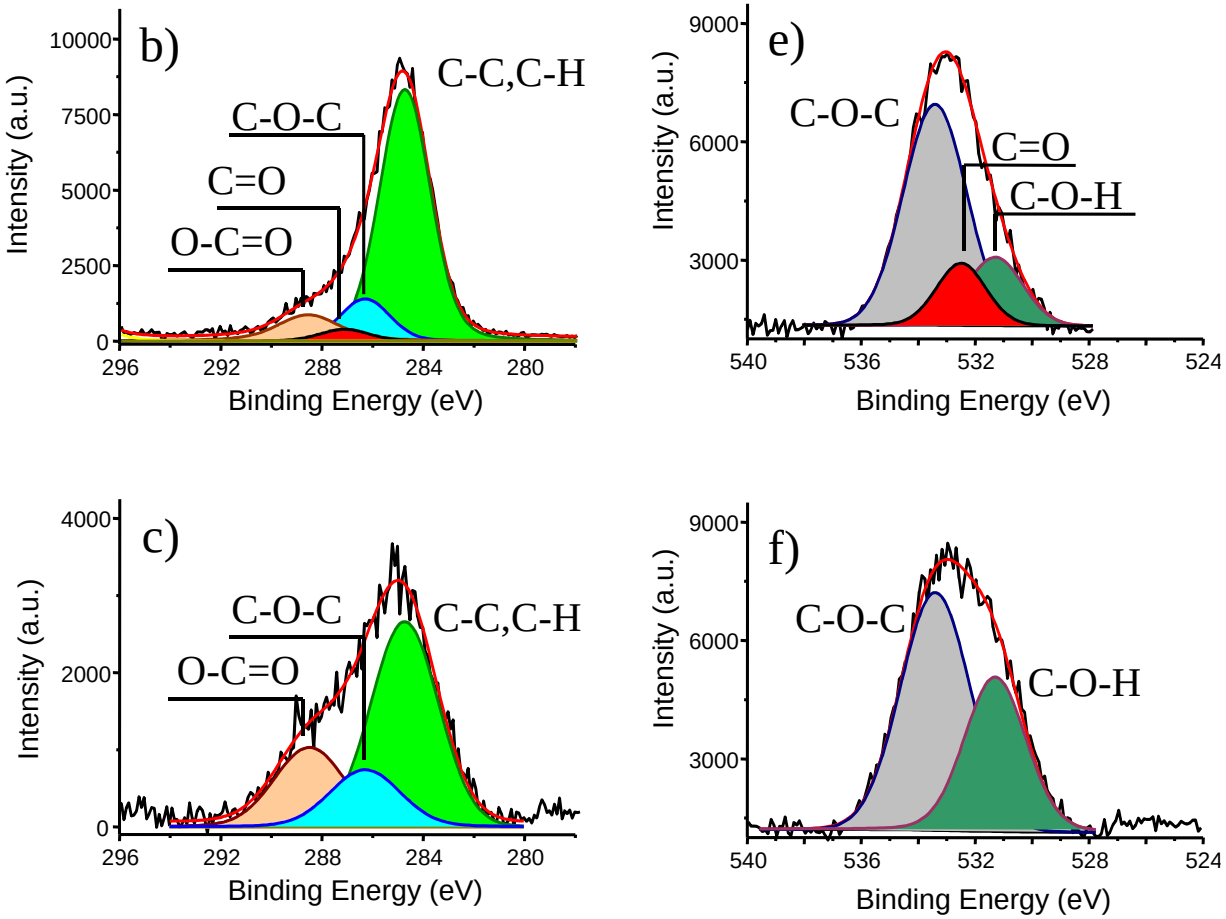


Untreated

UVC irradiated

Materials Science and Engineering C, 121 (2021) 111823

Fotofunkcjonalizacja powierzchni materiału polimerowego PEEK



Materials Science and Engineering C, 121 (2021) 111823

Fotofunkcjonalizacja powierzchni materiału polimerowego PEEK

Table 1. Atomic concentration % calculations obtained from the XPS spectra for the surfaces of PEEK as received and after UVC irradiation.

	carbon	oxygen	nitrogen	calcium
Untreated discs	76.1	23.0	0.8	0.1
UVC irradiated	57.8	40.3	1.3	0.6

Table 2. Summarized results of deconvolution of C1s core level and percentage of carbon in the individual bonds.

