

## **BIOMATERIJALI**

---



INSTITUT TEHNIČKIH NAUKA  
SRPSKE AKADEMIJE NAUKA I UMETNOSTI  
DRUŠTVO ZA ISTRAŽIVANJE MATERIJALA

# BIOMATERIJALI

Urednici  
Dejan Raković  
Dragan Uskoković

Beograd, 2010

*Grupa autora*  
**BIOMATERIJALI**

*Urednici*  
PROF. DR DEJAN RAKOVIĆ  
PROF. DR DRAGAN USKOKOVIĆ

prvo izdanje

*Izdavači*

INSTITUT TEHNIČKIH NAUKA SRPSKE AKADEMIJE NAUKA I UMETNOSTI  
Knez Mihailova 35/IV, Beograd  
<http://www.itn.sanu.ac.rs>

DRUŠTVO ZA ISTRAŽIVANJE MATERIJALA  
<http://www.mrs-serbia.org.rs>

*Za izdavače*  
PROF. DR DRAGAN USKOKOVIĆ

*Recenzenti*  
PROF. DR ĐURO KORUGA  
PROF. DR MIODRAG ZLATANOVIĆ

*Tehnički urednik*  
ŽELJKO HRČEK

Izdavač se zahvaljuje Zavodu za izdavanje udžbenika i nastavnih sredstava  
za finansijsku pomoć prilikom štampanja ove knjige

Copyright © 2010 INSTITUT TEHNIČKIH NAUKA SRPSKE AKADEMIJE NAUKA I UMETNOSTI

CIP - Каталогизација у публикацији  
Народна библиотека Србије, Београд

66.017/.018(075.8)  
615.46(075.8)

BIOMATERIJALI / [Igor Balač ... et al.]; urednici Dejan Raković, Dragan Uskoković. -  
Beograd: Institut tehničkih nauka Srpske akademije nauka i umetnosti:  
Društvo za istraživanje materijala, 2010 (Beograd: Draslar partner). -  
868 str.: ilustr.; 28 cm

Podaci o autorima preuzeti sa korica. - Tiraž 500. - Ispitna teorijska pitanja: str. 865-868.  
- Ispitna test pitanja: str. 841-864. - Bibliografija uz svako poglavlje.

**ISBN 978-86-80321-23-3**

1. Балаћ, Игор, 1971 - [автор]  
а) Биомедицински материјали б) Наука о материјалима  
COBISS.SR-ID 173688332

---

# SADRŽAJ

<b>PREDGOVOR .....</b>	<b>11</b>
<b>1. UVOD .....</b>	<b>13</b>
1.1 Biomaterijali .....	14
1.2 Problemi nauke o biomaterijalima .....	18
1.3 Pitanja za rekapitulaciju.....	22
1.4 Literatura .....	23
<hr/>	
<b>I</b>	
<b>OSNOVNI BIOMEDICINSKI KONCEPTI I REAKCIJE</b>	
<b>ORGANIZMA NA BIOMATERIJALE</b>	
<b>2. ĆELIJE I TKIVA.....</b>	<b>27</b>
2.1 Ćelije.....	28
2.2 Tkiva.....	52
2.3 Pitanja za rekapitulaciju.....	64
2.4 Literatura .....	64
<b>3. INTERAKCIJE ĆELIJA I TKIVA SA BIOMATERIJALIMA .....</b>	<b>67</b>
3.1 Interakcije ćelija sa biomaterijalima.....	69
3.2 Interakcije tkiva sa biomaterijalima .....	78
3.3 Pitanja za rekapitulaciju.....	92
3.4 Literatura .....	93
<b>4. PROCESI ZAPALJENJA I ZARASTANJA.....</b>	<b>97</b>
4.1 Procesi zapaljenja.....	99
4.2 Procesi zarastanja .....	111
4.3 Pitanja za rekapitulaciju.....	121
4.4 Literatura .....	121
<b>5. IMUNOLOŠKE REAKCIJE NA BIOMATERIJALE.....</b>	<b>123</b>
5.1 Urođeni (prirodni) i stečeni (adaptivni) imunitet .....	125
5.2 Primarni i sekundarni imunski odgovor .....	140

5.3 Kontrola imunskog odgovora.....	141
5.4 Poremećaji imunskog odgovora.....	143
5.5 Pitanja za rekapitulaciju.....	163
5.6 Literatura .....	163
<b>6. KOAGULACIJA KRVI .....</b>	<b>167</b>
6.1 Mehanizmi koagulacije krvi.....	169
6.2 Kontrolni mehanizmi koagulacije krvi.....	179
6.3 Pitanja za rekapitulaciju.....	185
6.4 Literatura .....	185
<b>7. SISTEMSKA TOKSIČNOST I HIPERSENZITIVNOST, TUMOROGENEZA, INFEKCIJE .....</b>	<b>188</b>
7.1 Sistemska toksičnost i hipersenzitivnost.....	188
7.2 Tumorogeneza.....	197
7.3 Infekcije .....	206
7.4 Pitanja za rekapitulaciju.....	215
7.5 Literatura .....	216
<b>8. BIOLOŠKA KARAKTERIZACIJA BIOMATERIJALA .....</b>	<b>221</b>
8.1 In vitro procena kompatibilnosti tkiva .....	222
8.2 In vivo određivanje kompatibilnosti tkiva .....	229
8.3 Testiranje interakcija materijala u krvi .....	240
8.4 Životinjski modeli .....	252
8.5 Pitanja za rekapitulaciju .....	254
8.6 Literatura .....	255
<b>9. DEGRADACIJA BIOMATERIJALA U BIOLOŠKOM OKRUŽENJU .....</b>	<b>261</b>
9.1 Hemijska i biohemijska degradacija polimera.....	262
9.2 Razgrađujući uticaj biološke sredine na metale i keramiku .....	277
9.3 Mehaničko raspadanje u biološkoj sredini .....	287
9.4 Patološka kalcifikacija biomaterijala .....	293
9.5 Pitanja za rekapitulaciju.....	305
9.6 Literatura .....	305

---

**II**  
**STRUKTURA, FIZIČKO-MEHANIČKA KARAKTERIZACIJA I**  
**MODELIRANJE BIOMATERIJALA I TKIVA**

<b>10. ELEKTRONSKA I PROSTORNA STRUKTURA BIOMATERIJALA.....</b>	<b>311</b>
10.1 Hemijske veze i svojstva biomaterijala .....	311
10.2 Nadmolekularne kristalne strukture i nesavršenosti.....	314
10.3 Nadmolekularne nekristalne strukture .....	318
10.4 Hibridizacija atomskih orbitala i strukturne forme ugljenika .....	321
10.5 Molekularne i nadmolekularne strukture biopolimera .....	323
10.6 Pitanja za rekapitulaciju .....	333
10.7 Literatura .....	333

---

<b>11. FIZIČKA KARAKTERIZACIJA BIOMATERIJALA .....</b>	<b>335</b>
11.1 Metode karakterizacije molekulske težine biomaterijala .....	335
11.2 Difrakcione metode karakterizacije biomaterijala.....	336
11.3 Mikroskopske metode karakterizacije biomaterijala .....	338
11.4 Spektroskopske metode karakterizacije biomaterijala.....	341
11.5 Pitanja za rekapitulaciju .....	350
11.6 Literatura .....	351
<b>12. MEHANIČKA KARAKTERIZACIJA BIOMATERIJALA .....</b>	<b>352</b>
12.1 Mehanička ispitivanja sa razaranjem.....	352
12.2 Mehanička ispitivanja bez razaranja .....	364
12.3 Uporedne mehaničke karakteristike biomaterijala.....	368
12.4 Pitanja za rekapitulaciju .....	369
12.5 Literatura .....	370
<b>13. MODELIRANJE BIOMATERIJALA I TKIVA.....</b>	<b>371</b>
13.1 Osnove mehanike neprekidnih sredina .....	371
13.2 Jednačine mehanike kontinuuma .....	371
13.3 Princip virtualnog rada i konstitutivne relacije.....	377
13.4 Jednačine konačnih elemenata .....	381
13.5 Bioimplantati kod kostiju.....	384
13.6 Modeliranje bioloških membrana .....	387
13.7 Modeliranje mišića.....	397
13.8 Pitanja za rekapitulaciju .....	400
13.9 Literatura .....	401
<b>14. MODELIRANJE KRVOTOKA, DISAJNIH ORGANA I HRSKAVICE.....</b>	<b>403</b>
14.1 Osnovne jednačine laminarnog strujanja fluida .....	403
14.2 Jednačine konačnih elemenata .....	406
14.3 Solid–fluid interakcija.....	409
14.4 Strujanje krvi kroz arterije .....	413
14.5 Modeliranje stenta, interakcija sa krvotokom arterija .....	417
14.6 Modeliranje strujanja vazduha u respiratornom sistemu.....	424
14.7 Modeliranje hrskavice .....	427
14.8 Pitanja za rekapitulaciju .....	433
14.9 Literatura .....	434
<b>15. MODELIRANJE MIKROMEHANIKE KOD ČESTIČNO KOMPOZITNIH BIOMATERIJALA .....</b>	<b>438</b>
15.1 Mikromehanika čestičnih kompozita.....	438
15.2 Poluempirijske, numeričke i analitičke metode proračuna.....	440
15.3 Numerički model kompozita .....	443
15.4 Poređenja numeričkih i eksperimentalnih rezultata .....	459
15.5 Pitanja za rekapitulaciju .....	461
15.6 Literatura .....	462

<b>16. NANOMEHANIČKA KARAKTERIZACIJA BIOMATERIJALA.....</b>	<b>464</b>
16.1 Osnove metode nanoindentacije.....	465
16.2 Eksperimentalni rezultati nanoindentacije.....	468
16.3 Numerička simulacija metode nanoindentacije.....	469
16.4 Pitanja za rekapitulaciju .....	479
16.5 Literatura .....	479
<hr/>	
<b>III SAVREMENI BIOMATERIJALI I TEHNOLOGIJE</b>	
<b>17. METALNI BIOMATERIJALI .....</b>	<b>483</b>
17.1 Inženjering mehaničkih karakteristika metala.....	483
17.2 Glavni predstavnici metalnih biomaterijala.....	500
17.3 Korozija metalnih implantata .....	507
17.4 Tehnologija metalnih implantata.....	510
17.5 Pitanja za rekapitulaciju .....	511
17.6 Literatura .....	512
<b>18. KERAMIČKI BIOMATERIJALI .....</b>	<b>513</b>
18.1 Keramički inženjering.....	514
18.2 Struktura kosti i zuba.....	520
18.3 Glavni predstavnici keramičkih biomaterijala .....	528
18.4 Kalcijum-fosfatni cementi .....	546
18.5 Bioaktivne prevlake .....	552
18.6 Skafoldi.....	557
18.7 Pitanja za rekapitulaciju .....	558
18.8 Literatura .....	559
<b>19. POLIMERNI MOLEKULI I BIOMATERIJALI.....</b>	<b>567</b>
19.1 Polimerni inženjering .....	568
19.2 Osnovni pojmovi .....	573
19.3 Sinteza polimera .....	579
19.4 Struktura i svojstva polimernih molekula .....	582
19.5 Struktura i svojstva polimernih materijala .....	588
19.6 Dobijanje i dizajniranje polimernih materijala i proizvoda .....	599
19.7 Primena polimera za biomaterijale .....	600
19.8 Pitanja za rekapitulaciju .....	601
19.9 Literatura .....	601
<b>20. KOMPOZITNI BIOMATERIJALI .....</b>	<b>604</b>
20.1 Glavni predstavnici kompozitnih biomaterijala.....	605
20.2 Injektabilni kompozitni biomaterijali za rekonstrukciju koštanog tkiva .....	620
20.3 Modaliteti povećanja efikasnosti kompozitnih biomaterijala .....	625
20.4 Pitanja za rekapitulaciju .....	626
20.5 Literatura .....	627

---

<b>21. BIODEGRADABILNI POLIMERI .....</b>	<b>630</b>
21.1 Biodegradabilni polimeri zasnovani na laktidu (glikolidu) .....	631
21.2 Fizička svojstva.....	638
21.3 Pakovanje bioresorbibilnih polimera i sterilizacija.....	639
21.4 Degradacija bioresorbibilnih polimera .....	642
21.5 Primena bioresorbibilnih polimera u nanobiotehnologiji.....	643
21.6 Pitanja za rekapitulaciju.....	653
21.7 Literatura .....	654
<b>22. BIODERIVATIVNI POLIMERI I HIDROGELOVI.....</b>	<b>656</b>
22.1 Biderivativni materijali na bazi kolagena.....	657
22.2 Biderivativni materijali na bazi alginata.....	660
22.3 Inženjering biderivativnih materijala .....	663
22.4 Sastav i struktura sintetskih hidrogelova.....	666
22.5 Termodynamički i reološki osnovi primene biomaterijala u formi hidrogelova .....	669
22.6 Proizvodnja biderivativnih materijala .....	675
22.7 Dizajniranje i proizvodnja implantata iz biderivativnih materijala .....	677
22.8 Pitanja za rekapitulaciju .....	679
22.9 Literatura .....	679
<b>23. MEKOTKIVNI IMPLANTATI .....</b>	<b>683</b>
23.1 Mekotkivni implantati interagujući sa krvlju .....	684
23.2 Mekotkivni implantati neinteragujući sa krvlju .....	690
23.3 Pitanja za rekapitulaciju .....	695
23.4 Literatura .....	696
<b>24. ČVRSTOTKIVNI IMPLANTATI.....</b>	<b>697</b>
24.1 Rekonstrukcija kostiju i zglobni implantati .....	697
24.2 Stomatološki implantati: odnos svojstava materijala i biofunkcionalnih svojstava .....	717
24.3 Pitanja za rekapitulaciju .....	723
24.4 Literatura .....	723

---

**IV**  
**PERSPEKTIVE BIOMATERIJALA I TEHNOLOGIJA**

<b>25. TEHNOLOGIJA IMOBILIZACIJE ĆELIJA: PRAKTIČNI ASPEKTI .....</b>	<b>727</b>
25.1 Metode imobilizacije ćelija .....	727
25.2 Modeliranje procesa u česticama sa imobilisanim ćelijama .....	731
25.3 Ekstruzione tehnike.....	734
25.4 Pitanja za rekapitulaciju .....	737
25.5 Literatura .....	738
<b>26. BIOINŽENJERSTVO TKIVA: STANJE I PERSPEKTIVE.....</b>	<b>740</b>
26.1 Osnovni pojmovi .....	740
26.2 Ćelijska kultura .....	742

26.3 In vitro kultivacija tkiva .....	744
26.4 Integracija tkrivnih ekvivalenta u živi organizam.....	754
26.5 Pitanja za rekapitulaciju .....	755
26.6 Literatura .....	756
<b>27. NANOMEDICINA: STANJE I PERSPEKTIVE .....</b>	<b>762</b>
27.1 Nanočestice u medicinskoj dijagnostici .....	762
27.2 Nanočestice kao nosioci lekova .....	763
27.3 Mehanizmi uklanjanja nanočestica iz organizma i mogućnost ciljane isporuke lekova.....	764
27.4 Usmeravanje nanočestica.....	766
27.5 Toksičnost nanočestica .....	769
27.6 Budućnost nanomedicine .....	770
27.7 Dodatak I: Primeri upotrebe nanočestica .....	770
27.8 Dodatak II: Definicije nekih nanočestica sa primenom nanovlakana....	771
27.9 Pitanja za rekapitulaciju .....	774
27.10 Literatura.....	775
<b>28. KVANTNA MEDICINA: STANJE I PERSPEKTIVE .....</b>	<b>778</b>
28.1 Makroskopski kvantni efekti u biofizici i kvantno-holističke psihosomatske implikacije .....	778
28.2 Dodatak: Bioinformacione osnove kvantne medicine i kvantno-holografske informatike .....	782
28.3 Pitanja za rekapitulaciju .....	795
28.4 Literatura .....	796
<b>ZADACI SA REŠENJIMA .....</b>	<b>803</b>
<b>ISPITNA TEST PITANJA .....</b>	<b>841</b>
<b>ISPITNA TEORIJSKA PITANJA .....</b>	<b>865</b>
10 .....	

---

## PREDGOVOR

Početak XXI veka nesumnjivo je obeležen interdisciplinarnim i multidisciplinarnim naporima istraživača u različitim oblastima nauke. Jedna od najizrazitijih tendencija ovog tipa uočava se u biomedicinskim istraživanjima, gde se združuju napor lekara, biologa, genetičara i biohemičara, s jedne strane, i biofizičara i inženjera, s druge strane – sa ciljem dubljeg razumevanja zdravlja i bolesti, i primene ovih saznanja u biomedicinskoj praksi, tako važnoj u svakodnevnom životu ljudi.

Kao rezultat ovih svetskih trendova, u Srbiji već više godina na nekoliko fakulteta postoji nastava iz oblasti biomedicinskog inženjerstva, sa ciljem da osposobi inženjere ovih usmerenja za multidisciplinarno povezivanje znanja iz oblasti tehnike sa biomedicinskim znanjima. Jedan od bazičnih predmeta ovih usmerenja jesu *Biomaterijali*, kojima je i posvećen naš udžbenik, čiji je cilj da predstavi pregled teorije i prakse biomaterijala u biomedicinskoj nauci.

Nauka o biomaterijalima je nesumnjivo najmultidisciplinarnija od svih nauka, jer zahteva ovladavanje znanjima iz mnogih oblasti nauke i tehnologije, inženjerstva i medicine, kako bi naučnici iz oblasti biomaterijala mogli da se uhvate u koštac sa ovom profesijom. Zato posle uvodnog dela, udžbenik iz *Biomaterijala* sadrži četiri celine: (I) *Osnovni biomedicinski koncepti i reakcije organizma na biomaterijale*, (II) *Struktura, fizičko-mehanička karakterizacija i modeliranje biomaterijala i tkiva*, (III) *Savremeni biomaterijali i tehnologije*, (IV) *Perspektive biomaterijala i tehnologija*, iza kojih slede *Zadaci sa rešenjima*, *Ispitna test pitanja* i *Ispitna teorijska pitanja*, koji pomažu studentima da lakše savladaju veoma obimno i kompleksno gradivo. Na kraju svakog poglavlja data su pitanja za rekapitulaciju, kao i spisak dopunske literature za opcionu detaljniju obradu pojedinih oblasti.

Grupa od dvadesetičetiri profesionalca sa univerziteta i naučnih instituta, pod okriljem Društva za istraživanje materijala Srbije i Instituta tehničkih nauka Srpske akademije nauka i umetnosti, Beograd, doprinela je pisanju ovog kapitalnog udžbenika iz *Biomaterijala*, prvog do sada na srpskom jeziku. Mada uključivanje veće grupe autora nužno dovodi do stilske neujednačenosti, ipak je oblast biomaterijala toliko multidisciplinarna da je ovakav pristup bio neophodan, kako uostalom pokazuju slična svetska iskustva sa uključivanjem i preko pedeset autora. Ipak

urednici su se potrudili da koliko je to moguće stilski i pedagoški ujednače udžbenik, kako bi bio korisna literatura za sve studente diplomskih, master i doktorskih studija iz biomedicinskog inženjerstva u Srbiji i okruženju. Knjiga je nastala i kao deo naše aktivnosti u okviru mreže izvrsnosti Evropske unije INCOMAT, "Creating international cooperation teams of excellence in the emerging biomaterial surface research" (broj NMP3-CT-2007-032918).

*Urednici*

# 1

---

## UVOD<sup>1</sup>

Oblast *biomaterijala* (biomedicinskih materijala) suviše je mlađa za neku istoriju u formalnom smislu, iako vredi pomenuti da su drevni Rimljani, Kinezi i Azteci koristili zlato u zubarstvu pre više od 2000 godina, a da su kroz zabeleženu istoriju i drveni zubi i staklene oči bili u vrlo čestoj upotrebi. Na početku 20. veka, plastika i drugi veštački materijali postali su daleko dostupniji, pa je njihova laka proizvodnja doveo do mnogih eksperimenata implantacije, mada je većina njih, u svetu savremenog shvatanja toksikologije upotrebljenih materijala, bila osuđena na neuspeh [1].

Pojedini lekari i vizionari implantirali su razne biomaterijale za rešavanje narastajućih i često opasnih po život medicinskih problema. Polimetil-metakrilat (PMMA) uveden je u stomatologiji 1937, a tokom Drugog svetskog rata shvaćeno je i da artiljerijskom vatrom razbijene ljuspice PMMA u očima pilota izazivaju samo blagu reakciju na strano telo. Voorhees je odmah posle rata eksperimentisao sa padobranskim platnom Vinzon N za vaskularnu protetiku, a kardiohirurg Rob je 1958. dao sugestiju da bi hirurzi mogli posetiti svoje obližnje trgovine tekstila u cilju nabavljanja materijala za vaskularne proteze. Čarnli je ranih 1960-tih koristio PMMA, ultra-visoko-molekularni polietilen i nerđajući čelik za totalnu zamenu kuka. Ipak u to vreme termin „biomaterijali“ još uvek nije postojao.

Teško je odrediti tačno poreklo termina *biomaterijali*, mada se on učvrstio tokom ranih simpozijuma o biomaterijalima na *Klemson univerzitetu* kasnih 1960-tih i ranih 1970-tih, čiji naučni uspesi su doveli 1975. do formiranja *Društva za biomaterijale* [1]. Razvoj oblasti biomaterijala i Društva za biomaterijale blisko su povezani, stimulišući organizovana istraživanja specijalista iz oblasti medicine, biologije i tehnologije materijala, uz primenu biomaterijala sa specifičnim zahtevima. Danas postoje mnoga univerzitetska odeljenja i nastavni programi posvećeni biomaterijalima, kao i centri za istraživanje i inženjeringu biomaterijala. Paralelno sa istraživanjima i edukacijom, razvilo se na hiljade kompanija za implementaciju biomaterijala u biomedicinske naprave, lekove i pribor.

---

<sup>1</sup>Ovo poglavље napisali su Dragan Uskoković i Dejan Raković.

## 1.1 BIOMATERIJALI

Biomaterijali obuhvataju široku klasu materijala za primenu u medicini i stomatologiji (v. Tabl. 1.1) [2, 3]: *metalne biomaterijale, keramičke i staklaste biomaterijale, ekonomične i skuplje nedegradabilne sintetičke polimere, kompozitne biomaterijale, biodegradabilne polimere, bioderativne polimere i tkiva, kao i pasivne i bioaktivne prevlake.*

Mnogobrojni biomaterijali i medicinski pribor danas se uobičajeno koriste kao protetska sredstva u dentalnoj, ortopedskoj, kardiovaskularnoj, oftalmološkoj, i rekonstruktivnoj hirurgiji. Uspešno se upotrebljavaju i u intervencijama, kao što su angioplastika (stentovi) i hemodializa (membrane), za hirurške konce ili bio-adhezive, ali i kao naprave za kontrolisano oslobođanje lekova. Većina implantata dobro služi njihovim nosiocima za određeni period u svrhu za koju su i namenjeni. Međutim, neki implantati i vantelesne naprave neizostavno stvaraju komplikacije, bilo kao posledica zapaljenja, infekcije, interakcije u vidu neželjenih (alergijskih ili toksičnih) reakcija, ili usled zatajivanja rada naprava, što može prouzrokovati razne štetne posledice (tromboza ili tromboembolija), pa, čak, i smrt nosioca (masivni infarkt). Komplikacije su najčešće rezultat interakcija biomaterijal-tkivo, koje se javljaju na mestu ugradnje svakog materijala, mada mogu imati i sistemski ili opšti karakter. Efekti implantata na tkivo domaćina i živog tkiva na implantat podjednako su važni i za izbegavanje mogućih komplikacija i za sprečavanje lošeg rada ili otkazivanja naprava.

Za primenu biomaterijala važni su *biokompatibilnost* sa tkivom, *mehanički kontinuitet* sa okolnim koštanim tkivom, *netoksičnost* biomaterijala ili njihovih proizvoda pri degradaciji, i *što niža cena!*

Pored toga, za *specifične primene* postavljaju se i neki *dodatni zahtevi*: *bioaktivnost* (za ubrzavanje rasta prelomljene kosti, regeneraciju pokidanog nerva, sprečavanje upalnih procesa, ...), *biodegradacija* (hirurškog konca, naprava za fiksiranje u rekonstruktivnoj hirurgiji, „kostura“ za ćelije koje regenerišu oštećene ili obolele organe, kapsula za kontrolisano postupno oslobođanje lekova u telu, ...), *otpornost na infekcije* (posebno na mestima prodora naprave kroz kožu: kateteri, dovodi za napajanje veštačkog srca krvlju, ... – što se sprečava inkorporiranjem antimikrobnih hemikalija i antibiotika u takvim biomedicinskim napravama), *trombootpornost* (za naprave u kontaktu sa krvlju: veštačke arterije, srčani zalistci, ... – što se postiže kontrolom površine naprava, bioaktivnim slojevima, ...), *propustljivost* i *difuzibilnost* (membrana vantelesnih naprava i veštačkih organa, ...).

U Tabl. 1.1 dat je pregled predstavnika biomaterijala i njihovih primena.

*Metalni biomaterijali* su klasični biomaterijali od kojih najbolja svojstva imaju titan i njegove legure, zbog odlične *otpornosti na koroziju, biokompatibilnosti i manje krutosti* (koja omogućava najbolji prenos mehaničkih naprezanja njihovih implantata na kosti), dok  $TiO_2$  na površini ima *bioaktivna svojstva* i indukuje rast nove kosti. Odlična mehanička i biokompatibilna svojstva imaju i CoCr-legure, dok se nerđajući ćelici danas napuštaju zbog nedovoljne otpornosti na koroziju, i efekata hipersenzitivnosti organizma na nikl izdvojen iz čelika.

*TABELA 1.1 Pregled biomaterijala i njihovih primena*

Materijal	Primena
<b>Metalni biomaterijali</b>	
CoCr-legure	Matrice srčanih zalistaka i osovine zglobnih implantata
Nitinolske legure (sa memorisanjem oblika)	Ortopedska žica
Nerđajući čelik	Ortopedska žica
Ti i Ti-legure	Ortopedska žica i zubni implantati
<b>Keramički i staklasti biomaterijali</b>	
Al-, Ca- i P-oksidi	Degradabilni punioci kosti, stimulatori koštanog rasta
Biostaklo	Bioaktivno P-Ca staklo, ortopedске prevlake
Staklaste keramike	Inkapsulacija implantabilne medicinske elektronike
Kompaktna alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ )	Kuglica veštačkog kuka
Hidroksiapatiti	Bioaktivna keramika, ortopedска prevlaka, punioci kosti
Staklasti ugljenik	Vlakna za ortopedске kompozite
Pirolički ugljenik (izotropni niskotemperaturni)	Srčani zalistci, zubni implantati
Ugljenik (izotropni ultraniskotemperaturni)	Prevlake temperaturno osetljivih polimera
<b>Ekonomični nedegradabilni sintetički polimeri</b>	
Poliamidi (najlon)	Hirurški konci
Polikarbonati	Materijali kućišta
Poliestri	Krvni sudovi (bajpasi)
Poliformaldehid	Matrice srčanih zalistaka
Poliolefini	Hirurški konci, mreža za herniju
Polivinil hlorid (PVC)	Cevčice, kese za krv
<b>Skuplji nedegradabilni sintetički polimeri</b>	
Fluorougljenici (teflon)	Krvni sudovi (bajpasi)
Polimetilmetakrilat (Pmma)	Kontaktna sočiva
Hidrogeli	Kontaktna sočiva, prevlake katetera
Poliolefinski elastomeri	Cevčice, veštački srčani mehurovi
Poliuretani	Kateteri, veštački srčani mehurovi
Silikoni	Rekonstruktivna hirurgija, cevčice
<b>Kompozitni biomaterijali</b>	
Hidroksiapatit-polimer	Koštani implantati
Ugljenični kompoziti	Ortopedski i zubni implantati
Injektibilni kompoziti	Rekonstrukcija tvrdog i mekog tkiva
Nano-kompoziti	Minimalna iritacija imunog sistema

## BIOMATERIJALI

Materijal	Primena
<b>Biodegradabilni polimeri</b>	
Umreženi albumin	Prevlake krvnih sudova, inkapsulacija ćelija
Umreženi kolagen/želatin	Rekonstruktivna hirurgija, prevlake krvnih sudova
Poliaminokiseline	Kontrolisano izlučivanje, ćelijski adhezivni peptidi
Polianhidridi	Kontrolisano izlučivanje
Polikaprolaktoni	Kontrolisano izlučivanje, koštane ploče
Kopolimeri poliaktičko/glikoličkih kiselina	Hirurški konci, koštane ploče
Polihidroksibutirati	Kontrolisano izlučivanje, koštane ploče
Poliortoestri	Kontrolisano izlučivanje, koštane ploče
<b>Biderivativni polimeri</b>	
Hitozani	Oblaganje rana, kontrolisano lučenje
Kolagen	Mekotkivni implantati, prevlake, oblaganje rana
Elastin	Prevlake
Umreženi želatin	Prevlake veštačkih srčanih mehurova
<b>Biderivativna tkiva</b>	
Goveda vratna arterija	Krvni sudovi (bajpasi)
Govedi ligamenti	Ligamenti
Govedi perikard	Supstitucija perikarda, srčani zalistci
Ljudska pupčana vrpca	Krvni sudovi (bajpasi)
Svinjski srčani zalistci	Srčani zalistci
<b>Pasivne prevlake</b>	
Albumin	Trombootpornost
Alkilni lanci	Adsorberi albumina za trombootpornost
Fluorougljenici (teflon)	Smanjenje lekova za katetere, trombootpornost
Hidrogelovi	Smanjenje lekova za katetere, trombootpornost
Silikoni (bez SiO <sub>2</sub> )	Trombootpornost, poboljšano zaceljivanje rana u rekonstruktivnoj hirurgiji
<b>Bioaktivne prevlake</b>	
Antikoagulanti (heparin, hirudin)	Trombootpornost
Antimikrobanti	Otpornost na infekcije
Bioaktivne keramike i stakla	Koštana adhezivnost i rast; mekotkivna adhezivnost
Ćelijski adhezivni peptidi	Pojačana ćelijska adhezivnost, epitel, endotel
Ćelijski adhezivni proteini	Pojačana ćelijska adhezivnost, epitel, endotel
Negativno površinsko nanelektrisanje	Trombootpornost
Trombolitici	Trombootpornost

*Keramički i staklasti biomaterijali imaju bioaktivna svojstva, indukujući rast nove kosti, pa se često primenjuju kao prevlake na titanu ili Ti-legurama, jer su same keramike relativno krte i neotporne na mehaničke udare! Ipak, tamo gde nema značajnih dinamičkih opterećenja primenjuju se i za koštane implantate, posebno gde se zahteva velika tvrdoća i otpornost na habanje (zglobovi veštačkog kuka). Posebno treba istaći ugljenične materijale zbog izrazito visoke biokompatibilnosti, inertnosti i stabilnosti.*

*Ekonomični nedegradabilni sintetički polimeri odlikuju se strukturnom stabilnošću, relativnom biokompatibilnošću i niskom cenom.*

*Skuplji nedegradabilni sintetički polimeri imaju poboljšane karakteristike, koje omogućavaju smanjenje lekova, komplikacija i postoperativnog perioda – čime se kompenzira njihova visoka cena. Njihova osobina je i visoka otpornost na mehanički zamor i kidanje.*

*Kompozitni biomaterijali predstavljaju najinteresantnije biomaterijale za reparaciju koštanog tkiva, od kojih su hidroksiapatit/polimer kompoziti najbliži prirodnom koštanom tkivu, a ako je pri tome polimerna (polilaktidna) matrica bioresorbilna ona ustupa mesto novoformiranom koštanom tkivu, što čini ove kompozite ‘živim’ jer se tokom reparacije razvijaju i menjaju. Značajna klasa su i ugljenični kompoziti, sa izvanrednom kombinacijom mehaničkih svojstava (žilavost i tvrdoća) za stomatološke i ortopedske implantate. Vrlo interesantni su i injektabilni kompoziti za rekonstrukciju tvrdog i mekog tkiva, kao i nano-kompoziti zbog minimalne iritacije imunog sistema.*

*Biodegradabilni polimeri imaju sposobnost postepene degradacije u telu, sa netoksičnim produktima koji se lako izlučuju iz tela.*

*Biderivativni polimeri imaju visoku reproduktivnost i biokompatibilnost.*

*Biderivativna tkiva prethodno se procesiraju zbog smanjenja problema odbacivanja stranog tkiva. Primenuju se zbog visoke biokompatibilnosti, koja međutim vremenom degradira pa dolazi do njihove kalcifikacije; vreme trajanja implantata ovih materijala je zato ograničeno do deset godina.*

*Pasivne prevlake poboljšavaju trombootpornost, ubrzavaju zarastanje rana u rekonstruktivnoj hirurgiji mekih tkiva i smanjuju bolničke primene lekova kroz katetere.*

*Bioaktivne prevlake koriste se zbog trombootpornosti, otpornosti na infekcije, adhezije i rasta kostiju, adhezije mekog tkiva, povećane adhezije ćelija, epitela i endotela – kao rezultat modifikacije površine.*

Ekspanzivnim razvojem *nanomedicine*, primena biomaterijala u *doglednoj budućnosti* može se očekivati u hibridnim napravama/organima, kao i kultivaciji organa i tkiva u regenerativne svrhe! *Hibridne naprave i organi* će naći primenu zbog kratkog vremena trajanja totalno sintetičkih organa; ovde bi kostur bio od sintetičkih materijala, a okolno tkivo od kultivisanih ćelija za specifične funkcije. *Kultivacija organa* je ekstenzija hibridnih organa, sa ciljem potpunog dupliciranja i regeneracije organa kontrolom procesa morfogeneze tkiva.

U nastavku biće data *četiri primera* široke primene biomaterijala za implantaciju (srčani zalistci, veštački kuk, dentalni implantati, očna sočiva), sa naglaskom na *ključne probleme* u ovim napravama od biomaterijala.

*Srčani zalistci.* Degeneracija i druge bolesti srčanih (mitralnih) zalistaka često nameću potrebu za operacijom i čak zamenom ako je neophodno. Proteze srčanog zalistaka napravljene su od ugljenika, metala, elastomera, tkanina i prirodnih (svinjskih) zalistaka i ostalih tkiva, hemijski tretiranih da ograniče imunološku reakciju i da povećaju trajnost. Više od 100.000 zamena zalistaka se obavi godišnje u SAD zbog stečenih oštećenja i urodenih srčanih anomalija [1]. Generalno gledano, skoro odmah pošto je ugrađen zalistak, kardioloska funkcija se obnavlja u skoro normalno stanje, a pacijent pokazuje brzo poboljšanje. Uprkos celokupnom uspehu u zameni srčanih zalistaka, postoje problemi sa različitim tipom zalistaka, koji uključuju degeneraciju tkiva, mehaničke nedostatke, postoperativne infekcije i povećanje krvnih zrnaca.

*Veštački kuk.* Ljudski kuk je izložen velikim mehaničkim pritiscima, zbog kojih podnosi značajna opterećenja. Nije iznenadujuće posle 50 godina neprestanog mehaničkog pritiska ili degerativne reumatološke bolesti, da se prirodni kuk pohaba, dovodeći do smanjenja pokretljivosti, a često i do invalidskih kolica. Veštački kukovi se prave od titana, specijalnih visokoizdržljivih legura, keramika, kompozita i ultra-visoko-molekularnog polietilenima. Veštački kukovi ugrađuju se u više od 250.000 ljudi godišnje u SAD [1]. Sa nekim tipovima zamene kukova i operativnih zahvata, nestala funkcija se vraća nakon operacije. Za ostale tipove, period oporavka je neophodan da bi kost i implantat prihvati jedno drugo pre nego što bi kuk mogao da podnese čitavu težinu tela. U mnogim slučajevima funkcija se dobro uspostavlja, čak su moguće i atletske aktivnosti, mada naravno nisu preporučene. Posle 10–15 godina, implantat može da oslabi, pa je neophodna druga operacija.

*Dentalni implantati.* Široko rasprostranjeno uvođenje titanovih implantata donelo je revoluciju u zubnoj protetici. Ove naprave, koje predstavljaju veštački koren zuba na koji su pričvršćuju zubne krunice, ugrađuju se u preko 1.000.000 ljudi godišnje u SAD [1]. Poseban zahtev koji se ovde postavlja je otpornost prema bakterijskim infekcijama na mestu gde implantat prelazi u gingivu tj. desni, a jedna od primarnih prednosti titanovih implantata jeste upravo dobar spoj sa vilicom. Trošenje, korozija i mehanička svojstva titana moraju se takođe imati u vidu.

*Očna sočiva.* Veštačka očna sočiva prave se od polimetil-metakrilata (PMMA), hidrogela, silikonske gume, ili drugog materijala koji se koristi da zameni prirodno sočivo kada postane mutno ili kataraktično. Pošto više od 50% stanovništva boluje od ozbiljnog oblika katarakte koji bi zahtevaо ugradnju ovih implantata, nije iznenadujuće da se preko 2.500.000 veštačkih očnih sočiva implantira godišnje u SAD, a dvostruko više u ostatku sveta [1]. Dobar vid se uglavnom odmah vraća posle umetanja sočiva, a operacije su najvećim delom uspešne. Uobičajeni put ozdravljenja sa ovim napravama je sličan onome uočenom kod materijala ugrađenih u druge delove tela.

## 1.2 PROBLEMI NAUKE O BIOMATERIJALIMA

Široki skup biomaterijala razlikuje se međusobno u hemijskom, fizičkom i mehaničkom pogledu. Pri tome, u primeni uključena su mnoga anatomska mesta u ljudskom telu. Mehanizmi preko kojih organizam reaguje sa stranim telima

i isceljuje rane posmatraju se zato u svakom specifičnom slučaju. Problemi, briga oko njih, ili neobjašnjiva zapažanja česta su pojava kod implantata. Iako kompanije proizvode svaku od implantiranih naprava prvenstveno zbog profita, nadzorne agencije brižljivo pregledavaju karakteristike naprava i prave polisu osiguranja sa namerom da se kontroliše industrija i zaštiti pacijent. Pri tome pojavljuju se i neka etička i društvena pitanja. U nastavku ovog poglavlja biće detaljnije razmotreni ovi problemi [1].

### ***Interdisciplinarnost***

Više nego ostala polja savremene tehnologije, nauka o biomaterijalima povezuje međusobno istraživače sa veoma različitim akademskim obrazovanjem, koji moraju prisno da sarađuju, počev od shvatanja potrebe za biomaterijalima ili napravama pa do proizvodnje, prodaje i njegove implementacije.

### ***Raznovrsnost***

Nauka o biomaterijalima je visoko multidisciplinarna. Ovo može poticati od značajnog upravljanja teorijom i praksom naučnika u oblasti biomaterijala, do uopštenog razumevanja svojstava biomaterijala od strane lekara-naučnika. Širok je opseg ustaljeno korišćenih biomaterijala (v. Tabl. 1.1) i nijednom istraživaču ne bi bilo jednostavno da sintetiše i da dizajnira sve te biomaterijale. Zato je specijalizacija profesionalaca u ovom polju nužnost, jer je široka paleta svojstava i primena biomaterijala.

Dalje, postoji težnja da se grupišu biomaterijali (i istraživači) u grupe: *biomaterijali za zamenu tvrdih tkiva*, npr. metali i keramike, koji tipično predstavljaju ortopedske i dentalne materijale, i *biomaterijali za zamenu mekih tkiva*, npr. polimeri, koji su često povezani sa kardiovaskularnom i generalno plastičnom hirurgijom. U praksi, ova podela se baš i ne drži čvrsto – srčani zalistci mogu se praviti od polimera, metala i ugljeničnih materijala, dok se veštački kuk sastavlja od metala i polimera koji bi bili međuveza u telu preko polimernog koštanog cementa.

### ***Razvoj naprava***

Tokom razvoja naprava od biomaterijala, prepliću se različite discipline, počev od identifikacije potreba za razvoj biomaterijala, proizvodnje, implantacije, pa do uklanjanja medicinske naprave iz pacijenta.

### ***Važnost oblasti***

Značaj oblasti se manifestuje *važnošću potrebe* i *važnošću komercijalne prodaje*. Izlišno je reći da se konflikt interesa može pojaviti pritiskom iz obe komercijalne oblasti, kao i iz domena etičkog razmatranja. Kontaktna sočiva se prodaju ispod \$70, a srčani zalistci i veštački kukovi iznad \$3000; u SAD se stavlja preko 30 miliona kontaktnih sočiva godišnje, dok se implantira oko 100.000 srčanih zalistaka i 250.000 totalnih proteza veštačkog kuka. Evo teme za razmatranje: veliki broj naprava, različitog značaja i različitog (ali opet velikog) komercijalnog potencijala. Ne postoji jednostavan odgovor kako su ove komponente integrisane u polje koje

nazivamo nauka o biomaterijalima: interdisciplinarnost, značaj upotrebe, i sofistiranost nauke o materijalima – zasigurno su značajni aspekti ovog pitanja.

### **Toksikologija**

Biomaterijali ne smeju biti toksični, ukoliko se ne prave namerno sa takvom namenom (npr. *pametna bomba*, vrsta leka koji traži kancer među ćelijama i uništava ga). Pošto se normalno upotrebljavaju netoksične naprave, toksikologija za biomaterijale razvila se u posebnu nauku. Bavi se supstancama koje migriraju iz biomaterijala. Na primer, za mnoge nisko-molekularne polimere, *kvašenje* sa ostatim tkivom predstavlja neki nivo fiziološke aktivnosti i ćelijske toksikologije. Razumljivo je da biomaterijali ne bi trebalo ništa od svoje mase da predaju okolnom tkivu ukoliko za to nisu specifično dizajnirani. Toksikologija se bavi metodama koje izračunavaju koliko će ovaj kriterijum biti ispunjen u primeni biomaterijala.

### **Biokompatibilnost**

Razumevanje i merenje biokompatibilnosti jedinstveno je u nauci o biomaterijalima. Nažalost, ne postoje precizne definicije niti uredna merenja biokompatibilnosti. Biokompatibilnost mora biti specifično definisana za svaku primenu posob.

### **Ozdravljenje**

Poseban proces se javlja kada se materijal ili naprava zaceljuje u telu. Povrede tkiva će izazvati dobro poznati zapaljeni proces koji vodi zaleđenju. Kada je npr. implantat umetnut, reakcija se javlja u vidu *reakcije stranog tela*. Normalni odziv tela će biti promenjen, jer je implantat čvrsto telo. Nadalje, ova reakcija će se razlikovati po intenzitetu i trajanju u zavisnosti koji je anatomska deo uključen. Razumevanje kako strana tela menjaju normalne zapaljeni procese veoma je važno za oblast biomaterijala.

### **Jedinstvenost anatomskega mesta**

Veoma je važno uzeti u obzir da nije svejedno kako reaguju različita anatomski mesta. Očna sočiva mogu otici u kapsulu sočiva. Veštački kuk će biti ugrađen u butnu kost. Srčani zalistak će sav biti u srčanom mišiću. Kateter može biti smešten u venu. Svako od ovih mesta zahteva od biomedicinskih naprava specijalnu geometriju, veličinu, mehaničke karakteristike i bioreakciju.

### **Zahtevi mehaničkih svojstava**

Svaki biomaterijal i naprava imaju specifičnosti, koje se mogu podeliti u tri kategorije: mehaničko ispoljavanje, mehanička izdržljivost i fizička svojstva. Što se tiče mehaničkog ispoljavanja: proteza kuka mora biti jaka i tvrda; materijal za tetivu mora biti jak i prilagodljiv; listić srčanog zalistka mora biti fleksibilan i žilav; membrana za dijalizu mora biti jaka i fleksibilna, ali ne i istegljiva; zamena za vezivnu hrskavicu mora biti mekana i istegljiva. Što se tiče mehaničke izdržljivosti:

kateter može da se upotrebljava do tri dana; listić srčanog zalistka mora se kretati oko 60 puta u minuti što mu ograničava upotrebljivost na oko 10 godina; proteza kuka mora izdržavati teret preko 10 godina. Što se tiče fizičkih svojstava: membra na za dijalizu ima određenu propustljivost; čašica kuka mora biti podmazana; očno sočivo ima prozračnost i određenu refrakciju. Da bi se što bolje upoznali ovi zah tevi, principi dizajna se pozajmljuju iz mehanike, hemijskog inženjerstva i nauke o materijalima.

### ***Učešće industrije***

Posle učinjenih značajnih napora od puta da se shvati kako funkcionišu biomaterijali pa do toga kako da postanu optimalni, kompanije danas proizvode milione implantata za ljudsku upotrebu i zarađuju milijarde dolara na prodaji medicinskih naprava. Iako se još uvek uči o osnovama biointerakcije, ipak se proizvode i implantiraju materijali i naprave. Kako se ova kontroverza objašnjava? U osnovi, uzimaju se rezultati iz iskustva, probe i greške, nadahnuti pretpostavkama i čistom srećom, pa danas postoji čitav skup biomaterijala koji olakšavaju stanje pacijenta. Iskusni lekar ih može koristiti rutinski i sa poverenjem, i tako primjenjeni na pacijentima najčešće postaju opšte prihvaćeni, jer komplikacije koje pričinjava implantat manje su nego komplikacije od osnovnog oboljenja. Pri tome, kompanije prave impresivne profite na ovim implantatima, iako u izvesnom pogledu pacijent prelazi iz jednog oboljenja u drugo. I tako, u oblasti biomaterijala uvek se gledaju dve strane novčića – fundamentalne nauke sa inženjeringom i komercionalni sektor.

Ravnoteža između želje da se produži život i smanji patnja, i da se zadovolji imperativ profita, nameće potrebu gledanja dalje prema polju kontrole. Očigledno, etička razmatranja se uklapaju u kompletну sliku. Zato kompanije imaju velika ulaganja u proizvodnju, kontrolu kvaliteta, kliničko testiranje, zakonsku regulativu i distribuciju medicinskih naprava. Poboljšane naprave mogu da funkcionišu bolje za pacijenta, a kompanije će podneti veliki trošak koji će, za kratko vreme, biti rupa u profitu u očima vlasnika akcija. Osim toga, mnoge kompanije podržavaju laboratorije za fundamentalna istraživanja i tako doprinose razvoju nauke o biomaterijalima!

### ***Etika***

Postoji veliki opseg etičkih razmatranja u nauci o biomaterijalima. Na neka navedena ključna etička pitanja teško je dati odgovor. Da li je eksperiment dobro dizajniran i toliko važan da su dobijeni podaci vredni patnje i žrtvovanja životinja kao modela? Kako će kliničko istraživanje koje koristi ljude minimizirati rizik za pacijenta i ponuditi povoljan odnos rizik-korist? Kako se mogu potrebe pacijenta najbolje izbalansirati sa finansijskim ciljevima kompanija koje imaju pravo svojine nad razvijanim biomaterijalima? Otkako istraživači često gledaju finansijsku korist od uspešnih naprava od biomaterijala pa ponekad dodeljuju napravama i svoja imena, koliko predubeđenje može biti minimizirano u istraživanjima? Za naprave koje će pacijent doživotno koristiti, šta je kompromis između produženog života i njegovog kvaliteta?

Sa toliko mnogo neodgovorenih pitanja oko osnova nauke o biomaterijalima, da li vladine agencije za regulativu imaju dovoljno informacija da definišu odgovarajuće testove za biomaterijale i naprave koje treba pustiti u proizvodnju?

### ***Regulativa***

Pacijent zahteva sigurne medicinske naprave. Da bi se srećile nedovoljno testirane naprave i materijali koji se namenjuju tržištu, i da bi se raščistilo sa ne-kvalifikovanom ili neovlašćenom prodajom biomaterijala, složeni nacionalni sistem regulative se učvrstio u SAD kroz Administraciju za hranu i lekove (FDA). Kroz Internacionalnu organizaciju za standarde (ISO), razvila se međunarodna uprava standarda u svetskoj zajednici. Očigledno, značajna fundamentalna znanja o biomaterijalima ugrađena su u ove standarde. Cena upoznavanja standarda i predočavanje usaglašenosti sa materijalima, biologijom i kliničkim ispitivanjima ogromna je. Uvođenje novih biomedicinskih naprava na tržište zahteva ulaganje mnoga miliona dolara. Da li su regulativa i standardi zaista akcentovali sigurnost korišćenja? Da li cena regulative naduvava cenu zdravstvene nege i dostavlja li ispitane naprave onima kojima je potrebna? Odgovori nisu jednostavni, a pored toga novi problemi se pojavljuju svakoga dana.

### ***Literatura***

Tokom proteklih 50 godina, polje biomaterijala se razvilo od individualnog nasumičnog medicinskog istraživanja, do definisane oblasti kakva je danas. Zajedno sa razvojem oblasti, razvijala se i literatura o njoj, od monografija do ključnih radova u časopisima iz biomaterijala.

### ***Zaključak***

Ovo uvodno poglavlje doprinosi širokom pogledu na oblast biomaterijala. Namera je da čitalac dobije pregled sa kojim bi otpočeo da čita naredna poglavlja sa izvesnim predznanjem. Nauka o biomaterijalima je najmultidisciplinarnija od svih nauka, pa zato naučnici iz oblasti biomaterijala moraju ovladati materijom iz mnogih polja nauke i tehnologije, inženjerstva i medicine, da bi mogli da se uhvate u koštac sa ovom profesijom. Nagrada za vladanje ovom materijom je učešće u intelektualnom stimulisanju napretka i razumevanju osnova ove nauke, kao i doprinos smanjenju ljudske patnje.

## **1.3 PITANJA ZA REKAPITULACIJU**

- 1.1 Kada započinje moderna primena biomaterijala?
- 1.2 Koje grupe materijala spadaju u savremenu kategorizaciju biomaterijala.
- 1.3 Razmotriti značajnije primene sintetičkih materijala i modifikovanih prirodnih materijala.

- 1.4 Razmotriti uporedni prikaz nekih primena sintetičkih materijala i modifikovanih prirodnih materijala u poslednjih desetak godina.
- 1.5 Obrazložiti zašto je nauka o biomaterijalima visoko multidisciplinarna oblast.
- 1.6 Razmotriti neka etička pitanja u vezi nauke o biomaterijalima.

## 1.4 LITERATURA

1. B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons, eds., *Biomaterials Science* (Elsevier, Amsterdam, 2004).
2. Biomedical Materials (Special Issue), *MRS Bulletin* 16 (9) (1991).
3. D. Raković, *Osnovi biofizike* (Grosknjiga, Beograd, 1994 / 1995; IASC&IEFPG, Beograd, 2008); D. Raković, *Fizičke osnove i karakteristike elektrotehničkih materijala* (Elektrotehnicki fakultet / Akademска misao, Beograd, 1995 / 1997; 2000); D. Raković, S. Krtić, Lj. Turković, *Savremeni materijali i tehnologije* (Grosknjiga, Beograd, 1997).





# ***OSNOVNI BIOMEDICINSKI KONCEPTI I REAKCIJE ORGANIZMA NA BIOMATERIJALE***

..... →

**D E O**





# 2

## ĆELIJE I TKIVA<sup>1</sup>

Ćelije su osnovne strukturne jedinice svih živih organizama. Udruživanjem pomoću međućelijskih kontaktnih spojeva one formiraju osnovna tkiva organizma. Povezivanjem osnovnih tkiva, koje spaja proteinski vanćelijski matriks vezivnog tkiva, nastaju organi, čije funkcionalno povezivanje daje sisteme organa, od kojih je izgrađen svaki organizam kičmenjaka, pa i sam ljudski organizam. Organi obavljaju osnovne funkcije neophodne za život svakog organizma, uključujući disanje, krvotok, ishranu, kretanje, odstranjivanje nepotrebnih materija i razmnožavanje.

Dejstvo faktora spoljašnje sredine u obliku raznih formi opterećenja, oštećenja ili stresa, ispoljava se od celularnih, tkivnih i sistemskih nivoa, pa do organizma u celini.

Stres je neizbežan i neophodan sastavni deo života svake jedinke od intrauterinog stadijuma (lat. *intra*, u, unutra + *uterus*, materica) sve do smrti. *Stres predstavlja stanje realne i/ili imaginarne pretnje narušavanju homeostaze organizma na svim nivoima njegove organizacije*. Do određene pojedinačne (ćelijske, tkivne, sistemске) granice, stres doprinosi boljem prilagođavanju organizma svakodnevnim zahtevima [*eustres* (grč. *eu*, dobar + eng. *stress*, napetost)], koje nameću svojim dejstvom faktori okruženja ili *stresori*. Nametanje sredinskih promena, negativnih ili pozitivnih, uslovljava pokretanje niza fizioloških procesa i promena u ćelijama, tkivima i organima, koje se razvijaju kao adaptivne za organizam.

Adaptacija (lat. *adaptatio*, prilagođavanje) je sposobnost ćelije, tkiva, organa, i organizma da putem urođenih i stečenih adaptivnih mehanizama adekvatno odgovori na dejstvo faktora spoljašnje (npr. povreda ili prisustvo stranog tela kao što je biomaterijal) i/ili unutrašnje (npr. manjak kiseonika) sredine i da pritom održi biološku stabilnost tokom *naglih promena* uslova životnog okruženja. Otuda zdravlje često predstavlja sinonim za adekvatnu, a bolest za neadekvatnu adaptaciju u okviru granica kolebanja fizioloških vrednosti adaptivnog kapaciteta ili reaktivne norme организма i/ili njegovih strukturnih jedinica. *Adaptivni kapacitet* označava sposobnost prilagođavanja u okviru raspoloživih mogućnosti na izmenjene faktore

---

<sup>1</sup>Ovo poglavlje napisao je Drago Đorđević.

okruženja, dok *reaktivna norma* predstavlja širinu prilagođavanja ili odgovora na dejstvo tih činilaca [1]. Reaktivnost kao skup svih reakcija određuje tip odgovora ćelija, tkiva, organa i organizma na delovanje spoljašnjih i unutrašnjih faktora sredine koji narušavaju dinamičku ravnotežu organizma – homeostazu.

Svaka jedinka i svaka njena organizaciona jedinica u borbi za opstanak moraju da se adaptiraju na stalne promene uslova okruženja tokom neprekidnog kretanja i menjanja faktora životne sredine. Stalnost i stabilnost promene, odnosno kretanja i menjanja, predstavlja proces homeokinez [2] ili alostaze [3] u cilju uspostavljanja homeostaze u datom momentu. Sa stanovišta homeokinez ili alostaze, adaptacija predstavlja proces neprekidnog biološkog, psihološkog i socijalnog prilagođavanja, u okviru granica kolebanja fizioloških vrednosti adaptivnog kapaciteta ljudskog organizma.

Održavanje homeostaze (homeokinez ili alostaze) odvija se na svim nivoima organizacije, počev od molekulskih i ćelijskih, pa do organizma u celini, uključujući i sve vidove života: somatske, psihičke i socijalne. Ako to nije moguće, dolazi do razvoja distresa (*distres*, grč. *dis*, smetnja, teškoća + eng. *stress*, napetost) i pojave maladaptacije (lat. *adaptatio*, prilagođavanje + *malus*, loš) na svim nivoima organizacije. Distres je neprijatan stres koji ugrožava zdravje ćelije, tkiva, organa ili organizma jedinke. To je opšti adaptivni odgovor na svim nivoima organizacije nastao usled neadekvatnog prilagođavanja na zahteve sredine. Distres je sinonim za maladaptaciju, pa i bolest, oštećenje ili poremećaj.

Maladaptacija je skup reakcija neadekvatne adaptacije koja podrazumeva nemogućnost prilagođavanja zahtevima okoline. Maladaptacija je nesposobnost homeostatskih regulacionih mehanizama da uspostave ravnotežu organizma ili njegovih organizacionih jedinica sa svojim životnim okruženjem pri čemu nastaje niz neadekvatnih reakcija.

## 2.1 ĆELIJE

**Ćelije** su osnovne morofunkcionalne jedinice svakog živog organizma. To su najprostije strukturne jedinice na koje svaki multicelularni organizam može da se podeli, a da, pritom, zadrži funkcije neophodne za život. Mada ćelije raznih tkiva i organa variraju u strukturi i funkciji, određene karakteristike su zajedničke za sve ćelije. Postoji minimum potreba zajedničkih za većinu ćelija koje održavaju ćelijski integritet i životne funkcije. Ćelije su upečatljivo slične u njihovoј sposobnosti za razmenu materija sa svojom neposrednom okolinom, korišćenju energije od organskih nutrienata, sintetisanju kompleksnih molekula, i sopstvenoj replikaciji ili umnožavanju [4].

Sve ljudske ćelije, njih oko 200 vrsta u jednom ljudskom telu [5,6], nastale su oplodnjom (fertilizacija) jedne jajne ćelije pomoću spermatozoida [7]. Ćelijskom deobom jedne oplođene jajne ćelije (zigota) ili *mitozom* (grč. *mitos*, konac), kroz njene sve sukcesivne faze (preprofaza, profaza, metafaza, rana i pozna anafaza, i telofaza), od zigota nastaju blastulacijom ćelije, *blastomere*, koje su sposobne da

stvore sve ćelije odraslog organizma [7]. Kroz taj proces nazvan *ćelijska diferencijacija* [7], ćelije sintetišu specifične proteine, menjaju svoj oblik i postaju sposobne za obavljanje genetskih kodiranih specifičnih funkcija [7].

Jedna ćelija može pokazivati različite karakteristike i ponašanje u raznim regionima tela pod raznim uslovima sredine [5]. Tako makrofagi i neutrofili [fago-citne (grč. *fagein*, jesti + *kitos*, ćelija) odbrambene ćelije] prelaze iz aerobnog (oksidativnog) metabolizma korišćenja glukoze (glikoliza) u anaerobne uslove u toku zapaljenskog procesa. Ćelije koje su struktorno slične mogu reagovati na različite načine, jer imaju različite familije receptora za signalne molekule, kao što su hormoni i molekuli vanćelijskog (ekstracelularnog) matriksa.

### **2.1.1 Fiziološka građa i funkcija ćelije**

Biološki postoje tri velike filogenetske klase ćelija: virusi, prokariotske ćelije, i eukariotske ćelije [8].

**Virusi** (lat. *virus*, otrov, živ nevidljiv uzročnik) nisu prave ćelije, jer imaju krajnje prostu strukturu sastavljenu samo od jezgra izgrađenog od molekula nukleinske kiseline, ili genoma od ribonukleinske kiseline (RNK) ili dezoksiribonukleinske kiseline (DNK), obavijenog proteinskim omotačem [9].

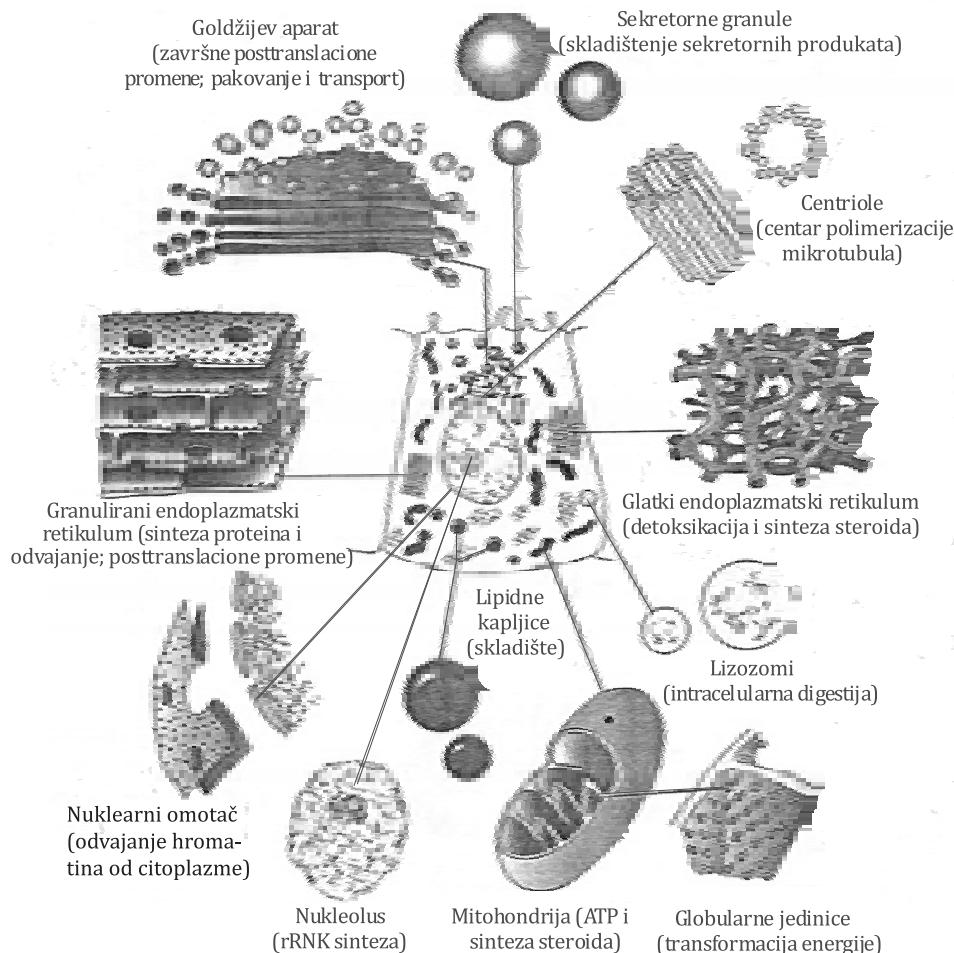
**Prokariotske ćelije** (grč. *pro*, pre + *karion*, jedro), poseduju bakterije, ne-maju spolja citoplazmatsku membranu (grč. *kitos*, ćelija + *plasma*, nešto stvoren, od *plaseo*, stvarati) koja okružuje sve ćelije, i nisu unutra podeljene na pojedine odeljke intracelularnim membranama. Nemaju jedrov omotač koji odvaja genetski materijal, DNK, od ostalih struktura, niti organele, uključujući histone (specifične bazne proteine) vezane za DNK [5,9].

**Eukariotske ćelije** (grč. *eu*, dobar + *karion*, jedro), imaju sve pomenute membranske strukture oko ćelija i unutar ćelija, kao i citoskelet, koji obezbeđuje mehaničku potporu ćeliji [9,10].

Prokariotske i eukariotske ćelije, iako u osnovi sasvim različite, imaju mnoštvo biohemijskih sličnosti, pa se prepostavlja da je eukariotska vrsta ćelija nastala (endosimbiotičkom fuzijom) [6] od prokariotske vrste [5]. Spajanje i razmena bakterijskih i virusnih gena upućuje na poreklo endosimbioze [6].

**Ćelijski (membranski) kompartmani** kao pojedini odeljci ćelije jesu struktura osnova normalnog funkcionisanja svake eukariotske ćelije, koji obezbeđuju relativnu nezavisnost svakog dela ćelije u okviru njihove genetski programirane funkcije.

**Ćelijska membrana, plazmamembrana ili plazmalema** (grč. *plasma*, nešto oblikovano + *eilema*, omotač) okružuje ćeliju ograničavajućom barijerom, koja je odvaja od okolne sredine. Unutrašnjost ćelije je podeljena na brojne odeljke, takođe, odvojene membranama. Ovi za membranu vezani odeljci sa nekim delićima i filamentima, poznati su kao *ćelijske organele* (mali organi) (Sl. 2.1) [11]. Svaka od organela obavlja neku specifičnu funkciju, koja daje svoj doprinos opstanku ćelije.



SLIKA 2.1 Opšta šema tipične ćelije sisara sa organizacijom i glavnim organelama [11].

**Unutrašnjost ćelije ili protoplazma** (grč. *protos*, prvi + *plasma*, nešto oblikovano) podeljena je na dva odeljka: (1) jedro ili nukleus (lat. *nux*, orah), sferičnu ili ovalnu strukturu obično u blizini centra ćelije; i (2) citoplazmu (grč. *kitos*, ćelija + *plasma*, nešto oblikovano), deo izvan ćelijskog jedra.

Protoplazma se sastoji od vode, proteina, lipida, ugljenih hidrata, i elektrolita. Voda čini 70–85% ćelijske protoplazme, ćelijski proteini 10–20%, i lipidi 2–3% [4].

Membrane formiraju velike strukturne elemente u ljudskim ćelijama. One okružuju ćelije i ograničavaju većinu ćelijskih organela. Plazmamembrana je selektivno propustljiva barijera, koja ograničava i štiti citosol od uticaja spoljne sredine. Ona ima važnu ulogu i u detekciji fizičkih i hemijskih signala od drugih ćelija, od prikačivanja do spajanja ćelija. Stvaranjem mesta na svojoj površini, plazmamembrana omogućava kačenje i pričvršćivanje raznih proteinskih molekula, ekstracelularnog i/ili intracelularnog porekla, kao i proteinskih filamenata uključenih u stvaranje i prenošenje sila.

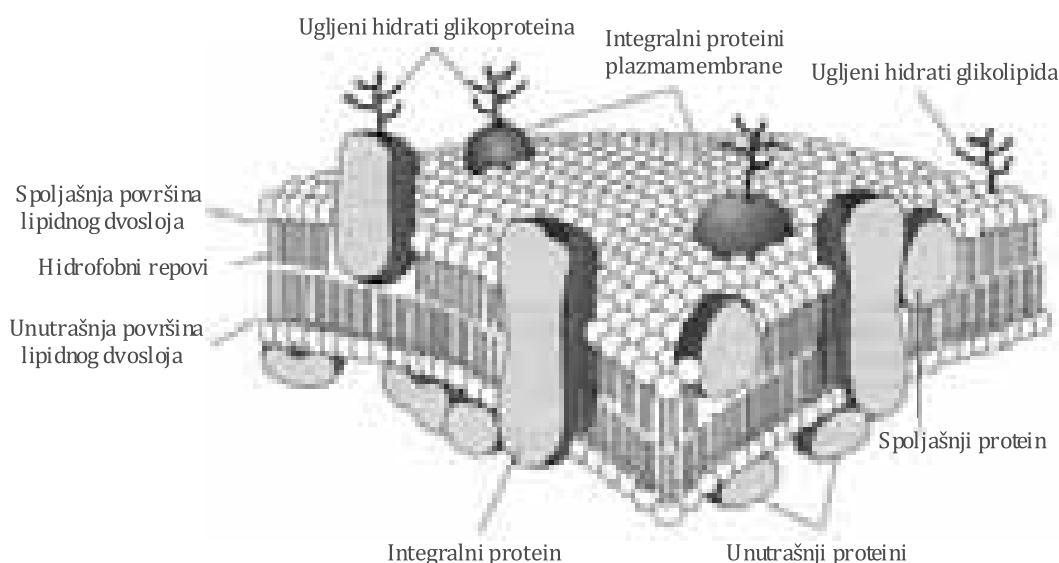
Sve eukariotske membrane sastoje se od *dva sloja molekula lipida*, u koja su uronjeni molekuli proteina i lanci oligosaharida kovalentno vezani za fosfogliceride ili proteine [5]. Fosfoglyceridi se uobičajeno nazivaju *fosfolipidi*, mada termin *fosfolipidi* nije precizan, jer drugi lipidi takođe sadrže fosfat [10].

Prema mozaičkom rasporedu membranskih proteina i fluidnoj konstituciji lipidnog dvosloja, 1972. godine konstruisan je *fluidni mozaički model* [12], koji je 2001. godine dopunjen *savremenim modelom* sa perifernim i integralnim membranskim proteinima (Sl 2.2) [10,13].

Ovaj *savremeni model* otkriva da atomske strukture raznih proteina sprežu lipidni dvosloj; lipidi se učvršćuju za neke membranske proteine, a mreža citoplazmatskih proteina ograničava kretanje mnogih integralnih membranskih proteina [10]. Međutim, zastupljenost proteina, i, u manjem obimu, lipida različita je u membranama organela i plazmamembrani. Specifične funkcije membrane, koje zavise primarno od membranskih proteina, mogu se razlikovati u raznim za membranu vezanim organelama i u plazmamembrani kod različitih tipova ćelija.

**Glavni lipidi membrane, fosfoglyceridi**, jesu amfipatični molekuli: jedan kraj ima polaran (naelektrisan) region, dok je ostatak molekula, koji se sastoji od dva duga lanca masnih kiselina, nepolaran (nenaelektrisan) [10]. Fosfoglyceridi u ćelijskoj membrani su organizovani u bimolekularni sloj sa nepolarnim lancima masnih kiselina u sredini. Polarni regioni fosfoglycerida orijentisani su prema površini membrane kao rezultat njihovog privlačenja sa polarnim molekulima vode u ekstracelularnoj tečnosti i citosolu. Neki lipidi, nazvani *glikolipidi*, imaju oligosaharidne lance koji se pružaju s površine ćelijske membrane prema spolja i tako doprinose asimetričnosti dvosloja (Sl. 2.2) [4,13].

Sastav lipida je drukčiji u svakoj polovini dvosloja. Fosfoglyceridi mogu slobodno da difunduju lateralno ili da rotiraju oko vertikalne ose u dvosloju membrane [12]. Nema hemijskog vezivanja između fosfoglycerida, niti za membranske



SLIKA 2.2 Struktura ćelijske membrane: modifikovani fluid-mozaik model [13].

proteine. Svaki molekul je slobodan da se pomera nezavisno od drugih. Posledica ovakvog ponašanja je mogućnost slučajnog lateralnog pomeranja paralelno površini dvosloja. U nekim ćelijama lipidi se mogu pomerati lateralno brzinom od  $2 \mu\text{m/sec}$ , dok se proteinski molekuli kreću oko 40 puta sporije ( $50 \text{ nm/sec}$ , ili  $3 \mu\text{m/min}$ ) [14]. Dugi lanci masnih kiselina mogu se pomerati i napred i nazad.

Tako lipidni dvosloj ima svojstva tečnosti, slična tankom sloju ulja na površini vode, koja omogućavaju potpunu fleksibilnost membrane. Slično parčetu sukna, membrana može biti savijana i naborana, ali ne može se istezati bez cepanja. Ovakva fleksibilnost, uz činjenicu da su ćelije ispunjene tečnošću, dozvoljavaju promene ćelijskog oblika bez oštećenja njenog strukturnog integriteta.

Plazmamembrana sadrži **holesterol**, koji je povezan i *podjednako* zastupljen sa fosfogliceridima, za razliku od unutrašnjih membrana koje imaju vrlo malo holesterola. Iako slabo amfipatičan, i holesterol se raspoređuje kao fosfogliceridi, sa polarnim regionom prema površini membrane, a nepolarnim steroidnim prstenom prema unutrašnjosti ćelije zajedno sa lancima masnih kiselina. Holesterol u plazmamembrani ima značajnu ulogu u održavanju fluidnosti lipidnog dvosloja, one-mogućavajući spajanje lanaca masnih kiselina, koje privlače Van der Valsove (*Van der Waals*) sile [8].

Proteinske pore omogućuju selektivan prolaz za molekule kroz plazmamembranu, jer lipidni dvosloj predstavlja barijeru za difuziju jona i polarnih molekula većih od 150 D (daltona) [10]. Ovi proteini obezbeđuju ćeliji da kontroliše prolaz rastvorenih supstanci kroz membranu, što je ključno za mnoge fiziološke procese.

Ćelijska membrana sadrži oko 50% membranskih proteina, koji se mogu podeliti u dve grupe: integralne i periferne [5,10,13].

**Integralni membranski proteini** direktno su ugrađeni u lipidni dvosloj i tesno povezani sa membranskim lipidima, tako da se ne mogu odvojiti od membrane bez oštećenja lipidnog dvosloja. Slično fosfogliceridima, integralni proteini su amfipatični, jer imaju polarne strane lanaca aminokiselina u jednom regionu molekula i nepolarne strane lanaca grupisane zajedno u odvojenom regionu. Integralni proteini su u membrani orijentisani kao i forsfolipidi: polarni regioni su okrenuti prema površini zajedno sa polarnim molekulima vode, a nepolarni ka unutrašnjosti ćelije, udruženi sa nepolarnim lancima masnih kiselina. Slično membranskim lipidima, neki integralni proteini mogu se pomerati lateralno, mada većina ne može, jer su vezani za mrežu perifernih proteina (spoljašnjih i unutrašnjih) smeštenih prvenstveno na citosolnoj strani membrane (unutrašnji proteini) (Sl. 2.2) [13].

Mnogi integralni proteini u obliku kuglastih, globularnih molekula, raspoređeni su između lipidnih molekula. Neki od njih su samo delimično uklopljeni u lipidni dvosloj i štре sa spoljašnje ili unutrašnje strane. Drugi integralni proteini toliko su veliki da prolaze kroz celu membranu jednom ili više puta sa jedne na drugu stranu, pa se nazivaju *transmembranski proteini*. Oni imaju nepolarne krajeve sa unutrašnje strane membrane, a polarne mogu imati čak izvan površine ćelije. Neki od transmembranskih proteina formiraju *jonske kanale* za prolaz vode i elektrolita [natrijuma ( $\text{Na}^+$ ), kalijuma ( $\text{K}^+$ ), kalcijuma ( $\text{Ca}^{2+}$ )], dok su drugi predodređeni za

*transmisijsku hemijskih signala ili su zakaćeni za ekstracelularne i intracelularne filamente plazmamembrane.*

Integralni proteini koji kontrolišu membransku propustljivost (permeabilnost) mogu se podeliti na tri uopštene grupe: pumpni, noseći, i kanalni, od kojih svaka grupa ima različita svojstva (Tabl. 2.1) [10].

*TABELA 2.1 Karakteristike tri tipa integralnih proteina koji transportuju jone i ostale supstance kroz ćelijsku membranu [10].*

Karakteristika	Pumpa	Nosač	Kanal
Specifičnost	Apsolutna	Osrednja	Samo 10–20 puta
Brzina (joni/s)	100	<1000	106
Gradijent	„Uzbrdo“ <sup>1</sup>	„Nizbrdo“ <sup>2</sup>	„Nizbrdo“
Potrošnja energije	Potrebna	Nije potrebna	Nije potrebna
Joni/konformaciona promena	~1	~1	Mnogo

Skraćenice i objašnjenje: <sup>1</sup> „Uzbrdo“, vuče supstancu suprotno koncentracijskom gradijentu, a „nizbrdo“ u pravcu koncentracijskog gradijenta; <sup>2</sup>Može vući drugu supstancu „uzbrdo“, nasuprot koncentracijskom gradijentu.

Unos materija kroz plazmamembranu naziva se *endocitoza* (grč. *endon*, u + *kitos*, ćelija), za razliku od izlučivanja supstanci iz ćelije koje nosi naziv *egzocitoza* [grč. *exo* (ekso), van + *kitos*, ćelija], pri čemu se ne narušava integritet ćelijske membrane. Sve ćelije tela, izuzev zrelih crevenih krvnih zrnaca [eritrocita (grč. *eritros*, crven + *kitos*, ćelija)], koriste fundamentalni proces endocitoze za zarobljavanje vanćelijskih molekula pomoću uvlačenja u membranske vezikule ili vakuole stvorene od plazmamembrane. Prema vrsti supstance i veličini endocitoznih vezikula, endocitoza se deli na pinocitozu i fagocitozu. *Pinocitoza* (grč. *pinein*, piti + *kitos*, ćelija) je proces endocitoze vanćelijske tečnosti i u njoj rastvorenih supstanci, za razliku od *fagocitoze* (grč. *fagein*, jesti + *kitos*, ćelija), koja podrazumeva proces ingestije u velikim fagozomima krupnih stranih supstanci (ćelija, stranih tela) ili mrtvih, oštećenih sopstvenih ćelija ili njihovih delova [10].

Ugljenohidratni delovi glikolipida i glikoproteina štrče sa spoljne strane membrane i čine važne sastojke specifičnih molekula zvanih *receptori*. Oni učestvuju kao posrednici u mnogim interakcijama, kao što su ćelijska adhezija, prepoznavanje i odgovor na dejstvo mnogih faktora, uključujući hormone, i strane supstance. Receptori mogu biti raspoređeni po celoj plazmamembrani ili grupisani u male regije koje se nazivaju *obložene ili klatrinske jamicice*. Vezivanje liganda (molekula velikog afiniteta za receptor) prouzrokuje grupisanje, prethodno difuzno raspoređenih receptora, u klatrinsku jamicu, koja se uvlači, odvaja od ćelijske membrane i formira klatrinsku vezikulu sa ligandom i receptorom u njoj. Klatrinska vezikula dalje gubi svoj omotač *klatrin* i spaja se sa *endozomima*, organelama sa kiselom sredinom, gde se razgrađuje. Nakon toga, receptor se često vraća na ćelijsku mem-

branu, a ligand ređe u vanćelijski prostor, što se može ponoviti više puta (recikliranje). Ovaj proces se naziva *receptorom posredovana endocitoza* [10], ili *receptogena endocitoza* [5].

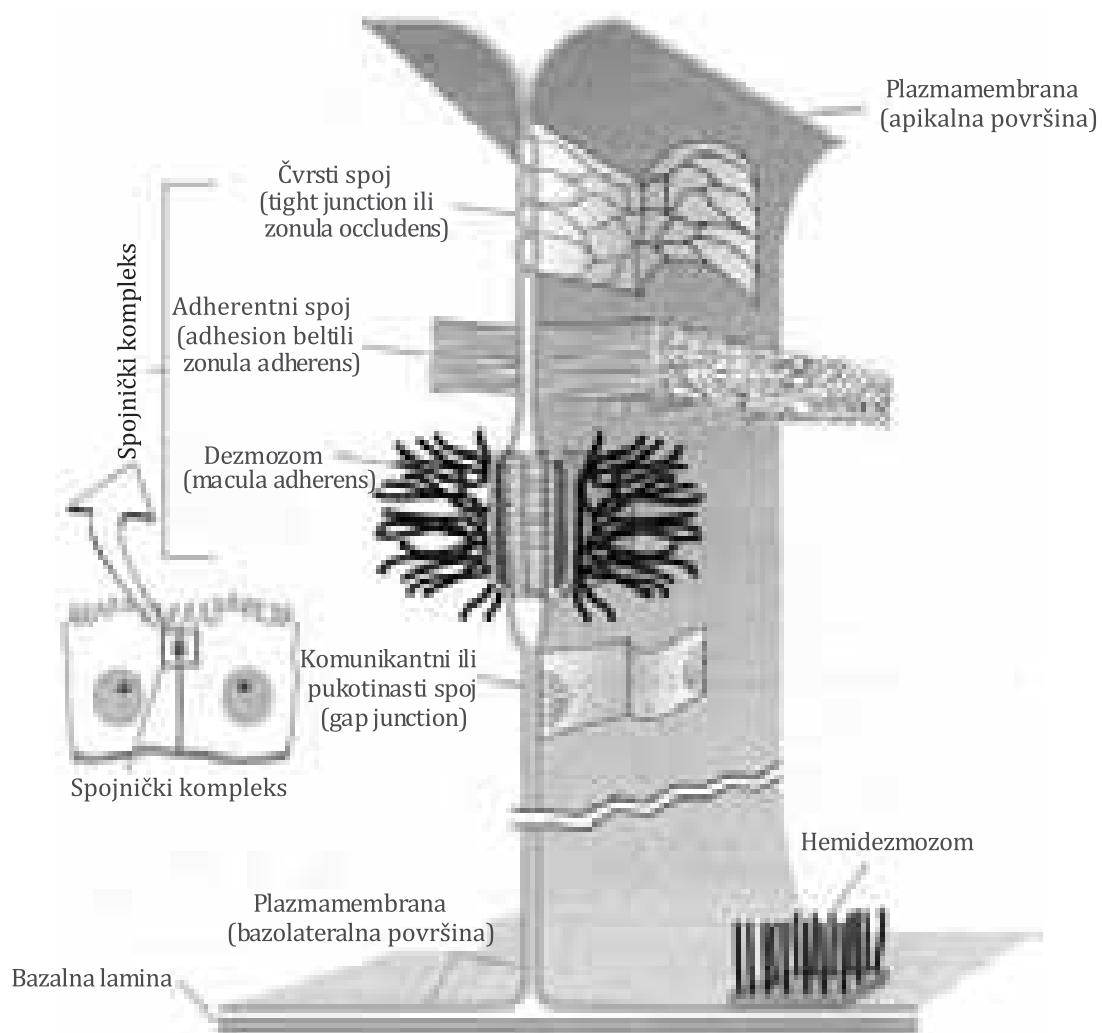
**Periferni membranski proteini** nalaze se na površini plazmamembrane, gde su labavije vezani za polarne regije integralnih membranskih proteina. Oni nisu amfipatični i ne udružuju se sa nepolarnim regionima lipida na unutrašnjoj strani membrane. Većina perifernih membranskih proteina nalazi se na unutrašnjoj, citosolnoj strani membrane (unutrašnji proteini) (Sl. 2.2) [13], gde su udruženi sa citoskeletnim strukturama koje utiču na čelijski oblik i pokretljivost.

Ekstracelularna površina plazmamembrane sadrži i male količine *ugljenih hidrata*, kovalentno vezanih za neke membranske lipide i proteine (Sl. 2.2) [13], uključujući iz ćelije sekretovane glikoproteine i proteoglikane. Ovi ugljeni hidrati sastoje se od kratkih, razgranatih lanaca monosaharida, koji štrče izvan čelijske površine u ekstracelularnu tečnost, gde formiraju spojeni, „šećerom obmotan“ čelijski sloj poznat kao *glikokaliks* [4]. *Glikoforin* je jedan od brojnih glikoproteina nađenih u plazma membrani eritrocita i drugih ćelija, čiji oligosaharidi većinom štrče izvan ćelije [12]. Površinski ugljeni hidrati imaju značajnu ulogu u sposobnosti prepoznavanja i interakcije ćelije sa drugim ćelijama ili vanćelijskim molekulima.

Lipidi u spoljnoj polovini dvoслоja razlikuju se u mnogo čemu od lipida sa unutrašnje polovine, kao i sami proteini ili njihovi molekuli. Mnoge funkcije membrane vezane su za ovu asimetriju u hemijskom sastavu između dve površine membrane.

**Membranski međućelijski spojevi** jesu membranske strukture u kojima su ćelije spojene tako da su njihove površine u direktnom međusobnom kontaktu, izuzev određenih specijalizovanih spojeva, koji služe za izgradnju tkiva. Ovde obično postoji prostor između spojenih plazmamembrana, koji je ispunjen ekstracelularnom tečnošću, tako da omogućava put za razmenu supstanci između ćelija, kao i između ćelija i krvi.

**Sile koje organizuju ćelije u tkiva i organe** još uvek nisu dovoljno izučene, ali izgleda da zavise od sposobnosti određenih transmembranskih proteina, zvanih *integrini*, da vežu specifične proteine ekstracelularnog matriksa (ECM) za membranske proteine na spojenim ćelijama. Čvrsto povezivanje ćelija naročito je izraženo u epitelnim tkivima, koja su izložena silama rastezanja i pritiska (npr. koža). *Kadherini* su familija transmembranskih glikoproteina, koja u prisustvu jona Ca<sup>2+</sup> obezbeđuju čvrsto povezivanje takvih vrsta ćelija [5,10]. I interdigitacije između nabora membrana susednih ćelija povećavaju međućelijsku adheziju. Lateralne membrane mnogih epitelnih ćelija često sadrže modifikacije plazmaleme zvane *međućelijski spojevi*. Osim epitelnih ćelija, i mnoge druge ćelije fizički su povezane na diskretnim mestima duž membrane pomoću specijalizovanih tipova spojeva. U epitelnim tkivima razni spojevi su razmešteni određenim redom od vrha ćelije do njene baze: čvrsti spoj (*zonula occludens*), adherentni spoj (*zonula adherens*), pu-kotinasti spoj (*gap junction*), i dezmozom i hemidezmozom (*desmosome* ili *macula adherens*) (Sl. 2.3) [13].



SLIKA 2.3 Glavni tipovi intercelularnih spojeva [13].

**Čvrsti spojevi (tight junctions ili zonula occludens)** nalaze se pri samom vrhu ćelije, spajajući međusobno spoljašnje slojeve ćelijskih membrana oko cele ćelije u vidu pojasa, tako da između njih nema ekstracelularnog prostora. Ovi spojevi vrše okluziju, zatvarajući intercelularni prostor prema lumenu ćelija. Čvrsti spojevi onemogućavaju kretanje većine organskih molekula između spojenih ćelija, mada mogu slabo propuštati vodu i male jone. Većina epitelnih ćelija (posebno absorptivni i sekretorni epiteli) spojena je pomoću čvrstih spojeva, tako da je transfer materijala ograničen i usmeren kroz druge delove ćelija [13].

Održavanje ćelijskog polariteta (apikalni i bazolateralni) odnosno domena, većinom je funkcija čvrstih spojeva [13]. Između dve epitelne ćelije postoji samo jedan čvrsti spoj, za razliku od brojnih dezmozoma i pukotinastih spojeva koji mogu postojati između istih ćelija [13].

**Adherentni spojevi (zonulae adherens)** raspoređeni su u obliku kružnog adhezionog pojasa (*adhesion belt*) oko cele ćelije, samo dublje od čvrstih spojeva, prema bazi ćelije. Kadherinski transmembranski proteini jesu komponente adherentnih spojeva i funkcionišu udruženi sa aktinskim filamentima iz citoplazme [13].

**Dezmozomi** (grč. *desmos*, veza + *soma*, telo) ili *maculae adherens*, sastoje se od regionala između dve spojene ćelije, gde su pripojene membrane odvojene gustom akumulacijom proteina na citoplazmatskoj površini svake membrane i u prostoru između njih. Vlakna, koja se pružaju od citoplazmatske površine u ćeliju, povezuju dodatno i druge dezmozome na suprotnoj strani ćelije, formirajući kružnu pločicu (plak) nazvanu *pričvršćujući plak*, izgrađenu od najmanje 12 različitih vrsta proteina [5]. Funkcija dezmozoma je da čvrsto drži spojene ćelije u regionima gde postoji istezanje, kao što su slojeviti epiteli, posebno kože i creva. Dezmozomi se nalaze na svim lateralnim površinama ćelija, osim apikalno i bazalno gde su substrat vezivnog tkiva bazalne membrane, povezujući ćelije preko *dezmogleina* i *dezmkolina*, članova kadherinske familije kalcijum zavisnih međućelijskih adhezionih molekula [10,13].

**Hemidezmozomi** (grč. *hemi*, pola + *desmos*, veza + *soma*, telo) jesu dezmozomski spojevi koji se nalaze između epitelnih ćelija i vezivnog tkiva, na bazalnoj plazma membrani epitelnih ćelija, spojenih sa bazalnom laminom, pri čemu te spojeve održavaju integrinski molekuli ćelija u interakciji sa molekulima *laminina* bazalne lamine [10,13]. *Integrini* su familija transmembranskih proteina, koji predstavljaju receptore za ekstracelularne makromolekule *laminin* i *kolagen tipa IV* [5].