Atomic concentration of carbon %				
	C-C, C-H	C-O-C (RING)	C=O	H-O-C=O
Binding Energy	284.8 eV	286.3 eV	287.1 eV	288.5 eV
Untreated disc	56.5	9.1	2.6	7.9
UVC irradiated	33.5	9.6		14.7

Materials Science and Engineering C, 121 (2021) 111823

Fotofunkcjonalizacja - porównanie otrzymanych wyników dla powierzchni materiałów TiO_2, ZrO2 oraz PEEK

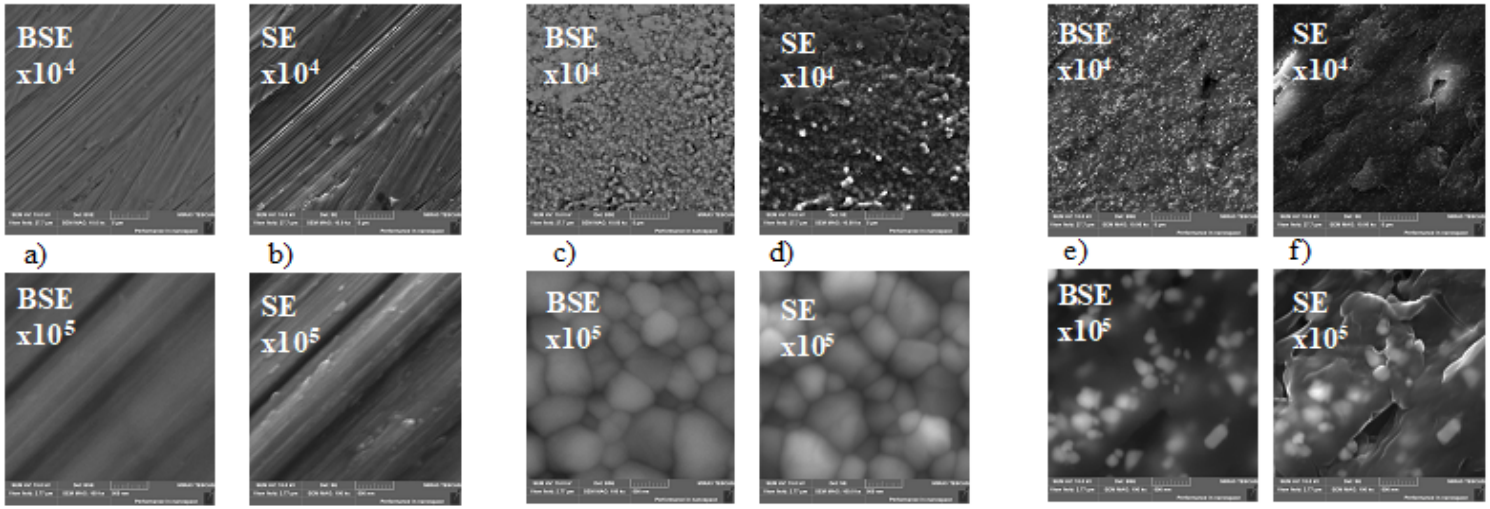
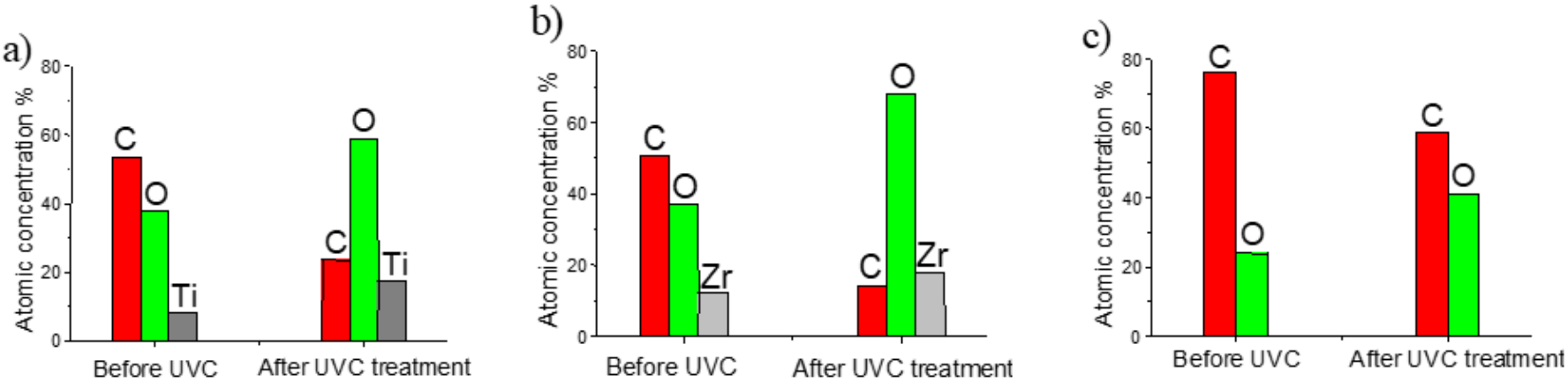
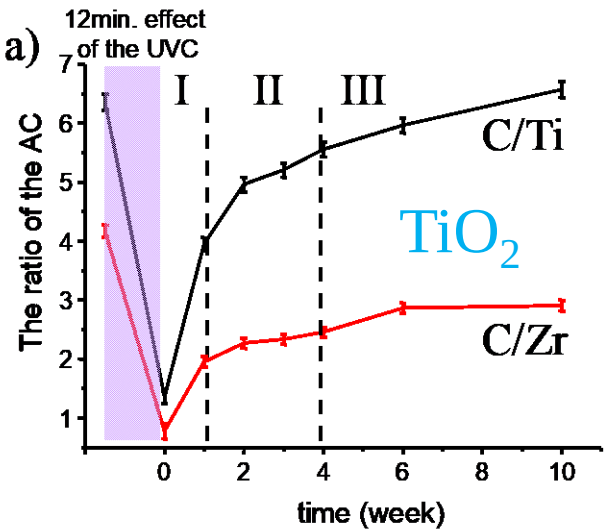