**Komunikantni spojevi, pukotinasti spojevi (gap junctions) ili pukotinasti spojni kanali** (PSK) [*gap junction channels* (GJC)] jesu međućelijski spojevi, koji se sastoje od posebnih proteinskih jedinica, *koneksona* dugih oko 10 nm [10], koje daje svaka ćelija da bi premostila „pukotinu“ od 2–3 nm između dve ćelije [13]. PSK izgledaju kao dva mala heksagonalna cilindra, sastavljena od šest strukturnih jedinica transmembranskih proteina *koneksina*, organizovanih kružno, formirajući centralni kanal prečnika 1–2 nm, prosečno 1,2 nm u sisara [10], odnosno 1,5 nm u čoveka [5]. Koneksini pripadaju većoj familiji proteina, koji su različito distribuirani i formiraju kanale sa različitim fiziološkim osobinama. Putem ovih kanalića može se obavljati u oba pravca razmena hidrofilnih supstanci male molekulske težine, manje od 1500 D {ciklični adenozinmonofosfat [*adenosine-3',5'-cyclic monophosphate* (cAMP)], ciklični guanozinmonofosfat [*guanosine-3',5'-cyclic monophosphate* (cGMP)], joni, šećeri, aminokiseline, peptoni, lipidi, hormoni, vitamini, metabolički proizvodi} [5,15]. Mnogi faktori regulišu reverzibilno otvaranje i zatvaranje PSK, uključujući transjunkcionalnu voltažu, citoplazmatske koncentracije jona vodonika (H<sup>+</sup>) i Ca<sup>2+</sup>, kao i protein kinaze [10]. PSK nalaze se između mnogih ćelija u organizmu (epitelne, glatke mišićne, poprečnoprugaste ćelije srca, ćelije jetre, Langerhansovog ostrvca pankreasa, osteociti, neuroni, glija, i dr.), mada se mogu nanovo formirati gotovo između svih ćelija, uključujući i neurone (grč, *neuron*, živac) i gliju (grč, *glia*, lepilo; nervno potporno tkivo) [16], pa čak i aktivisane leukocite (grč, *leukos*, beo + *kitos*, ćelija) [17]. PSK postoji u gotovo svim tkivima sisara, jedino ih nema između skeletnih mišićnih ćelija [5].

PSK koordiniraju razne aktivnosti spojenih ćelija u električnom (električne sinapse) i hemijskom (humoralnom i metaboličkom) smislu. Brzina prenošenja akcionih potencijala u ovim električnim sinapsama je izuzetno velikih frekvenciјa ( $>1000$  u sekundi) [10]. Zahvaljujući tim svojstvima, PSK predstavljaju morfo-funkcionalnu osnovu ontofilogenetski najstarijeg sistema za prenos informacija u životu svetu, *sistema telesnih (akupunktturnih) meridijana* i njihovih *refleksogenih (akupunktturnih) tačaka* [15,17].

**Jedro (nucleus)** jeste okrugla ili ovalna struktura smeštena obično u sredini ćelije, koju sadrže gotovo sve ćelije (Sl. 2.1) [11, 13]. Neke specijalizovane ćelije, kao što su skeletne mišićne ćelije, sadrže više jedara, dok zreli eritrociti i trombociti nemaju uopšte jedra. Jedro sadrži genetski plan za sve ćelijske strukture i funkcije, koje su kodirane u DNK hromozoma. Primarna funkcija jedra je da čuva i prenosi genetske informacije za sledeću generaciju ćelija. Ove informacije, u formi DNA, koriste se za sintezu proteina koji određuju strukturu i funkciju ćelije. U jedru se, takođe, vrši replikacija DNK i sintetišu i obrađuju sve forme RNK: ribozomalna RNK [ribosomal (rRNA), informaciona ili glasnička RNK [messenger (mRNA)], i transportna RNK [transfer (tRNA)]] [4].

RNK ostvaruju mnoge funkcije: mRNA upravlja sintezom proteina, tRNA donosi ispravne aminokiseline do rastućeg proteinskog lanca, i rRNA obezbeđuje katalitički centar za sintezu proteina [10]. Mitohondrije imaju mali DNK genom koji stvara RNK, koja se koristi u toj organeli, ali taj genom je toliko mali da nije dovoljan ni za samu mitohondriju. U jedru se ne sintetišu proteini, već se oni unose (importuju) u jedro iz citoplazme.

Osnovne komponente jedra su: nuklearni omotač, hromatin, nukleolus i nukleusni matriks. Veličina i karakteristike jedra jednake su u ćelijama iste vrste zdravog tkiva. Zloćudne tumorske ćelije, nasuprot tome, imaju jedra nepravilnog oblika, različite veličine i atipičnog rasporeda hromatina [4].

*Nukleusni omotač* ili *nukleusna membrana* se kao barijera nalazi oko jedra, sastavljen od dve paralelne membrane, odvojene uskim prostorom nazvanim *perinukleusna cisterna* (Sl. 2.1) [11, 13]. U pravilnim razmacima duž površine nukleusnog omotača, dve membrane se spajaju, formirajući rubove kružnih otvora poznatih kao *nukleusne pore*, koje kontrolisu prolaz supstanci između jedra i citoplazme. Nukleusne pore nisu stalno otvorene, veće se sastoje od oktogonalnog kompleksa pore, koji sadrži više od 100 proteina [5]. Pošto nukleusni omotač nije propustljiv za jone i molekule svih veličina, razmena između jedra i citoplazme moguća je samo kroz nukleusne pore. Joni i molekuli prečnika do 9 nm lako prolaze kroz nukleusnu poru bez utroška energije, za razliku od većih molekula koji se prenose aktivnim procesom u kojem posreduju receptori i troši se energija adenozin trifosfata [*adenosine triphosphate (ATP)*] [5, 10].

Molekuli RNK koji regulišu ekspresiju genetskih informacija kreću se između jedra i citoplazme kroz ove nukleusne pore. Kretanje veoma velikih molekula, kao što su RNK i proteini, selektivno je, da bi se ograničilo za specifične makromolekule. U proces transfera uključen je energetski zavisan proces, koji menja promer pora u reakciji na specifične signale.

*Hromatin* predstavlja finu mrežu spiralnih končića formiranu pomoću DNK u asocijацији sa proteinima. Hromatin najčešćim delom grade spiralizovane niti DNK vezane za bazne proteine (histone). Hromatin van deobe u stvari čine hromozomi koji nisu dovoljno izuvijani.

U jedru ženskih, ali ne i muških ćelija, postoji grudvica hromatina koja se naziva *polni hromatin*, i predstavlja jedan (inaktivni) od dva X hromozoma, koji se nalaze u ženskim ćelijama [8]. X-hromozom koji gradi polni hromatin trajno je čvrsto izuvijan i zato je vidljiv, dok je drugi X-hromozom neizuvijan i zato se ne vidi. U epitelnim ćelijama (npr. sluzokože obrazu) polni hromatin se vidi kao malo zrnce priljubljeno uz nukleusni omotač, dok u neutrofilima izgleda kao privezak jedra u obliku bубањске palice [5] i naziva se *Barovo telo (Barr body)* [10,13]. Osim dva polna hromozoma, u žena XX i u muškaraca XY, preostali hromozomi se grupišu po redu u 22 para hromozoma označena arapskim brojevima u skladu sa njihovim morfološkim svojstvima.

**Jedarce (nucleolus)** je organela jedra, loptastog izgleda, bez membrane, mesto transkripcije rRNK i ribozomalnih subjedinica (Sl. 2.1) [11,13]. U nukleolusu se mogu razlikovati tri dela: (1) nukleolusni organizacioni centri, sa *nukleolusnim organizatorom DNK*, kojeg čine sekvene baza koje sadrže šifru za rRNK; (2) fibularni region, tesno povezan sa nukleolusnim centrima, kojeg čine gusto upakovani lanci rRNK u procesu transkripcije – *pars fibrosa*; i (3) granularni region, *pars granulosa*, koji se sastoji od granula (*nezreli ribozomi*) [5,10]. U jedarcu se proteini, sintetisani u citoplazmi, udružuju sa rRNK i tada ribozomske subjedinice prelaze u citoplazmu. U jedru se rRNK sintetišu i modifikuju, a u jedarcu proteinske komponente ribozomalnih subjedinica se organizuju, da bi ove subjedinice migrirale kroz nuklearne pore do citoplazme, gde se kombinuju, formirajući funkcionalne ribozome. Veliki nukleolusi se susreću u embrionalnim ćelijama koje proliferišu, u ćelijama koje sintetišu proteine i u malignim tumorima koji brzo rastu [5,10]. Nukleolusi isčezavaju tokom početne faze (profaze) ćelijske deobe i pojavlju se u završnoj fazi (telofazi) [5,10].

*Nukleusni matriks* je deo jedra koji ispunjava prostor između hromatina i jedarca (Sl. 2.1) [11]. Sastoji se uglavnom od proteina (od kojih neki imaju enzimsku aktivnost), metabolita i jona [5,10].

**Citoplazma** ćelije sadrži dva dela: (1) *ćelijske organele*; i (2) *citosol* (citoplazmatska solucija ili rastvor), tečnost ili fluid koji okružuje organele.

Citoplazma ćelije je membranama izdeljena u razne odeljke, koji regulišu intracelularni tok jona i molekula. U tim odeljcima koncentrisani su enzimi i supstance koje povećavaju aktivnost ćelije.

**Ćelijske organele** jesu male relativno nezavisne strukturne jedinice ćelije, čiji broj i veličina zavise od specijalizovanosti ćelije za obavljanje određene funkcije.

**Ribozomi** (lat. *ribosum*, riboza + grč. *soma*, telo) jesu pogoni za proizvodnju proteina, pomoću rRNK, koji se nalaze u svim ćelijama, sa karakterističnim brojem i rasporedom za svaku ćeliju. U ribozomima sintetišu se neki proteinski molekuli od aminokiselina, koristeći genetske informacije nošene pomoću glasničkog molekula

mRNK od nuklearne DNK iz jedra. Veliki broj proteina ribozoma sintetiše se u citosolu, potom ulaze kroz nukleusne pore u jedro gde se udružuju sa rRNK. Posle toga, subjedinice napuštaju jedro i ulaze u citosol, gde učestvuju u sintezi proteina.

Pojedinačni ribozomi povezani lancem mRNK formiraju funkcionalne jedinice *poliribozome (polizome)* [4,10]. mRNK nosi poruku iz jedra u obliku šifre za redosled aminokiselina u proteinima koji se sintetišu u ćeliji. Ribozomi imaju ključnu ulogu u dešifrovanju ili translaciji te poruke za vreme sinteze proteina. Ribozomi mogu biti slobodni u citoplazmi ili vezani za membrane *endoplazmatskog retikuluma* i jedra (Sl. 2.1) [11, 13].

***Endoplazmatski retikulum*** jeste najveća citoplazmatska organela koju čini mreža membrana (grč. *endo*, unutra + lat. *reticulum*, mreža), gradeći međusobno povezane kanale i cisterne. Membrane zatvaraju prostor koji se nastavlja kroz mrežu granuliranog (hrapavog) ili agranuliranog (glatkog) retikuluma [5, 10, 11, 13] (Sl. 2.1).

***Granulirani endoplazmatski retikulum (GER)*** sadrži poliribozome vezane njihovom citosolnom stranom (Sl. 2.1) [11, 13]. Poliribozomi mu daju granulirani (zrnast) izgled, a služe za sintezu proteina, koji ulaze u cisterne. Vrećaste ili平行 naslagane pljosnate cisterne GER-a, ograničene membranama, u kontinuitetu su sa spoljašnjom membranom nuklearnog omotača. GER je bolje razvijen u ćelijama koje intenzivno sekretuju proteine, kao što su ćelije egzokrinog (grč. *exo*, spolja + *krinein*, izlučiti) pankreasa (digestivni enzimi), fibroblasti (kolagen), i aktivirane B-ćelije ili plazmociti (imunoglobulini) [5,10].

GER je uključen u početnu glikolizaciju glikoproteina, sintezu fosfolipida, i promene u strukturi tek sintetisanih polipeptida, mada je izdvajanje proteina koji nisu namenjeni za citosol njegova glavna funkcija. Sintesa svih proteina počinje na poliribozomima koji nisu pričvršćeni za GER, a završava se njihovom raspodelom za trajno i privremeno intracelularno deponovanje, i ugrađivanje u druge membrane (npr. integralni proteini).

***Agranulirani endoplazmatski retikulum (AER)*** nema poliribozome na svojoj površini, niti cisterne, nego ima razgranate tubularne strukture (Sl. 2.1) [11, 13]. Pritom, obe vrste retikuluma zajedno postoje u istoj ćeliji, ali u različitom odnosu, zavisno od tipa ćelije i perioda ćelijske aktivnosti. AER je vrlo razvijen u ćelijama jetre, gde je odgovoran za procese oksidacije, konjugacije i metilacije, putem kojih se vrši denaturacija određenih supstanci i hormona, kao i detoksifikacija (npr. barbiturata). AER je mesto sinteze molekula lipida, fosfolipida, steroidnih hormona. Jedan od glavnih procesa u AER je konjugacija toksičnog bilirubina nerastvorljivog u vodi pomoću enzima glukuronil-transferaze, pri čemu nastaje netoksični bilirubin-glukuronid rastvorljiv u vodi [5,10]. AER učestvuje i u procesu kontrakcije mišićnih ćelija, u specijalnom obliku zvanom *sarkoplazmatski retikulum*, gde se takođe deponuju i oslobođaju joni Ca<sup>2+</sup> uključeni u kontrolu mnogih ćelijskih aktivnosti, posebno mišićne kontrakcije [10].

***Goldžijev kompleks*** (aparat) čini niz kupastih, tesno proljubljenih, naslaganih, spljoštenih, lako zakriviljenih membranskih kesica ili *cisterni*, udruženih sa brojnim vezikulama [4, 11, 13] (Sl. 2.1). Goldžijeve vakuole se popunjaju odvajaju

od Goldžijevih cisterni, postaju vezikule, koje transportuju proteine na razna mesta. Proteini u Goldžijevom kompleksu, poreklom iz GER, podležu nizu sekvencijalnih modifikacija, koncentrišu se, sortiraju, deponuju i pakaju (oblažu membranom) za dalju distribuciju u *transportnim vezikulama* sve do plazma membrane, gde se iz vezikula oslobađaju van ćelije. Ove vezikule, koje sadrže proteine za izlučivanje, nazivaju se *sekretorne vezikule*.

**Mitohondrije** (grč. *mitos*, vlakno, konac + *chondros*, zrnca, grašcice) jesu ovalne ili izdužene štapičaste strukture, obavijene sa unutrašnjom i spoljašnjom membranom, između kojih je intermembranski prostor. Spoljašnja membrana je glatka, dok je unutrašnja podeljena na resice ili tubule poznate kao *kriste*, koje štrče u unutrašnjost mitohondrijalne sredine, koja se naziva *matriks* (Sl. 2.1) [11]. *Kriste* povećavaju unutrašnju površinu mitohondrija, sadrže enzime i druge sastojke koji učestvuju u aerobnom metabolizmu: *oksidativnoj fosforilaciji i u sistemu transporta elektrona*. Fosforilacijski sistem adenozin difosfat [*adenosine diphosphate* (ADP)] – adenozin trifosfat [*adenosine triphosphate* (ATP)] nalazi se u globularnim strukturama koje su valjkastim drškama spojene sa unutrašnjom membranom [5,10]. Ove globularne strukture predstavljaju kompleks proteina sa aktivnošću enzima ATP-sintetaze, koji u prisustvu ADP i neorganskog fosfata stvaraju ATP. Prema hemootomskoj teoriji, ATP se sintetiše kao posledica protoka protona kroz globularene jedinice [5,10,11,13].

Od ukupne energije, oko 50% se nalazi skladišteno u fosfatnim vezama molekula ATP, a preostalih 50% se gubi kao toplota u toku održavanja telesne temperature [5]. Većinu ATP-a koristi ćelija, u procesu oksidativne fosforilacije, pri čemu se troši kiseonik ( $O_2$ ), a proizvodi ugljen dioksid ( $CO_2$ ). ATP brzo otpušta energiju dejstvom enzima ATP-aze, koji se aktivira signalima fizičke (mehaničke, električne, osmotske) ili hemijske prirode.

Broj mitohondrija i kristi srazmeran je energetskoj aktivnosti ćelije u kojoj se nalaze. Mitohondrije su sklone nakupljanju u velikom broju (oko 1000) u ćelijama koje koriste velike količine energije [8,13], kao što su apikalni delovi ćelija sa trepljama, srednji delovi repa spermatozoida ili bazalni delovi ćelija koje transportuju jone [5].

*Mitohondrijalni matriks* se nalazi između krista, bogat je proteinima, ima cirkularne molekule DNK i tri vrste RNK [5,13]. Mitohondrije imaju male količine cirkularne DNK, koja sadrži gene za sintezu nekih mitohondrijalnih proteina. Cirkularna DNA, koja koristi malo različit genetski kod od nuklearne DNA, slična je bakterijskoj DNA u hromozomima, a postala je milione godina pre [5] kao rezultat intracelularne simbioze [12].

U matriksu se nalaze i tri vrste RNK: rRNK, mRNK, i tRNK, potrebne za sintezu proteina u mitohondrijalnim ribozomima, koji su slični bakterijskim i manji od citosolnih ribozoma. Zbog male količine mitohondrijalne DNA ovde se sintetiše mali deo mitohondrijalnih enzima, a većina u citosolnim ribozomima, koje kodira nuklearna DNA, da bi potom kao manji molekuli, sa manjim brojem aminokiselina, lako ušli u mitohondrije.

Matriks sadrži enzime uključene u Krebsov ciklus limunske kiseline i  $\beta$ -oksidaciju masnih kiselina, kao i guste granule bogate sa  $\text{Ca}^{2+}$ , koje služe za aktivno pumpanje i deponovanje  $\text{Ca}^{2+}$ , održavajući time njegov nizak nivo u citosolu [5].

**Lizozomi** (grč. *lysis*, rastvaranje + *soma*, telo) jesu sferične ili ovalne ćelijske organele okružene jednom membranom, koje vrše intracelularno varenje i obnovu ćelijskih delova (Sl. 2.1) [11]. Tipična ćelija može imati nekoliko stotina lizozoma, koji su naročito brojni u ćelijama sa fagocitnom sposobnošću (npr. makrofagi, neutrofili). Tečnost u lizozomu je slabo kisela i sadrži mnoštvo ( $> 40$ ) raznih digestivnih enzima, od kojih su najbrojnije kisele fosfataze, RNK-aze, DNK-aze, proteaze, sulfataze, lipaze, i  $\beta$ -glukuronidaze [5]. Lizozomalni enzimi sintetišu se i odvajaju u GER, a zatim transportuju u Goldžijev kompleks, gde se modifikuju i pakaju za lizozome. Lizozomi deluju kao pojedinačni „ćelijski želuci“, uništavajući bakterije i ostatke sopstvenih mrtvih i oštećenih ćelija (*debris*) koje je ingestirala ćelija. Oni mogu, takođe, uništiti i sopstvene oštećene i nefunkcionalne organele, što se naziva *autodigestija* pomoću *autofagozoma* (grč. *autos*, sam + *fagein*, jesti + *soma*, telo). Tako ćelija obnavlja i reciklira svarene proizvode u cilju njihovog ponovnog korišćenja u citoplazmi. Nesvarene materije nazivaju se *rezidualna tela*, čija akumulacija stvara *lipofuscin* ili *pigment starenja* [13]. Lizozomi imaju posebno važnu ulogu u raznim ćelijama, čineći odbrambeni sistem u celini ne samo ćelija, nego tkiva, organa i samog organizma.

**Peroksizomi** (peroksid + *soma*, telo) ili mikrotelašca jesu organele slične lizozomima, po svom ovalnom obliku i okruženošću jednom membranom, mada je njihov hemijski sastav sasvim različit. Peroksizomi ne učestvuju direktno u ćelijskom metabolizmu. Slično mitohondrijama, peroksizomi koriste  $\text{O}_2$ , mada u mnogo manjim količinama, ali ovaj  $\text{O}_2$  se ne koristi u hemijskim reakcijama za proizvodnju ATP-a. Peroxsizomi koriste  $\text{O}_2$  prvenstveno za razgradnju određenih produkata nastalih upravo od  $\text{O}_2$ . To se dešava pomoću oksidacije specifičnih organskih supstrata uklanjanjem atoma  $\text{H}^+$  koji se prenosi na molekul  $\text{O}_2$ . Tako nastaje *vodonik peroksid* ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), koji može biti sasvim toksičan po ćeliju, po kojem je ova organela i dobila naziv. Za zaštitu peroksizomi imaju enzim *katalazu*, koji razgrađuje  $\text{H}_2\text{O}_2$  na vodu i kiseonik ( $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ ). Peroxsizomi u ćelijama jetre i bubrega dodatno proizvode  $\text{H}_2\text{O}_2$  i koriste ga za detoksifikaciju raznih ingestiranih molekula, kao što je etilalkohol (50%) ili mnogobrojne hemijske supstance, uključujući lekove [5].

Peroxsizomi sadrže razne enzime uključene u metabolizam lipida, učestvujući mnogo više u  $\beta$ -oksidaciji masnih kiselina dugog lanca ( $\geq 18$  atoma C) nego mitohondrijski enzimi [13], kao i u stvaranju holesterola i žučnih kiselina [5].

**Citoskeletni filamenti** jesu tipične citoplazmatske organele citosola organizovane kao vlaknasta mreža koja se označava kao **ćelijski citoskelet**, zbog sličnosti sa funkcijama telesnog skeleta u procesu održavanja i menjanja ćelijskog oblika i produkcije ćelijskih pokreta. *Citosol* zauzima polovinu ukupne zapremine ćelije, a ispunjen je finom mikrotrabekularnom mrežom koja povezuje aktinske filamente, intermedijarne filamente, enzime i druge rastvorljive sastojke, stvarajući tako i citosol (citomatriks) određene strukture.

Citosol koordinira kretanje organela u ćeliji, a količina njegovih sastojaka određuje stepen viskoziteta citoplazme. Rastvorljivi, membranama neograničeni enzimi, kao što su enzimi glikolitičkog puta, funkcionišu efikasnije kada su poređani određenim redosledom, umesto da zavise od slučajnog susreta sa svojim supstratima. Citosol formira mrežu za takav organizovan sistem biohemijskih procesa. On sadrži na hiljade enzima koji produkuju blokove za velike molekule i cjevanje malih molekula za oslobođanje energije. Sva mašinerija koja sintetiše proteine (rRNK, mRNK, tRNK, enzime i druge faktore) nalazi se u citosolu.

Postoje četiri grupe citoskeletnih filamenata, zasnovane na njihovom prečniku i tipovima proteina koje sadrže. Prema veličini, polazeći od najtanjih, to su: (1) mikrofilamenti; (2) intermedijarni filamenti; (3) mišićni tanki filamenti; i (4) mikrotubule [8, 10] (Sl. 2.1).

Mikrofilamenti i mikrotubule mogu se stvarati i razgrađivati vrlo brzo, naterujući ćeliju da prati promene citoskeletne mreže adekvatno zahtevima okoline. Suprotno tome, intermedijarni filamenti i mišićni tanki filamenti, jednom kada se stvore, teško se razgrađuju.

*Mikrofilamenti*, koji se sastoje od kontraktilnog proteina, *aktina*, čine glavni deo citoskeleta u svim ćelijama. *Aktinski filamenti* zastupljeni su sa nekoliko tipova u svim vrstama ćelija. U ćelijama, mikrofilamenti mogu biti organizovani na više načina: (1) u skeletnim mišićima aktinski filamenti imaju perakristalni raspored, udružen sa debelim miozinskim filamentima; (2) u najvećem broju ćelija aktinski filamenti formiraju tanak sloj neposredno ispod plazmaleme (*ćelijski korteks*), učestvujući u procesima endocitoze, egzocitoze, i ćelijske pokretljivosti; (3) aktinski filamenti tesno su povezani sa raznim organelama, vezikulama i granulama citoplazme, gde učestvuju u kretanju i premeštanju citoplazmatskih delova (strujanje citoplazme); (4) aktinski filamenti udruženi su sa miozinom, formirajući prsten od filamenata, čijom konstrikcijom se razdvajaju ćelije u mitozi; i (5) u najvećem broju ćelija, aktinski filamenti naizgled su bez reda rasuti po citoplazmi [5,10]. Polovina aktina u ćeliji je u obliku mikrofilamenata, dok većina aktivnosti aktinskih filamenta zavisi od interakcije miozina sa aktinom.

*Intermedijarni filamenti* najviše se razvijaju u regionima ćelije izloženim mehaničkom stresu. *Keratini* (grč. *keras*, rog) jesu proteini koji se nalaze u epitelnim tkivima (epidermu, noktima) sa orožavanjem i bez orožavanja [5,10]. *Vimentinski filamenti* jesu proteini karakteristični za ćelije mezenhimalnog porekla, koji mogu kopolimerizovati sa dezminom i glijalnim kiselim proteinom, a nalaze se u fibroblastima, hondroblastima, makrofagima, endotelnim ćelijama, i vaskularnim glatkim mišićnim ćelijama [5,10]. *Dezmin* (*skeletin*) jeste protein koji se nalazi u glatkim mišićnim ćelijama (osim u krvnim sudovima) i Z-linijama skeletnih i srčanih mišićnih ćelija [5,10]. *Glijalni filamenti* [*glial fibrilar acidic protein* (GFAP)] karakteristični su za astrocite, a *neurofilamenti* za neurone, u kojima imaju različite strukture i funkcije u telima i produžecima [5,10].

*Miozinski tanki filamenti*, sastavljeni od traka kontraktilnog proteina *miozina*, nađeni su samo u mišićnim ćelijama. Pojedinačni molekuli miozina nalaze se

u većini nemišićnih ćelija, gde su uključeni u produkciju sila udruženih sa raznim ćelijskim pokretima [5,10].

*Mikrotubuli* su tanke (grč. *mikros*, sitan + lat. *tubus*, cevčica) cevaste strukture razne dužine, čije subjedinice su sastavljene od 13 protofilamenata proteinskih molekula ( $\alpha$  i  $\beta$ ) *tubulina* [5]. Citoplazmatski mikrotubuli jesu krute strukture koje imaju značajnu ulogu u stvaranju i održavanju oblika ćelije, kao i njene asimetričnosti (polarizovanosti). Oni učestvuju i u intracelularnom transportu organela, vezikula, molekula, kao i u kretanju hromozoma duž deobnog vretena. Ovi fibrozni elementi formiraju trake duž kojih organele bivaju terane, kao propelerom, da se kreću pomoću kontraktilnih proteina pričvršćenih za površinu organela. Transport duž mikrotubula pod kontrolom je specijalnih proteina, zvanih *motorni proteini*, koji koriste energiju za kretanje molekula i vezikula [10]. Mikrotubuli čine strukturu osnovu za održavanje oblika ćelije i njenih izdanaka (cilindričan oblik nervnih produžetaka), kao i za ćelijske strukture, posebno centriole, cilije i flagela (Sl. 2.1).

**Intracelularna tečnost** (intracelularni fluid) jeste celokupna tečnost u ćeliji, ili, bolje rečeno, citosol plus tečnost u organelama, uključujući i jedro. Hemski sastav tečnosti u ćelijskim organelama razlikuje se od citosola, koji sadrži daleko najviše tečnosti i elektrolita, uz dodatne depozite ugljenih hidrata, lipida i pigmenta.

### 2.1.2 Fiziološka organizacija ćelija

Svaki ljudski organizam vodi poreklo od jedne oplođene jajne ćelije, koja od momenta oplodnje (*fertilizacija*) počinje uzastopno da se deli, pri čemu nastaju dve, pa četiri, osam, šesnaest ćelija... i tako redom do krajnjeg rezultata u obliku mase identičnih ćelija. Tokom razvoja, prema svom genetskom kodu, svaka ćelija postaje specijalizovana za posebnu funkciju, kao što je produkcija sile i pokreta (mišićne ćelije), stvaranje električnih signala (nervne ćelije) ili odbrana organizma od stranih tela i supstanci (imunske ćelije). Takav proces transformisanja nespecijalizovane ćelije u specijalizovanu ćeliju naziva se *ćelijska diferencijacija* [8]. Zajedno sa diferencijacijom, tokom razvoja ćelije odlaze na novo mesto (*migracija*) i formiraju posebne veze (*selektivne adhezije*) sa ostalim ćelijama za stvaranje multićelijskih struktura. Tako se ćelije u telu organizuju u razne kombinacije, formirajući hijerarhiju organizovanih struktura. Diferencirane ćelije sa sličnim karakteristikama udružuju se u strukture koje se nazivaju *tkiva* (mišićno tkivo, nervno tkivo, itd.). Kombinacija više tkiva stvara *organe* (srce, pluća, jetra, bubrezi, itd.), koji povezani zajedno formiraju *organske sisteme*, a ovi ceo organizam.

Postoji u ljudskom organizmu preko 200 vrsta ćelija koje se razlikuju po strukturi i funkciji. Prema klasifikaciji na osnovu širikog tipa funkcija, ćelije se mogu svrstati u četiri osnovne kategorije: (1) epitelne ćelije; (2) ćelije vezivnog tkiva; (3) mišićne ćelije; i (4) nervne ćelije [9]. U svakoj od ovih funkcionalnih kategorija, postoji nekoliko tipova ćelija koje ostvaruju varijacije specijalizovanih funkcija.

Tako postoje dva tipa mišićnih ćelija [poprečnoprugaste (skeletne i srčane), i glatke mišićne ćelije], koje se međusobno razlikuju i po obliku, i po mehanizmu kontrole kontraktilne aktivnosti, kao i po lokaciji u raznim organima tela. Neke organele mišićnih ćelija nazivaju se drukčije nego te iste organele u ostalim ćelijama. Tako se citoplazma (osim miofibrila) naziva *sarkoplazma* (grč. *sarkos*, meso + *plasma*, nešto oblikovano), a glatki endoplazmatski retikulum, *sarkoplazmatski retikulum*. I ćelijska membrana ili plazmalema mišićne ćelije ima drugi naziv: *sarkolema* (grč. *sarkos*, meso + *lemma*, ljska).

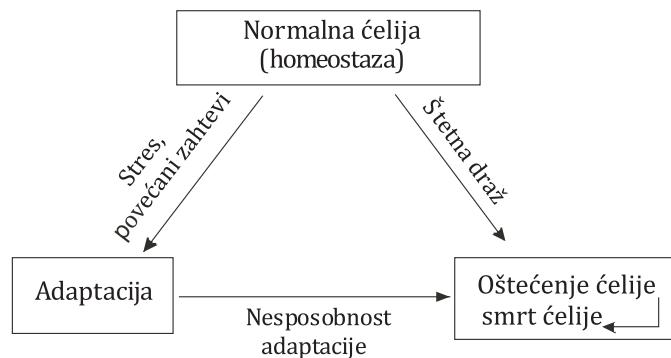
### 2.1.3 Ćelijska adaptacija i odgovor na oštećenje

**Adaptacija** na promenljive uslove sredine potrebna je zdravim ćelijama da bi mogle da održavaju svoju funkciju i strukturu. One to postižu zahvaljujući svojim genetskim programima metabolizma, diferencijacije, i specijalizacije, iako su ograničene susednim ćelijama i upotreboom metaboličkih supstrata. Time zadovoljavaju normalne fiziološke potrebe održavajući stanje dinamičke ravnoteže (*homeostaze*), odnosno *homeokineze* [2] ili *alostaze* [3]. Kvantitativno ili kvalitativno izmenjeni podražaji (stres) dovode do *izmene* ćelijske adaptacije i njenog funkcionisanja u promenjenim okolnostima, što se može ispoljiti kao *maladaptacija* (Sl. 2.4) (Tabl. 2.2) [18]. Time, dejstvo draži ili stresora koje prelazi pojedinačne adaptacione granice, umesto korisnog adaptacionog odgovora u formi stresa, izaziva nekorisnu ili štetnu reakciju u obliku distresa. Distres je neuspšno prilagođavanje (neadekvatna adaptacija) na zahteve životne sredine, nastao kao rezultat nemogućnosti ćelije, tkiva, organa ili organizma da reguliše akutni ili hronični poremećaj homeostaze na određenom hijerarhijskom nivou.

**Maladaptacija** se može ispoljiti u formi: (1) preadaptacije; (2) hipoadaptacije; i (3) deadaptacije [19]. Prekomerno dejstvo draži koje prevazilazi pojedinačne adaptacione mogućnosti ćelije, tkiva, organa ili organizma dovodi do pojave *preadaptacije ili preopterećenja*. Slabo dejstvo draži vrši slabu mobilizaciju morfolofunkcionalnih sposobnosti ćelije, tkiva ili organa, pa se usled podopterećenja razvija *hipoadaptacija*. Nagli prekid redovnog delovanja draži ili sniženje njenog intenziteta vodi ka *deadaptaciji*, procesu koji je suprotan adaptaciji.

**Adaptivni ćelijski odgovor** može se ispoljiti kao povećanje broja ćelija (*hiperplazija*), kao povećanje veličine pojedinačnih ćelija (*hipertrofija*), i, suprotno, kao smanjenje veličine i funkcije ćelija (*atrofija*), ili, pak, poremećaj rasta ćelija specifičnog tkiva sa promenom veličine, oblika i funkcije (*displazija*) [20, 21]. U nekim situacijama, ćelija može da se promeni u drugi tip ćelije, što se naziva *metaplasija* (grč. *metaplasia*, transformacija), a najčešće se dešava u epitelnim i vezivnim tkivima [5].

**Atrofija** (grč. *a*, bez + *trophe*, ishrana) predstavlja smanjenje veličine i sledstveno funkcije tkiva ili organa, nastalo usled smanjenja veličine pojedinačnih ćelija ili broja ćelija. Važno je istaći da se atrofija, koja se dešava u normalno formiranim organima, bitno razlikuje od aplazije ili hiperplazije, koje su rezultat poremećaja u



*SLIKA 2.4 Stadijumi u ćelijskom odgovoru na korisne („stres“) i štetne („distres“) faktore [18]; modifikovano.*

razvoju organa. Takođe je važno razlikovati ćelijsku atrofiju od atrofije organa, koja je posledica ireverzibilnog gubitka ćelija. Tako, npr. atrofija mozga u Alchajmerovoj (*Alzheimer*) bolesti jeste posledica ekstenzivne smrti ćelija, i veličina organa ne može se obnoviti. Opšti uzroci ćelijske atrofije uključuju neupotrebu i redukciju funkcionalnog opterećenja, gubitak trofičkih nadražaja, nedostatak nutrienata, smanjenje krvotoka, hronično oštećenje ćelija, i starenje.

*TABELA 2.2 Adaptivni ćelijski odgovor na oštećenje [18].*

Prroda i jačina štetne draži	Ćelijski odgovor
Izmenjeni fiziološki podražaji: <ul style="list-style-type: none"> <li>Povećane potrebe, povećana trofička stimulacija (npr., faktori rasta, hormoni)</li> <li>Smanjeni nutrienti, stimulacija</li> <li>Hronična iritacija (fizička ili hemijska)</li> </ul>	Ćelijske adaptacije: <ul style="list-style-type: none"> <li>Hiperplazija, hipertrofija</li> <li>Atrofija</li> <li>Metaplasija</li> </ul>
Redukovano snabdevanje kiseonikom; hemijsko oštećenje; infekcija mikrobima: <ul style="list-style-type: none"> <li>Akutno i samoograničeno</li> <li>Progresivno i jako (uključujući oštećenje DNK)</li> <li>Srednje hronično oštećenje</li> </ul>	Ćelijsko oštećenje: <ul style="list-style-type: none"> <li>Akutno reverzibilno oštećenje</li> <li>Ireverzibilno oštećenje – ćelijska smrt <ul style="list-style-type: none"> <li>Nekroza</li> <li>Apoptoza</li> </ul> </li> <li>Subcelularne promene u raznim organelama</li> </ul>
Metaboličke promene, genetičke ili stecene	Intracelularne akumulacije; kalcifikacije
Prolongiran životni period sa kumulativnim subletalnim oštećenjem	Ćelijsko starenje

*Inaktivitetna atrofija* (lat. *atrophia ex inaktivitate*), posebno u mišićnom tkivu, odnosi se na normalno radno opterećenje ili radnu normu. Kada se izlože smanjenju radne norme ili štetnim okolnim stanjima, većina ćelija je sposobna da se

prilagodi vraćanjem na manju veličinu i manji, ali dovoljan nivo funkcionisanja, koji je kompatibilan sa preživljavanjem. Kako se radna norma umanjuje, korišćenje O<sub>2</sub> i sinteza proteina se smanjuju. Ćelije koje atrofiraju redukuju upotrebu O<sub>2</sub> i ostale ćelijske funkcije sa smanjenjem broja i veličine njihovih organela i ostalih struktura, tako da se javlja manje mitohondrija, miofilamenata, i struktura endoplazmatskog retikuluma. Ekstreman primer inaktivitetne atrofije viđa se u mišićima udova koji su bili zatvoreni u gipsu. Zato što je atrofija adaptivna i reverzibilna, mišićna masa se obnavlja nakon skidanja gipsa i aktiviranja mišića fizičkim opterećenjem.

Funkcija mnogih ćelija zavisi od trofičkih signala takvih kao oni što se prenose u nervnom ili endokrinom sistemu.

*Denervaciona atrofija* jeste forma atrofije u paralizovanim udovima, koja je rezultat gubitka stimulacije iz nervnog sistema. „*Endokrina atrofija*“ u stvari je forma inaktivitetne atrofije, koja se javlja usled gubitka endokrine stimulacije. U žena, gubitak stimulacije estrogenom tokom menopauze prouzrokuje atrofične promene u reproduktivnim organima. „*Nutritivna atrofija*“ nastaje usled malnutricije (slabe ishrane) i smanjenja krvotoka. „*Hronična inflamatorna atrofija*“ javlja se usled stalnog održavanja hroničnog zapaljenja i stalnog oštećenja ćelija, najčešće udruženog sa virusnim ili bakterijskim infekcijama. Hronično zapaljenje može se pojaviti i u drugim patološkim stanjima, kao što su imunološki i granulomatozni poremećaji. *Vilosna atrofija* mukoze prateća je posledica hroničnog zapaljenja imunološke prirode karakterističnog za celijačnu bolest, gluten-senzitivnu enteropatiju [22]. *Starosna atrofija* propratni je proces gotovo svih tkiva i organa, posebno izgrađenih od nereplikativnih ćelija, kao što su srce i mozak. Veličina mozga se varijabilno smanjuje, a u dubokoj starosti srce može značajno atrofisati.

**Hipertrofija** (grč. *hyper*, iznad + *trophe*, ishrana) predstavlja povećanje veličine ćelije, kao i mase funkcionalnog tkiva. Ona je rezultat povećanja radne norme nametnute tkivu, organu ili delu tela i obično se viđa u skeletnim i srčanim mišićima, koji se ne mogu adaptirati na veću radnu normu kroz mitotsku deobu i formiranje većeg broja ćelija. Hipertrofija uključuje povećanje funkcionalnih komponenata ćelije koje prate održavanje ravnoteže između potreba i funkcionalnog kapaciteta. Tako sa hipertrofijom mišićne ćelije, dodatno se sintetišu aktinski i miozinski filamenti, ATP i ćelijski enzimi.

Hipertrofija se može javiti kao posledica normalnih fizioloških ili nenormalnih patoloških stanja. Povećanje mišićne mase udružene sa fizičkom aktivnošću je ste primer fiziološke hipertrofije. Patološka hipertrofija se javlja kao rezultat bolesnih stanja i može biti adaptivna ili kompenzatorna. *Adaptivna hipertrofija* javlja se usled raznih patoloških stanja, kao što je hipertrofija miokarda zbog bolesti srčanih zalistaka ili arterijske hipertenzije. *Kompenzatorna hipertrofija* predstavlja povećanje preostalog tkiva ili organa nakon njegovog traumatskog oštećenja (zadesnog ili hirurškog), otklanjanja ili inaktivisanja. Takav je slučaj sa preostalim bubregom nakon uklanjanja ili zatajivanja rada oštećenog ili bolesnog bubrega.

Precizni signali za razvoj hipertrofije još nisu poznati. Mogli bi da se odnose na: iscrpljenje ATP-a, mehaničke sile kao što je istezanje mišićnih vlakana, aktivaciju ćelijskih degradacionih produkata, ili hormonske faktore [20,21]. Ograničavajući

faktori za kontinuiranu hipertrofiju mogli bi da budu vezani za ograničenje krvotoka. U hipertenziji, npr. povećanje radne norme za pumpanje krvi protiv povećanog krvnog pritiska prouzrokuje progresivno uvećanje mišićne mase leve komore srca.

Savremena istraživanja ukazuju da postoje određeni signalni molekuli koji menjaju ekspresiju gena, kontrolišući veličinu i raspored kontraktilnih proteina u hipertrofisanim miokardijalnim ćelijama. Tako, npr. hipertrofisane miokardijalne ćelije u dobro utreniranih sportista imaju proporcionalno povećanje i u širini i u dužini. To je u suprotnosti sa hipertrofijom koja se razvija u dilatacionoj kardiomiopatiji, u kojoj hipertrofisane ćelije imaju relativno veće povećanje u dužini, nego u širini miokardijalnih ćelija [23]. U povećanom opterećenju, kao što je u hipertenziji, hipertrofične ćelije imaju veću širinu nego dužinu [24].

**Hiperplazija** (grč. *hyper*, iznad + *plasis*, oblikovanje) predstavlja povećanje broja ćelija u tkivu ili organu. Ona se dešava u tkivima sa ćelijama koje su sposobne za mitozu, kao što su epiderm, intestinalni epitel, i žlezdano tkivo. Nervne ćelije, skeletne i srčane mišićne ćelije ne mogu se deliti i nemaju kapacitet za hiperplazijski rast. Postoje podaci da hiperplazija uključuje aktivaciju gena koji kontrolišu ćelijsku proliferaciju. Kao i u drugim adaptivnim ćelijskim odgovorima, hiperplazija je kontrolisani proces koji se dešava u reakciji na odgovarajući nadražaj i prekida se nakon uklanjanja nadražaja. Nadražaji koji indukuju hiperplaziju mogu biti fiziološki i patološki.

*Fiziološka hiperplazija* može nastati kao rezultat povećanja funkcionalnih potreba ili endokrine stimulacije, ili, pak, kompenzatornih mehanizama. Povećanje potrebe za paratiroidnim hormonom, kao u hroničnom bubrežnom zatajivanju (insuficijenciji), prouzrokuje hiperplaziju paratiroidne žlezde. Uvećanje dojki i materice tokom trudnoće rezultat je endokrine stimulacije estrogenom. Regeneracija jetre posle parcijalne hepatektomije primer je kompenzatorne hiperplazije. Hiperplazija je takođe važna reakcija vezivnog tkiva u zarastanju rane, tokom koje proliferišući fibroblasti i krvni sudovi omogućuju njenu reparaciju. Iako su hipertrofija i hiperplazija dva različita procesa, oni se mogu desiti zajedno i često su indukovani istim mehanizmom. Tako, npr. materica u trudnoći podleže i hipertrofiji i hiperplaziji kao rezultat stimulacije estrogenom.

*Patološka hiperplazija* može biti prouzrokovana raznim faktorima od kojih je najčešći prekomerna hormonska stimulacija ili efekti faktora rasta na ciljna tkiva [18]. Prekomerna produkcija estrogena može prouzrokovati hiperplaziju endometrijuma materice i nenormalno menstrualno krvavljenje [25]. Benigna hiperplazija prostate, vrlo česta u ljudi preko 50 godina, posledica je zajedničkog dejstva estrogena i androgena [26]. Kožne bradavice jesu primer hiperplazije nastale usled dejstva faktora rasta produkovanih humanim papiloma virusima.