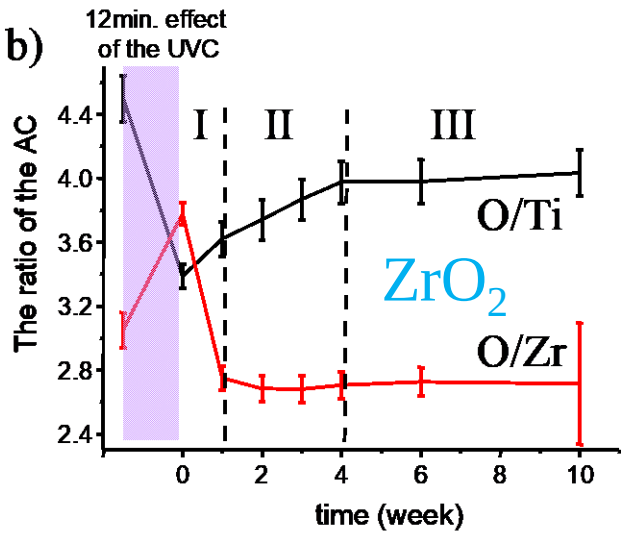
Figure 1. The collection of the BSE and SE images with magnification 10^4 and 10^5 obtained for: TiO_2 disc (a, b), ZrO_2 disc (c, d) and PEEK (e, f).