**Metaplazija** (grč. *meta*, preko, posle + *plasis*, oblikovanje) predstavlja reverzibilnu promenu u kojoj se jedan zreo tip ćelije (epitelne ili mezenhimalne) zamenuje sa drugim zrelim ćelijskim tipom. Metaplazija označava uključivanje reprogramirajućih nediferentovanih matičnih ćelija koje se nalaze u tkivu podložnom metaplastičnim promenama.

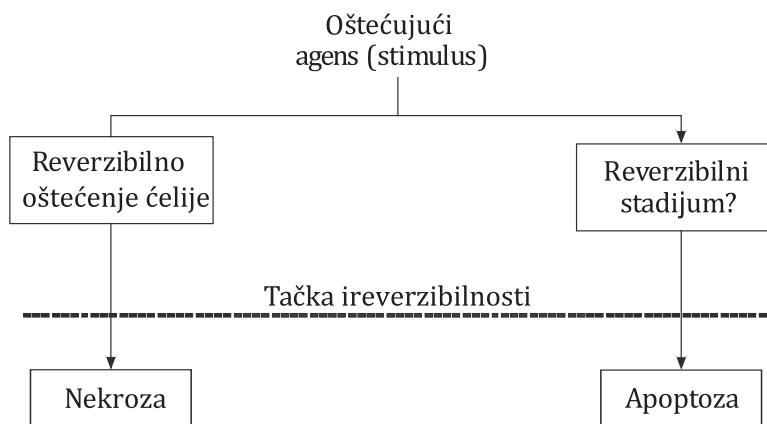
Metaplastija se obično dešava u reakciji na hroničnu iritaciju i zapaljenje, i označava zamenu ćelija koje su sposobnije da opstanu u uslovima u kojima bi mnogo osetljiviji ćelijski tip nastradao. Međutim, konverzija tipova ćelija nikad ne prelazi granice primarnih vrsta tkiva (npr. jedan tip epitelnih ćelija može biti konvertovan samo u drugi tip epitelnih ćelija, a nikako u ćelije vezivnog tkiva). Primer metaplastije jeste adaptivna zamena slojevitih pločastih epitelnih ćelijama sa orožavanjem (*squamous*) sa prostim cilindričnim cilijskim epitelnim ćelijama u traheji i velikim vazdušnim putevima u dugogodišnjih pušača duvana. Mada je epitel sa orožavanjem sposobniji za opstanak u ovakvim uslovima, zaštitna funkcija koju daje cilijski epitel time se gubi. Stalna izloženost uticajima koji prouzrokuju metaplastiju, još stvara dodatnu predispoziciju za transformaciju metaplastijskog epitela u kancerske ćelije.

**Displazija** (lat. *dis*, preobraćanje + grč. *plasis*, oblikovanje) karakteriše se promjenjenim ćelijskim rastom specifičnog tkiva čiji je rezultat variranje ćelija u veličini, obliku, i izgledu. Mali stepeni displazije udruženi su sa hroničnom iritacijom ili inflamacijom, što se često dešava sa metaplastiranim epitelom sa orožavanjem u respiratornom traktu i grliću materice.

Displazija se smatra prekursorom nastanka kancera. Slično razvoju kancera, displazija uključuje sekvencijalne mutacije u proliferišućoj ćelijskoj populaciji. Korisćenjem Papanikolau [Papanicolaou (Pap)] razmaza (Papanikolau test), dokazano je da se karcinom grlića materice razvija kroz seriju rastućih epitelnih promena od displazije do invazivnog kancera. Na osnovu ovih i drugih nalaza, displazija je sada uključena u morfološku klasifikaciju stadijuma intraepiteljnog kancera grlića materice, prostate i mokraćne bešike [6, 25]. Saglasno tome, jaka displazija se smatra indikacijom za agresivnu preventivnu terapiju sa otklanjanjem postojećeg uzroka ili hirurškim otklanjanjem zahvaćenog tkiva. Ipak se mora imati na umu da je displazija adaptivni proces i da kao takav ne mora dovesti do kancera. U mnogim slučajevima, displaziske ćelije vrate svoju predašnju normalnu strukturu i funkciju.

**Adaptivni odgovor** ponekad se može ispoljiti u formi nagomilavanja metaboličkih produkata u citoplazmi koji se ne mogu odmah iskoristiti ili rasporediti. Tako *intracelularne akumulacije* najčešće nastaju u lizozomima ili u jedru [20,21]. Te supstance mogu se podeliti na tri grupe: (1) normalne telesne supstance (lipidi, glikogen, proteini, pigmenti: melanin, bilirubin, i dr.); (2) nenormalni produkti, nastali usled urođenih ili stečenih grešaka u metabolizmu (abnormalni proteini, pigmenti, kalcifikati); i (3) produkti izvan organizma (strana tela ili agensi koje ćelije ne mogu da razlože) [20, 21]. Ako se pređu granice adaptivnog odgovora usled prekomernog podražaja, ili u ćelije budu izložene štetnom agensu ili stresu, nastaje oštećenje ćelije ili povreda. Oštećenje ćelije je *reverzibilno* do određene granice ili tačke, ali ako podražaj i dalje traje ili je prejak u odnosu na početni, ćelija nije u stanju da se vrati na normalu, pa nastaje *ireverzibilno* oštećenje i konačno smrt ćelije (Sl. 2.5) [18].

Adaptacija, *reverzibilno* oštećenje, i *ireverzibilno* oštećenje ili *smrt ćelije*, označavaju stadijume *progresivnog* oštećenja normalne funkcije i strukture ćelije [18]. Krajnji rezultat oštećenja ćelije, *smrt ćelije*, jedan je od najvažnijih događaja u razvoju bolesti, ili povrede tkiva ili organa. Uzroci takvog završetka mogu biti mnogobrojni, uključujući hipoksiju (grč. *hipo*, ispod + lat. *oxygenium*, kiseonik), ishemiju,



*SLIKA 2.5 Stadijumi u evoluciji oštećenja i smrti ćelije [18]; modifikovano.*

ju (grč. *ishein*, zaustaviti + *haima*, krv), infekciju, intoksikaciju, i imunske reakcije. Uzroci ćelijske povrede ili oštećenja, pa i smrti, mogu se grupisati u sledeće široke kategorije: (1) hipoksija; (2) fizički agensi (mehaničke sile, ekstremne temperature, električne i/ili elektromagnetne povrede); (3) hemijski agensi i lekovi; (4) biološki agensi; (5) jonizujuće zračenje; i (6) nutricioni imbalansi [20,21].

Mehanizmi kojima štetni faktori (agensi) prouzrokuju ćelijsko oštećenje ili smrt vrlo su kompleksni. Neki agensi, kao što je toplota, direktno oštećuju ćeliju, dok drugi, kao što su genski defekti stvaraju indirektno oštećenje preko metaboličkih poremećaja i izmenjenih imunskih odgovora. Štetni agensi najčešće deluju preko tri glavna mehanizma izazivajući svoje efekte kroz: (1) depleciju ATP; (2) formiranje slobodnih radikalima; i (3) poremećaj intracelularne homeostaze kalcijuma [20, 21].

*Deplecija ATP* (crpljenje ili trošenje ATP) i smanjenje sinteze ATP udruženo je sa hipoksijom i hemijskim (toksičnim) ćelijskim oštećenjem. Jedan od najranijih efekata redukcije ATP jeste akutna ćelijska nabubrelost prouzrokovana slabošću energetski zavisne  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATP-aza membranske pumpe, koja izbacuje  $3\text{Na}^+$ , a ubacuje  $2\text{K}^+$ . Kao rezultat poremećaja rada ove pumpe, intracelularna koncentracija  $\text{K}^+$  opada, a  $\text{Na}^+$  i  $\text{H}_2\text{O}$  raste, što dovodi do oštećenja funkcije ćelijskih organela, posebno mitohondrija, i povećanja permeabilnosti ćelijske membrane. Na ovoj tački, ćelijske promene prouzrokovane ishemijom još uvek su reverzibilne ako se obnovi oksigenacija. Ako do toga ne dođe, počinje disfunkcija i destrukcija enzima, proteina i RNK, uslovljena oštećenjem lizozoma usled povećanja permeabiliteta ćelijske membrane, pri čemu nastaju irreverzibilna oštećenja organela i ćelijska smrt.

*Formiranje slobodnih radikalima* propratna je pojava mnogih normalnih ćelijskih reakcija u telu, uključujući stvaranje energije, metabolizam lipida i proteina, i zapaljenske procese [20,21]. Stvaranje radikalova glavni je mehanizam uništavanja fagocitovanih mikroba pomoću leukocita. Molekularni  $\text{O}_2$  sa dva svoja slobodna elektrona glavni je izvor slobodnih radikalova. Tokom normalnog disanja,  $\text{O}_2$  se sekvencialno redukuje u mitohondrijama pomoću dodavanja četiri elektrona za

stvaranje vode ( $H_2O$ ). Tokom ovog procesa male količine delimično redukovanih intermedijarnih vrsta konvertuju se u slobodne radikale pomoću oksidativnih enzima u citoplazmi, endoplazmatskom retikulumu, mitohondrijama, lizozomima, peroksizomima, i plazmamembrani. Ove reaktivne kiseoničke vrste [*reactive oxygen species (ROS)*] uključuju superoksidni anjon ( $O_2^-$ ), vodonik peroksid ( $H_2O_2$ ), i hidroksidni radikal ( $\bullet OH$ ). Prelazni metali, kao što su gvožđe (Fe) i bakar (Cu), koji mogu primiti ili dati slobodne elektrone tokom intracelularnih reakcija, takođe su izvori slobodnih radikala (ROS).

Mada su efekti ovih ROS vrlo rašireni, tri tipa efekata jesu posebno važni u oštećenju ćelije: lipidna peroksidacija, oksidativna modifikacija proteina, i efekti na DNK [20,21]. U normalnim okolnostima, većina ćelija ima hemijske mehanizme za zaštitu od štetnih efekata ROS. Ovi mehanizmi obično se prekidaju kada ćelija prima manje  $O_2$  ili je izložena nekim hemijskim agensima, radijaciji, ili drugim štetnim faktorima. Formiranje ROS posebno se dešava pri obnavljanju krvotoka nakon hipoksije, ishemije, odnosno reperfuzije [27]. Tokom perioda oštećenja krvotoka, intracelularni mehanizmi koji kontrolisu ROS inaktiviraju se ili oštećuju. Kada se obnovi krvotok, ćelije se naglo izlažu višku ROS koje ne mogu da kontrolisu. Najmoćniji zaštitni mehanizmi čistači viška ROS jesu *antioksidansi*, koji uključuju vitamine C, E, i A [18].

*Poremećaj intracelularne homeostaze kalcijuma* vrlo je moguć zato što su koncentracije intracelularnog  $Ca^{2+}$  ekstremno niske u poređenju sa ekstracelularnim. Ovako nizak nivo se održava pomoću energetski zavisnog membranskog  $Ca^{2+}/Mg^{2+}$  ATP-aza sistema razmene [18, 20, 21]. Ishemija i neki toksini dovode do povećanja citosolnog  $Ca^{2+}$  zbog povećanja influxa kroz ćelijsku membranu i oslobađanja  $Ca^{2+}$  iz depoa u mitohondrijama i endoplazmatskom retikulumu. Ovo povećanje  $Ca^{2+}$  aktivira brojne enzime sa potencijalnim štetnim efektima, uključujući fosfolipaze (oštećuju ćelijsku membranu), proteaze (oštećuju citoskelet i membranske proteine), ATP-aze (remete proizvodnju ATP i vode njegovom iscrpljenju), i endonukleaze (razlažu hromatin u jedru).

**Ćelijska smrt** normalan je sastavni deo života, počev od razvoja zametka ili embriona (embriogeneza), razvoja organa (organogeneza), pa do održavanja homeostaze, odnosno homeokinezе ili alostaze. Postoje dve glavne forme ćelijske smrти: nekroza i apoptoza.

**Nekroza** (grč. *nekros*, mrtav) patološki je proces koji predstavlja zadesnu smrt ćelije u tkivu ili organu koji se javlja u još uvek žive osobe [20, 21]. Nekroza je uvek patološki tip ćelijske smrти koji se dešava nakon takvih abnormalnih stresova, kao što su infekcija, ishemija, hemijsko ili fizičko oštećenje. Nekrotične ćelije bubre, prskaju, pri čemu se oslobađa njihov sadržaj u vanćelijski prostor. Makrofagi procesom fagocitoze unose u sebe nekrotične ćelijske produkte i nakon toga sekretuju molekule koji aktiviraju druge ćelije imunske odbrane koje će *izazvati* zapaljenje ili inflamaciju tkiva [5, 20, 21]. Za razliku od apoptoze, kojom se odstranjuju ćelije i zamenjuju novim, nekroza je često udružena sa zamenom drugim ćelijama i tkivnom regeneracijom.

*Likvefakciona* (razmekšavajuća) nekroza dešava se kada neke ćelije umru, ali se njihovi katalitički enzimi ne razgrade, nego i dalje deluju na okolne ćelije, kao što je slučaj u razmekšavanju i provaljivanju gnojnica (apscesa).

*Koagulaciona* (zgrušavajuća) nekroza razvija se zbog razvoja kiselosti (acidoze) i denaturisanja enzimskih i strukturnih proteina ćelije, što se dešava u hipoksičnoj povredi koja izaziva infarkt.

*Kazeozna* (sirasta) nekroza završna je forma koagulacione nekroze, koja se često javlja sa tuberkulznim lezijama i nekim imunskim reakcijama.

Pri masivnim nekrotičnim promenama tkiva javlja se *gangrenozna* nekroza (*gangrena*) bilo suva ili vlažna. *Gasna gangrena* specijalan je tip gangrene koja je posledica infekcije nekrotičnog tkiva jednom od vrsta anaerobnih sporogenih (*Clostridium*) bakterija, koje, pored ostalih toksičnih supstanci, proizvode u mišićima vodonik sulfid ( $H_2S$ ) u obliku mehurića [21].

**Apoptoza** (grč. *apo*, odvojeno + *ptosis*, spad, spuštanje) se dešava kada ćelije umiru kroz aktivaciju unutrašnjeg genetski kontrolisanog samoubilačkog programa. Ona služi za odstranjanje nepotrebnih ćelija tokom embriogeneze i kasnije u raznim fiziološkim procesima, kao što je involucija hormon-senzitivnih tkiva usled povlačenja ili nestanka hormona. Apoptoza se takođe dešava u određenim patološkim situacijama, kada se ćelije oštećuju nakon oporavka (reparacije), i posebno ako oštećenje zahvati ćelijsku jedarnu DNK.

Tokom apoptoze dolazi do niza procesa počev od kondenzovanja hromatina i smanjenja ćelije, pa do destrukcije ćelije [20, 21]. Nakon kondenzovanja, hromatin se fragmentiše pomoću DNK endonukleaza. Tokom apoptoze u ćelijama se pojavljaju velike citoplazmatske vezikule (*apoptotska tela*), koja se otkidaju od ćelijske površine. Apoptotska tela, okružena ćelijskom membranom, bivaju fagocitovana makrofagima. Za razliku od fagocitovanih nekrotičnih supstanci, u makrofagima apoptotska tela ne indukuju sintezu molekula koji pokreću inflamatorne procese. Apoptoza ne aktivira mehanizme zapaljenja, pa krajnji rezultat apoptoze *nije* praćen inflamacijском reakcijom tkiva [5].

Apoptoza se indukuje pomoću kaskade molekularnih procesa koji mogu biti indukovani raznim faktorima i prenešeni na familiju proteza zvanu *kaspaze*. Proces apoptoze može se podeliti na *inicijacionu fazu*, tokom koje se kaspaze aktiviraju, i *egzekucionu fazu*, tokom koje one deluju prouzrokujući ćelijsku smrt [23].

Većina ćelija tela može da aktivira svoj apoptotski program ukoliko se dese velike promene u njihovoј DNK, kao što se zbiva pre pojave tumora, kada je već došlo do akumulacije brojnih mutacija. Na taj način, apoptoza sprečava proliferaciju malignih ćelija koje nastaju kao posledica akumuliranih mutacija u DNK. Da bi se formirao klon i razvio tumor u malignim ćelijama, moraju da se deaktivisu geni koji kontrolišu proces apoptoze [5], kao što je *tumorski supresor gen p53*. Aktivacija tumorskog supresor p53 gena pomoću oštećenja DNK ili na drugi način, inicira unutrašnji, mitohondrijalni put apoptoze, kao što se dešava i pri aktivaciji spoljašnjeg ili transmembranskim receptorima iniciranog (preko *domena smrti*) puta, što aktivira kaspaze i prouzrokuje smrt ćelije [20, 21].

Apoptoza može biti uključena u mnogobrojne patološke procese. Kao što je već pomenuto, supresija apoptoze može biti prouzrokovati rast karcinoma, nekih virusnih infekcija (kao što su hepatitis B i C), degenerativnih oboljenja, termalnih i radijacionih oštećenja [20, 21].

Razne vrste stresora mogu prouzrokovati drukčije promene u ćelijama i tkivima, različite od adaptacije, oštećenja ćelije, i smrti ćelije (Tabl. 2.2) [18].

Ćelije koje su izložene subletalnim ili hroničnim stresorima ne moraju biti oštećene, već mogu pokazivati razne *subcelularne alteracije*. Metabolički poremećaji u ćelijama mogu biti udruženi sa *intracelularnim akumulacijama* brojnih supstanci, uključujući proteine, lipide, i ugljene hidrate. Kalcijum se često deponuje na mestima ćelijske smrti, čiji je rezultat patološka kalcifikacija.

*Ćelijsko starenje* praćeno je karakterističnim funkcionalnim i morfološkim promenama, prouzrokovanim opadanjem i postepenim gašenjem mnogobrojnih ćelijskih procesa. Oksidativna fosforilacija u mitohondrijama biva redukovana, kao i sinteza nukleinskih kiselina i strukturnih i funkcionalnih proteina, ćelijskih receptora, i transkripcionih faktora. Na funkcionalnom nivou, javlja se opadanje mišićne snage, srčane rezerve, vremena nervne sprovodljivosti, vitalnog kapaciteta pluća, brzine glomerularne filtracije, i vaskularne elastičnosti [20, 21].

## 2.2 TKIVA

**Tkiva** predstavljaju grupisane slične vrste ćelija, koje mogu da obavljaju iste ili slične funkcije. Ćelije sa sličnim embrionalnim poreklom ili funkcijom često se organizuju u veće funkcionalne jedinice zvane *tkiva*. Većina specijalizovanih ćelija udružena sa drugim ćelijama slične vrste formiraju tkiva. Kombinacije tkiva stvaraju razne telesne strukture ili organe.

Potrebno je napomenuti da se termin „tkivo“ koristi u razne svrhe. Tkivo se može formalno definisati kao grupa pojedinačnih specijalizovanih ćelija. Međutim, ovaj termin takođe se često koristi da označi opštu ćelijsku osnovu za neki organ ili strukturu, kao npr. plućno tkivo ili bubrežno tkivo, od kojih svako uobičajeno sadrži sve četiri klase tkiva. Tako se i organi sastoje od četiri vrste tkiva zastupljene u raznim proporcijama i oblicima: omotači, tube, slojevi, snopovi, trake, itd.

### 2.2.1 Fiziološka organizacija i funkcija tkiva

U svim tkivima, ćelije se udružuju tokom embrionalnog razvoja i povezuju u grupe pomoću specifičnih međućelijskih i ćelijsko-matriksnih interakcija. Svaki tip tkiva ima različit obrazac strukturne organizacije adaptirane za njegovu posebnu funkciju, na koju strogo utiču metabolički i/ili mehanički faktori.

Tkiva se sastoje od ćelija i intercelularnog prostora ispunjenog ekstracelularnim matriksom i tkivnom tečnošću. Ćelije su okružene tkivnom tečnošću preko

koje putem krvi i limfe ostvaruju svoje životne potrebe. Ključni faktor embrionalnog razvoja, organizacije i funkcije svakog tkiva je adekvatna snabdevenost tkivnim tečnostima. Krv kao tečno vezivno tkivo je opšti povezivač i glavni snabdevač celularnog i ekstracelularnog prostora sa vodom, hranljivim materijama, i  $O_2$ , a istovremeno i glavni odstranjivač nepotrebnih metaboličkih produkata i  $CO_2$ . Glavna funkcija limfe je odstranjivanje viška međućelijske ili intersticijumske (lat. *interstitium*, međuprostor) tečnosti sa ćelijskim sastojcima i proteinima iz perivaskularnog vezivnog tkiva i njeno transportovanje nazad u krv. Snabdevenost krvotokom i limfotokom je jedan od ključnih uslova koji svako tkivo mora obezbediti da bi moglo normalno funkcisati i opstati. Perfuziju tkiva obezbeđuje svojim neprekidnim radom srce kao pumpa, vršeći distribuciju krvi kroz sudovni sistem (arterija i vena) i razgranatu mrežu kapilara preko kojih se vrši razmena supstanci između krvi i tkiva. Srce pumpa krv na mahove, ritmičkom kontrakcijom komora (sistola), koja se ubacuje u aortu i pulmonalnu arteriju, šireći distalne arterijske sudove i sužavajući ih tokom relaksacije komora (diastola). Krv se kreće kroz početne velike krvne sudove veoma brzo ( $50\text{ cm/s}$  u aorti), usporavajući se postepeno sa sužavanjem sudovnog promera do završnih delova arteriola i prekapilarnih sfinktera, odnosno kapilara ( $0,1\text{ cm/s}$ ) [28].

Jedna arteriola obično daje tri kapilara koja služe za ishranu određene grupe ćelija, od kojih je normalno otvoren samo jedan, dok su ostala dva zatvorena, što znači da 80% svih kapilara u perifernoj cirkulaciji normalno je zatvoreno pomoću prekapilarnih sfinktera [29]. Kapilari se otvaraju u odgovoru na potrebe ćelija, pod uticajem lokalnih homeokinetskih (alostatskih) regulatornih mehanizama, od kojih su najznačajniji koncentracija molekula  $O_2$ , i koncentracija jona  $H^+$ , odnosno pH. Kako difuzioni limit  $O_2$  iznosi  $100\text{--}200\text{ }\mu\text{m}$  i nije moguć izvan te razdaljine, u većini tkiva sa intenzivnim metabolizmom, ćelije koje su dalje počinju da trpe usled hipoksije (smanjenja  $O_2$ ), što predstavlja stimulaciju za vazodilataciju ili novo stvaranje krvnih sudova zvano *angiogeneza* [30]. Zavisno od stepena kontrakcije distalnih sudova, distalne arteriole i prekapilarni sfinkteri kontrolišu distribuciju i tkivni protok krvi između raznih kapilarnih mreža i obezbeđuju regulaciju krvnog pritiska. Krv se vraća u srce venskim sistemom, počev od venula pa do najvećih vena, osiromašena sa  $O_2$  i nutrientima (izuzev u plućnim venama, gde je obrnuto), a obogaćena sa  $CO_2$  i nepotrebnim metaboličkim produktima (kao što je u plućnoj arteriji).

Krv je glavni regulator dinamičke ravnoteže između ekstracelularnog i intracelularnog prostora, mada se vanćelijska tečnost nalazi na dva mesta: oko ćelija i u krvnim i limfnim sudovima. Oko 80% ekstracelularne tečnosti okružuje sve telesne ćelije izuzev krvnih ćelija. Zato što se nalazi između ćelija, ovih 80% vanćelijske tečnosti naziva se *intersticijumska tečnost* (ili *intercelularni fluid*). Ostatak od 20% vanćelijske tečnosti nalazi se u sudovnom sistemu i čini tečni deo krvi (*plazma*), u kojoj „plivaju“ ćelije krvi.

Voda čini oko 60% telesne težine, zavisno od uzrasta (u novorođenčeta do 75%, sa starenjem opada, do 45% u dubokoj starosti); dve trećine ove vode je intracelularno, a jedna trećina je u ekstracelularnom prostoru, većinom kao intersticijumska tečnost, a od toga samo oko 5% ukupne vode tela (ili 20% od vanćelijske tečnosti)

je u krvnoj plazmi [31]. Krv stalno cirkuliše pomoću rada srca kao pumpe, tako da plazma i krvni elementi stalno razmenjuju O<sub>2</sub>, nutiente, otpadne i ostale mataboličke produkte sa intersticijumskom tečnošću koja okružuje najmanje krvne sudove. Zbog takve razmene, koncentracija rastvorenih supstanci u ova dva prostora praktično je identična, izuzev veće koncentracije proteina u plazmi. Međutim, sastav ekstracelularne u odnosu na intracelularnu tečnost bitno se razlikuje (Tabl. 2.3) [32].

*TABELA 2.3 Približan sastav rastvora glavnih odeljaka tečnosti u ljudskom organizmu [32]*

Rastvor	Plazma	Plazma bez proteina	Intersticijum	Ćelija
Na <sup>+</sup> (mmol)	142	153	145	15
K <sup>+</sup> (mmol)	4,4	4,7	4,5	120
Ca <sup>2+</sup> (mmol)	1,2 (jonizovan) 2,5 (ukupan)*	1,3 (jonizovan)	1,2 (jonizovan)	0,0001 (jonizovan)
Mg <sup>2+</sup> (mmol)	0,6 (jonizovan) 0,9 (ukupan)*	0,6 (jonizovan)	0,55 (jonizovan)	1 (jonizovan) 18 (ukupan)
Cl <sup>-</sup> (mmol)	102	110	116	20
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mmol)	22**	24	25	15
H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> i HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mmol)	0,7 (jonizovan) 1,4 (ukupan)***	0,75 (jonizovan)	0,8 (jonizovan)	0,7 (slobodan)
Proteini	7 g/dl 1 mmol/l 14 meq/l	-	1 g/dl	30 g/dl 4 mmol/l
Glukoza (mmol)	5,5	5,9	5,9	vrlo mala
pH	7,4	7,4	7,4	~7,2
Osmolalnost (mOsm/kg H <sub>2</sub> O)	291	290	290	290

Skraćenice i objašnjenja: \*Ukupan uključuje količine jonizovanog, u kompleksu sa malim rastvaračem, i protein-vezan; \*\*Arterijska koncentracija; koncentracija u mešano-venskoj krvi iznosi oko 24 mmol; \*\*\*Koncentracije ukupnih plazma neorganskih fosfata nisu tačno regulisane i variraju ozmeđu 0,8 i 1,5 mmol.

Adekvatno opštim kategorijama diferenciranih ćelija i njihovim specifičnim svojstvima, postoje četiri opšte klase tkiva [13]: (1) epitelno tkivo; (2) vezivno tkivo; (3) mišićno tkivo; i (4) nervno tkivo (Tabl. 2.4) [5, 13, 28]. Ova tkiva, formirana od ćelija i molekula ekstracelularnog matriksa (ECM), ne postoje samostalno, već se na razne načine udružuju i formiraju organe i organske sisteme. U organizmu postoje i slobodne ćelije, koje se nalaze u tkivnim tečnostima, kao što su krv i limfa.

TABELA 2.4 Glavne karakteristike četiri osnovne klase tkiva [5, 28]

Osnovno tkivo	Ćelije	Ekstracelularni matriks	Glavne funkcije	Primeri
Epitelno	Priljubljene višegaone ćelije	Vrlo mala količina	Oblaganje površina i telesnih šupljina; sekrecija	Mnogobrojni
Veživno	Nekoliko tipova fiksnih i lutajućih ćelija	Velike količine	Potpore i zaštita	Mnogobrojni
Mišićno	Izdužene kontraktilne ćelije	Umerene količine	Pokretljivost	Mnogobrojni
Nervno	Isprepletani produžeci neurona; glijalne ćelije	Neznatne količine	Transmisija nervnih impulsa; potpora, ishrana i odbrana	Moždane nervne i glijalne ćelije; periferni nervi

Najveći broj organa, koje grade razna tkiva, čine dve osnovne komponente: *parenhim*, koji je sastavljen od ćelija odgovornih za glavne funkcije tipične za taj organ, i *stroma*, koja predstavlja potporno tkivo. Osim mozga i produžene moždine, stroma drugih organa građena je od vezivnog tkiva.

## 2.2.2 Građa i funkcija tkiva

**Epitelno tkivo ili epitel** (grč. *epi*, iznad + *thele*, bradavica) čini skup ćelija između kojih postoje veoma uski međućelijski prostori sa malo međućelijske supstance. Epitelno tkivo je tipično celularno tkivo, jer njegovu masu većinom sačinjavaju ćelije. Ipak se može naći tanak sloj glikoproteina (*glikokaliks*) koji pokriva neke epitele. Glikokaliks učestvuje u povezivanju epitelnih ćelija i u nekim važnim funkcijama ćelije, kao što je pinocitoza, ali nije karakterističan za epitele, jer se nalazi i u drugim tkivima (mišićnom, nervnom) [5, 13].

Epitelno tkivo pokriva telesne, spoljašnje (pokrovni epitelii) i unutrašnje (zastorni epitelii), površine tela, ali ne i sinovijalne zglobne prostore i burze zglobova, koji su pokriveni modifikovanim ćelijama vezivnog tkiva. Epiteli formiraju i egzokrine (grč. *exo*, spolja + *krinein*, izlučiti) i endokrine (grč. *endo*, unutra + *krinein*, izlučiti) žlezde (žlezdani epitelii), urastanjem niza ćelija u vezivno tkivo ispod njih i formiranjem invaginacija i šupljina, okrenutih napolje (egzokrine žlezde) ili okrenutih unutra (endokrine žlezde). Otuda podela epitelnog tkiva na dve velike grupe: (1) pokrovne i zastorne; i (2) žlezdane epitele [5, 13].

Sva tri klinična lista vode poreklo od epitela. Tako se epiderm formira od ektoderma, vaskularni endotel od mezoderma, i gastrointestinali trakt od endoderma. Zbog male mase međućelijske supstance, međućelijska komunikacija uglavnom je

svedena na međućelijske spojeve između istih ili drugih ćelija. Epitel je tip avaskularnog tkiva (bez krvnih sudova) i komunikacija sa krvotokom se obavlja preko perivaskularnog vezivnog tkiva ispod epitela.

Epitelno tkivo ima razne funkcije. Na površini tela ima zaštitnu ulogu: su-protstavlja se mehaničkim pritiscima i sušenju (npr. suvi epitel kože). U manje izloženim delovima, kao što su zatvorene telesne duplje, slabije je podložan mehaničkim pritiscima, pa svojom glatkom, vlažnom površinom (vlažni epitel) omogućava lako kliženje organa (npr. epitel spoljašnje površine creva). Na nekim mestima epitel je prilagođen za veće promene površine, kao što je slučaj u mokraćnoj bešici. U vezi sa funkcionalnim zahtevima postoji i razlika u strukturama epitela. Primer za to je modifikacija slobodnih površina nekih epitelnih ćelija u obliku tankih citoplazmatskih produžetaka (mikrovili), koji se nalaze na površini absorptivnih ćelija epitela creva, znatno povećavajući absorpciju.

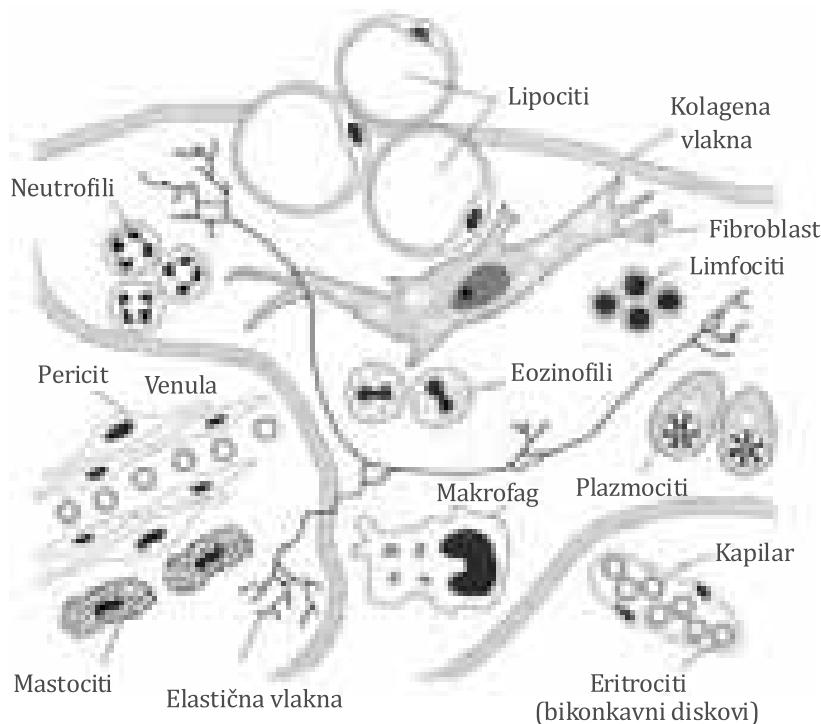
Većina epitela je smeštena u prostoru između tela i spoljašnje i unutrašnje sredine. Rastvarači, rastvori, metaboličke supstance, i gasovi pasivno se absorbuju ili aktivno transportuju kroz epitele (intestinalni, pulmonalni, i tubularni epitel, vaskularni endotel). Epiteli su specijalizovani za zaštitu i održavanje sastava unutrašnje sredine, čineći ćelijsku barijeru prema spoljašnjoj (epiderm) i unutrašnjoj (epitel creva) sredini. Epitelne ćelije imaju sposobnost sekrecije, bilo u obliku luminalnog epitelijalnog sloja (gastroične ćelije), ili u formi egzokrinih žlezda, koje izljučuju svoj sadržaj preko izvodnih kanala u spoljašnju sredinu, ili endokrinih žlezda, koje svoje hormone sekretuju direktno u krv.

Epitelno tkivo je veoma otporno na mehaničke pritiske, rastezanje i druga dejstva mehaničkih sila. Ova otpornost je posledica postojanja unutrašnje potporne strukture (citoskeleta) i snažne međusobne povezanosti epitelnih ćelija. Cito-skelet čine fini filamenti raspoređeni u citoplazmi epitelnih ćelija. Mikrofilamenti su posebno mnogobrojni u epidermalnim ćelijama, gde se nastavljaju u specijalne strukture intercelularnih spojeva.

**Vezivno tkivo** je nosilac funkcije i građe organizma. Ono povezuje ćelije i organe i daje im konačan izgled i mehaničku potporu. Vezivno tkivo grade tri glavne komponente: (1) ćelije; (2) vlakna; i (3) osnovna supstanca (Sl. 2.6 i 2.7). Za razliku od drugih vrsta tkiva (epitelnog, mišićnog, nervnog), koja se pretežno sastoje od ćelija, glavni sastojak vezivnog tkiva je *međućelijska supstanca* (vanćelijska supstanca) ili ekstracelularni matriks (ECM) (Tabl. 2.4) [5,28]. ECM je izgrađen od raznih kombinacija *proteinskih vlakana* (kolagenih, retikularnih i elastičnih) i *osnovne supstance*.

Vlakna vezivnog tkiva, pretežno građena od kolagena, izgrađuju tetine, aponeuroze, kapsule organa i omotače centralnog nervnog sistema (*meninge*). One izgrađuju i pregrade i zidove unutrašnjih organa, stvarajući najotporniji deo *strome* (potporno tkivo) tih organa.

**Osnovna supstanca** je veoma hidrofilna, viskozna mešavina anjonskih makromolekula (glikozaminoglikana i proteoglikana) i multiadhezivnih glikoproteina (laminina, fibronektina, i dr.) koji smanjuju čvrstinu i krutost matriksa vezivanjem za receptorske proteine (integrine) na površini ćelija ili na drugim sastavnim delovima



*SLIKA 2.6 Šematski prikaz rastresitog vezivnog tkiva sa nekim osnovnim komponentama vezivnog tkiva: vlaknima, stalnim ćelijama, i prolaznim ćelijama [13], modifikovano.*

ECM (Sl. 2.7) [13]. Pored strukturne uloge, molekuli vezivnog tkiva ostvaruju i druge važne funkcije, kao što je deponovanje hormona koji kontrolišu rast i deferencijaciju. Međućelijska supstanca vezivnog tkiva služi kao posrednik između ćelija i krvi, preko koje se razmenjuju hranljive materije i otpadni produkti metabolizma.

Različit raspored i količina tri osnovne komponente vezivnog tkiva (ćelije, vlakna, osnovna supstanca), omogućava veliku raznolikost u građi, funkciji i patološkim promenama vezivnog tkiva u organizmu.

Vezivna tkiva se razvijaju od *mezenhima*, embrionalnog tkiva izgrađenog od izduženih *mezenhimske ćelije* [5, 13]. Mezenhim se razvija uglavnom od središnjeg klinog lista, mezoderma. Mezodermalne ćelije putuju (migriraju) sa mesta gde su nastale do organa u razvoju, okružuju ga i ulaze u njega. Osim ćelija svih vrsta vezivnog tkiva, od mezenhima se razvijaju i krvne, endotelne i mišićne ćelije [5].

**Ćelije vezivnog tkiva** su mnogobrojne i imaju različito poreklo i funkciju (Tabl. 2.5) [5], (Sl. 2.6) [13]. Fibroblasti potiču od nediferenciranih mezenhimskih ćelija vezivnog tkiva i trajno ostaju na mestu svog nastanka (stalne ćelije). Druge ćelije, kao mastociti, makrofagi, i plazmociti, vode poreklo od hematopoetskih matičnih ćelija u kostnoj srži, cirkulišu u krvi i dospevaju do vezivnog tkiva, gde se zadržavaju i ostvaruju svoju ulogu. Leukociti, koji su prolazni stanovnici vezivnog tkiva, takođe, potiču iz kostne srži. Oni dospevaju do vezivnog tkiva krvotokom gde ostaju nekoliko dana, a potom umiru.

TABELA 2.5 Funkcija ćelija vezivnog tkiva [5]

Vrsta ćelija	Glavni proizvodi i/ili funkcije	Glavna funkcija
Fibroblast, hondroblast, osteoblast	Proizvodnja vlakana i osnovne supstance	Strukturna (vezivno, hrskavično i kostnoz-globno tkivo)
Plazmocit	Proizvodnja antitela	Imunska (odbrana)
Limfocit (nekoliko vrsta)	Proizvodnja imunokompetentnih ćelija	Imunska (odbrana)
Eozinofilni leukocit	Učešće u alergijskim reakcijama i reakciji krvnih sudova, modulacija funkcija mastocita i zapaljenskih procesa	Imunska (odbrana)
Neutrofilni leukocit	Fagocitoza stranog materijala i bakterija	Odbrana
Mastocit, bazofilni leukocit	Oslobađanje biološki aktivnih supstanci	Odbrana
Makrofag	Sekrecija citokina i drugih molekula, fagocitoza stranog materijala i bakterija, obrada antigena i njegova prezentacija drugim ćelijama	Odbrana (učešće u alergijskim reakcijama)
Adipocit	Deponovanje neutralnih masti	Strukturna (masno tkivo). Rezervoar energije; proizvodnja toplove

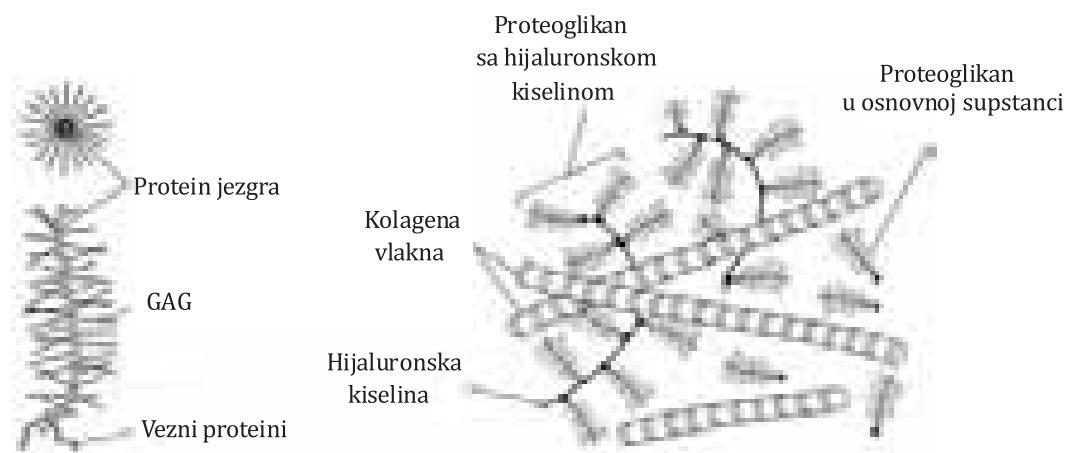
**Vlakna vezivnog tkiva** jesu dugi polimeri proteina, koje čine kolagena, retikularna i elastična vlakna. Kolagena i retikularna vlakna građena su od belančevine kolagena, a elastična vlakna pretežno od belančevine elastina. Ova vlakna nejednakno su zastupljena u raznim vrstama vezivnog tkiva. U suštini, postoje dva sistema vlakana u vezivnom tkivu: (1) sistem kolagena (kolagena i retikularna vlakna); i (2) elastični sistem (elastična, elauninska i oksitalanska vlakna). Vrsta vlakana koja preovladava često određuje posebna svojstva vezivnog tkiva.

Sistem kolagena čine kolagena i retikularna vlakna. Kolagena vlakna čine mnogobrojna vlakna od kojih su najvažnija u koži, kosti, hrskavici, glatkim mišićima i bazalnoj lamini. Kolageni su jedna od najrasprostranjenijih grupa proteina (više od 25 tipova) u organizmu čoveka, jer čine 30% suve mase tela [5]. Na osnovu građe i funkcije, kolageni se razvrstavaju u više grupe. Kolageni koji formiraju duga vlakna spajanjem molekula kolagena jesu kolageni tipa I, II, III, V, XI, dok kolageni povezani sa vlaknima (vezuju glikozaminoglikane; povezuju vlakna tipa I i tipa II) jesu kolageni tipa IX, XII i XIV [5]. Vlakna kolagena tipa I najzastupljenija su u telu, dajući tkivima otpornost na pritisak, a na mnogim mestima paralelno su raspoređena u snopove kolagenih vlakana, čime se to svojstvo pojačava. Retikularna vlakna, građena uglavnom od kolagena tipa III, iako povezana sa drugim tipovima

kolagena, glikoproteinima i proteoglikanima, vrlo su tanka vlakna koja stvaraju raširenu mrežu u mnogim organima.

Elastični sistem ili sistem elastičnih vlakana izgrađen je od oksitalanskih, elauinskih, i elastičnih vlakana. Oksitalanska vlakna (grč. *oxys*, tanak) povezuju fine strukture oka (spajaju cilijarni nastavak sa sočivom), derm sa bazalnom lamom kože [5]. Nisu elastična, jer nemaju elastin, ali su vrlo otporna na sile istezanja, zahvaljujući molekulima fibromodulina I i II, i fibrilina u svom sastavu. Elauinska vlakna (grč. *elaunem*, kretanje) jesu nezrela elastična vlakna prelaznog tipa, koja se nalaze u dermu kože. Elastična vlakna sadrže elastin, nastao od proelastina, kojeg stvaraju fibroblasti i vaskularne epitelne ćelije, zbog čega su ova vlakna po sastavu glicina i prolina slična kolagenu, ali elastin ima svoje specifične aminokiseline, dezmozin i izodezmozin, nastale od lizina [5]. Zahvaljujući dezmozinu i izodezmozinu, elastinska mreža ukrštenih vlakana je po rastegljivosti slična gumi.

**Osnovna supstanca vezivnog tkiva** jeste međućelijska supstanca, koju čini složena mešavina makromolekula, glikoproteina i proteoglikana sa velikom količinom vezane vode (Sl. 2.7) [13]. Ona ispunjava prostore između ćelija i vlakana vezivnog tkiva i zbog svoje viskoznosti služi za podmazivanje i kao prepreka uloženju u tkiva stranih čestica. Osnovnu supstancu izgrađuju tri vrste sastojaka: (1) glikozaminoglikani; (2) proteoglikani; i (3) multiadhezionali glikoproteini [5, 13]. *Glikozaminoglikani* (GAG), koji su se nekada nazivali *kiseli mukopolisaharidi*, nerazgranati su polisaharidni lanci sastavljeni od disaharidnih jedinica, izgrađenih od uronske kiseline i heksozamina. Heksozamin u sastavu disaharida može biti *glukozamin* ili *glakatozamin*, a uronska kiselina može biti *glukuronska* ili *iduronska kiselina*. Sa izuzetkom hijaluronske kiseline, nerazgranati lanci GAG kovalentno su vezani za središnji proteinski lanac, s kojim grade molekul proteoglikana [5]. Zbog obilja hidroksilnih, karboksilnih i sulfatnih grupa na ugljenohidratnim delovima, proteoglikani su vrlo hidrofilni i deluju kao polianjoni. Osim hijaluronske kiseline, svi ostali GAG su u zrelog obliku donekle sulfatisani. U proteoglikanima preovladava ugljenohidratni deo i čini 80–90% težine ovog molekula [5]. Zbog ovakvih svojstava



SLIKA 2.7 Osnovna supstanca vezivnog tkiva [13], modifikовано; GAG, glikozaminoglikani

proteoglikani mogu da vezuju veliki broj katjona (obično  $\text{Na}^+$ ) pomoću elektrostatičkih (jonskih) veza. Proteoglikani su veoma hidratisani, i oko molekula poseduju širok sloj vezanih molekula vode ( $\text{H}_2\text{O}$ ). Kada su potpuno hidratisani, oni ispunjavaju mnogo veći prostor, nego u nehidratisanom stanju i pokazuju veći viskozitet.

Proteoglikani se sastoje od središnjeg proteinskog lanca na kojeg su vezana četiri osnovna GAG: dermatan-sulfat, hondroitin-sulfat, keratan-sulfat, i heparan-sulfat [5, 13]. Proteoglikani su trodimenzionalna struktura koja se može uporediti sa četkicom za pranje epruveta, na kojoj bi žica u sredini odgovarala središnjem proteinu, a dlačice kovalentno vezanim molekulima GAG. Proteoglikani sadrže veću količinu ugljenih hidrata od glikoproteina, globularnih proteinskih molekula za koje su kovalentno vezani lanci monosaharida [5]. U hrskavici, molekuli proteoglikana vezani su za lanac hijaluronske kiseline, pa stvaraju još veće molekule, *proteoglikanske aggregate*. Kisele grupe proteoglikana uzrokuju njegovo vezivanje za bazne aminokiselinske grupe kolagena.

Proteoglikani se međusobno razlikuju po raznovrsnosti svojih molekula i mogu biti lokalizovani u citoplazmatskim granulama (kao što je npr. heparin u mastocitima), na površini ćelija i u ECM.

*Multiadhezioni glikoproteini* građeni su od proteinske osnove na koju su vezani ugljeni hidrati. Za razliku od proteoglikana, kod njih preovladava proteinski deo i njihovi molekuli ne sadrže linearne polisaharidne lance sastavljene od disaharida, koje izgrađuju heksozamini. Umesto toga, ugljenohidratni deo glikoproteina je često razgranat (Sl. 2.7).

Iz vezivnog tkiva izolovano je nekoliko glikoproteina koji imaju važnu ulogu u uzajamnom odnosu ne samo susednih zrelih ćelija, već i embrionalnih ćelija, ali isto tako i u pričvršćivanju (adheziji) ćelija za podlogu. *Fibronektin* (lat. *fibra*, vlakno + *nexus*, spoj) jeste glikoprotein kojeg sintetišu fibroblasti i neke epitelne ćelije. Ovaj molekul ima posebna vezna mesta za ćelije, kolagen, i GAG. Ta svojstva čine fibronektin posrednikom u adheziji i migraciji ćelija. *Laminin* jeste veliki glikoprotein koji učestvuje u adheziji epitelnih ćelija za bazalnu laminu, strukturu bogatu lamininom [5, 13].

Uzajamno delovanje ćelija i ECM ostvaruje se učešćem površinskih ćelijskih molekula (*matriksnih receptora*) koji se vezuju za kolagen, fibronektin i laminin. Ovi receptori su *integrini* i pripadaju familiji transmembranskih vezujućih proteina. Integrini se vezuju sa relativno niskim afinitetom za svoje ligande u ECM, što omogućava ćeliji da ispita svoju okolinu bez gubitka povezanosti sa njom ili potrebe da se za nju pričvrsti. U stvari, integrini reaguju sa citoskeletom, obično sa aktinskim mikrofilamentima. Nekoliko intracelularnih proteina posreduje u uzajamnom delovanju integrina, ECM, i elemenata citoskeleta, uključujući *paksilin*, *vinkulin*, i *talin* [5]. Interakcije između ECM i citoskeleta, u kojima posreduju integrini, dvosmerne su i imaju važnu ulogu u orijentaciji u tkivu, kako ćelija, tako i delova ECM [5].

**Tkivna tečnost**, mada u maloj količini, postoji u vezivnom tkivu, i po svom sadržaju jona i difuzibilnih materija slična je krvnoj plazmi. Tkivna tečnost sadrži proteine plazme male molekulske mase, koji su prošli kroz zid kapilara kao posledica hidrostatskog pritiska krvi. Iako samo mali deo vezivnog tkiva sadrži proteine

plazme, procenjuje se da je, zbog velike rasprostranjenosti ovog tkiva, jedna trećina proteina plazme u telu deponovana u ECM vezivnog tkiva.

Krv donosi vezivnom tkivu hranljive materije potrebne ćelijama i odvodi otpadne materije do organa u kojima se obavlja njihova detoksikacija i ekskrecija (jetra i bubrezi).

Količina  $H_2O$  koja se vraća u kapilare manja je od one koja izlazi u njih. Voda koja ostaje u vezivnom tkivu vraća se u krv limfnim sudovima. Najmanji limfni sudovi su limfni kapilari, koji u vezivnom tkivu započinju slobodno, da bi se najveći ulili u vene.

Zbog ravnoteže između  $H_2O$  koja ulazi u međućelijsku supstancu vezivnog tkiva i  $H_2O$  koja izlazi iz nje, u tkivima ima malo slobodne  $H_2O$ .

**Mišićno tkivo** je izgrađeno od diferenciranih ćelija koje sadrže kontraktilne proteine: aktin i miozin. Molekularni sklop tih proteina omogućava razvijanje sile potrebnih za kontrakciju ćelija, koje uzrokuju pomeranje nekih organa i kretanje celog tela. Većina mišićnih ćelija je mezodermalnog porekla, a one se diferenciraju uglavnom postepenim izduživanjem, koje je praćeno sintezom proteina mišićnih vlakana (mikrofilamenata).

Na osnovu morfoloških i funkcionalnih svojstava mogu se razlikovati tri vrste mišićnog tkiva: skeletno, srčano, i glatko, gde svako ima građu prilagođenu svojoj funkciji [5, 13, 28].

*Skeletno (poprečnoprugasto) mišićno tkivo* građeno je od snopova vrlo dugih, cilindričnih više jedarnih ćelija, koje pokazuju optičku pojavu poprečne ispruganoosti citoplazme. Njihova kontrakcija je brza, snažna i obično pod uticajem volje. Ona nastaje uzajamnim delovanjem tankih aktinskih i debelih miozinskih filamenata, kojima molekularna struktura omogućava da klize jedni duž drugih. Sile potrebne za to klizanje nastaju slabim interakcijama u mostićima koji povezuju aktin s miozinom. Mišićna vlakna tipa I imaju obilnu sarkoplazmu koja sadrži mioglobin (zbog njega su vlakna tamnocrvena), sporiju i dužu kontrakciju (crvena vlakna), energiju od oksidativne fosforilacije masnih kiselina. Vlakna tipa II imaju manje mioglobina (bela vlakna), kontrahuju se brzo, ali je kontrakcija kratkotrajna.

*Srčano mišićno tkivo* takođe je poprečno isprugano, a građeno je od izduženih i razgranatih pojedinačnih ćelija, koje leže paralelno jedna uz drugu. Na mestima gde se ćelije u nizu dodiruju nalaze se *prelazne ploče (interkalatni diskovi)*, koje postoje samo u srčanom mišićnom tkivu. Diskusi interkalatusi, makule adherens (dezmosomi), i na lateralnim spojevima diska komunikacijski spojevi (PSK), omogućavaju stalan protok jona između susednih ćelija [5, 13]. Zbog toga se nizovi srčanih ćelija ponašaju kao sincicijum (grč. *syn*, zajedno + *cytos*, ćelija), koji signalu za kontrakciju omogućava da se poput talasa širi iz ćelije u ćeliju. Kontrakcija srčanog mišićnog tkiva je bez uticaja volje, snažna i ritmična. Ritmičnost je rezultat postojanja sinhronizovane kontrakcije ćelija poreklom iz sinoatrijalnog čvora koje grade sincicijum.

*Glatko mišićno tkivo* sastoji se od snopova vretenastih ćelija, spojenih помоћу PSK, koje pod svetlosnim mikroskopom ne pokazuju poprečnu ispruganost [5, 13]. Intermedijerni filamenti prolaze kroz citoplazmu glatkih mišićnih ćelija: dezmin (skeletin) je glavni u svim glatkim mišićima, a vimentin je dodatni sastojak

u glatkim mišićima krvnih sudova [5, 13]. Njihova kontrakcija je spora i nije pod uticajem volje.

**Nervno tkivo** je najsloženije tkivo u ljudskom organizmu, koje čini mreža od preko 100 miliona neurona i mnogo veći broj potpornih glijalnih ćelija, sa neznatnim količinama ECM [5, 13, 14, 28, 33]. Neuron uspostavlja prosečno oko 1000 veza s drugim neuronima, stvarajući veoma složen sistem za komunikaciju i prenos informacija na daljinu [5].

Neuroni su grupisani u *neuronske mreže*, slično strujnim kolima, kao veoma specifična kombinacija elemenata koji grade sisteme različite veličine i složenosti [14, 33]. Iako neuronske mreže mogu biti proste, u većini slučajeva one su sastavljene od dve ili više mreža koji međusobno komuniciraju ostvarujući svoju funkciju. Neuronska funkcija predstavlja zbir koordiniranih procesa, koji daju različite krajnje rezultate. Osnovne neuronske mreže mogu da se kombinuju i na taj način formiraju sisteme visokog reda.

Nervno tkivo raspoređeno je po čitavom telu kao međusobno povezana komunikacijska mreža. Anatomički nervni sistem se deli na *centralni nervni sistem* (CNS), koji se sastoji od mozga i kičmene moždine, i *periferni nervni sistem* (PNS), koji grade nervna vlakna i grupice nervnih ćelija koje se nazivaju *ganglije*. Nervno tkivo je građeno od dve vrste ćelija: nervnih ćelija ili neurona, koji obično imaju brojne duge produžetke i nekoliko vrsta glijalnih ćelija (grč. *glia*, lepak) s kratkim produžecima, koje podupiru i štite neurone, učestvujući u nervnoj aktivnosti, ishrani nervnog tkiva i odbrambenim procesima u CNS [14, 33].

Neuroni odgovaraju na promene u svom okruženju (stimuluse), tako što menjaju razlike električnog potencijala koje postoje između unutrašnjih i spoljašnjih površina njihovih membrana. Ćelije sa takvim svojstvom podražljivosti (neuroni, mišićne i neke žlezdane ćelije) nazivaju se *nadražljivim* ili *iritabilnim* ćelijama. Neuroni vrlo brzo odgovaraju na nadražaje tako što promene električni potencijal. On može biti ograničen na mesto na kojem je nadražaj delovao ili se može proširiti (propagirati) membranom kroz ceo neuron. To širenje nadražaja koje može da se prenese na velike udaljenosti naziva se *akcioni potencijal* ili *nervni impuls*, prenoseći poruke na druge neurone, mišiće i žlezde.

Putem otkrivanja, analiziranja, integracije i prenosa informacija, nervni sistem ostvaruje dve osnovne funkcije: stabilizaciju unutrašnje sredine organizma u normalnom opsegu (kao što je krvni pritisak, sadržaj  $O_2$  i  $CO_2$ , pH, nivo glukoze u krvi i nivo hormona) i formiranje obrazaca ponašanja (kao što je ishrana, reprodukcija, odbrana, interakcija sa drugim bićima iste ili različite vrste). Neuroni su odgovorni za stvaranje, primanje, obradu, i prenošenje nadražaja, kao i podsticaj nekih ćelijskih aktivnosti i otpuštanje neurotransmitera i drugih informacijskih molekula.

*Glijalne ćelije* su u mozgu sisara deset puta brojnije od neurona, gde obezbeđuju uslove mikrosredine potrebne za funkcionisanje neurona [5, 14, 33]. Glijalne ćelije okružuju i perikarione i njihove aksonске i dendritske produžetke u interneuronским prostorima. Glijalnim ćelijama pripadaju: oligodendrocyti, Švanove ćelije, astrociti, ependimske ćelije, i mikroglijija.

### 2.2.3 Tkivna adaptacija i odgovor na oštećenje

Čelijski ciklus se sastoji od  $G_1$  (presintetičke),  $S$  (DNK sinteza),  $G_2$  (premitičke) i  $M$  (miotičke) faze. Mirne ćelije su u fiziološkom stanju zvanom  $G_0$ . Tkiva se mogu primarno sastojati od mirnih ćelija u  $G_0$  fazi, ali većina zrelih ćelija tkiva sadrže kombinaciju od stalno delećih ćelija, potpuno diferenciranih ćelija, matičnih (*stem*) ćelija, pa mirne ćelije slučajno ulaze u čelijski ciklus.

Na osnovu proliferativne aktivnosti tkiva se dele na tri grupe: stalno delujuća (labilna) tkiva, mirna (stabilna) tkiva, i nedelujuća (permanentna) tkiva [34, 35].

*Stalno delujuća (labilna) tkiva* sadrže ćelije koje proliferišu celog života, zamjenjujući one koje su uništene. Ova tkiva uključuju površinske epitеле, kao što su slojevite ljušteće površine kože, usne šupljine, vagine i cerviksa; osnovna sluzokozna svih ekskretornih kanala žlezda tela (npr. pljuvačne žlezde, pankreas, bilijarni trakt); kolumnarni epitel gastrointestinalnog trakta i materice; tranzisionalni epitel urinarnog trakta; ćelije kostne srži i hematopoetskih tkiva. U većini ovih tkiva zrele ćelije nastaju od matičnih, *stem* ćelija, koje imaju neograničeni kapacitet proliferacije i čije je potomstvo pod raznim tokovima diferencijacije.

*Mirna (stabilna) tkiva* normalno imaju nizak nivo replikacije. Međutim, ćelije od ovih tkiva mogu se brzo deliti u odgovoru na stimuluse i stoga su sposobne za rekonstituciju tkiva od kojeg potiču. One se nalaze u  $G_0$  fazi čelijskog ciklusa, ali stimulacijom mogu ući u  $G_1$  fazu. U ovoj vrsti se nalaze parenhimalne ćelije jetre, bubrega, i pankreasa; mezenhimalne ćelije, kao što su fibroblasti i glatke mišićne ćelije; vaskularne endotelne ćelije i limfociti u mirnom stanju i ostali leukociti. Regenerativni kapacitet stabilnih ćelija se najbolje ispoljava kroz primer sposobnosti jetre da se regeneriše nakon parcijalne hepatektomije i posle akutnog hemijskog oštećenja. Fibroblasti, endotelne ćelije, glatke mišićne ćelije, hondrocyti, i osteociti su mirne ćelije u odraslim sisara, ali proliferišu u odgovoru na povredu. Fibroblasti delimično široko proliferišu, gradeći vezivno tkivo, kao odgovor na zapaljenje.

*Nedelujuća (permanentna) tkiva* sadrže ćelije koje se ne uključuju u čelijski ciklus i nemaju mitotičke procese u postnatalnom, nego u prenatalnom životu. Ovoj grupi pripadaju nervne ćelije i ćelije poprečnoprugaste muskulature skeleta i srca. Ako se neuron u CNS ošteti, nema njegove zamene, nego proliferišu potporne, glijalne ćelije, popunjavajući nastali defekt. Ipak, novija istraživanja pokazuju da se neurogeniza od stem ćelija može desiti u mozgu odraslih osoba. Iako se zrele mišićne ćelije skeleta ne dele, skeletni mišići ipak imaju nekakav regenerativni kapacitet, kroz diferencijaciju satelitskih ćelija, koje se pričvršćuju za endomizijalne omotače. Ako su krajevi velikih mišićnih vlakana tesno jukstapozicionirani, mišićna regeneracija u sisara može biti izvrsna, ali se ovo stanje praktično retko dešava. Srčani mišić ima vrlo ograničen (ako ga uopšte ima) regenerativni kapacitet, tako da veliko oštećenje, kao što je infarkt miokarda, završava stvaranjem ožiljka.

Adaptacija tkiva i odgovor na oštećenje zavise od vrste tkiva, odnosno specifičnog odgovora ćelija parenhima dotičnog organa, koje su mnogo osjetljivije na štetna dejstva faktora sredine, nego ćelije strome.

Adekvatno ćelijskom odgovoru, adaptacija tkiva ispoljiće se kao *atrofija*, *hipertrofija*, *hiperplazija*, *displazija*, i *metaplasija* tkiva [20, 21].

Odgovor tkiva na oštećenje ili povredu manifestuje se zapaljenjem ili inflamacijom sa propratnim reparativnim promenama zavisnim od vrste tkiva i ćelijskog regenerativnog kapaciteta [28]. *Nekroza tkiva* jeste patološki proces koji je posledica zadesne smrti ćelija tkiva ili organa u još uvek žive osobe [20, 21]. Adekvatno vrstama nekroze ćelije, postoje i nekroze tkiva ili organa. *Infarkt* je prostor ishemij-ske nekroze tkiva u organu, nastao usled obustavljanja arterijskog snabdevanja ili venske drenaže krvi [31]. *Anemijski* (beli) infarkt se javlja zbog arterijske okluzije u čvrstim tkivima (npr. srce, slezina, bubreg), dok je *hemoragijski* (crveni) infarkt posledica venske okluzije u mekim tkivima (npr. pluća) [31]. Zavisno od odsustva ili prisustva bakterijske infekcije u području nekroze, infarkt može biti *septički* ili „*blag*“ [31]. U mozgu se mogu javiti sve tri nabrojane vrste infarkta.

## **2.3 PITANJA ZA REKAPITULACIJU**

- 2.1 Šta je maladaptacija?
- 2.2 Od čega se sastoji protoplazma?
- 2.3 Čime je dopunjena bilipidni sloj u savremenom modelu strukture ćelijske membrane?
- 2.4 Šta morfološki organizuje ćelije u tkiva i organe?
- 2.5 Gde ima najviše vode u telu?
- 2.6 Koja je uloga osnovne supstance?
- 2.7 Šta je najopasnije po život?
- 2.8 Zbog čega nastaje smrt ćelije i tkiva?
- 2.9 Šta je nekroza?
- 2.10 Koliko vrsta infarkta postoji?

## **2.4 LITERATURA**

1. Ф.З. Меерсон, М.Г. Пшеникова, *Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам*. (Медицина, Москва, 1988), Глава 5,6.
2. К.В. Судаков, Основные принципы общей теории функциональных систем, в: К.В. Судаков, (ред.), *Функциональные системы организма*. Руководство. (Медицина, Москва, 1987), Глава 2.
3. M.P. Kunert, Stress and Adaptation, in: C.M. Porth (ed.), *Essentials of Pathophysiology: Concepts of Altered Health States*, 2<sup>nd</sup> ed. (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007), Sect. 2.7.
4. E.W. Carroll, Cells and Tissue Function, in: C.M. Porth (ed.), *Essentials of Pathophysiology: Concepts of Altered Health States*, 2<sup>nd</sup> ed. (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007), Sect. 1.1.

5. L.C. Junqueira, J. Carneiro, *Osnovi histologije: tekst i atlas*, Prevod 11. izdanja. (McGraw-Hill/Data status, Beograd, 2005), Poglavlje 2-10,16,17.
6. K. Twite, Neoplasia: A Disorder of Cell Proliferation and Differentiation, in: C.M. Porth (ed.), *Essentials of Pathophysiology: Concepts of Altered Health States*, 2<sup>nd</sup> ed. (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007), Sect. 1.5.
7. R. Grossinger, Embryogenesis: Species, Gender, and Identity. (North Atlantic Books, Berkeley, 2000), Sect. 1.1, 1.8.
8. A. Vander, J. Scherman, D. Luciano, *Human Physiology: The Mechanisms of Body Function*, 7<sup>th</sup> ed. (McGraw-Hill, Boston, 1998), Sect. 1, 1.3.
9. Wm. M. Dunne, Mechanisms of Infectious Disease, in: C.M. Porth (ed.), *Essentials of Pathophysiology: Concepts of Altered Health States*, 2<sup>nd</sup> ed. (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007), Sect. 4.12.
10. T.D. Pollard, W.C. Earnshaw, *Cell Biology*. Revised reprint. (Saunders/Elsevier, Philadelphia, 2004), Sect.1, 2.6, 2.7, 3.13, 3.15, 4.23, 6.33, 7.41.
11. R.N. Mitchell, F.J. Schoen, Cells and Cell Injury, in: B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2<sup>nd</sup> ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.3.3.
12. G.L. Zubay, *Biochemistry*. 4<sup>th</sup> ed. (McGraw-Hill, Dubuque, 1998), Sect. 1, 5.19
13. R.C. Henrikson, G.I. Kaye, J.E. Mazurkiewicz, *Histology*. (Williams & Wilkins, Baltimore, 1997), Sect. 1-13.
14. G.M. Shepherd, *Neurobiology*. 3<sup>rd</sup> ed. (Oxford University Press, Inc., New York, 1994), Sect.1.3.
15. D. Đorđević, *Elektrofiziološka istraživanja mehanizama refleksoterapije*, Magistarski rad (Medicinski fakultet, Beograd, 1995), Sect. 1.2.1, 1.4.2.
16. D.C. Spray, E. Scemes, R. Rozental, R. Dermietzel, Cell-Cell Communication: An Overview Emphasizing Gap Junctions, in: J.H. Byrne, J.L. Roberts (eds.), *From Molecules to Networks: An Introduction to Cellular and Molecular Neuroscience*. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 15.
17. D. Đorđević, Naučne osnove refleksoterapije, Međunarodna konferencija i izložba o integraciji konvencionalne i tradicionalne medicine. (Predavanje, Beograd, 5-7. maj, 2006).
18. V. Kumar, A.K. Abbas, N. Fausto, Cellular Adaptations, Cell Injury, and Cell Death, in: V. Kumar, A.K., Abbas, N. Fausto (eds.), *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 7<sup>th</sup> ed. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 1.1.
19. В.Н. Платонов, *Адаптация в спорте*. (Здоровъ, Киев, 1988), Глава 1.
20. K.L. McCance, T. Cameron Grey, Altered Cellular and Tissue Biology, in: K.L. McCance, S.E. Huether (eds.), *Pathophysiology: The Biologic Basis for Disease in Adults and Children*. 5<sup>th</sup> ed. (Elsevier/Mosby, St. Louis, 2006), Sect. 1.2.
21. C.M. Porth, Cellular Responses to Stress, Injury, and Aging, in: C.M. Porth (ed.), *Essentials of Pathophysiology: Concepts of Altered Health States*, 2<sup>nd</sup> ed. (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007), Sect. 1.2.

- 
22. C.M. Porth, Disorders of Gastrointestinal Function, in: C.M. Porth (ed.), *Essentials of Pathophysiology: Concepts of Altered Health States*, 2<sup>nd</sup> ed. (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007), Sect. 8.28.
  23. C.M. Porth, G. Matfin, Heart Failure and Circulatory Shock, in: C.M. Porth (ed.), *Essentials of Pathophysiology: Concepts of Altered Health States*, 2<sup>nd</sup> ed. (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007), Sect. 5.19.
  24. J.J. Hunter, K.R. Chien, Signaling pathways in cardiac hypertrophy and failure. *N. Engl. J. Med.* 341 (1999) 1276-1283.
  25. P. McCowen Mehring, Disorders of the Female Genitourinary System, in: C.M. Porth (ed.), *Essentials of Pathophysiology: Concepts of Altered Health States*, 2<sup>nd</sup> ed. (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007), Sect. 11.39.
  26. G. Matfin, Disorders of the Male Genitourinary System, in: C.M. Porth (ed.), *Essentials of Pathophysiology: Concepts of Altered Health States*, 2<sup>nd</sup> ed. (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007), Sect. 11.38.
  27. C. Li, R.M. Jackson, Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury, *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 282 (2002) C227-C241.
  28. F.J. Schoen, R.N. Mitchell, Tissue, the Extracellular Matrix, and Cell-Biomaterial Interactions, in: B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2<sup>nd</sup> ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.3.4.
  29. S. Protić, D. Vulović, Poremećaji lokalne cirkulacije, u: A. Bata, B.B. Beleslin, D. Cvetković, D. Čemerikić, D.D. Čupić, K. Damian-Zelenika i sar., *Patološka fiziologija: praktikum*, 3. dopunjeno izd. (Savremena administracija, Beograd, 1998), Poglavlje 3.
  30. P. Carmeliet, Angiogenesis in health and disease. *Nat. Med.* 9 (2003) 653-660.
  31. R. N. Michell, Hemodynamic Disorders, Thrombotic Disease, and Shock, in: V. Kumar, A.K., Abbas, N. Fausto (eds.), *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 7<sup>th</sup> ed. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 1.4.
  32. P.S. Aronson, W.F. Boron, E.L. Boulpaep, Physiology of Membranes, in: W.F. Boron, E.L. Boulpaep (eds.), *Medical Physiology: A Cellular and Molecular Approach*. 2<sup>nd</sup> updated ed. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 2.3.
  33. P.R. Hof, B.D. Trapp, J. de Vallis, L. Claudio, D.R. Colman, Cellular Components of Nervous Tissue, in: J.H. Byrne, J.L. Roberts (eds.), *From Molecules to Networks: An Introduction to Cellular and Molecular Neuroscience*. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 1.
  34. V. Kumar, A.K. Abbas, N. Fausto, Tissue Renewal and Repair: Regeneration, Healing, and Fibrosis, in: V. Kumar, A.K., Abbas, N. Fausto (eds.), *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 7<sup>th</sup> ed. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 1.3.
  35. B. Crippes Trask, N.S. Rote, S.E. Huether, Innate Immunity: Inflammation, in: K.L. McCance, S.E. Huether (eds.), *Pathophysiology: The Biologic Basis for Disease in Adults and Children*. 5<sup>th</sup> ed. (Elsevier/Mosby, St. Louis, 2006), Sect. 2.6.

# 3

## INTERAKCIJE ĆELIJA I TKIVA SA BIOMATERIJALIMA<sup>1</sup>

Interakcije ćelija i tkiva sa materijalima koji nisu biloškog porekla (biomaterijali) glavni su uslov funkcije i opstanka određenog biomaterijala u ljudskom organizmu. Primenjeni biomaterijali u većini slučajeva ostaju dugoročno u kontaktu sa lokalnim ćelijama i tkivima na mestu ugradnje stupajući s njima u interakcije.

*Odgovor domaćina* na strano telo nastupa *neposredno* nakon implantacije biomedicinske naprave ili proteze. Ovaj odgovor progredira kroz *stadijume zapaljenja ili inflamacije i zarastanja rane* sa učešćem raznih tipova ćelija kao specifičnih indikatora posebnih stadijuma reakcije. Neutrofili i mononuklearne ćelije neposredno, nakon adhezionih proteina, infiltriraju tkivo-materijal kontaktne površine i pridružuju se *akutnom zapaljenju*. *Hronično zapaljenje* postaje evidentno kada broj infiltrisanih neutrofila počinje da opada, a lokalna populacija monocita adherira na površine implantata i diferencira se u makrofage. Limfociti takođe postaju dominantni tokom hronične faze zapaljenja. Ukupan broj infiltrisanih ćelija normalno opada sa smanjenjem zapaljenskog procesa, dok proces zarastanja rane progredira do formiranja granulacionog tkiva i posledične fibrozne enkapsulacije implantiranog materijala. Mada je formiranje ove kapsule oko stranog tela korisno za implantat, ćelije već adherirane na njegovoj površini mogu, eventualno, prouzrokovati disfunkciju ili nesposobnost biomedicinskog sredstva ili proteze. Ove adherentne ćelije sastoje se od transformisanih monocita u makrofage, koji se mogu spojiti u gigantske multinuklearne ćelije, koje koncentrišu degradaciona i fagocitna svojstva vodeći fizikohemijskim i struktturnim oštećenjima implantata.

Interakcije ćelija i tkiva sa biomaterijalima mogu izazvati pojavu njihovih oštećenja u raznim stepenima, što se na kraju završava reparacijom reverzibilnog oštećenja ili smrću ćelije usled nekroze i/ili apoptoze, odnosno oštećenjem ili odbacivanjem biomaterijala. Biomaterial-adherentnu ili biomaterial-zavisnu ćelijsku apoptozu može prouzrokovati hemijski sastav adhezione površine *in vitro* i *in vivo*, što je dokazano pomoću stresnih efekata tečnosti na biomaterial-adherentne neutrofile, sa sklonošću za razvoj bakterijske infekcije kardiovaskularnih kalema i proteza [1].

<sup>1</sup>Ovo poglavlje napisao je Drago Đorđević.

Ove studije su pokazale da, *in vivo*, hidrofilične i anjonske površine potpo-maju smanjenje adhezije monocita i povećanje proporcije adherentnih apoptotič-kih monocita/makrofaga, potencijalno redukujući rizik od oštećenja i zatajivanja implantata prouzrokovanih ovim ćelijama. Hidrofilna i anjonska površina hemijskih supstanci jeste prva identifikovana koja olakšava povećanje apoptotičkih nivoa adhereiranih makrofaga, dok ograničava njihovu adheziju i fuziju [2]. Ovaj fenomen predstavlja idealan mehanizam za eliminaciju prisustva potencijalno štetnih ćelija sa površine biomaterijala.

Ćelijske interakcije sa spoljašnjom sredinom ostvaruju se preko receptora na površini membrane, koji se vežu sa proteinima i drugim ligandima, vršeći adsorbciju supstanci iz ekstracelularnog prostora, okolne plazme i drugih tečnosti. Ćelijska adhezija služi kao okidač za aktivaciju mnogobrojnih funkcionalnih biohemijskih signalnih puteva u ćeliji. Većini tkivnih ćelija potrebno je pričvršćivanje za površinu da bi mogle živeti, rasti, kretati se i diferencirati od drugih ćelija. Karakteristike takvog pričvršćivanja važan su regulator njihovih funkcija. Ponašanje i funkcija adherentnih ćelija (npr. oblik, proliferacija, sinteza supstanci) zavise i od karakteristika supstrata, posebno njegove adhezivnosti. Tokom kontakta sa tkivom ili krvi, glatka površina biomaterijala brzo (obično u sekundama) biva obložena sa proteinima koji se adsorbuju iz okolnih telesnih tečnosti [2].

Hemijski sastav supstrata, posebno ako utiče na vlažnost i elektricitet površine, kontroliše prirodu adherentnog proteinskog sloja. Iako su ćelije sposobne za adherenciju, širenje i rast na glatkim površinama biomaterijala *in vitro*, adsorbovani proteini iz susednog tkivnog okruženja ili krvi, ili, pak, izlučeni iz samih adheriranih ćelija, znatno povećavaju ćelijsko pričvršćivanje, migraciju, i rast. Ćelijska adhezija za biomaterijale se ostvaruje pomoću za citoskelet vezanih receptora ćelijske membrane, koji reaguju sa ćelijskim adhezivnim proteinima kako bi se adsorbovali na materijalnu površinu iz okolne plazme i drugih tečnosti.

Ćelijsko vezivanje za ekstracelularni matriks (ECM) preko specifičnih celuloarno-supstratnih kontakata jeste ključno za kontrolu ćelijskog rasta putem mehaničkih sila koje menjaju oblik ćelije vršeći pritisak na citoskelet [3]. Fokalne adhezije su se pokazale jačim od interakcija. One uključuju kompleksne grupe intracelularnih i ekstracelularnih proteina, spojene međusobno pomoću transmembranskih integrina. Integrinski receptori na površini ćelije olakšavaju ćelijsko pričvršćivanje za supstrate, a posebno one obložene sa ekstracelularnim proteinima fibronektinom i vitronektinom [4]. Ovi receptori prenose biohemijske signale do jedra aktivacijom istih intracelularnih signalnih puteva koje koriste receptori za faktore rasta. Što se više ćelije šire, brzina proliferacije im je veća. Sposobnost proliferacije direktno zavisi od stepena fizičke raširenosti, a ne od aktuelne površine za vezivanje supstrata.

Karakteristike sastava i oblika površinski vezanog ECM za supstrat i svojstva supstrata mogu regulisati interakcije ćelija sa biomaterijalom. Interakcije ćelija sa ECM razlikuju se od onih sa solubilnim regulatornim faktorima pokazujući recipročne interakcije između ECM i ćelijskog aktinskog citoskeleta [5]. Kruti supstrati olakšavaju ćelijsko širenje i rast u prisustvu solubilnih mitogena. Suprotno

tome, fleksibilni skeleti koji ne mogu pružati otpor citoskeletnim silama pospešuju čelijsku reakciju, inhibišu rast, a pospešuju diferencijaciju.

### 3.1 INTERAKCIJE ĆELIJA SA BIOMATERIJALIMA

Interakcija ćelija sa biomaterijalima počinje onog momenta kada dođe do kontakta biomaterijala sa tkivnim elementima na mestu ugradnje biomaterijala. U najkraćem mogućem vremenu po ugradnji biomaterijala u živi organizam ( $< 1 \text{ s}$ ), proteini se već adsorbuju na njegovu površinu [2]. Proteinski monosloj prima se na veći deo površine za nekoliko sekundi do minuta. Primanje proteina se odigrava mnogo pre dolaska ćelija na površinu. Ćelije pre prepoznaju i prihvataju proteine kao glavnu oblogu, nego aktuelnu površinu biomaterijala. Pošto ćelije specifično odgovaraju na proteine, ovaj međupovršinski proteinski film može biti faktor koji kontroliše narednu bioreakciju na implantate (eng. *implant*, lat. *implantare*, usaditi; lat. *in*, u + *plantare*, saditi). Adsorpcija proteina takođe se odnosi na biosenzore, imunoprobe, veliki broj dijagnostičkih procedura, i mnoštvo drugih fenomena [2].

Pošto se proteini adsorbuju, ćelije dolaze na površinu implantata množeći se mehanizmom rasprostiranja, prenošenjem ili aktivno, pokretanjem. Ćelije mogu prijanjati, oslobađati aktivna jedinjenja, privući druge ćelije, rasti, umnožavati se, i, na kraju, umirati. Ovi procesi se često odigravaju u reakciji sa proteinima na površini. Ćelijski procesi vode do željenih i neželjenih reakcija, koje se susreću u pacijentata sa implantatima.

Ćelijski procesi na veštačkim površinama udruženi su sa nepoželjnim rastom morskih organizama na brodovima, bakterijskih biofilmova na implantatima, kao i korisnim rastom ćelija u bioreaktorima korišćenim za proizvodnju biohemikalija [2].

Posle dolaska ćelija i njihove interakcije sa površinom implantata, one se mogu diferencirati, umnožavati, komunicirati sa ostalim vrstama ćelija i organizovati u tkiva izgrađena od jedne ili više vrsta ćelija. Ćelije ECM luče molekule koji popunjavaju prostore između ćelija i služe kao strukturalna veza za proteine i ćelije. Procesi formiranja malih krvnih sudova (*angiogenesis*) i većih krvnih sudova (*vasculogenesis*) ključni su za ishranu ovog novog tkiva, kao i njihovo širenje na veća područja, a možda i za karakteristične reakcije na irritacije i povrede.

Pokazalo se da ćelije i tkiva različito reaguju na mehaničke sile. Dva uzorka napravljena od istog materijala, jedan u obliku trougla, a drugi u obliku diska, ugrađeni u meko tkivo, pokazaće različite reakcije u lečenju sa značajno većom reakcijom vlakana na oštrinu trougla, nego na kružnicu kruga [2]. Ćelije krvi i endotelne linije sudova pokazuju potpuno različito ponašanje, koje zavisi od toga da li su izložene jakim ili slabim silama stresa. U proteklim godinama mnogo je naučeno o načinu kako se spoljašnje mehaničke sile pretvaraju sa čelijskih površina u hemijske signale, koji povratno direktno deluju na formiranje ili razgradnju citoskeleta, i imaju uticaj na funkcije čelijskog jedra u regulaciji gena i glasničke (mesendžer) ribonukleinske kiseline (mRNK) [*messenger ribonucleic acid (mRNA)*]].

### 3.1.1 Dejstvo mehaničkih sila na ćelije

Efekti mehaničkih sila na ćelije tkiva jesu značajan faktor uticaja implantiranog materijala na organizam u celini, kao i na opstanak samog materijala u njegovim tkivima. Zato što ćelije organizma stupaju u interakciju sa implantiranim materijalima ili zato što su ćelije implantirane kao posebna terapijska sredstva, reakcija ćelija na mehaničke sile je važna za predviđanje trajanja i moguće zamene implantata. Ćelije koje se delimično adaptiraju na prisustvo i dejstvo mehaničkih sila obično su ćelije kardiovaskularnog i muskuloskeletalnog sistema organizma. U stvari, lokalno mehaničko okruženje može biti ključno za opstanak dotičnih vrsta ćelija. Inače, ćelije krvnih sudova stalno su izložene krvnom toku i pulsnom pritisku. Skeletna potpora tkiva (kosti, hrskavica, ligamenti, i tetine) izgrađena je od ćelija koje se suprotstavljaju silama gravitacije i stalno su pod direktnim silama mišićne kontrakcije.

Pri dejstvu mehaničkih sila na ćelije i tkiva, značajnu ulogu, svakako, imaju i druge ćelije i tkiva, posebno vezivno tkivo u svim svojim vrstama i oblicima, uključujući bazalnu membranu kao osnovnu ćelijsku podlogu za izgradnju većine tkiva.

**Reakcije vaskularnih ćelija na dejstvo mehaničkih sila.** Mehaničke sile, koje su rezultat krvnog toka, direktno utiču na ćelijske funkcije i time na funkcionisanje kardiovaskularnog sistema. Razvoj arterioskleroze, najčešćeg uzroka smrti i invalidnosti, direktno je zavisan od mehaničkih sila. Aterogeneza, osnova arterioskleroze, jedan je od primera takvog uticaja, u kojem nastaje lokalizovana povreda kao odgovor zida krvnog suda, čijim zarastanjem sa proliferacijom glatkih mišićnih ćelija dolazi do sužavanja njegovog lumena i oštećenja funkcije vaskularnog sistema. Lokalizacija ateroma u obliku aterosklerotičnih nasлага ili plakova na mestu račvanja arterija i poremećaja krvotoka karakteriše se malim smičućim naponom i često sa kompleksom ili recirkulišućim obrascima poremećaja [6].

U mehaničkom smislu *smičući napon* (eng. *shear stress*) predstavlja naprezanje u kojem materijal sa jedne strane površine gura materijal na drugu stranu površine sa silom koja je paralelna površini [7].

Smanjen protok utiče dalje na kardiovaskularni sistem (KVS), vodeći do izmene njegove funkcije, sa dodatnim stvaranjem masnih naslaga lipoproteina, uključivanjem leukocita, transformacijom mononukleusnih fagocita u penaste ćelije, što još više stimuliše proliferaciju glatkih mišićnih ćelija i razvoj ateroskleroze [8,9].

Principi dejstva mehaničkih sila na ćelije ispoljavaju se i na vaskularnim graftovima (kalemima). Nezavisno od korišćenog materijala (autologna vena ili sintetički graft), arterijski graft malog promera (manje od 6 mm), često se dešava neuspeh u roku prvih pet godina [10]. Nemogućnost dužeg opstanka ovih krvnih sudova rezultat je međusobne nepodudarnosti i lokalizacije izložene mehaničkim silama i poremećajima krvotoka na mestu anastomoze. Na mestima anastomoze dešava se poremećaj toka, sa njegovim razdvajanjem, formiranjem vrtloga, stagnacijom, i gradijentima cirkumferentnog pritiska. Zadebljavanje (*hyperplasia*) unutrašnjeg sloja (*tunica intima*) podudara se sa mestom anastomoze i ukazuje da ove sile deluju same ili uz učešće eventualnog suženja (stenoze) vaskularnog grafta [11]. Postoje-

će ubrzanje toka u vaskularnim graftovima omogućava da laminarni tok sprečava zadebljanje nove intime u centralnom regionu grafta gde krvotok nije tako kompleksan, kao što je u perifernim delovima, gde se može pojaviti turbulentni tok. Uglavnom, povećani smičući napon signalizira inhibiciju i regresiju zadebljavanja intime kroz endotel krvnog suda [12]. Laminarni tok, kojim krv teče normalno u krvnim sudovima, podrazumeva slojevit „koncentrični tok“ u obliku krugova, gde je brzina protoka u svakom prstenastom sloju u sudu različita, stvarajući paraboličan profil toka [13]. To znači da krv iz prstenastog sloja koji dodiruje zid suda teče sporije zbog adherencije na vaskularni endotel. Sledeći kružni sloj krvi klizi preko prvog i samim tim teče brže. Svaki sledeći prstenasti sloj progresivno povećava brzinu toka, tako da je ona najveća u sredini krvnog suda, dok je sve manja prema njegovom kružnom, cevastom zidu [Sl. 3.1 (tok tečnosti)] [6]. U malom sudu nema brzog centralnog toka, jer krv teče uglavnom do zida krvnog suda.

Sa kontrakcijom srčanih komora udarni pulsni talas krvi normalno propagira kroz aortu, smanjujući svoju jačinu duž arterija i održavajući pulsni krvotok i time smičući napon. Tako je *smičući napon* jednak proizvodu viskoznosti krvi i gradijenta brzine između dva sloja na zidu suda [13], i predstavlja skup smičućih sila po jedinici površine koje teže da izazovu relativno *smičuće izduženje*, pri čemu komponente napona deluju u tački u kojoj su paralelne sa ravni u kojoj leže bilo da izazivaju zatezanje, pritisak ili uvijanje. Smičući napon zavisi od poprečnog preseka, aksijalnog opterećenja i gustine tečnog materijala koji nosi smičuće tokove, pri čemu će maksimum smičućeg napona biti ili u sloju maksimalnog smičućeg toka ili pri minimalnoj gustini [14].