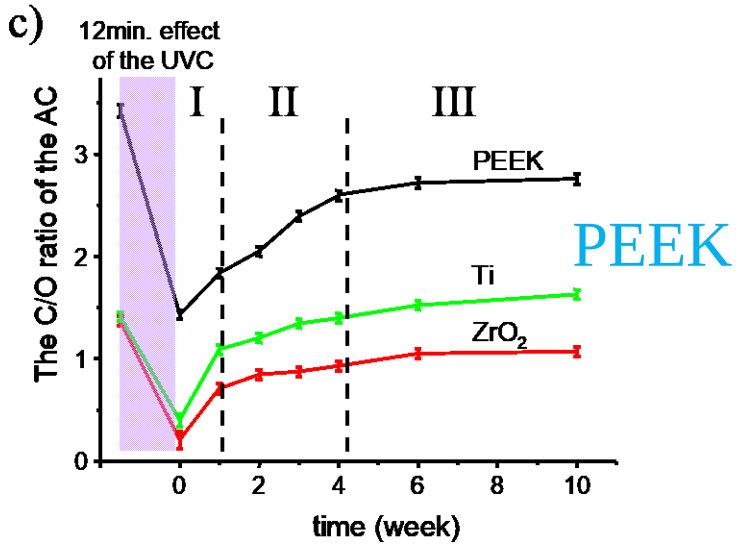


Materials Science and Engineering C, 121 (2021) 111823

Starzenie biologiczne - wpływ atmosfery na stan powierzchni (adsorpcja węglowodorów



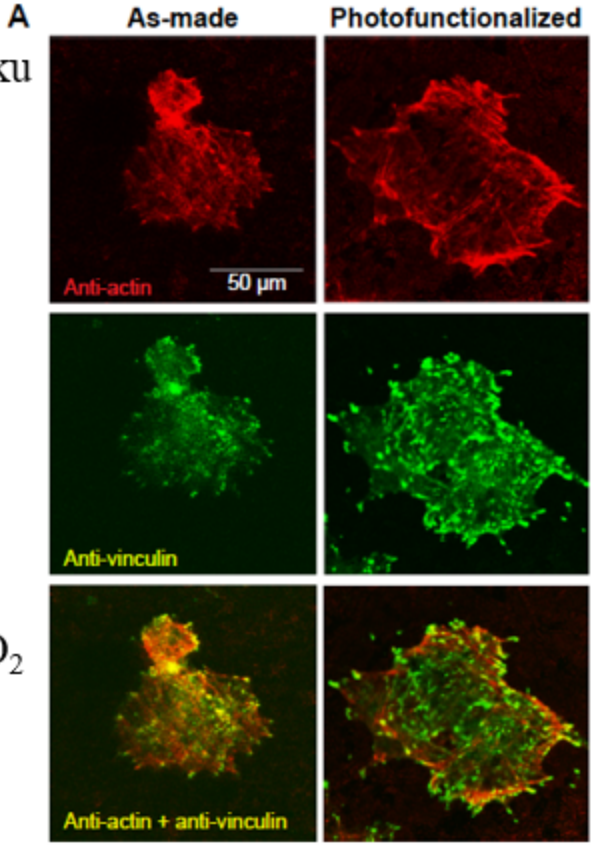




Materials Science and Engineering C, 121 (2021) 111823

Podsumowanie

1. naświetlanie promieniowaniem UVC powierzchni implantów TiO_2, ZrO_2 oraz PEEK za pomocą komercyjnej aparatury Ushio, jest użyteczną metodą oczyszczania badanych powierzchni z węglowodorów. Jednak utrata węglowodorów jest różna w przypadku użytych materiałów.
2. Zwiększone ubytki związków węgla były obserwowane dla powierzchni ZrO_2, która charakteryzuje się iększą chropowatością powierzchni niż powierzchnia stopu tytanu Ti.
3. W przypadku PEEK zaobserwowano dwa efekty procesu fotofunkcjonalizacji:
   - dwukrotny spadek wiązań C-H
   - dwukrotnym wzrost wiązań H-O-C = O.
4. We wszystkich przypadkach nie zaobserwowano zmian w morfologii powierzchni.
5. Większy wzrost ilości tlenu dla powierzchni TiO_2 w porównaniu z ZrO_2 występujący w trakcie biologicznego starzenia po naświetlaniu UVC, jest związany ze zwiększoną walencyjnością tytanu.
6. Stwierdzono logarytmiczny charakter zanieczyszczenia cząsteczkami węgla powierzchni badanych materiałów.
7. Uzyskane wyniki wykazały, że badane materiały są nietoksyczne dla komórek fibroblastów skóry, co umożliwia ich potencjalne zastosowanie jako filary implantów dentystycznych.



International Journal of Nanomedicine 2016:11 223–234

Dziękuję Państwu
za uwagę