Vektori smičućeg napona važni su kod laminarnog kretanja tečnosti, zbog različitih brzina slojeva tečnosti. Biološki značaj smičućeg napona odnosi se na protok krvi. Naime, povećani smičući napon signalizira inhibiciju i regresiju zadebljavanja unutrašnjosti kroz endotel krvnog suda – jer endotelne ćelije prepoznaju smičući napon i pretvaraju signale u vaskularne mišićne i druge ćelije da bi promenile strukturu krvnog suda [14], što je neophodno pošto visoki smičući napon mora imati velike zidove krvnih sudova (srednje vrednosti arterijskog smičućeg napona su 0,6–4 Pa, mada mogu varirati od 0 do preko 10 Pa drugde u cirkulaciji [15]). Kako se pulsacije šire duž arterijskih grana, tok krvi je uglavnom laminaran, mada može postati kompleksan i/ili poremećen (reverzibilan i/ili recirkulišući) na mestima grananja arterija, pokrećući prostorne i/ili vremenske gradijente u tangencijalnom naponu.

Sprovedene obimne studije koje su primenjivale smičući napon i ciklično izduženje, potvratile su *in vitro* da endotelne ćelije aktivno učestvuju u vaskularnoj fiziologiji [16]. Smičući napon fiziološki služi u održavanju čistih arterija, kroz dve faze [17]. Prvo, smičući napon pobuđuje aktivaciju apoptoza-signal kinazu 1 (ASK1) i udružuje se sa tioredoksinom. U odsustvu smičućeg napona, tioredoksin je vezan tioredeksinskim interaktivnim proteinom [*thioredoxin interacting protein* (Txnip)] i ostaje u neaktivnom stanju. Citokin faktor nekroze tumora alfa [*tumor necrosis factor alpha* (TNF- $\alpha$ )] vodi fosforilaciji i aktivaciji ASK1 kroz još neidentifikovane kineze. Aktivisana ASK1 aktivira nizvodno postavljene pridružene protein kinaze deljenja [*mitosis-associated protein kinase* (MAPK)] i na kraju p38 i Jun-terminal

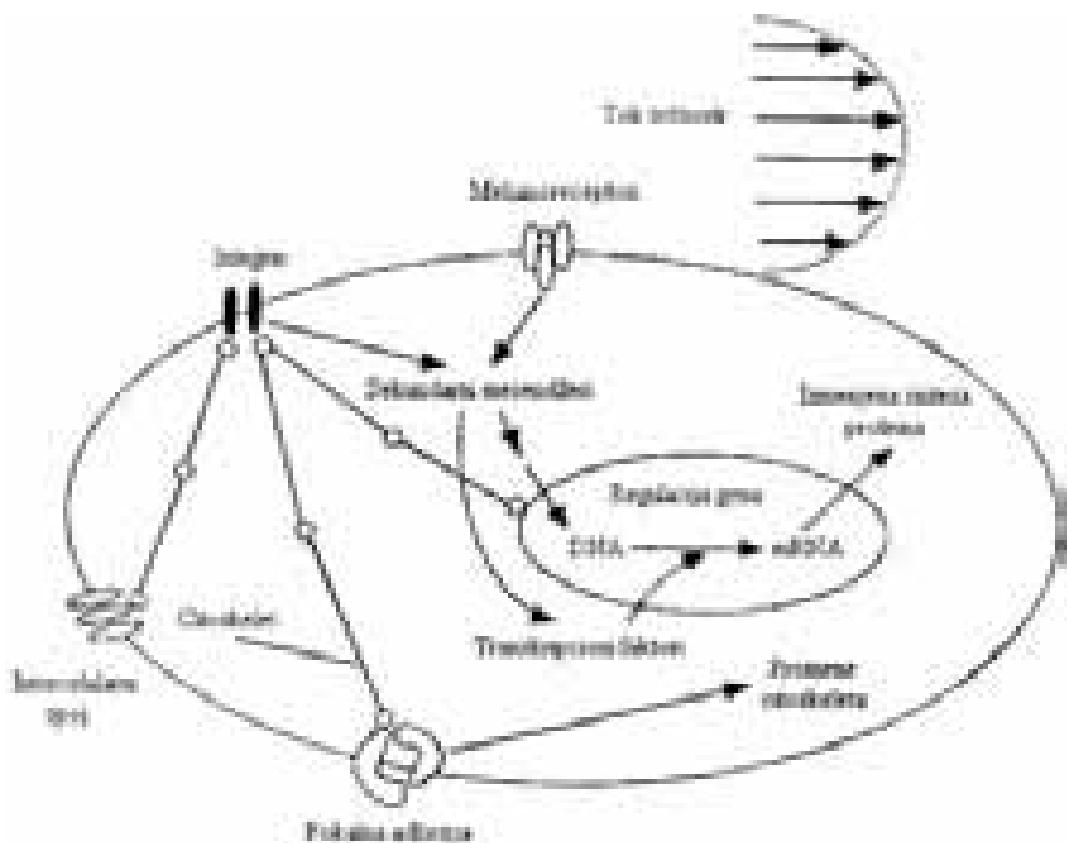
kinazu (JNK). Ovo vodi do povećane ekspresije adhezionog molekula 1 vaskularne ćelije [*vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM1)*] koji ubrzava adheziju leukocita, zapaljenje i aterosklerozu. Drugo, u prisustvu smičućeg napona Txnip opada oslobađajući tioredoksin i vodi do povećanog vezivanja tioredokksina za ASK1 i inhibicije ASK1 aktivacije pomoću TNF- $\alpha$ .

Kada samo jedna ćelija zadeblja, vaskularni endotel i dalje predstavlja barijeru za propustljivost, kontrolišući hemostazu i trombozu pomoću održavanja aktivne tromborezistentne površine, onemogućavajući još uvek biomaterijalu da se veže, i delujući kao mehanosenzor za tkivo ispod njega. Smeštene ispod bazalne lamine u medijalnom sloju tkiva, glatke mišićne ćelije se kontrahuju, relaksiraju, proliferišu, ili migriraju pri odgovoru na smičući napon, ciklično izduženje, i parakrine faktore (biohemijske signale) iz endotelnih ćelija. Krvni sudovi lišeni endotela, izlazu glatke mišićne ćelije krvnom toku, što ima za posledicu vezivanje trombocita i sledstveni razvoj tromboze.

Endotel, kao mehanoreceptor, u odgovoru na promene smičućeg napona, šalje biohemski signale glatkim mišićnim ćelijama putem produkcije mnoštva aktivnih supstanci, uključujući vazodilatatore azot monoksid [*nitric oxide (NO)*], endotel-producujući hiperpolarizujući faktor [*endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF)*] i prostaciklin [*prostaglandin I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>)*] ili vazokonstriktore endotelin-1 [*endothelin-1 (ET-1)*], endotel-producujući konstriktijski faktor-1 [*endothelium-derived constricting factor (EDCF<sub>1</sub>)*] i endotel-producujući konstriktijski faktor-2 [*endothelium-derived constricting factor (EDCF<sub>2</sub>)*] [18]. Vazomotorna kontrola poprečnog preseka krvnog suda primarno se reguliše glatkim mišićnim ćelijama. Reagujući na promene u krvotoku i pritisku, glatke mišićne ćelije se kontrahuju ili relaksiraju i luče matriks kolagena i elastin, koji daju jačinu i elastičnost, modulišući cirkumferentni pritisak. Glatke mišićne ćelije reaguju i na smičući napon od intersticijalnog toka fluida, kao i na ciklično izduženje, od pulsnih pritisaka krvotoka. Enormno ciklično izduženje može biti jača povređujuća sila nego smičući napon i delovati na celokupno zadebljavanje arterijskog zida, uključujući glatke mišićne ćelije, fibroblaste (u *tunica adventicia*), i ECM.

Modulacija vaskularne ćelijske funkcije pomoću mehaničkih sila dešava se na više nivoa, sa glavnom ulogom regulacije gena u ćelijskom jedru. Specifične sekvence (geni) dezoksiribonukleinske kiseline (DNK) [*deoxyribonucleic acid (DNA)*], preko glasničke ili mesendžer ribonukleinske kiseline [*messenger ribonucleic acid (mRNA)*], kodiraju sintezu specifičnih proteina, koji imaju razne uloge u ćelijskoj funkciji. Efekat mehaničke sile kao stimulišućeg faktora za ćeliju, ostavaruje se na nivou gena i može biti: (1) ispoljen na ćelijskoj membrani (npr. pomoću receptora, jonskih kanala, ili integrina); (2) prenešen kroz citoplazmu, možda fizički (mehanotransdukcija kroz citoskeleton), biohemski, ili na oba načina; i (3) stimulišući ili inhibišući po jedru (Sl. 3.1) [6].

U poslednjoj deceniji učinjen je značajan napredak u razumevanju mnogih puteva signalne transdukcije pri dejstvu mehaničkih sila na nivou ćelije. Koliki je relativni doprinos difuzionih sekundarnih mesendžera ili glasnika [kalcijuma ( $Ca^{2+}$ ), koncentracije vodonikovih jona ( $H^+$ ), odnosno kiselosti sredine (pH), i drugih] i direktnе mehaničke transmisije preko citoskeletnih elemenata još se raspravlja (teo-



**SLIKA 3.1** Neki od mogućih transdukcijskih puteva u vaskularnim ćelijama [6]. Pretpostavljeni mehanoreceptori sa luminalne (spoljašnje) strane ćelijske membrane mogu izmeniti svoju konformaciju pri odgovoru na mehaničke draži, aktivirajući signalnu transdukcionu kaskadu uključujući sekundarne glasnike (mesendžere). Ova kaskada hemijskih reakcija vodi aktivaciji transkripcije gena u jedru. Alternativno, mehanotransdukcija može direktno dejstvovati preko elemenata citoskeleta. Sile se mogu prenositi kroz njegove mreže od luminalne ćelijske membrane do fokalnih adhezionih mesta, intracelularnih spojeva ili direktno do jedra. Prenošenje mehaničke sile u hemijski signal na ovim mestima može voditi promena ćelijske funkcije i regulacije gena.

rija napetosti/*tensegrity theory* [19, 20]). Otkriveni su faktori koji direktno utiču na transkripciju DNK, kao i promene u transkripcionim faktorima u odgovoru endotelnih ćelija na smičući napon [21–23]. Nađene su i neke od bazičnih sekvenci u promoterskim regionima DNK koje su potrebne za gen specifičan odgovor na smičući napon [24]. Utvrđen je veliki broj reakcija na smičući napon na nivou endotelnih i glatkih mišićnih ćelija (Tabl. 3.1, 3.2 i 3.3) [6]. Sve one se uglavnom zasnivaju na velikom broju istraživanja obavljenih na molekularnom ili ćelijskom nivou. Tako je nađeno da smičući napon i ciklično izduženje utiču na kontrolu trombinskog receptora, ili proteaza aktivisanog receptora-1 [*protease activated receptor-1* (PAR-1)] u glatkim mišićnim ćelijama [25]. Ovaj trombinski receptor se pojavljuje u oštećenim arterijama, uglavnom u cilju vezivanja trombina, enzima koji cepa fibrinogen na fi-

TABELA 3.1 Reakcije endotelnih ćelija na smičući napon; modifikovano [6]

Reakcija	Efekat
<i>Opšte funkcije</i>	
Morfologija	Poravnavanje i izduživanje
Aktin stres vlakna	Formiranje i poravnavanje
Pinocitoza	Povećanje
LDL <sup>a</sup> unos	Blagi porast
Katjonski kanali	Aktivacija
DNA <sup>b</sup> sinteza	Nema efekta (ako je laminaran tok)
DNA sinteza	Stimulacija (ako je turbulentan tok)
G proteini	Aktivacija
Apoptoza	Smanjenje
<i>Proteinska sinteza i sekrecija</i>	
Tkvni plazminogen aktivator	Povećanje
Endotelin-1	Smanjenje
Inhibitor plazminogen aktivatora	Nema efekta
Fibronektin	Blago smanjenje
VCAM-1 <sup>c</sup>	Smanjenje
ICAM-1 <sup>d</sup>	Prolazno povećanje
Proteaza aktivisani receptor-1	Smanjenje
Sintaza azot-monoksida (NOS) <sup>e</sup>	Povećanje
<i>mRNA nivoi</i>	
Tkvni plazminogena aktivator	Povećanje
Endotelin-1	Smanjenje
Fibroblasta faktor rasta-2	Nema efekta
GAPDH <sup>f</sup>	Nema efekta
VCAM-1	Smanjenje
ICAM-1	Povećanje
Proteaza aktivisani receptor-1	Smanjenje
Monocita hemoatraktant protein-1	Prolazno povećanje zatim smanjenje
<i>Arahidonske kiseline metabolizam</i>	
PGI <sub>2</sub> <sup>g</sup> sinteza	Veliko povećanje
Arahidonata unos	Povećanje fosfatidilinozitola
<i>Sekundarni mesendžeri</i>	
Inozitol trifosfat	Povećanje
Intrcelularni Ca <sup>2+</sup>	Povećanje (ATP <sup>h</sup> posredovano)
cAMP <sup>i</sup>	Povećanje posredno (PGI <sub>2</sub> posredovano)
Diacylglycerol	Povećanje
Azot-monoksid (NO)	Povećanje
pH	Smanjenje

**Skraćenice i objašnjenja:** <sup>a</sup>lipoprotein male gustine [*low density lipoprotein (LDL)*]; <sup>b</sup>dezoksiribonukleinska kiselina [*deoxyribonucleic acid (DNA)*]; <sup>c</sup>vaskularni adhezionni molekul 1 [*vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1)*]; <sup>d</sup>međućelijski adhezionni molekul 1 [*intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1)*]; <sup>e</sup>sintaza azot-monoksida [*nitric oxide synthase (NOS)*]; <sup>f</sup>gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenaza [*glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)*]; <sup>g</sup>prostaglandin I2 [*prostacyclin I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>)*]; <sup>h</sup>adenozin trifosfat [*adenosine triphosphate (ATP)*]; <sup>i</sup>ciklični adenosin monofosfat [*cyclic adenosine monophosphate (cAMP)*].

TABELA 3.2 Reakcije glatkih mišićnih ćelija na smičući napon; modifikovano [6]

Reakcija	Efekat
Morfologija	Nema izduživanja i orijentacije
Proliferacija	Smanjenje
Tkvni plazminogen aktivator	Povećanje
Proteaza aktivisani receptor-1	Smanjenje
Azot-monoksid	Povećanje
Prostaglandini E <sub>2</sub> , I <sub>2</sub>	Povećanje
Intracelularni pH	Povećanje
Intracelularni Ca <sup>2+</sup>	Nema promene

TABELA 3.3 Reakcije endotelnih ćelija i glatkih mišićnih ćelija na ciklično izduženje; modifikovano [6].

Reakcija	Efekat
<i>Endotelne ćelije</i>	
Endotelin-1	Povećanje
Tkvni plazminogen aktivator	Nema promene
Plazminogen aktivatora inhibitor-1	Povećanje
Prostaglandini I2	Povećanje
PDGF-B <sup>a</sup>	Nema promene
c-fos	Povećanje
c-jun	Povećanje
NF-κB <sup>b</sup>	Povećanje
Azot-monoksid	Povećanje
MCP-1 <sup>c</sup>	Povećanje
VCAM-1 <sup>d</sup>	Smanjenje
<i>Ćelije glatkih mišića</i>	
Proliferacija	Povećanje
PDGF-2 <sup>e</sup>	Povećanje
FGF-2 <sup>f</sup>	Oslobađanje
Proteaza aktivisani receptor-1	Povećanje
Matriks metaloproteinaza-1	Smanjenje

**Skraćenice i objašnjenja:** <sup>a</sup>trombocitni (trombocit-dobijeni) faktor rasta B [*platelet-derived growth factor-B* (PDGF-B)]; <sup>b</sup>nuklearni faktor kapa B [*nuclear factor κB* (NF-κB)]; <sup>c</sup>membranski kofaktor protein 1 [*membrane cofactor protein-1* (MCP-1)]; <sup>d</sup>vaskularni adhezionni molekul 1 [*vascular cell adhesion molecule 1* (VCAM-1)]; <sup>e</sup>trombocitni (trombocit-dobijeni) faktor rasta 2 [*platelet-derived growth factor-2* (PDGF-2)]; <sup>f</sup>fibroblastni faktor rasta 2 [*fibroblast growth factor-2* (FGF-2)].

brinska vlakna pri stvaranju tromba, tako da stimuliše trombozu svojim trombogenim učinkom. Aktivacija PAR-1 trombinom ima i snažan mitogeni efekat na glatke mišićne ćelije. PAR-1 protein opada za 2/3 u glatkim mišićnim ćelijama izloženim

tangencijalnom naponu od 2,5 Pa za 24 h, dok pod cikličnim naprezanjem (20%, 1 Hz) poraste 2,5 puta nakon 24 h [26]. Smičući napon od 2,5 Pa za 24 h ili 6 h menja ekspresiju 52 gena (32 rastu, 20 opada) [27]. Promene zabeležene na većini izmenjenih gena (CYP1A1, CYP1B1, CTGF, ET-1, PGHS-2, NADH dehidrogenaza) imaju različit efekat (CYP1A1 i CYP1B1 rastu, dok CTGF, ET-1, i MCP-1 opadaju), potvrđujući teoriju da laminarni smičući napon štiti vaskularni endotel od fiboze i ateroskleroze [6]. Tri „ateroprotektivna gena“, mangan superoksid dizmutaza, ciklooksigenaza-2, i endotelna sintaza azot monoksida (NOS), rastu pod stalnim laminarnim smičućim naponom (1 Pa za 1h ili 6h), ali ne pod turbulentnim smičućim naponom u zidu krvnog suda za isto vreme i pod istim prosečnim pritiskom [6].

**Reakcije skeletnih ćelija na dejstvo mehaničkih sile.** Kosti, hrskavice, ligamenti i tetine jesu skeletna tkiva koja vode poreklo od mezenhimalnih stem ćelija. U specifičnom tkivnom okruženju, muskuloskeletalne ćelije razlikuju se po strukturi matriksa koji sekretuju, čiji rezultat su različite tkivne mehaničke karakteristike. U skladu sa Volfovim (*Wolff*) zakonom, gustina kosti je funkcija opterećenja tako da poziciju trabekula, kao „materijalizovanih trajektorija sile“, određuju sile koje deluju na kost [28]. Kost se remodelira u odgovoru na stres i gubi predašnju gustinu u neopterećenim delovima. Astronauti su tokom letova u kosmos za nekoko dana gubili prethodnu gustinu kosti i snagu (osteoporozu) zbog nedostatka Zemljinog gravitacionog polja, što su morali nadoknaditi dugoročnom intenzivnom fizičkom aktivnošću [6, 29].

Remodeliranje ili funkcionalno prilagođavanje kosti stalan je proces promena u odgovoru na fiziološke (mehaničke ili metaboličke) potrebe. Postoji međusobno povezan odnos između stvaranja i razgradnje kosti vezan za ćelijsku aktivnost u tzv. *bazičnim multicelularnim jedinicama* [*basic multicellular units (BMUs)*], poznatim i pod nazivom *jedinica remodeliranja kosti* [*bone remodeling unit (BRU)*] ili *strukturalna jedinica kosti* [*bone structural unit (BSU)*], u kojima se remodeliranje stalno odvija redosledom *aktivacija-resorpcija-formiranje* [30]. Fizičkom aktivnošću stimulisano remodeliranje kosti može biti odgovor osteoblasta na tok intersticijalne tečnosti [6, 31]. Vremenska razlika u toku intersticijalne tečnosti, u formi pulsног smičućeg napona, stimuliše umnožavanje osteoblasta *in vitro*, dok stalni smičući napon ne stimuliše signalnu transdukciju ili proliferaciju. Stalne promene u režimu (kao što je pulsiranje) *in vivo* stimulišu porast vremenskih razlika u toku krvi koje se dešavaju sa povećanom fizičkom aktivnošću.

Kostno tkivo sadrži kostne ćelije (osteocite), osteoblaste (zadužene za formiranje kosti), osteoklaste (zadužene za resorpciju kosti), i ECM sastavljen od hidroksiapatita (kompleksnog molekula hidratisanog kalcijum fosfata) i kolagena, koji se kalcifikuje ili osificira.

Vaskularni sistem, kanalikularna mreža i kostne ćelije obuhvataju tečni prostor kosti. U zreloj kortikalnoj kosti tečni prostor zahvata oko 30% zapremine kortexa, od kojeg intersticijumski prostor zauzima 72%, vaskularni 24%, a celularni 4% volumena [31].

Mehaničko opterećenje stvara smičući napon tečnosti, hidrostatski pritisak, uniaksijalno istezanje, ili biaksijalno istezanje kostnih ćelija. Tkivo kortikalne

(duge) kosti je šupljikavo, i tok intersticijumske tečnosti tokom mehaničkog opterećenja jeste primarni mehanizam dejstva mehaničkih sila na kosti [6]. To su potvrdila istraživanja na osteoblatima [32], kao i na pacovima izloženim niskofrekventnim vibracijama (0,25 g, 90 Hz, 10 min/dan, 28 dana) čiji je rezultat stimulacija formiranja kosti [6].

Hrskavica, smeštena na artikularnim površinama zglobova, omogućava smanjeno trenje za nesmetane pokrete zglobova. U rastućem embrionu, hrskavica je prethodnik (prekursor) stvaranja kosti. Hondrocyti, ćelije hrskavice, luče kolagena vlakna matriksa utopljena u mukopolisaharide (npr. hondroitin sulfat). Hrskavica na mehaničko opterećenje reaguje slično kosti. Povećanje opterećenja povećava proizvodnju matriksa, stvarajući jače tkivo. Hrskavica mora podnosići zatezanje i tangencijalne sile, ali opterećenje hrskavice većinom se odnosi na kompresiju i hidrostatski pritisak. Ciklična kompresija eksplanta (0,1 Hz, 2–3% kompresija) stimuliše hondrocytnu sintezu matriksa [33].

Tetive i ligamenti vežu mišiće za kosti i kost za kost, pojedinačno ili grupno. Ova tkiva trpe jedinstven pritisak. Tetive se prvenstveno sastoje od kolagena (86% suve materije), izlučenog iz fibroblasta i jedinstveno postavljenog. Tetive imaju najveću snagu da izdrže pritisak od svih tkiva (50–100 MPa) [6]. Tetive se skraćuju pri resekciji i moraju biti mehanički opterećene da bi došlo do potpunog funkcionalnog oporavka.

Ligamenti, slično tetivama, primarno su građeni od kolagenih vlakana, mada su im vlakna manje gusta (70% suve materije) i upletena, za razliku od paralelnog rasporeda u tetivama. Ligamenti sadrže više elastina, i mnogo su elastičniji. I titive i ligamenti su viskoznoelastične strukture, koje troše energiju i pokazuju histerezis u krivama *napon-izduženje* [6].

Postoje dva glavna problema sa biomaterijalima koji se odnose na skeletna tkiva: zamene zglobova i defekt kosti ili gubitak zamene. Najčešće zamene zglobova (*arthroplastica*) jesu u zglobu kuka i zglobu kolena. Ove proteze moraju zameniti funkcije kosti, hrskavice, i tetiva. Većina implantata sastoji se od metala, dugotrajnog materijala otpornog na zamor i sa visokom korozivnom otpornošću. Artikулne površine moraju biti sveže obložene materijalom sa malim koeficijentom trenja i malom brzinom habanja.

Zamena zglobova obuhvata dva ključna faktora: dejstvo opterećenje-ležište kompresivnih sila na kosti, i periodičnu fleksiju i ekstenziju kosti, kako bi se ostvarilo funkcionalno zarastanje kosti, hrskavice, i tetiva. Za zamenu defekata kosti (na primer kao posledica otklanjanja tumora) postoje različita rešenja, ali je najbolja sopstvena (autologa) kost. Kao i u slučaju vaskularnih ćelija, primenjene sile prenose se (transdukcija) kroz ćelijske membrane skeletnih ćelija izazivajući ćelijske reakcije, prvenstveno tkivnu adaptaciju, na čelu sa remodeliranjem kosti (Tabl. 3.4) [6].

Kost, koja makroskopski izgleda neaktivno, veoma je dinamično tkivo sa intenzivnim metaboličkim procesima, mnogo većim nego u nepovređenim vaskularnim ćelijama. Osim toga, postoje bitne razlike između strukture kosti i hrskavice. Kost je bogata ćelijama, veoma vaskularizovana i inervisana, dok hrskavica ima slabiju celularnost, prokrvljenost i inervaciju. Periostalna vaskularna kontrola

uglavnom se sprovodi preko peptidergičkih nerava, koji sekretuju kalcitonin-gen-zavisni peptid [*calcitonin gene-related peptide (CGRP)*], potentan vazodilatator i stimulator angiogeneze u toku zarastanja kosti, a endotel-zavisna kontrola funkcije kosti sprovodi se preko azot monoksida [*nitric oxide (NO)*], čija disfunkcija može biti važan faktor u slabom funkcionisanju vaskularizovanih kostnih graftova [31]. NO se oslobađa iz osteoblasta u odgovoru na *smičući napon* fluida, nakon mehaničke stimulacije kosti za samo 15 minuta [31].

*TABELA 3.4 Efekat mehaničkih sila na reakcije skeletnih ćelija; modifikovano [6].*

Ćelija/tkivo	Sila	Efekat/reakcije
Kultivisani osteoblasti	Smičući napon ( <i>shear stress</i> )	Povećanje cAMP <sup>a</sup> Povećanje PGE <sub>2</sub> <sup>b</sup>
Kultivisani osteociti	Ciklično izduženje ( <i>cyclic strain</i> )	Povećanje IP <sub>3</sub> <sup>c</sup> Povećanje c-fos Povećanje COX-2 <sup>d</sup> Povećanje osteopontina Aktivira se FAK <sup>e</sup>
Kortikalna kost	Distorziono opterećenje ( <i>bending load</i> )	Povećanje osteopontina Smanjenje mijeloperoksidaze
Hrskavični diskovi	Statička kompresija Ciklično izduženje ( <i>cyclic strain</i> )	Povećanje GAG <sup>f</sup> Smanjenje GAG
Hondrocyti	Ciklično izduženje ( <i>cyclic strain</i> )	Povećanje kolagena tipa II Povećanje agrekana Nema promena B <sub>1</sub> integrina

**Skraćenice i objašnjenja:** <sup>a</sup>ciklični adenozin monofosfat [*cyclic adenosine monophosphate (cAMP)*]; <sup>b</sup>prostaglandin E<sub>2</sub> (*PGE<sub>2</sub>*); <sup>c</sup>inozitol trifosfat [*inositol 4,5-triphosphate (IP<sub>3</sub>)*]; <sup>d</sup>inhibitor ciklooksigenaze 2 [*cyclooxygenase inhibitor 2 (COX-2)*]; <sup>e</sup>fokalna adheziona kinaza [*focal adhesion kinase (FAK)*]; <sup>f</sup>glikozaminoglikan [*glycosaminoglycan (GAG)*].

Efekti mehaničkih sila na kost i hrskavicu pokazali su da relativne količine kolagena i glikozaminoglikana [*glycosaminoglycan (GAG)*], kao i gustine ćelija u veštačkoj (tkivo-inženjeringu) hrskavici (hondrocyti se zasejavaju na podlogama poliglikolske kiseline), nastaju kao rezultat mehaničkog okruženja u kojem se kultivišu [6].

## 3.2 INTERAKCIJE TKIVA SA BIOMATERIJALIMA

Oštećena ili obolela tkiva sve više se uspešno zamenjuju sredstvima napravljenim od materijala koji nisu biološkog porekla (biomaterijala). Pri ugradnji biomaterijala i dalje glavni problem ostaje reakcija odbrambenog (imunskog) sistema

od prisustva stranog tela u organizmu. Međutim, ohrabruju podaci da su sintetisani mnogi materijali na koje ne reaguje imunski sistem, uprkos njegovoj uobičajenoj reakciji odbacivanja bioloških materijala.

Interakcije tkiva sa biomaterijalima mogu se podeliti na: (1) lokalne interakcije; (2) sistemske interakcije; i (3) pridružene komplikacije [34].

**Lokalne interakcije** tkiva sa biomaterijalima dešavaju se na mestu kontakta tkiva sa biomaterijalom i normalno uključuju: (1) efekte materijala na tkiva domaćina; i (2) efekte tkiva na materijal. Efekti materijala na tkiva domaćina obuhvataju: (1) krv-materijal interakcije; (2) zapaljenje; (3) toksičnost materijala; (4) promene u zarastanju rane; (5) infekcije; i (6) tumorogenezu [34]. Efekti tkiva na materijal obuhvataju: (1) fiziko-mehaničke efekte (habanje, zamor, korozija, stres-korozivno lomljenje); i (2) biološke efekte (adsorpcija tkivnih komponenata na implantat, enzimska razgradnja, kalcifikacija) [34].

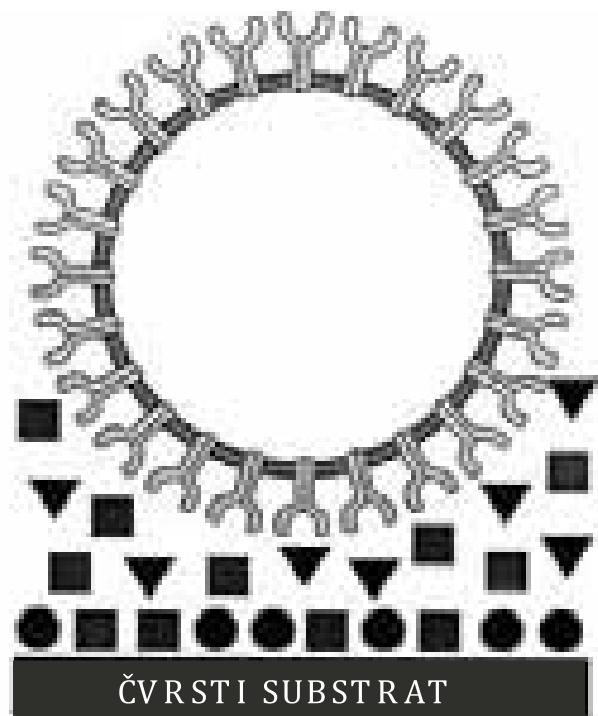
**Sistemske interakcije** tkiva sa biomaterijalima odnose se na opšte reakcije organizma na prisustvo stranog tela. One obuhvataju veliki broj reakcija, od kojih su najvažnije: (1) tromboembolijske reakcije; (2) alergijske reakcije ili reakcije hipersenzibiliteta; (3) povećanje nivoa implantnih elemenata u krvi; i (4) transport implantatnih čestica limfotokom [34].

**Pridružene komplikacije** interakcija tkiva sa biomaterijalima su prateći elementi ugradnje biomaterijala i predstavljaju mešavinu lokalnih i sistemskih reakcija, koje se mogu pažljivom pripremom i odgovarajućim preventivnim merama svesti na minimum. Najčešće se u praksi susreću sledeće komplikacije: (1) tromboza i/ili tromboembolija; (2) infekcija; (3) neadekvatno ili defektno zarastanje rane; (4) otkazivanje biomaterijala; (5) pobočne lokalne tkivne reakcije; i (6) pobočni sistemski efekti [34].

Organizam normalno prepoznaje biomaterijale kao strana tela i reaguje na njih. Međutim, postoje drugi tipovi bioloških odgovora na implantirane biomaterijale koji često smanjuju njihovu korisnost, uključujući pobrojane lokalne i sistemske interakcije. Osnovu za sve ove interakcije predstavlja adsorpcija adhezivnih proteina na površini biomaterijala koje su prepoznali prisutni integrinski receptori u većini ćelija. Adsorpcija adhezivnih proteina na površinu biomaterijala pretvara ih u biološki prepoznatljiv materijal, na koji tkiva reaguju na sebi svojstven način.

### 3.2.1 Uloga adsorbovanih proteina pri odgovoru tkiva na biomaterijale

Interakcije ćelija tkiva sa stranim materijalom dešavaju se pomoću integrinskih receptora ćelijske membrane koji prepoznaju adsorbowane adhezione proteine na površinama biomaterijala. Interakcija integrinskih adhezionih receptora sa adhezionim proteinima formira glavni sistem ćelijskog prepoznavanja biomaterijala (Slika 3.2) [6]. Uloga adsorbovanih adhezionih proteina u posredničkim ćelijskim interakcijama sa biomaterijalima je ključna za tkivni odgovor. Adhezionali proteini su sposobni da utiču na ćelijske intereakcije sa biomaterijalima, menjajući ponekad biološku aktivnost ćelija nakon adsorpcije proteina.



*SLIKA 3.2 Ćelijske interakcije sa stranim površinama ostvaruju se pomoću integrinskih receptora sa adsorbovanim adhezionim proteinima koji ponekad menjaju svoju biološku aktivnost kada se adsorbuju [35]. Ćelija je predstavljena kao kružni prostor sa dvoslojnom membranom u koju su ugrađeni proteinski molekuli adhezionih receptora (predstavljeni kao ključevi za šrafove), a蛋白ni iz vanćelijskog prostora kao razni geometrijski oblici: trouglovi, kvadrati, krugovi. Receptorski proteini prepoznaju proteine i prouzrokuju da će-lija adherira samo za površinu vezanog oblika proteina koji je predstavljen u obliku kruga, dok drugi bivaju odbijeni, jer su za te „šrafove“ potrebni drugi „ključevi“.*

Adsorpcija proteina za biomaterijale može biti eksperimentalno ostvarena sa pojedinačnim proteinom, tipično u puferском rastvoru, ili u kompleksnim, multiproteinskim rastvorima, kao što je krvna plazma, koja sadrži stotine proteina. Pojedinačni proteini u puferu mogu se koristiti za osnovni model proteinske adsorpcije ili za izučavanje bioloških reakcija na jedan protein. Adsorpcija od kompleksnih rastvora približno odgovara reakciji karakterističnoj za implantirane biomaterijale.

Adsorbovani proteinski sloj može sadržavati fibrinogen, fibronektin, fon Vilebrandov faktor [*von Willebrand factor* (vWF)], imunoglobulin G (IgG), i vitronektin, koji deluju kao ligandi za protein-specifične receptore na površini monocita [36]. Prethodna adsorpcija određenih vrsta proteina na čvrste površine, kao što je tkivna kultura polistirena značajno povećava adhezivnost proteinskog sloja za mnoge vrste ćelija, i takvi proteini se nazivaju *adhezionalni proteini* [35]. Povećanje adhezivnosti se dešava zato što mnoge ćelije imaju receptore na njihovoј ćelijskoj membrani za specifično vezivanje sa ovim specijalizovanim proteinima. Ti adhe-

zioni receptori se nazivaju *integrini* (lat. *integratio*, usvajanje, uvođenje u sastav). Adhezionali proteini, kao što je fibronektin, značajno povećavaju adheziju fibroblasta, dok je prethodna adsorpcija albumina sprečava. Sprovedeni eksperimenti sa raznim tipovima adhezionih proteina i velikim brojem raznih ćelija dali su u suštini slične rezultate. Adhezionali proteini, takođe, potpomažu spljošćavanje i sravnjivanje ili širenje ćelija preko površine biomaterijala. Pričvršćene ćelije za površinu prethodno pripremljenu sa povećanom koncentracijom fibronektina, šire se samo oko 5% u odsustvu fibronektina, ali se povećavaju blizu 100% ako se koncentracija fibronektina u prethodnom adsorptivnom rastvoru poveća od 0,03 do 3 µg/ml [35]. Prethodna adsorpcija adhezionih proteina utiče na ćelijske interakcije sa površinama i u *in vivo* uslovima. Tako, npr., deponovanje trombocita (grč, *trombos*, koagulum, zgrušak + *kitos*, ćelija; krvna pločica) na polimeričke arteriovenske šantove u pasa znatno se povećava kada se fibrinogen ili fibronektin prethodno adsorbuju na te površine [35].

Adsorpcija proteina na površini biomaterijala se drukčije odvija nego na prethodno pripremljenim površinama za pojedinačne adhezionalne proteine. Biomaterijali u tkivu izloženi su složenoj mešavini proteina, kao što je plazma ili serum, tako da adhezionalni protein mora da se takmiči sa mnogim drugim proteinima za adsorpciju na površini biomaterijala. U takvoj situaciji, uprkos njegovom prisustvu u velikoj količini, dati adhezionalni protein može realno imati malu ili nikakvu ulogu. Moguće je da se vrlo malo adhezionih proteina adsorbuje na površinu, kao posledica neuspelog takmičenja sa drugim proteinima za mesta ograničene površine. Tako je veoma biološki značajan pravac razumevanje uloge adhezionih proteina u reakcijama sa implantatima, kao i proučavanje efekta njihovog selektivnog trošenja ili iscrpljivanja (deplecije) iz složenog rastvora [36]. Selektivna deplecija označava da samo jedan od proteina je nestao iz složenog rastvora (miksture) zbog korišćenja adsorpcione hromatografije plazme od pojedinaca mutanata bez dotičnog adhezionog proteina, ili zbog selektivne enzimske razgradnje. Tako je veoma važna uloga adsorbovanog vitronektina, kao suprotna fibronektinu u posredovanju pričvršćivanja i širenja ćelija na mnogim površinama, potvrđena u imunskoadsorpcionim studijama. Neke studije pokazuju da važnu ulogu adsorbovani fibrinogen ima u adheziji trombocita, neutrofila, i makrofaga.

Posledice uklanjanja fibronektina ili vitronektina, ili ova dva proteina, iz serum-a za adheziju na endotelnim ćelijama zavise od biohemiskog sastava površine. U tkivnoj kulturi polistirena, uklanjanje fibronektina ima mali efekat, dok eliminacija vitronektina znatno redukuje adheziju [36]. Ovo pokazuje da je primarna uloga adsorbovanog vitronektina u olakšavanju ahezije endotelnih ćelija za tkivnu kulturu polistirena. Suprotно od toga, za adheziju za površinu modifikovanu amonijumima u blještavom pražnjenju, potreban je fibronektin, pošto otklanjanje ovog proteina bitno redukuje adheziju za ovu površinu, dok uklanjanje vitronektina ima mali efekat [35]. Rezultati tkivne kulture polistirena su vrlo tipični, jer pokazuju da je na većini primenjenih površina vitronektin, a ne fibronektin, primarni tkivni faktor odgovoran za ćelijsku adheziju.

Adhezija trombocita za površine prethodno adsorbowane sa plazmom deficitnom u fibrinogenu mnogo je manja nego ista površina prethodno adsorbowana

sa normalnom plazmom. Većina adheziona potporne aktivnosti plazme može se povratiti davanjem normalne koncentracije spoljašnjeg fibrinogena. Suprotno tome, otklanjanje fibronektina, vitronektina ili vWF iz plazme ima mali efekat na adheziju trombocita, čak iako ovi drugi proteini plazme deluju kao adhezionalni proteini kada se adsorbuju kao pojedinačni proteini na površine [35]. To pokazuje da se malo od ovih drugih proteina adsorbuje iz plazme, stvarajući veliku razliku u koncentraciji, odnosno kompeticiji sa fibrinogenom i drugim proteinima, tako malu da njihovo uklanjanje nema posledica.

Eksperimenti na miševima su pokazali da smanjenje fibrinogena u plazmi značajno redukuje normalnu adheziju neutrofila i makrofaga na površinu biomaterijala [35]. Ove ćelije imaju integrinske receptore na svojoj površini za fibrinogen (CD11b/CD18), koji imaju glavnu ulogu tokom inicijalne ili akutne faze odgovora na strano telo organizma [35]. CD11b/CD18 [*cluster of differentiation (CD)*] ili Mac-1 su antigeni, karakteristični proteini ili proteinski kompleksi ćelijske površine ćelija prirodnih ubica [*natural killer cells (NK)*] ili NK ćelija, monocita, i neutrofila (CD11b); T i B limfocita, monocita i NK ćelija (CD18) koji pripadaju familiji integrina [37]. Mac-1 je integrin sastavljen od CD11b i CD18 lanaca [38]. CD11b je integrin; receptor za komplement fragment C3bi, fibrinogen, ili faktor koagulacije X. CD18 je integrin; veže međućelijske adhezionalne molekule ICAM-1 (CD54) ili ICAM-2 (*intercellular adhesion molecule 1 and 2*); posreduje u vezivanju leukocita i endotelnih ćelija [37].

Uloga adhezionih proteina u ćelijskim interakcijama sa biomaterijalima može se prikazati i dodatkom specifičnih inhibitora njihove funkcije. Adhezionalni proteini prouzrokuju ćelijsku adheziju vezivanjem za integrinske receptore koji specifično prepoznавaju adhezionalni proteini. Dodavanje antiga (grč. *antigenum*, telo koje je sposobno da izazove stvaranje *protiv tela* u krvi; *anti*, protiv + *genan*, stvarati) je jedan od načina za inhibiciju ove reakcije, koji se veže za receptor, blokiraјući pristup adhezionom proteinu. Trombocit-receptor posredovane interakcije pojavljuju se kao primarni mehanizam interakcije trombocita in vivo sa određenim vaskularnim graftovima zato što se nagomilavanje (depozicija) trombocita snažno sprečava antitelima na glikoprotein III/IIIa receptor. *In vitro* adhezija trombocita za površine prethodno adsorbovane sa krvnom plazmom, takođe, inhibiše se pomoću antiglikoproteina IIb/IIIa u dozno-zavisnom režimu [35].

### **Adsorpciono ponašanje proteina na čvrste/tečne međupovršine**

*Adsorpcija proteina menja svojstva površine* između ćelija i biomaterijala, a vlažnost površina ima ključnu ulogu u tom procesu. To je demonstrirano pomoću suve i vlažne površine obložene polistirenom, gde su došla do izražaja hidrofobna svojstva polistirena, nasuprot hidrofilnih svojstava adsorbovanog proteina [35]. Slično se dešava i sa ćelijama koje dodu u kontakt sa površinom prekrivenom prethodno adsorbovanim proteinima, tako da ćelije prihvataju proteinski substrat i stupaju u interakciju sa njim.

*Brzina adsorpcije proteina* na čvrste površine tipično se sastoji od veoma brze inicijalne faze, praćene sporijom fazom do prelaska u stanje stabilne vred-

nosti. Početno, proteini se adsorbuju čim stignu na veću praznu površinu. U ovoj fazi, adsorpcija je linearna kada je količina nanešenog materijala prema vremenu u odnosu  $\frac{1}{2}$ , što je karakteristika difuziono kontrolisanog procesa [35]. U kasnijoj, sporijoj fazi, mnogo je teže dolazećim proteinima da nađu na površini prazno место i da se smeste na njega.

*Vreme adsorpcije proteina* lizozima na silikat mereno automatskim elipsoometrom sposobnim za vrlo brzo merenje bilo je *manje od jedne sekunde*, pri čemu je adsorpcija dostigla skoro polovinu stanja stabilne vrednosti. Pritom većina adsorbovanih proteina ostaje stalno vezana, jer pranje površine sa puferom ne odstranjuje proteine. Adsorbovani proteini se jedino odstranjuju ako se upotrebi jak surfaktant, deterdžent natrijumdodecilsulfat [*sodium dodecyl sulfat (SDS)*] [35].

*Monoslojni adsorbovani proteini* sa jednoproteinskim rastvorom su blisko zbijeni i u njima efekat saturacije može često biti posmatran u adsorpciji Frojndlihove (*Freundlich, Herbert Max Finlay*) izoterme [35]. Adsorpcija na površinu je izložena različitim koncentracijama proteina dok se ne dostigne stabilno stanje adsorpcije (2 časa ili više). Adsorpcija se postepeno povećava u fazi male koncentracije, ali tipično dostigne ravan ili vrednost saturacije na većoj koncentraciji. Vrednost dostignutog platoa obično pada unutar očekivanog nivoa za blisko zbijeni monoslojni protein (oko 0,1 do 0,5  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , u zavisnosti od diametra i orientacije pretpostavljene za protein) [35].

Vrednosti adsorpcije rastvora kompleksnih proteina takođe su tipične na nivou monosloja. Na primer, ukupna suma adsorpcionog iznosa od tri glavna proteina u plazmi (albumin, IgG, i fibrinogen) na seriji HEMA-EMA [*2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA)-ethyl methacrylate (EMA)*] površina takođe su na nivou od 0,1 do 0,5  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  [35]. Činjenica da postoji konkurenca između proteina za adsorpciju na površini dodatno naglašava postojanje ograničenje mesta. Tako, kada je monosloj ograničen, mora postojati neka selekcija, da označi koji proteini su prisutni u adsorpcionom filmu. Potrebno je ukazati da dobro definisani platoi nisu uvek posmatrani, ali umesto toga adsorpcioni porast mnogo viši i sporiji na višoj vrednosti-fazi koncentracija nego na niskim koncentracijama, odnosno Frojndlihove izotermi se dešavaju.

*Kompetativna adsorpcija proteina* na površinu od proteinske mešavine (miksture) stalno se zbiva u procesu adsorpcije za podlogu biomaterijala. Adsorpcija proteinske miksture je selektivna, sa ulogom da dosegne do faze površine kod izvenskih proteina. Dosezanje znači da frakcije ukupne mase adsorbovanog proteinskog sloja odgovaraju datim proteinima, i često su mnogo više nego frakcije ovih proteina u velikoj količini miksture od koje su adsorbowane. Pošto čvrsta površina može samo uskladiti malu frakciju od ukupno prisutnih proteina u zbirnoj fazi, a proteini variraju u mnogome u njihovom afinitetu za površinom, neki proteini su prisutni u većem (količini) od ostalih u adsorbovanom filmu.

*Konkurenca* označava različit sadržaj proteina u multiproteinskim miksturama, a afinitetne varijacije su glavni princip koji određuje rezultat u kompetitivnoj adsorpciji proteina. Postoji mnoštvo primera obogaćenja površine miksturom kompleksa proteina. Iako je fibrinogen treći po koncentraciji protein u plazmi, po-

sle IgG i albumina [39], biomaterijali izloženi plazmi bivaju obogaćeni u fibrinogenu u fazi adsorpcije. Hemoglobin je prisutan u veoma maloj koncentraciji u plazmi (0,01mg/ml ili manje) [39], ali je on ipak adsorbovan u količini sličnoj u kojoj su adsorbovani dominantniji proteini i to zbog svog velikog afinitetu prema površini. Albumin je protein sa manjim afinitetom i predstavlja suprotan primer. Koncentracija albumina u plazmi je mnogo veća od fibrinogena, ali zato površinska koncentracija adsorbovana iz plazme je slična koncentraciji fibrinogena. Velika koncentracija albumina u plazmi kreće se ka površini i slaže na njoj saglasno zakonu o akciji mase [35]. Slično tome, adsorpcija fibrinogena je veća iz plazme koja sadrži veću koncentraciju fibrinogena. Tako, akcija mase u zbirnoj fazi je drugi glavni faktor koji određuje kompetitivno adsorpciono ponašanje.

Adsorpcija fibrinogena iz plazme pokazuje neko neuobičajeno ponašanje. Na nekim površinama, adsorpcija fibrinogena je maksimalna pri srednjem rastvoru plazme. Međutim, adsorpcija fibrinogena iz potuno jako ili srednje razblažene plazme je veća u veoma ranom adsorpcionom vremenu, nego što je kasnije (*Vroman-ov efekat za fibrinogen*) [35]. Ovaj fenomen je jasan primer jedinstvenih efekata kompetitivne adsorpcije, kako tokom dinamičke ravoteže, tako i tokom privremenog sastava adsorbovanog sloja koji se formira iz plazme. *Vromanov efekat* se pojavljuje da uključi pomeranje početno adsorbovanog fibrinogena pomoću kasnije nastupajućih, više površinski aktivnih proteina plazme, posebno visokomolekularnog teškog [*high-molecular-weight* (HMW)] kininogena, kao i pri prelasku u adsorbovani fibrinogen, što ih čini manje sposobnim za promenu mesta za vreme adsorpcije [35].

### **Molekularno širenje proteina: konformacione i biološke promene u adsorbovanim proteinima**

*Molekularno širenje proteina* ostvaruje se uz pomoć *konformacionih i bioloških* promena u adsorbovanim proteinima. Proteini koji se adsorbuju na čvrstoj površini mogu pretrpeti konformacijske promene zbog niske strukturne stabilnosti proteina i težnje razvoja daljeg formiranja veza sa površinom.

*Konformacijske promene* mogu biti otkrivene sa više vrsta fizikohemijskih metoda, kao i merenjem promena u biološkoj aktivnosti adsorbovanih proteina. "Meki" proteini su formirani da bi se adsorbovali brže i uspešnije nego "čvrsti" proteini. "Soft" protein je protein sa niskom termodinamičkom stabilnošću, dok je "hard" protein stabilniji na deformisanje u rastvoru pri odgovoru na denaturišuće uslove, kao što je porast temperature.

Poređenje adsorpcionog ponašanja raznih proteina na njihova molekularna svojstva ukazuje da se manje stabilni proteini bolje adsorbiju. Važna uloga strukturne stabilnosti u adsorpciji takođe je podržana skorašnjim studijama sa napravljenim mutantnim proteinima sa zamenama pojedinačnih aminokiselina, koje variraju u stabilnosti. Adsorpcija lizozima na čvrstoj/tečnoj međupovršini i zaposedenje enzima triptofan sintaze vazdušno/vodenom međupovršinom odlični su za manje stabilne mutante [35].

Nekoliko studija sa diferencijalnim skening kalorimetrijskim [*differential scanning calorimetry* (DSC)] metodama ističe da adsorbovani proteini mogu izgubi-

ti mnogo od njihove strukture, u zavisnosti koliko su "soft" ili "meki" [35]. Toplota se podiže na određenu temperaturu za proteine u rastvoru do deformisanja prirodnih proteina na prelaznoj temperaturi. Odsustvo ili smanjenje ovog efekta za adsorbovane proteine upućuje da su adsorbovani proteini već pretrpeli prelaz, i da su već deformisani pod uticajem adsorpcije. Izmena entalpije lizozima adsorbovanog za negativne naboje polistirena bila je mnogo manja nego za proteine u rastvoru (0-170 kJ/mol za adsorbovani protein nasuprot oko 600 kJ/mol za prirodni protein, u zavisnosti od pH) [35]. Pritom za adsorbovan lizozim na hematitu, poremećena entalpija je samo oko 20% manja, nego za prirodne proteine, ukazujući da promene u poremećenoj entalpiji zavise od adsorptivne površine. Za laktalbumin oslobođena toploata je blizu nule kada se adsorbuje na polistiren ili na površinu hematita, sugerijući potpuno razvijanje laktalbumina na obe površine. Ova posmatranja se podudaraju sa malom stabilnošću laktalbumina u poređenju sa lizozimom. Nekoliko proteina adsorbovanih za pirolitički ugljenik ne pokazuju oslobođanje toploate u očekivanoj izmeni temperature, ukazujući da pirolitički ugljenik indukuje potpuno razvijanje, a rezultat toga jeste konzistentnost sa žilavim vezivanjem proteina na ovu površinu. Takođe je pokazano da albumin i lizozim adsorbovani na polistiren ne postoje pri poremećenoj entalpiji, dok lizozim adsorbovan za hidrofilično kontaktno sočivo još uvek ispoljava oko 50% oslobođene toploate od prirodnih protein [35]. Adsorbovan streptavidin na polistiren prikazuje nerazvijenu entalpiju, što je veoma slično prirodnim proteinima u rastvoru, verovatno zato što postoji veća stabilitet streptavidina u poređenju sa lizozimom ili albuminom [35].

Skorašnje studije o adsorbovanim proteinima DSC metodom u saradnji sa ostalim mnogo direktnijim merenjima, kao što je cirkularni dihroizam [*circular dichroism (CD)*], pokazuju da najmanje adsorbovani neki proteini, koji se pojavljuju da bi bili potpuno denaturisani po metodi DSC, još uvek imaju značajne količine njihove prirodne strukture po merenjima CD [35]. Tako se dešava da neki proteini postaju nekako stabilniji posle adsorpcije i zato ne pokazuju oslobođanje toploate pri normalnoj temperaturi topljenja.

Koncept molekularnog širenja adsorbovanih proteina korišćen u ovim posmatranjima objašnjava razlike u vrednosti IgG adsorbovanog tokom postupne adsorpcije. Ako se postigne konačna koncentracija grupe proteina u serijama manjih koncentracionalnih postupaka, pri suprotstavljanju dovođenja koncentracije grupe proteina do njene konačne vrednosti u jednom postupku, adsorpcija će biti manja. Konformacijske promene po adsorpciji fibronektina za granule polistirena i citodeks mikronosača (*Cytodex microcarrier*) granula detektovane su korišćenjem elektronske spin rezonantne spektroskopije [35]. Mnoge druge fizikohemijske studije se slažu sa delimičnim promenama adsorbovanih proteinima.

*Biološke promene* u adsorbovanim proteinima nastaju nakon njihovih konformacionih promena posle adsorpcije. Mada fizičkohemijske studije ponekad sugeruju potpunu denaturaciju adsorbovanih protein, većina istraživanja za biološke aktivnosti sugeruju da promene nisu toliko obimne, nego su više ograničene. Tako, enzimi čuvaju neke od svojih aktivnosti u adsorbovanom stanju, naročito kada je površina prepunjena sa enzimima. Merenje enzimskih aktivnosti ili vreme zadržavanja u toku prolaženja preko hidrofobične hromatografske matrice pokazuje da je

stepen denaturacije veoma zavisan od vrste proteina, dužine vremena koje protein provodi na matriksu, rastvaraču, dok ostali uslovi nisu neophodno potrebni.

Promene u vezivanju monoklonalnih antitela za fragment D fibrinogena pod uticajem adsorpcije fibrinogena za polistiren karakteristične su u konformaciji fibrinogena posle adsorpcije. Stoga, fibrinogen u rastvorenoj fazi ne vezuje antitela, koja su se pojavila, za fragment D, ali fibrinogen adsorbovan za površinu ih vezuje, i uz to masa fibrinogena se ne takmiči za vezivanje antitela za fibrinogen adsorbovan za površinu. Receptorom indukovana mesta vezivanja [*receptor-induced binding site* (RIBS)] antitela su slična: ona vezuju fibrinogen samo posle vezivanja fibrinogena za čvrstu površinu ili za trombocitne IIb/IIIa receptore [35]. Vezivanje RIBS antitela i ostalih koji se vezuju za trombocit-vezujuće regije fibrinogena variraju sa dužinom vremena posle adsorpcije fibrinogena. Adhezija trombocita za polimetakrilatne podudarna je sa količinom vezivanja antifibrinogena, ukazujući da je adsorbovani fibrinogen u raznim konformacijama na različitim polimetakrilatima.

Fibrinogen prolazi kroz vremensko-zavisnu promenu posle adsorpcije na površini, čiji je rezultat smanjenje vezivanja trombocita i antitela za adsorbovani fibrinogen, kao i smanjenje natrijum dodecil sulfata [*sodium dodecyl sulfate* (SDS)] i istisnute plazme, uključujući i promene učestalosti amida II u adsorbovanom fibrinogenu [35]. Gubici u vezivanju trombocita, vezivanju antitela i SDS ispiranju sprečavaju se ako je albumin uključen u rastvor i smeštanje pufera. Vitronektin takođe prolazi kroz konformacijske promene do adsorpcije koja oštećuju njegovu sposobnost da veže heparin i njegov infracrveni spektar.

Modulacija biološke aktivnosti fibronektina je pokazana u nekoliko studija u kojima je fibronektin sposoban da se adsorbuje za razne površine da bi podržao ćelijsko pričvršćivanje ili širenje, i ta adsorpcija se razlikuje. Adsorbovani fibronektin na polistirensko tkivo-kulturu-stepen, npr., bio je u mogućnosti da podrži ćelijsko pričvršćivanje i širenje, dok adsorbovani fibronektin na običan polistiren ne podržava dobro širenje sve dok se nešto albumina ne doda rastvoru fibronektina. Adsorbovani fibronektin organizovan u sopstvene monoslojne filmove [*self-assembled monolayer films* (SAMs)] sa različitim završnim grupama takođe varira [35]. Na hidrofobičnim SAMs postoji slabo širenje ćelija dok se albumin ne doda ili koadsorbuje, što je poznato kao "oslobađanje" albumina [35]. Fenomen "oslobađanja" albumina viđen kod SAMs sličan je efektu albumina na fibronektin, sposobnog da izazove širenje ćelija na polistirenu, kao i već pomenutom albumin efektu u sprečavanju gubitka adhezije trombocita na adsorbovanu površinu fibrinogena. Sposobnost fibronektina da se adsorbuje na seriju polimera koji podržavaju izdanak epitelnih ćelija rožnjače (*cornea*) utvrđeno je da varira u velikom opsegu, uprkos prisustvu sličnih količina fibronektina na njihovim površinama [35].

Efekat dodavanja albumina u povećanju adhezivnosti površina obloženih fibronektinom suprotan je mogućem očekivanju, jer dodati albumin bi umanjio količinu adsorbovanog fibronektina, pošto se albumin takmiči za mesto na površini. Objašnjenje za albuminski efekat bi moglo biti da adsorbovani zajedno duž površine, molekuli albumina zauzimaju površinska mesta blizu molekula fibronektina. Adsorbovani molekuli albumina tako drže adsorbovane molekule fibronektina od podvrgavanja

strukturnim promenama, koje će učiniti napornim širenje i formiranje u praznim mestima površina, ali ne toliko ako molekuli albumina popune ta mesta.

Studije sa trombocitima, fibroblastima, i endotelnim ćelijama pokazuju da svojstva substrata ponekad modulišu sposobnost adsorbovanih proteina za interakciju sa ćelijama. Ove razlike mogu poticati na kraju delimično i od razlika u postojanju i raspoloživosti epitopa na adhezivnim proteinima za receptore na ćelijskim površinama. Tako, količina adsorbovanih adhezivnih proteina i njihova "bioreaktivnost" aktivno utiču zajedno sa svojstvima adhezivne površine na to koji će i u kojoj meri od njih biti adsorbovan.

Istraživanja su pokazala da bio-funkcionalizovane termosenzitivne međupovršine kulture co-imobilizuju sa ćelijskim adhezionim peptidom površine (*surface*), RGDS, i ćelijskim faktorom rasta, inzulinom, i da poboljšavaju početnu ćelijsku adheziju i rast ćelija, što je značajno za buduće ćelijske pločaste inžinjering prime-ne [40]. Ko-imobilizacija ćelijskih adhezionih peptida i faktora rasta na termosenzitivne površine može biti korisna za brzu pripremu intaktnih ćelijskih ploča i za njihovo korišćenje u regenerativnoj medicini [40].

Prototipično vezno mesto prisutno u adhezivnim proteinima fibronektina i vitronektina su tri sekvene aminokiselina arginin-glicin-asparagin zvano *RGD*, koje se veže za specifičan tip ( $\alpha_4\beta_1$ ) integrinskih receptora na površini ćelije [4].

**Značaj adsorbovanih proteina na biomaterijalima** je ključan za mnogo-brojne interakcije između ćelija, tkiva i biomaterijala, pogotovo ako se uzme u obzir da praktično nije moguće izbeći kontakt biomaterijala sa krvnom plazmom i njegovim proteinima (Tabl. 3.5). Svi principi dati u tabeli primenjuju se i u ostalim okruženjima, kao što su ekstravaskularni prostori, čak i ostali proteini i drugi ćelijski tipovi (npr., makrofagi u peritoneumu adheriraju preko drugih receptora i drugih adhezionih proteina).

Osetljivost trombocitnih interakcija sa površinom prema adsorbovanim proteinima je suštinska za prisustvo adhezionih receptora u membrani trombocita koji se vezuju sa određenim proteinima plazme. Postoji samo nekoliko tipova proteina u plazmi koji se vežu za adhezione receptore. Selektivna adsorpcija ovih proteinova za sintetičke površine, u konkurenциji sa mnogim neadhezionim proteinima koji su takođe skloni da se adsorbuju, jeste namena da posreduje u adheziji trombocita sa ovim površinama. Međutim, pošto su rastvoreni, adhezionalni proteini plazma faze ne vezuju adhezionale receptore dok se trombociti adekvatno ne stimulišu, jer nestimulisani trombociti mogu biti adherirani za adsorbowane adhezionale proteine. Dešava se da adsorpcijom proteina na površini naglašava se i moduliše interakcija adhezionalnih receptora i/ili adhezija proteina. Vrsta površine na kojoj je adhezionalni protein adsorbovan deluje na sposobnost proteina da podrži adheziju trombocita [41].

Principi koji određuju adsorpciju proteina na biomaterijale uključuju adsorpciju monosloja, aktivnost unutrašnje površine i ukupne koncentracije proteina, kao i efekat raznih površina na selektivnost adsorpcije, uključujući i biološku aktivnost adsorbovanih proteinova.

*TABELA 3.5 Principi koji leže u osnovi uticaja adsorbovanih proteina plazme na interakciju trombocita sa biomaterijalima [35], modifikovano.*

Principi uticaja adsorbovanih proteina plazme na interakcije trombocita sa biomaterijalima	
1.	Sintetički strani materijali dobijaju bioreaktivnost samo posle prve interakcije sa rastvorenim proteinima. Glavni način transformacije od neaktivnog, netrombogenog polimera do biološki aktivne površine koja zauzima mesto, jeste interakcija proteina sa površinom, koja potom posreduje u čelijskoj adheziji.
2.	Trombociti su glavni primer zašto i kako adsorbovani proteini utiču na interakcije ćelija sa biomaterijalom.
3.	Osetljivost trombocita na adsorbowane proteine postoji iz sledećih razloga:
	<ul style="list-style-type: none"> <li>a) neki proteini u plazmi imaju jaču adhezivnost za trombocite: fibrinogen, fibronektin, vitronektin i fon Vilebrandov (<i>von Willebrand</i>) faktor;</li> <li>b) koncentracijski, lokalizacijski, imobilizirajući efekti adsorbujućih proteina na međuvezu naglašavaju receptor-adhezioni protein interakciju;</li> <li>c) trombociti imaju receptore (IIb/IIIa i Ib/IX) koji vežu specifično nekoliko proteina plazme, posredujući adheziju.</li> </ul>
4.	Principi adsorpcije proteina na biomaterijale:
	<ul style="list-style-type: none"> <li>a) adsorpcija monosloja i posledično takmičenje za dostupna adsorpciona mesta znači da ne mogu svi proteini u rastvoru plazme biti jednakо predstavljeni na površini.</li> <li>b) pogonske sile za adsorpciju su unutrašnje aktivnosti površine i faza velike koncentracije proteina.</li> <li>c) površine variraju u selektivnosti adsorpcije.</li> <li>d) biološka aktivnost adsorbovanih proteina varira na različitim površinama.</li> </ul>

Svi proteini su uopšteno poznati da imaju prirodnu tendenciju da se talože veoma brzo na površinama, kao čvrste veze adsorbata, koje snažno utiču na sledeće interakcije više različitih tipova ćelija sa površinama. Zato se smatra da posebna svojstva površine, kao i specifična svojstva pojedinačnih proteina, zajedno određuju organizaciju adsorbovanog proteinskog sloja, i da priroda ovog sloja zauzvrat određuje ćelijski odgovor na adsorbovanu površinu.

### **3.2.2 Uloga pojedinih tkivnih komponenti pri odgovoru tkiva na biomaterijale**

Pri odgovoru tkiva na biomaterijale značajnu ulogu imaju mnoge ćelije i tkiva, posebno vezivno tkivo kao najrasprostranjenije u organizmu. ECM, zbog svoje zastupljenosti i sadržaja je nezaobilazni deo reakcije tkiva na bilo koje strano telo. *Bazalna membrana* (BM) je veoma značajan tkivni elemenat, za koju je pričvršćena većina ćelija mnogih tkiva, tako da i ona učestvuje u reakcijama na biomaterijale.

Istraživanja fenotipske i molekularne ekspresije proteina BM i ECM *in vitro*, na trodimenzionalnim (3D) želatin-hondroitin 6 sulfat-hijaluronska kiselina [*gelatin-chondroitin 6 sulphate-hyaluronic acid (gelatin-C6S-HA)*] biomatičama kao skeletu, pokazala su različite reakcije keratinocita i dermalnih fibroblasta u kulturi [42]. Depozicija proteina BM i proteina ECM sekretovanih iz ove dve vrste ćelija je kvantitativno merena u realnom vremenu pomoću reakcije reverzognog transkripcionog polimeraznog lanca [*reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)*] i određivana imunohistohemijski. Rezultati su pokazali da keratinociti eksprimuju specifičan keratin i E-kadherinske proteine, dok su tip I kolagena sekretovani dermalni fibroblasti. Fibroblasti su još sintetisali i deponovali laminin 5, tip IV kolagen, i tip VII kolagen, dok su keratinociti dominantno produkovali integrin alfa 6 i integrin beta 4, kao i laminin 5. Interesantno je da integrin beta 4 nije eksprimovala ni jedna vrsta ćelija u monokulturi, ali je viđen u organotipičnom modelu kokulture keratinocita i dermalnih fibroblasta u ranom stadijumu kultivisanja.

U ovom eksperimentu, histološke studije su potvratile brojne znake epidermalizacije, uključujući dobro organizovani bazalni sloj posebnih cilindričnih ćelija, granularni i rožasti sloj, kao formiranje kompletne BM. Ovi rezultati ukazuju da keratinociti i dermalni fibroblasti ne stvaraju samo njihov fenotip u kulturi 3D skeleta, nego takođe dejstvuju zajedno u rekonstrukciji dermo-epidermalne zone bazalne membrane. Ukratko, ovi rezultati pokazuju da procesi u ovom eksperimentu direktno obezbeđuju količinu eksprimovanih proteina za BM i ECM, koristeći realno vreme RT-PCR na mRNK nivou i morfološke promene, dokazane imunološkim bojenjem na nivou proteina.

Istraživanja sa podlogom od proteina surutke, pripremljenim za korišćenje raznih plasticizera kao biomaterijala za ispitivanje efekata na ljudske keratinocite i fibroblaste u *in vitro* kulturi, pokazala su da molekularna konfiguracija ovog biofilma može indukovati razlike u njegovim mehaničkim svojstvima [43]. Sprovedena *in vitro* ispitivanja na podlozi (biofilmu) od proteina surutke, pokazala su da ljudski keratinoцитi i fibroblasti adheriraju na biofilm i da keratinociti brže rastu [43]. Strukturna analiza je pokazala da se keratinociti uslojavaju u kulturi na podlozi od proteina surutke i da daju porast za više slojevite epidermalne strukture [43].

Efekat proteina surutke na rast keratinocita i fibroblasta u *in vitro* uslovima pokazao je da su proteini surutke jedna nešireća obnavljajuća podloga, lako pripremljiva, netoksična za ćelije kože, koja može biti koristan substrat za razne biomedicinske primene, uključujući tkivni inžinjering [43].

Pokazano je da tretiranje nativnog kolagena tipa I (od goveđe kože) sa tkivnom transglutaminazom [*tissue transglutaminase (tG2; tTG)*] i mikrobnom transglutaminazom [*microbial transglutaminase (mTG; Streptomyces mobaraense)*] vodi povećanju ćelijskog pričvršćivanja, širenja i proliferacije ljudskih osteoblasta i ljudskih foreskin dermalnih fibroblasta, u poređenju sa kulturom nativnog kolagena [44]. Transglutaminazom tretirani kolagen supstrati takođe pokazuju veću otpornost na ćelijski posredovanu endogenu proteaznu razgradnju, nego nativni kolagen, a i ljudski osteoblasti brže se diferenciraju, nego u nativnom kolagenu.

Reakcija tkiva na biomaterijale zavisi ne samo od vrste materijala, nego i od njegovih fizikohemijskih svojstava. To pokazuje primer implantacije titana u kostno tkivo, tako da je u poređenju sa titanom hemijski obrađenim na drugi način, čelijska adhezivnost i osteogena proliferacija na NaOH-tretirani titan bila najbolja [45].

Integritet ljudskih endotelnih monoslojeva na nikl-titan (NiTi) leguru zavisan je od hemijskog sastava površine legure i može se menjati korišćenjem jednostavnih oksidativnih tretmana topotom [46].

### 3.2.3 Tkvni inženjering

Tkvni inženjering se razvio kao rezultat interakcije tkiva sa biomaterijalima. Cilj svih istraživača koji se bave interakcijama tkiva sa biomaterijalima, a pogotovo korisnika biomaterijala, sastoji se u stvaranju i primeni što boljih i dugotrajnijih biomaterijala, koji će imati vrlo male ili nikakve interakcije sa čelijama i tkivima ljudskog organizma.

Efikasno pričvršćivanje čelija za biodegradabilne polimerne skeletne materijale nije uvek uspešno zbog velike poroznosti kostura materijala sa kompleksnim trodimenzionalnim (3D) površinama. Rezultati istraživanja na avidin-biotin vezujućim sistemima [*avidin-biotin binding systems* (ABBS)] za početno pričvršćavanje biotinisanih čelija jetre, *hepatocita* (Hep G2), za avidin adsorbujuću podlogu, dvodimenzionalnih (2D) i veoma poroznih 3D površina polilaktične kiseline [*poly L-lactic acid* (PLLA)], pokazali su da ABBS su korisni za brzo »zarobljavanje« čelija na 2D i 3D površine [47]. Ova tehnika vezivanja hepatocita ima samo male efekte na specifične funkcije jetre, ili na sposobnost transfera signala transmembranskih receptorskog kompleksa.

Jedan od izazova u tkivnom inženjeringu tubularnih tkiva i organa jeste efikasno zasejanje poroznih skeletnih, šupljikavih podloga sa određenim tipom čelija i gustina za kratko vreme, bez delovanja na čelijsku sposobnost za život. Istraživane su razne tehnike zasejanja, brze, ponovljive, i efikasne masivne zasejavajuće metode sa podjednakom čelijskom distribucijom. Pokazalo se da novi način zasejanja, koji koristi sinergističke efekte vakuma, centrifugalne sile i toka, u šupljikavim tubularnim skeletnim polimernim podlogama, ne utiče štetno na čelije [48]. Rezultati ovog načina uniformnog zasejanja, duž uzdužnih i kružnih pravaca unutar zida tube, pokazuju da nema štetnih efekata na čelije, čak i pri njihovom izlaganju prekomernom smičućem naponu (eng. *shear stress*).

Konstruisano je mnoštvo naprava i sistema biomaterijala koji služe za kontrolisano otpuštanje lekova u tkivima. Jedan od tih sistema su prilagođeni biodegradabilni i biokompatibilni oligomeri hidroksibuterne kiseline (*3-hydroxybutyric acid*), koji su efikasni, netoksični vektorski proizvodi za oslobađanje lekova u konjugovanoj formi [49].

Ključni koncept u planiranju vrste i strukture biomaterijala je da površina biomaterijala može sadržavati specifične hemijske i strukturne informacije koje kontrolišu formiranje tkiva, u načinu sličnom međučelijskoj komunikaciji i obrascu tokom embriološkog razvoja. Ovo je potvrđeno eksperimentima tkivnog inžinjerin-

ga koji upotrebljavaju biomaterijale sa površinama obrađenim da stimulišu veoma precizne reakcije sa proteinima i ćelijama na molekularnom nivou. Takvi materijali obezbeđuju naučnu osnovu za molekularno planiranje skeleta koji bi bio zasejan sa ćelijama *in vitro* za naknadnu ugradnju ili specifično privlačenje endogenih funkcionalnih ćelija *in vivo* [4].

Povezujući domeni (mesta) ekstracelularnog matriksnog okruženja mogu biti prikriveni sa multifunkcionalnom ćelijskom adhezivnom površinom sastavljenom od specifičnih proteina, peptida, i drugih biomolekula pričvršćenih za biomaterijal. Molekularne modifikacije resorptivnih polimerskih sistema daju specifične interakcije sa ćelijskim integrinima (važnom vrstom proteina, adhezivnih receptora koji se vežu za ECM i verovatno direktno utiču na ćelijsku proliferaciju, differencijaciju, i produkciju ECM). Proteini, kao što su sa RGD sekvencama, koji indukuju poželjno ćelijsko ponašanje (npr. adheziju, širenje, i druge funkcije), inkorporišu se u biomaterijale za kontrolu tkivnih reakcija. Ove sekvene potpomažu adheziju i širenje ljudskih endotelnih ćelija, ali ne i glatkih mišićnih ćelija, fibroblasta, ili trombocita. Štaviše, indukovani ćelijski odgovori mogu varirati sa gustinom pričvršćenih RGD peptida [50]. Kroz razumnu selekciju liganda, površine mogu biti projektovane da redukuju adheziju proteina i ćelija, da sprečavaju koagulaciju, da podstiču pričvršćivanje endotelnih ćelija i njihovo zadržavanje, da poboljšavaju infiltraciju kapilara, i da sprečavaju prekomernu proliferaciju glatkih mišićnih ćelija i produkciju kolagena. Ova manipulacija sa ćelijsko-integrinskim interakcijama sa projektovanim ligandima na sintetičkim biomaterijalima može poboljšati funkciju u postojećoj primeni, kao što je zarastanje vaskularnih graftova (eng. *graft*, od lat. *transplantatum*, kalem, presad; od lat. *trans*, preko, kroz + *planta*, biljka).

Posebno interesantno i aktivno polje istraživanja predstavlja korišćenje hemijski obrađenih površina za kontrolu ćelijskog ponašanja pomoću stvaranja adhezivnih i neadhezivnih regiona i mogućih, čak, hemijskih gradijenata. Pomoću variranja veličine i hemijskog sastava raznih regiona, i mogućeg tipa, građe, usmerenja migracije i funkcije ćelija, može se stvoriti, čak, rastući dvodimenzionalni organ. Ključna stvar u tkivnom inžinjeringu je razumevanje kako ćelije odgovaraju na molekularne signale i integrišu mnogobrojne ulaze za stvaranje datog odgovora, kao i kontrola nespecifičnih interakcija između ćelija i biomaterijala, tako da ćelijski odgovori specifično prate željene ligand-receptor interakcije.

Struktura biomaterijala utiče na ponašanje ćelija, uključujući adheziju i pokretno pričvršćavanje, površinu širenja, proliferaciju, orientaciju ćelija prema topografiji tkiva, biohemijsku aktivnost, i rast neurona. Štaviše, fibroblasti, neuroni, i druge ćelije orijentisu se duž vlakana, ivica, žlebova i udubljenja, što može imati potencijalnu terapijsku primenu u regeneraciji nerava, a struktura utiče na širenje makrofaga i rast fibroblasta. To se posebno pokazalo pri tumorogenezi sa strukturalnim karakteristikama substrata, uključujući hrapavost, šupljikavost, i mnoštvo drugih svojstva površine biomaterijala.

Primenjeni razni metodi za ograničavanje prisustva i/ili aktivnosti za biomaterijal adheriranih makrofaga su od suštinske važnosti za opstanak i dugovečnost svih implantiranih supstanci za smanjenje interakcija između ćelija i materijala i ćelijskih interakcija. Adherirani makrofagi produkuju takve faktore kao što

su reaktivne kiseoničke vrste [*reactive oxygen species (ROS)*] ili slobodni radikali, lizozomalne enzime, i nizak pH, delujući lokalno oksidacijom i oštećujući površine implantata kroz mehanizme kao što su oksidativno cepanje lanaca, hidroliza, ili okolno uništavanje [1]. Fuzija za biomaterijal adheriranih makrofaga u gigantske multinuklearne ćelije koncentriše sve degradirajuće aktivnosti koje stimulišu i povećavaju oštećenje površine biomaterijala [34].

Adherirani makrofagi i gigantske ćelije imaju ključnu ulogu u opštim reakcijama na implantirane materijale kroz produkciju i oslobađanje citokina. Citokini oslobođeni iz adheriranih makrofaga usmeravaju ćelijske interakcije pomoću autokrinih (grč. *auto*, sam + *krinein*, izlučiti) i parakrinih (grč. *para*, van + *krinein*, izlučiti) mehanizama, odnosno koji deluju na samu ćeliju ili van ćelije. Hemoatraktanti, kao što je interleukin 8 (IL-8) izlučen iz adheriranih makrofaga, mogu regrutovati druge leukocite, posebno neutrofile i limfocite [51], za kontaktnu površinu tkiva sa materijalom. Neutrofili mogu povećati površinu oštećenja pomoću stvaranja degradacionih produkata (ROS) kroz tzv. *respiratornu eksploziju*, dok interakcija limfocita sa adheriranim makrofagima povećava lokalnu koncentraciju citokina. Citokini izlučeni iz limfocita (IL-2, IL-4, IL-13, i IL-1 $\beta$ ) ili adheriranih makrofaga (IL-1 $\beta$ , IL-1, TNF- $\alpha$ , i IL-10) dalje utiču na aktivnost susednih ćelija tkiva [52]. IL-4 ili IL-13 prodomkovani iz ovih ćelija dodatno indukuju fuziju makrofaga u gigantske multinuklearne ćelije, što vodi povećanju oštećenja biomaterijala [1, 52].

Metodi za redukciju ovih štetnih aktivnosti pomoću ograničavanja prisustva i aktivnosti adheriranih makrofaga potrebni su za održavanje normalnog funkcionalisanja i povećanje dužine trajanja implantiranih biomaterijala, proteza, i medicinskih sredstava ili pomagala. Apoptoza za biomaterijal adheriranih makrofaga je jedan od mehanizama za uklanjanje ovih ćelija bez izazivanja produženog zapaljenskog odgovora. Za ovaj efekat su odgovorne hidrofilne i anjonske površine biomaterijala, koje prouzrokuju manju sposobnost adhezije, povećavaju procenat apoptoze, i smanjuju stepen fuzije makrofaga.

Poznato je da su razlike u brzini adhezije rezultat razlika u adsorbovanom proteinskom sloju koji oblaže površinu implantata neposredno nakon uvođenja u organizam. Tipovi i nivoi adsorbovanih proteina na površinu implantata variraju zavisno od hemijskog sastava površine. Kao što je rečeno, u adsorbovanom proteinskom sloju mogu biti: fibrinogen, fibronektin, vWF, IgG, i vitronektin, koji služe kao ligandi za protein-specifične receptore na površini monocita [1]. Adsorpcija proteina zavisna od hemijskog sastava površine ultimativno može odrediti stepen adhezije monocita. Smanjenje brzine adhezije monocita na hidrofilne i anjonske površine može biti prouzrokovano smanjenjem broja ili izmenjenim konformacijama liganda prisutnih na adsorbovanom proteinskom sloju.

### 3.3 PITANJA ZA REKAPITULACIJU

3.1 Kako se ostvaruje interakcija ćelija sa čvrstim substratom?

3.2 Postoji li takmičenje (kompeticija) među proteinima pri adsorpciji za stranu površinu?

- 3.3 Kakve promene nastaju kao posledica adsorpcije?
- 3.4 Koja su tri najvažnija adsorptivna proteina?
- 3.5 Koja vrsta ćelija krvi najbolje dokazuje interakcije ćelija sa biomaterijalom?
- 3.6 Kako se označavaju integrinske vezujuće sekvence?
- 3.7 Kako deluje smičući napon na vaskularne ćelije?
- 3.8 Kakvi mehanotransduksijski putevi postoje?
- 3.9 Kakve su posledice smičućeg napona na endotelne ćelije?
- 3.10 Kojim putem deluje smičući napon na duge kosti?

### 3.4 LITERATURA

1. W. G. Brodbeck, J. Patel, G. Voskerician, E. Christenson, M.S. Shive, Y. Nakayama, T. Matsuda, N.P. Ziats, J.M. Anderson, Biomaterial adherent macrophage apoptosis is increased by hydrophilic and anionic substrates *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:16 (2002) 10287-10292.
2. B.D. Ratner, Background Concepts, in: B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.3.1.
3. D.E. Ingber, Mechanical signaling and the cellular response to extracellular matrix in angiogenesis and cardiovascular physiology. *Circ. Res.* 91 (2002) 877-887.
4. F.J. Schoen, R.N. Mitchell, Tissue, the Extracellular Matrix, and Cell-Biomaterial Interactions, in: B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.3.4.
5. D.E. Ingber, Mechanosensation through integrins: cells act locally but think globally. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100 (2003) 1472-1474.
6. L.V. McIntire, S.G. Eskin, A. Yee, Mechanical Forces on Cells, in: B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.3.5.
7. D.N. Lapedes (ed.), *McGraw-Hill Dictionary of scientific and technical terms*, 2nd Ed. (McGraw-Hill, New York, 1974).
8. P. Libby, Patogeneza ateroskleroze. Prevod. U: E. Braunwald, A.S. Fauci, D.L. Kasper, S.L. Hauser, D.L. Longo, J.L. Jameson (ured.), *Harissonova načela interne medicine*, 15. izdanie. (Bard-fin & Romanov, Beograd - Banja Luka, 2004), Knjiga 1.8.4.241.
9. P. Libby, Prevencija i lečenje ateroskleroze. Prevod. U: E. Braunwald, A.S. Fauci, D.L. Kasper, S.L. Hauser, D.L. Longo, J.L. Jameson (ured.), *Harissonova načela interne medicine*, 15. izdanie. (Bard-fin & Romanov, Beograd - Banja Luka, 2004), Knjiga 1.8.4.242.
10. S.W. Greenwald, C.L. Berry, Improving vascular grafts: the importance of mechanical and hemodynamic properties. *J. Pathol.* 190 (2000) 292-299.

11. A. Remuzzi, B. Ene-Iordacche, L. Mosconi, S. Bruno, A. Anghileri, L. Antiga, G. Remuzzi, Radial artery wall shear stress evaluation in patients with arteriovenous fistula for hemodialysis access. *Biorheology* 40 (2003) 423-430.
12. E.J.R. Mattson, T. Kohler, S.M. Vergel, A.W. Clowes, Increased blood flow induces regression of intimal hyperplasia. *Arterioscler. Thrombosis Vasc. Biol.* 17 (1997) 2245-2249.
13. E.L. Boulpaep, Organization of cardiovascular system, in: W.F. Boron, E.L. Boulpaep, *Medical physiology: a cellular and molecular approach*, Updated-edition. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 4.17.
14. Wikipedia, the free encyclopedia, *Shear stress*. www. Answers.com
15. C.W.J Patrick, L.V. McIntire, Shear stress and cyclic strain modulation of gene expression in vascular endothelial cells. *Blood Purif.* 13 (1995) 112-124.
16. M. Papadaki, S.G. Eskin, Effects of fluid shear stress on gene regulation of vascular cells. *Biotechnol. Prog.* 13 (1997) 209-221.
17. D.G Harrison, The shear stress of keeping arteries clear. *Nat. Med.* 11 (2005) 375-376.
18. E.L. Boulpaep, The microcirculation, in: W.F. Boron, E.L. Boulpaep, *Medical physiology: a cellular and molecular approach*, Updated-edition. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 4.19.
19. S. Gudi, I. Huvar, C.R. White, N.L. McKnight, N. Dusserre, G.R. Boss, J.A. Frangos, Rapid activation of ras by fluid flow is mediated by Gaq and Gbg subunits of heterotrimeric G proteins in human endothelial cells. *Arterioscler. Thrombosis Vas. Biol.* 23 (2003) 994-1000.
20. D.E. Ingber, Tensegrity II. How structural networks influence cellular information processing networks. *J. Cell Sci.* 116 (2003) 1397-1408.
21. S. Chien, S. Li, Y.J. Shyy, Effects of mechanical forces on signal transduction and gene expression in endothelial cells. *Hypertension* 31(1 Pt 2) (1998) 162-169.
22. T. Nagel, N. Resnick, C.F.J. Dewey, M.A.J. Gimbrone, Vascular endothelial cells respond to spatial gradients in fluid shear stress by enhanced activation of transcription factors. *Arterioscler. Thrombosis Vas. Biol.* 19 (1999) 1825-1834.
23. X. Bao, C.B. Clark, J.A. Frangos, Temporal gradient in shear-induced signaling pathway involvement of MAP kinase, c-fos, and connexin 43. *Am. J. Physiol. Heart and Circulatory Physiology.* 278 (2000) H1598-H1605.
24. N. Resnick, T. Collins, W. Atkinson, D.T. Bothron, C.F.J. Dewey, Gimbrone M.A.J., Platelet-derived growth factor B chain promoter contains a cis-acting shear-stress-responsive element. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90 (1993) 4591-4595.
25. M. Papadaki, J. Ruef, K.T. Nguyen, F. Li, C. Patterson, S.G. Eskin, L.V. McIntire, M.S. Runge, Differential regulation of protease activated receptor-1 and tissue plasminogen activator expression of shear stress in vascular smooth muscle cells. *Circ. Res.* 83 (1998) 1027-1034.
26. K.T. Nguyen, S.R. Frye, S.G. Eskin, C. Patterson, M.S. Runge, L.V. McIntire, Cyclic strain increases protease-activated receptor-1 expression in vascular smooth muscle cells. *Hypertension* 38: 1038-1043.

27. S.M. McCormick, S.G. Eskin, L.V. McIntire, C.L. Teng, C.-M. Lu, C.G. Russell, K.K. Chittur, DNA microarray reveals changes in gene expression of shear stressed human umbilical vein endothelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98 (2001) 8955-8960.
28. D.J., Dandy, D.J. Edwards, Basic Science in Orthopaedics, in: *Essential Orthopaedics and Trauma*, 4th Ed. (Churchill Livingstone, Edinburgh, 2003), Sect. 1.4.
29. S.J. Hall, What is Biomechanics? In: *Basic Biomechanics*, 2nd Ed. (McGraw-Hill, Boston, 1995), Sect.1.
30. P.A. Revell, Bone structure, in: S.P.F. Hughes, I.D. McCarthy (eds.), *Sciences Basic to Orthopaedics*. (W.B. Saunders Company, London, 1998), Sect. 1.1.
31. I.D. McCarthy, Blood Flow and Transport in Bone, in: S.P.F. Hughes, I.D. McCarthy (eds.), *Sciences Basic to Orthopaedics*. (W.B. Saunders Company, London, 1998), Sect. 1.2.
32. N. Basso, J.N.M. Heersche, Characteristics of *in vitro* osteoblastic cell loading models. *Bone* 30 (2002) 347-351.
33. A.C. Shieh, K.A. Athanasiou, Principles of cell mechanics for cartilage tissue engineering. *Ann. Biomed. Eng.* 31 (2003) 1-11.
34. F.J. Schoen, Introduction, in: B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.4.1.
35. T.A. Horbett, The Role of Adsorbed Proteins in Tissue Response to Biomaterials, in: B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.3.2.
36. T.A. Horbett, The role of adsorbed adhesion proteins in cellular recognition of biomaterials. *BMES Bull.* 23 (1999) 5-9.
37. T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), The CD Classification of Hematopoietic Cell Surface Markers, in: *Medical Immunology*, 10th Ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Appendices.
38. T.G. Parslow, D.F. Bainton, Innate Immunity, in: *Medical Immunology*, 10th Ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 1.2.
39. V.B. Đorđević, Biohemija krvi, u: D. Koraćević, G. Bjelaković, V.B. Đorđević, J. Nikolić, D.D. Pavlović, G. Kocić (ured.), *Biohemija*, 4. izmenjeno i dopunjeno izdanje. (Savremena administracija, Beograd, 2006), Poglavlje 12.
40. H. Hatakeyama, A. Kikuchi, M. Yamato, T. Okano, Bio-functionalized thermoresponsive interfaces facilitating cell adhesion and proliferation. *Biomaterials* 27(29) (2006) 5069-5078.
41. T.A. Horbett, Principles underlying the role of adsorbed plasma proteins in blood interactions with foreign materials. *Cardiovasc. Pathol.* 2 (1993) 137S-148S.
42. T.-W. Wang, J.-S. Sun, Y.-C. Huang, H.-C. Wu, L.-T. Chen, F.-H. Lin, Skin basement membrane and extracellular matrix proteins characterization and quantification by real time RT-PCR. *Biomaterials* 27(29) (2006) 5059-5068.
43. V. Gilbert, M. Rouabhia, H. Wang, A.-L. Arnould, G. Remondetto, M. Subirade, Characterization and evaluation of whey protein-based biofilms as substrates for in vitro cell cultures. *Biomaterials* 26(35) (2005) 7471-7480.

44. D.Y.S. Chau, R.J. Collighan, E.A.M. Verderio, V.L. Addy, M. Griffin, The cellular response to transglutaminase-cross-linked collagen. *Biomaterials* 26(33) (2005) 6518-6529.
45. M.F. Maitz, R.W.Y. Poon, X.Y. Liu, M.-T. Pham, P.K. Chu, Bioactivity of titanium following sodium plasma immersion ion implantation and deposition. *Biomaterials* 26(27) (2005) 5465-5473.
46. S.D. Plan, D.M. Grant, L. Leach, Behaviour of human endothelial cells on surface modified NiTi alloy. *Biomaterials* 26(26) (2005) 5359-5367.
47. N. Kojima, T. Matsuo, Y. Sakai, Rapid hepatic cell attachment onto biodegradable polymer surfaces without toxicity using an avidin-biotin binding system. *Biomaterials* 27(28) (2006) 4904-4910.
48. L. Soletti, A. Nieponice, J. Guan, J.J. Stankus, W.R. Wagner, D.A. Vorp, A seeding device for tissue engineered tubular structures. *Biomaterials* 27(28) (2006) 4863-4870.
49. V. Piddubnyak, P. Kurcok, A. Matuszowicz, M. Głowala, A. Fiszer-Kierzkowska, Z. Jedliński, M. Juzwa, Z.Z. Krawczyk, Oligo-3-hydroxybutyrates as potential carriers for drug delivery. *Biomaterials* 25(22) (2004) 5271-5279.
50. L.Y. Koo, D.J. Irvine, A.M. Mayes, D.A. Lauffenburger, L.G. Griffith, Co-regulation of cell adhesion by nanoscale RGD organization and mechanical stimulus. *J. Cell Sci.* 115 (2002) 1423-1433.
51. J.J. Oppenheim, R. Horuk, Chemokines, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th Ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect.1.11.
52. J.J. Oppenheim, F.W. Ruscetti, Cytokines, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th Ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect.1.10.

# 4

## PROCESI ZAPALJENJA I ZARASTANJA<sup>1</sup>

Za razliku od transplantiranih živih organa, bimaterijali se u principu ne odbacuju [1]. Odbacivanje organa ispoljava se pojavom zapaljenskog procesa ili inflamacije, kao posledice specifičnog imunskog odgovora, koji prouzrokuje smrt tkiva. Sintetički materijali obično ne izazivaju ovakvu, već nespecifičnu imunsku reakciju. Tkivni biomaterijali (kao što su bioprotetski srčani zalisci) mogu ispoljiti organizmu strana histokompatibilna antigenska svojstva, postati antigeni i indukovati imunski odgovor, uključujući stvaranje antitela i antigen-specifičnih T ćelija [1]. Međutim, tkivna imunogenost ne indukuje obavezno imunološki posredovanu disfunkciju aparata, niti specifičan imunski odgovor mora biti uzrok ili posledica otkazivanja aparata. Isto tako, prisustvo zapaljenskih, mononuklearnih ćelija (makrofaga i limfocita) ne znači istovremeno da je počeo proces odbacivanja biomaterijala.

Većina klinički potencijalno interesantnih biomaterijala tipično ispoljava reakciju na strano telo, specijalan vid nespecifičnog zapaljenja. Makrofagi su najzastupljenije ćelije u ovoj reakciji, koji počinju fagocitozu materijala, ali sa promenljivim uspehom, jer se potpuna razgradnja često ne dešava. Aktivisani makrofagi u procesu interakcije sa biomaterijalom, luče citokine koji stimulišu zapaljenje ili stvaranje vezivnog tkiva (fibroza). Gigantske multinuklearne ćelije u blizini stranog tela preovlađuju u jačoj reakciji na strano telo. Što je implantat "biokompatibilniji", odgovor je slabiji, pa je zapaljenje tiše. Ako je implantat izvor čestica koje nije lako kontrolisati, kao što je istrošeni materijal (*debris*) od trenja zglobovnih površina, zapaljenske ćelije ga ne mogu adherirati, niti fagocitovati, ako su mu čestice veće od kritične veličine („frustrirana fagocitoza“) [2]. U takvim slučajevima inflamatorne ćelije luče enzime (egzocitoza), citokine i druge hemijske medijatore {npr., prosta-glandine [*prostaglandins* (PGs)], citokine [*tumor necrosis factor-alpha* (TNF- $\alpha$ ) i *interleukin-1* (IL-1)]}, prouzrokujući oštećenje vanćelijske sredine [1]. Na taj način, produkti zapaljenskih ćelija, koji su bitni za uništavanje mikroorganizama u tipičnom zapaljenju, mogu oštetiti susedno tkivo oko stranih tela.

<sup>1</sup>Ovo poglavlje napisao je Drago Đorđević.

Karakteristike inflamatorne reakcije su veoma zavisne od fizičkih i hemijskih svojstava implantata. Za većinu inertnih biomaterijala, kasna tkivna reakcija je stvaranje kapsule (inkapsulacija) od relativno tankog fibroznog tkiva, koje se sastoji od kolagena i fibroblasta. Tkvne interakcije mogu biti modifikovane promenom hemijskog sastava površine (npr., dodatkom specifičnih hemijskih grupa za stimulaciju adhezije ili formiranja kosti u ortopedskim implantatima) i indukcijom hrapavosti ili poroznosti za povećanje fizičkog vezivanja za okolna tkiva. Isto tako, interakcije se modifikuju ubacivanjem površinski aktivnih supstanci za hemijsko vezivanje tkiva, ili korišćenjem bioresorptivne komponente za praćenje spore zamene tkiva i stimulaciju prirodnih terapijskih svojstava [1].

Zapaljenje, zarastanje rane, i odgovor organizma na prisustvo stranog tela su opšte ćelijske i tkivne reakcije domaćina na povredu. Svako ubrizgavanje, ubacivanje, ili hirurška implantacija pokreće opšti odgovor na povredu tkiva, organa, ili organizma u cilju održavanja aktivne dinamičke ravnoteže (homeostaze ili homeokineze) unutrašnje i spoljašnje sredine. Stepen u kojem su homeostatski fiziološki mehanizmi poremećeni i opseg u kojem stvorena patofiziološka stanja prolaze kroz procese gašenja jeste mera reakcije domaćina na biomaterijal i može na kraju odrediti njegovu biokompatibilnost [3]. Mada je pogodno razdvojiti homeostatske mehanizme u krv-materijal i tkivo-materijal interakcije, potrebno je znati da razne komponente ili mehanizmi uključeni u homeostazu (homeokinezu) su prisutni u krvi i tkivu i deo su fiziološkog kontinuiteta funkcionisanja organizma. Potrebno je istaći da su reakcije domaćina tkivno-zavisne, organ-zavisne, i vrsta-zavisne [3]. U svakom slučaju, stepen povrede varira sa procedurom implantacije.

Razni spoljašnji i unutrašnji faktori mogu prouzrokovati povredu ili oštećenje ćelije ili tkiva. U vaskularizovanom tkivu takvi faktori izazivaju reakciju organizma koja se naziva *zapaljenje ili inflamacija*. Zapaljenje se uopšteno može definisati kao skup zaštitnih reakcija vaskularizovanog tkiva na lokalnu povredu. To je kompleksna reakcija na štetne egzogene (mikrobi, toksini, druge strane supstance) i endogene (oštećene i dotrajale ćelije) faktore, koja se sastoji od vaskularne reakcije, migracije i aktivacije leukocita, i niza sistemskih reakcija. Inflamatorna reakcija se sastoji od dve međusobno povezane reakcije: vaskularne reakcije i ćelijske reakcije. Mnoga tkiva i ćelije su uključeni u ove reakcije, uključujući tečnost i proteine plazme, cirkulišuće ćelije krvi, krvne sudove, kao i ćelijske i vanćelijske sastojke vezivnog tkiva. Reakcija krvnih sudova je univerzalan inflamatori proces, koji dovodi do akumulacije tečnosti i leukocita u ekstravaskularnom tkivu [4]. Zapaljenje služi prvenstveno da zaštiti, a onda uništi, razgradi, neutrališe, zadrži, ublaži, ili ograniči povređujući agens ili proces, odnosno onemogući njegovo dalje širenje i delovanje.

Istovremeno sa procesima zapaljenja pokreću se mehanizmi izlečenja, zarastanja i obnavljanja oštećenih ćelija i tkiva u području zapaljenja. Zapaljenje se sastoji od niza događaja koji vode uklanjanju i zameni oštećenih ćelija, obnavljanju i zarastanju povređenog tkiva, i uspostavljanju njihovih normalnih fizioloških funkcija. Isto tako, zapaljenje na mestu ugrađenog implantata, kroz zamenu povređenog tkiva pomoću regeneracije nativnih parenhimalnih ćelija, formiranja fibroblastnog tkivnog ožiljka, ili kombinacijom ova dva procesa, na kraju dovodi do sanacije tkiva i njegovog vraćanja u fiziološko stanje [4].

## 4.1. PROCESI ZAPALJENJA

Neposredno nakon povrede, javljaju se promene u krvnom toku, kalibru i permeabilnosti sudova. Tečnost, proteini, i krvne ćelije izlaze iz neoštećenog vaskularnog sistema u povređeno tkivo u procesu koji se naziva *eksudacija*, dok se proces njihovog gubitka iz povređenih krvnih sudova naziva *kravavljenje* ili hemoragija (lat. *haemorrhagia*). Prateće promene u vaskularnom sistemu, koje takođe uključuju promene u krvi i njenim sastojcima, obuhvataju ćelijska događanja karakteristična za inflamtornu reakciju. Dejstvo povrede i/ili biomaterijala na plazmu ili ćelije stvara hemijske faktore koji posreduju u vaskularnom i ćelijskom odgovoru na zapaljenje.

Krv-materijal interakcije i zapaljenjski odgovor su blisko povezani, i ustvari, rane reakcije na povredu uključuju uglavnom krv i krvne sudove. Zavisno od tkiva ili organa u koji je implantiran biomaterijal, početna inflamatorna reakcija aktivira se povredom vaskularizovanog vezivnog tkiva (Tabl. 4.1) [3].

*TABELA 4.1 Ćelije i komponente vaskularizovanog vezivnog tkiva [3]; modifikovano.*

Uobičajen naziv	Alternativni, grupni naziv ili funkcija
<i>Intravaskularne (krvne) ćelije</i>	
Eritrociti	Crvena krvna zrnca
Neutrofili	Polimorfonuklearni leukociti
Monociti	Mononuklearni leukociti
Eozinofili	Polimorfonuklearni leukociti
Limfociti	Mononuklearni leukociti
Plazmociti	Transformisane B-ćelije
Bazofili	Polimorfonuklearni leukociti
Trombociti	Krvne pločice
<i>Ćelije vezivnog tkiva</i>	
Mastociti	Mononuklearni leukociti
Fibroblasti	Glavne ćelije vezivnog tkiva
Makrofagi	Stacionirane fagocitne ćelije
Limfociti	Monouklearni leukociti
<i>Komponente ekstracelularnog matriksa</i>	
Kolageni	Glavna vlakna čvrstog vezivnog tkiva
Elastin	Jedinica elastičnog vezivnog tkiva
Proteoglikani	Kompleksni molekuli vezivnog tkiva
Hijaluronska kiselina	Glavni absorpcioni molekul za vodu
Fibronektin	Matriks-ćelija adhezionali molekul
Laminin	Matriks-ćelija adhezionali molekul

Kako su krv i njene komponente uključeni u početne inflamatorne reakcije, formiranje krvnog ugruška i/ili tromboza takođe se zbivaju. Koagulacija krvi i

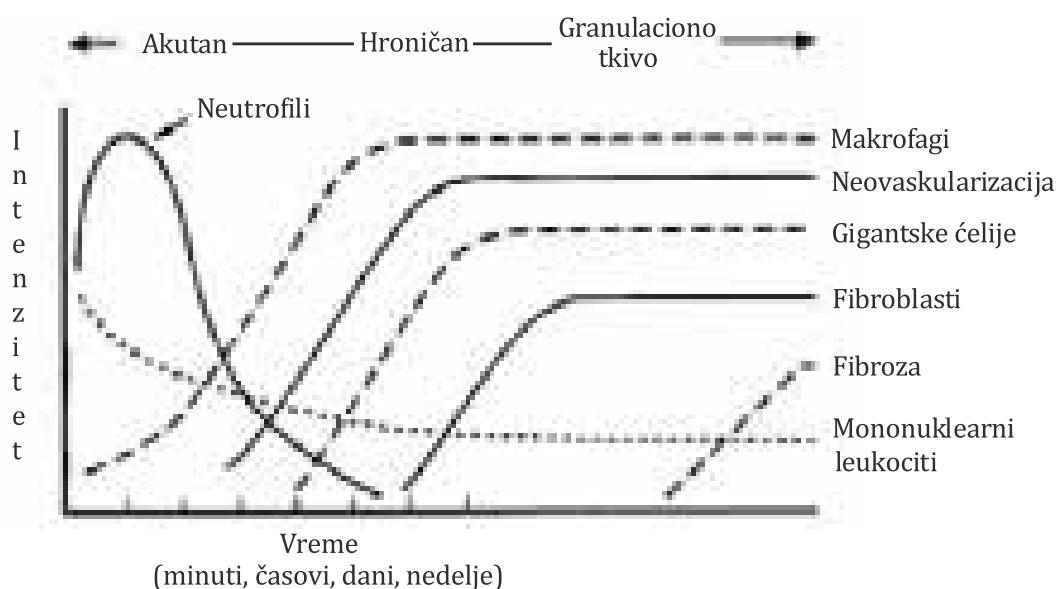
tromboza su opšte humoralne reakcije na koje mogu uticati ostali homeostatski mehanizmi, kao što su spoljašnji i unutrašnji koagulacioni sistemi, sistem komplementa, fibrinolitički sistem, kininski sistem, i trombociti. Tromb ili formiranje krvnog ugruška na površini biomaterijala se odnosi na dobro poznat Vromanov (*Vroman*) efekat, u kojem hijerarhijske i dinamičke serije kolizije, adsorpcije, i procesa razmene, određene proteinskom mobilnošću i koncentracijom, regulišu rane vremenski zavisne promene u adsorpciji proteina krvi. Iz perspektive zarastanja rane, depozicija proteina krvi na površinu biomaterijala se opisuje kao prethodno formiranje matriksa. Interakcije krvi sa biomaterijalima uopšteno se svrstavaju u kategoriju hematokompatibilnosti.

Povreda vaskularizovanog tkiva u proceduri implantacije vodi neposrednom razvoju prethodnog privremenog matriksa na mestu implantata. *Prethodni privremeni matriks (PPM)* se sastoji od fibrina, produkovanog aktivacijom koagulacionog i tromboznog sistema, kao i produkata inflamacije oslobođenih pomoću sistema komplementa, aktivisanih trombocita, zapaljenskih i endotelnih ćelija. Ovi događaji se zbivaju rano, od minuta do časova prateći implantaciju medicinskog sredstva. Komponente u matriksu ili koje luči PPM, t.j., fibrinska mreža (tromboza ili ugrušak), pokreće razlaganje, reorganizaciju i reparaciju procesa, kao što je regrutovanje epitelnih ćelija i fibroblasta. PPM obezbeđuje strukturne i biohemijiske komponente za proces zarastanja rane. Kompleks trodimenzionalne strukture fibrinske mreže sa pričvršćenim adhezivnim proteinima obezbeđuje supstrat za ćelijsku adheziju i migraciju. Prisustvo mitogena, hemoatraktanata, citokina, i faktora rasta u PPM obezbeđuje bogatu sredinu za aktivaciju ili inhibiciju supstanci za razne ćelijske procese sinteze i proliferacije. PPM se može posmatrati kao prirodno produkujući, biodegradabilni, ustaljen sistem lučenja u kojem mitogeni, hemoatraktanti, citokini, i faktori rasta izlučuju se za kontrolu naknadnih procesa izlječenja rane [3]. Većina podataka u istraživanju PPM je dobijeno eksperimentalnim putem, a malo kliničkim istraživanjima. Zasad preovlađuje mišljenje o sposobnosti materijala i proteina adsorbovanih na njih da moduliraju ćelijske interakcije kroz njihove interakcije sa adhezivnim molekulima i ćelijama.

Najzastupljeniji tip ćelija prisutnih u zapaljenskom odgovoru varira sa starošću inflamatorne povrede (Sl. 4.1) [3].

Uopšteno, neutrofili od polimorfonuklearnih leukocita (PMNL) preovlađuju tokom prvih nekoliko dana sledeći povredu i onda se zamenuju monocitima kao preovlađujućim ćelijskim tipom. Tri faktora su uzrok ovih promena u tipu ćelija: (1) hemotaksički faktori za migraciju neutrofila aktivisu se rano u zapaljenskom procesu; (2) migracija neutrofila od vaskulature do tkiva je kratkotrajna; i (3) neutrofili kratko žive i bivaju dezintegrisani, izčešavajući nakon 24-48 h. Prateći migraciju iz sudova, monociti se diferenciraju u makrofage i ove ćelije dugo žive (mesecima). Migracija monocita može trajati danima i nedeljama, zavisno od povrede i implantiranog materijala, a hemotaksički faktori za monocite aktiviraju se tokom dugog vremenskog perioda.

Tok vremenskih događaja tokom implantacije biomaterijala (Sl. 4.1) određuje ponašanje ćelija i tkiva u svim fazama inflamatorne reakcije. Veličina, oblik, fizičke i hemijske karakteristike biomaterijala mogu biti odgovorne za varijacije u



*SLIKA 4.1 Vremenske varijacije u akutnom inflamatornom odgovoru, hroničnom inflamatornom odgovoru, razvoju granulacionog tkiva, i reakciji na implantirane biomateriale [3]. Intenzitet i vreme variabli su zavisni od obima povrede načinjene implantacijom i veličinom, oblikom, mestom, kao i fizičkim i hemijskim svojstvima biomaterijala.*

intenzitetu i trajanju inflamatornih i reparativnih procesa u rani i oko nje. Tako, jačina i/ili vreme trajanja inflamatornih reakcija mogu odrediti biokompatibilnost biomaterijala.

Kako povreda pokreće inflamatornu reakciju, hemijske supstance oslobođene iz plazme, ćelija, ili povređenog tkiva, učestvuju u zapaljenskom odgovoru (Tabl. 4.2) [3].

Za razumevanje zapaljenske reakcije i njenog odnosa prema biomaterijalima, neophodno je napomenuti tri važne činjenice. Prvo, iako su hemijski medijatori razvrstani na strukturalnoj i funkcionalnoj osnovi, razni medijatorski sistemi interreaguju i obezbeđuju sistem prepreka i balansiranja u odnosu na njihove dodatne aktivnosti i funkcije. Drugo, hemijski medijatori se brzo inaktiviraju ili razgrađuju, ukazujući da je njihovo dejstvo pretežno lokalno, na mestu ugradnje implantata. Treće, uopšteno lizozomalne proteaze i kiseonički slobodni radikali produkuju većinu značajnih oštećenja ili povreda. Ovi hemijski medijatori takođe su važni u biohemijskim reakcijama razgradnje biomaterijala.

#### 4.1.1 Akutna inflamacija

Akutna inflamacija je brza reakcija na štetni agens koja nastaje oslobođanjem medijatora iz mobilnih jedinica odbrane organizma, leukocita i proteina plazme, na mestu povrede. Akutno zapaljenje ima tri glavne komponente: (1) promene vaskular-

nog kalibra koje vode povećanju krvotoka; (2) strukturne promene u malim krvnim sudovima (mikrovaskulaturi) koje dopuštaju plazma proteinima i leukocitima da izadu iz cirkulacije; i (3) migracija leukocita iz mikrocirkulacije, njihova akumulacija u žarištu zapaljenja, i njihova aktivacija za uništavanje štetnog agensa [4].

*TABELA 4.2 Važni hemijski medijatori zapaljenja poreklom iz plazme, ćelija, ili povređenog tkiva [3]; modifikovano.*

Medijatori	Primeri
Vazoaktivni agensi	Histamini, serotonin, adenozin, edrf (NO) <sup>1</sup> , prostaciklin, endotelin, tromboksan A <sub>2</sub> .
Plazma proteaze Kininski sistem Sistem komplementa Koagulacioni/fibrinolitički sistem	Bradikinin, kalikrein. C3a, C5a, C3b, C5b-C9. Degradacioni produkti fibrina, XIIa <sup>2</sup> , tPA <sup>3</sup> .
Leukotrieni	<u>Leukotrien B</u> <sub>4</sub> (LTB <sub>4</sub> ), HETE <sup>4</sup> .
Lizozomalne proteaze	Kolagenaze, elastaze.
Kiseonik-prodrukujući slobodni radikali	Vodonik peroksid (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ), superoksid anjon (O <sub>2</sub> <sup>-</sup> •).
Trombocitni aktivirajući faktori	Ćelijski membranski lipidi.
Citokini	Interleukin 1 (IL-1), TNF <sup>5</sup> .
Faktori rasta	PDGF <sup>6</sup> , FGF <sup>7</sup> , TGF-α <sup>8</sup> ili TGF-β <sup>9</sup> , EGF <sup>10</sup> .

**Skraćenice i objašnjenja:** <sup>1</sup>Endotel-prodrukujući relaksirajući faktor [*endothelium-derived relaxing factor (EDRF)*], identifikovan je kao azot monoksid [*nitric oxide (NO)*]; <sup>2</sup>Aktivisani *Hageman*-ov faktor [*faktor XII (factor FXIIA ili XIIa)*]; <sup>3</sup>Tkivni plazminogen aktivator [*tissue plasminogen activator (tPA)*]; <sup>4</sup>Hidroksieikosatetranoična kiselina [*hydroxyeicosatetraenoic acid (HETE)*]; <sup>5</sup>Faktor nekroze tumora [*tumor necrosis factor (TNF)*]; <sup>6</sup>Trombocit-prodrukujući faktor rasta [*platelet-derived growth factor (PDGF)*]; <sup>7</sup>Fibroblastni faktor rasta [*fibroblast growth factor (FGF)*]; <sup>8</sup>Transformišući faktor rasta alfa [*transforming growth factor α (TGF-α)*]; <sup>9</sup>Transformišući faktor rasta beta [*transforming growth factor β (TGF- β)*]; <sup>10</sup>Epitelni faktor rasta [*epithelial growth factor (EGF)*].

Promene u vaskularnom toku i kalibru krvnih sudova počinju odmah nakon povrede i razvijaju se različitom brzinom, zavisno od veličine povrede. Ove promene imaju svoj redosled zbivanja. Vazodilatacija je jedna od najranijih faza akutne inflamacije, ponekad praćena prolaznom vazokonstrikcijom arteriola u trajanju od nekoliko sekundi. Vazodilataciju indukuje nekoliko medijatora, izlučenih iz oštećenih vaskularnih ili tkivnih ćelija, od kojih su najvažniji prostaglandini, histamin i endotel-prodrukujući relaksirajući faktor [*endothelium-derived relaxing factor (EDRF)*], identifikovan kao azot monoksid [*nitric oxide (NO)*], koji izazivaju relaksaciju glatkih mišićnih ćelija krvnih sudova (Tabl. 4.3) [4]. Rezultat vazodilatacije je povećanje vaskularnog permeabilitea ili propustljivosti zidova krvnih sudova, usled čega nastaje izlazak proteina i leukocita u okolno intersticijumsko tkivo ili *eksudacija*. Povećanje ekstravaskularne tečnosti prouzrokuje stvaranje otoka ili *edem*.

TABELA 4.3 Uloga medijatora u raznim reakcijama zapaljenja [4]; modifikovano.

Reakcija	Medijatori
Vazodilatacija	Prostaglandini, NO <sup>1</sup> , histamin
Povećanje vaskularnog permeabiliteta	Vazoaktivni amini, C3a i C5a (kroz oslobođanje amina), bradikinin, leukotrieni (C <sub>4</sub> , D <sub>4</sub> , E <sub>4</sub> ), PAF <sup>2</sup> , supstanca P
Hemotaksa, regrutovanje i aktivacija leukocita	C5a, leukotrien B <sub>4</sub> , hemokini, IL-1 <sup>3</sup> , TNF <sup>4</sup> , bakterijski produkti
Groznica	IL-1, TNF, prostaglandini
Bol	Prostaglandini, bradikinin
Oštećenje tkiva	Neutrofilni i makrofagni lizozomalni enzimi, metaboliti kiseonika, NO

**Skraćenice i objašnjenja:** <sup>1</sup> Azot monoksid [*nitric oxide (NO)*]; <sup>2</sup> Aktivirajući faktor trombocita [*platelet-activating factor (PAF)*]; <sup>3</sup> *Interleukin-1 (IL-1)*; <sup>4</sup> Faktor nekroze tumora [*tumor necrosis factor (TNF)*].

Akutne inflamacijske reakcije se javljaju usled dejstva raznih štetnih agenasa: infekcija (bakterijskih, virusnih, parazitnih) i mikrobnih toksina, trauma (tupih i oštih), fizičkih i hemijskih agenasa (termičke povrede, npr., opekotine ili promrzline; zračenje; neki hemijski faktori sredine); tkivne nekroze (prouzrokovane bilo čime); stranih tela (prljavština, splintovi, suture); imunskih reakcija (reakcija hipersenzititeta) [4]. Akutno zapaljenje je relativno kratkog trajanja, od minuta do časova i dana, zavisno od veličine povrede. Glavne karakteristike su eksudacija tečnosti i proteina plazme i migracija leukocita, pretežno neutrofila. Oslobođanje leukocita na mestu zapaljenja i njihova aktivacija za obavljanje njihove normalne funkcije u odbrani organizma je ključna funkcija inflamacije. Neutrofili (polimorfonuklearni leukociti) i druge pokretne ćelije bele loze (leukociti) migriraju iz krvnih sudova (ekstravazacija) u perivaskularna tkiva i mesto povrede implantatom. Ekstravazacija se sastoji od nekoliko uzastopnih postupaka, počev od marginacije, kotrljanja, aktivacije integrina pomoću hemokina, preko stabilne adhezije za endotel i transmigracije kroz endotel (*dijapedeza*), do migracije u intersticijumsko tkivo vođene hemotaksičnim faktorima [4].

Leukocitna migracija je udužena sa stvaranjem adhezionih molekula na njihovoj površini i površini endotelnih ćelija. Specifična (ciljana, a ne slučajna) adhezija ćelija za druge ćelije ili za komponente ekstracelularnog matriksa je bazični sastojak ćelijske migracije i prepoznavanja i čini osnovu mnogih bioloških procesa, uključujući embriogenezu, tkivnu reparaciju, imunske i inflamatorne odgovore. Integrini i selektini su najvažniji adhezionti molekuli iz familije adhezionih proteina, koji su uključeni u inflamatorni odgovor [4]. Ekspresija ovih adhezionih molekula može biti indukovana, povećana, ili izmenjena pomoću inflamatornih supstanci i hemijskih medijatora. Migracija leukocita je kontrolisana delimično *hemotaksom*, ubrzanim kretanjem leukocita u pravcu žarišta zapaljenja, koje se odvija usled hemijskog gradijenta. Veliki broj egzogenih i endogenih supstanci su hemotaksični faktori ili agensi. Većinu egzogenih supstanci čine bakterijski i drugi produkti,

uglavnom proteini ili lipidi. Endogeni hemoatraktanti uključuju nekoliko hemijskih medijatora: (1) komponente sistema komplementa, posebno C5a; (2) produkte lipooksigenaznog puta, uglavnom leukotrijene B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>); i (3) citokine, posebno one iz familije hemokina [npr., *interleukin-8* (IL-8)] [4]. Specifični receptori za hemotaksične agense na ćelijskim membranama leukocita su važni za migraciju ili kretanje leukocita. Ovi i drugi receptori takođe imaju ulogu u transmigraciji leukocita kroz endotelni sloj sudova i u aktivaciji leukocita.

Prateći lokalizaciju leukocita u povređeno (implantatno) mesto, fagocitoza i oslobađanje enzima dešava se tokom aktivacije neutrofila i makrofaga. Aktivacija leukocita se odvija indukcijom pomoću mikroba, produkata nekrotičnih ćelija, antigen-antitela kompleksa, i citokina, uključujući hemotaksične faktore.

Glavna uloga neutrofila u akutnoj inflamaciji je fagocitoza mikroorganizama i stranih čestica materijala. *Fagocitoza* se odvija u trostopenom procesu u kojem povređujući agens podleže *prepoznavanju i pričvršćivanju, obuhvatanju i ingestiji, ubijanju i razlaganju*. U slučaju biomaterijala ingestija i razlaganje mogu se, ali ne moraju, desiti, zavisno od svojstava biomaterijala.

Tokom aktivacije i fagocitoze, leukociti oslobađaju mikrobicidne i ostale produkte ne samo u fagozom, već i u ekstracelularni prostor. Većinu tih supstanci u neutrofilima i makrofagima čine lizozomalni enzimi granula, reaktivni kiseonički intermedijati, i produkti metabolizma arahidonske kiseline, uključujući prostaglandine i leukotrijene. Ovi produkti su sposobni da prouzrokuju oštećenje endotela i povredu tkiva i mogu tako pojačati efekte prvobitnog štetnog agensa. Produkti mononocita i/ili makrofaga i drugih tipova leukocita imaju dodatne potencijalno štetne metaboličke produkte, značajne i za hroničnu inflamaciju (Tabl. 4.4) [4].

Biomaterijali se ne mogu jednostavno fagocitovati neutrofilima (mikrofagima) ili ćelijama sa većim kapacitetom fagocitoze (makrofagima), ne samo zbog veličine, već i kompaktnosti biomaterijala. Makrofagi pripadaju monocitno-makrofagnom sistemu odrbrane organizma, poznatijem kao *mononuklearni fagocitni sistem* (MNFS) ili retikuloendotelijalni sistem, i nekoliko su puta potentniji od mikrofaga, ali nisu u stanju da fagocituju čestice biomaterijala. U tom slučaju proces prepoznavanja i pričvršćivanja se ubrzava samo kada je traumatski agens obložen pomoću prirodnih zadesnih serumskih faktora zvanih *opsonini*, u procesu poznatom kao *opsonizacija*. Glavna dva opsonina su *imunoglobulin G* (IgG) i aktivisani fragment komplementa (eng. *complement-activated fragment*) C3b. Oba ova proteina plazme poznata su po svojoj sposobnosti adsorpcije za biomaterijale, a neutrofili i makrofagi na svojoj površini imaju membranske receptore za ove osonizacione proteine. Ovi receptori mogu takođe imati ulogu u aktivaciji pričvršćenih neutrofila ili makrofaga. Ostali proteini krvi, kao što je fibrinogen, fibronektin, i vitronektin mogu takođe olakšati ćelijsku adheziju za površine biomaterijala. Međutim, zbog nemogućnosti fagocitoze usled veličine biomaterijala, leukociti izlučuju lizozomalne enzime iz svojih granula u okolni prostor (*frustrirana fagocitoza*) [2].

*Citotoksično oslobođanje* se dešava posle fagocitoze potencijalno membranolitičkih supstanci, kao što su kristali ili druge čestice biomaterijala, koje oštećuju membranu fagolizozoma. Enzimi se mogu osloboditi iz određenih specifičnih (se-

kundarnih) granula u neutrofilima, direktnom sekrecijom pomoću *egzocitoze* [5], i tako biohemijski delovati na biomaterijal, ali i okolne sastojke tkiva.

Neutrofili, adherirani za IgG i C3b obložene nefagocitabilne površine, mogu produkovati enzime pomoću direktnog lučenja (egzocitoze). Količina izlučenih enzima tokom ovog procesa zavisi od veličine čestica polimera, tako da veće čestice indukuju i veće izlučivanje enzima. Ovo ukazuje da specifičan način ćelijske aktivacije u zapaljenskoj reakciji u tkivu zavisi od veličine implantata i da materijal u fagocitabilnoj formi (tj. prah ili čestice) može provocirati više stepeni inflmatorne reakcije, nego isti materijal u nefagocitabilnom obliku (sloj ili film).

*TABELA 4.4 Klinički primeri leukocitima indukovanih oštećenja tkiva [4]; modifikovano.*

Indukovana oštećenja tkiva leukocitima	
Akutna	Hronična
Vaskulitis	Ateroskleroza
Akutni respiratori distres sindrom	Hronična plućna bolest
Astma	Astma
Akutno odbacivanje transplantata i implantata	Hronično odbacivanje transplantata i implantata
Reperfuziono oštećenje	Artritis
Glomerulonefritis	Kontaktni dermatitis
Septički šok	Sistemski lupus eritematosus

Akutna inflamacija normalno se povlači brzo, obično za manje od nedelju dana, zavisno od težine povrede na mestu implantata. Zapaljenje se brzo povlači, delimično, i zbog kratkog poluživota medijatora zapaljenja, uslovjenog brzom razgradnjom i trajanjem stimulacije. Osim toga, postoje aktivni kontrolišući mehanizmi, koji uključuju: (1) produkciju proinflamatornih leukotrijena za antiinflamatorne lipoksine nastale od arahidonske kiseline; (2) oslobođanje antiinflamatornih citokina kao što je transformišući faktor rasta beta [*transforming growth factor β* (TGF-β)] iz makrofaga i drugih ćelija; i (3) nervne impulse (holinergička stimulacija) koji inhibišu produkciju TNF iz makrofaga (Tabl. 4.5) [4].

Prisustvo akutnog zapaljenja sa leukocitima u međuprostoru između tkiva i implantata u dužem vremenskom periodu, tokom nedelja, meseci, ili godina, ukazuje na hroničnu inflamaciju i prisustvo infekcije.

#### 4.1.2 Hronična inflamacija

Hronična inflamacija se može definisati kao zapaljenje produženog trajanja (nedelje ili meseci) u kojem se aktivno zapaljenje, tkivna destrukcija, i pokušaji zarastanja dešavaju istovremeno. Pošto može pratiti akutno zapaljenje, hronična in-

flamacija često počinje podmuklo, u malom stepenu, tinjajući, i ne retko bez simptoma i znakova. Takav neprimetan početak imaju ateroskleroza, hronična plućna bolest, i reumatoидni artritis. Uzroci hronične inflamacije mogu biti mnogobrojni, ali se najčešće susreću: (1) stalna infekcija mikrobima male invazivnosti [npr., bacil tuberkuloze (tuberkuloza)]; (2) dugotrajna izloženost egzogenim potencijalno toksičnim agensima [npr., čestice silikata (silikoza) ili endogeno toksične komponente plazma lipida (ateroskleroza)]; (3) poremećaj imuniteta [npr., hipersenzitivne reakcije (alergijska astma) ili autoimunske bolesti (reumatoидni artritis)] [4, 6].

*TABELA 4.5 Medijatori akutnog zapaljenja [4,6]; modifikovano*

Medijator	Izvor	Dejstvo		
		Vaskular- ni izlaz	Hemo- taksa	Ostalo
Histamin i se- rotonin	Mastociti; trombociti	+	-	
Bradikinin	Plazma supstrat	+	-	Bol.
C3a C5a	Jetrin protein plazme; makrofagi	+	-	Opsoninski fragment (C3b); adhezija, aktivacija leuko- cita.
+			+	
Prostaglandini	Mastociti; od fosfolipida membrane	Potencira ostale me- dijatore	-	Vazodilatacija, bol, groznica.
Leukotrieni B <sub>4</sub> Leukotrieni C <sub>4</sub> , D <sub>4</sub> , E <sub>4</sub>	Leukociti Leukociti; mastociti	- +	+ -	Adhezija, aktivacija leukocita. Bronhokonstrikcija, vazo- konstrikcija.
Metaboliti ki- seonika	Leukociti	+	-	Oštećenje endotela, ošteće- nje tkiva.
PAF <sup>1</sup>	Leukociti; mastociti	+	+	Bronhokonstrikcija; primanje leukocita.
IL-1 <sup>2</sup> i TNF <sup>3</sup>	Makrofagi; ostali	-	+	Reakcije akutne faze zapa- ljenja; aktivacija endotela.
Hemokini (CC, CXC, α, β, γ, fraktalkin)	Leukociti; ostali	-	+	Aktivacija leukocita.
NO <sup>4</sup>	Makrofagi; endotel	+	+	Vazodilatacija; citotoksič- nost.

**Skraćenice i objašnjenja:** <sup>1</sup>Aktivirajući faktor trombocita [*platelet-activating factor (PAF)*]; <sup>2</sup>Interleukin-1 (*IL-1*); <sup>3</sup>Faktor nekroze tumora [*tumor necrosis factor (TNF)*]; <sup>4</sup>Azot monoksid [*nitric oxide (NO)*].

Za razliku od akutnog zapaljenja, koje se ispoljava vaskularnim promenama, otokom, i pretežno infiltracijom neutrofila, hronično zapaljenje se manifestuje infiltracijom mononuklearnih ćelija (makrofaga, limfocita, i plazmocita) koje su odraz stalne reakcije na povredu, kao i tkivnom destrukcijom (većinom indukovanoj zapaljenskim ćelijama) i pokušajima reparacije zamenom pomoću vezivnog tkiva [4, 6].

Hronična inflamacija je manje histološki uniformna, nego akutna inflamacija. Nju označava infiltracija mononukleranih ćelija: makrofaga, monocita, i aktivisanih B-limfocita (plazmocita), sa proliferacijom krvnih sudova (angiogeneza) i vezivnog tkiva (fibroza).

Mnogi faktori mogu modifikovati ovakav histološki nalaz u hroničnom zapaljenju, ali makrofagi ostaju ključni ćelijski elementi hronične inflamacije. Makrofagi vode poreklo od matičnih (*stem*) ćelija kostne srži, čijom transformacijom nastaju monoblasti, a sazrevanjem u krvi, mobilni monociti, i u tkivima aktivacijom, aktivisani makrofagi, epiteloidne ćelije i gigantske ćelije, a diferencijacijom, fiksni tkivni makrofagi. Monociti i makrofagi pripadaju MNFS-u, čije ćelije se nalaze u koži, krvi, kostima, i drugim specijalizovanim tkivima (Tabl. 4.6) [3, 4]. Poluživot monocita krvi je oko 1 dan, dok je životni vek tkivnih makrofaga nekoliko meseci do nekoliko godina [4].

Poznato je da dugotrajni zapaljenjski podražaji dovode do hroničnog zapaljenja. Kako hemijska i fizička svojstva biomaterijala sama po sebi mogu dovesti do hronične inflamacije, pomeranja na mestu implantata, bilo biomaterijala ili usled infekcije, mogu takođe proizvesti hroničnu inflamaciju. Hronična inflamacijska reakcija na biomaterijale obično dugo traje i dešava se na mestu implantata. Prisustvo mononuklearnih ćelija, uključujući limfocite i plazmocite, ukazuje na hronično zapaljenje, dok reakcija na strano telo sa razvojem granulacionog tkiva odnosi se na normalan odgovor pri zarastanju na mestu implantacije biomaterijala. Hronično zapaljenje sa prisustvom kolekcije limfocita i monocita, te produženim vremenom trajanja (nedelje, meseci, godine), takođe, može ukazati na prisustvo hronične infekcije.

Limfociti i plazmociti su uključeni uglavnom u imunske reakcije i ključni su izvor produkcije antitela i reakcija kasne preosetljivosti (kasnih hipersenzitivnih reakcija) [7]. Iako oni mogu biti prisutni u neimunskim povredama i zapaljenju, njihova uloga u takvim procesima je većinom nepoznata. Limfociti i makrofagi su u stalnoj interakciji i međusobnoj aktivaciji [*interferon* gama (IFN $\gamma$ ) aktivira makrofage, a IL-12, T limfocite], tako da njihovi medijatori, većinom citokini, izlučeni iz aktivisanih T limfocita (TNF, ostali inflamatorni medijatori) ili makrofaga (TNF, IL-1, ostali inflamatorni medijatori), imaju veliki značaj u hroničnoj inflamaciji [4]. Plazmociti se razvijaju od aktivisanih B limfocita i produkuju antitela direktno protiv postojećeg antigena u zapaljenjskom području ili protiv izmenjenih tkivnih komponenata.

Malo se zna o humoralnim imunskim odgovorima i ćelijski posredovanom imunitetu na sintetičke biomaterijale. Uloga makrofaga može biti u verovatnom razvoju imunskog odgovora na sintetičke biomaterijale. Makrofagi *obrađuju* antigen (dele ga na male peptide - *procesiranje antigena*) i *izlažu* ga imunokomponentnim Th (*helper* = pomažućim) ćelijama (*prezentacija antigena*), čineći tako *antigen-prezentirajuće ćelije* (APĆ) [9]. Specijalizovane ćelije u ovim tkivima mogu biti odgovorne za sistemske efekte u organima ili tkivima sekundarno u odnosu na oslobo-

đanje komponenata ili produkciju od implantata. Ti efekti se ostvaruju kroz razne tkivo-materijal interakcije (npr., produkti korozije, debris habanja, degradacioni produkti, i dr.) ili prisustvo implantata (npr., mikrokapsule ili nanočestice lek-oslobađajućih sistema) [10]. Makrofagi su najvažnije ćelije u hroničnoj inflamaciji zato što veliki broj biološki aktivnih produkata mogu proizvesti (Tabl. 4.7) [8].

Makrofagi sintetišu i luče razne vrste veoma važnih produkata koji učestvuju u mnogim fiziološkim i patološkim reakcijama, posebno hroničnom zapaljenju. Ovaj impresivni arsenal medijatora čini makrofage najmoćnijim saveznicima u odbrani tela od nepoželjnih posetilaca, ali istovremeno i opasne počinioce oštećenja tkiva pri njihovoј nepotrebnoј aktivaciji. Tako je destrukcija tkiva jedan od žigova hronične inflamacije [4]. Faktori rasta, kao što su: transformišući faktor rasta alfa [*transforming growth factor α (TGF-α)*], transformišući faktor rasta beta [*transforming growth factor β (TGF-β)*], trombocit-producujući faktor rasta [*platelet-derived growth factor (PDGF)*], fibroblastni faktor rasta [*fibroblast growth factor (FGF)*], epitelnji faktor rasta [*epithelial growth factor (EGF)*], i IL-1 ili TNF, veoma su važni za rast fibroblasta i krvnih sudova (angiogeneza) i regeneraciju epitelnih ćelija [3]. Faktori rasta se oslobađaju iz aktivisanih ćelija i mogu stimulisati produkciju mnogih ćelija, počev od iniciranja ćelijske migracije, diferencijacije, i tkivnog remodeliranja, pa do raznih stadijuma zarastanja rane i tkivne regeneracije.

*Tabela 4.6 Ćelije mononuklernog fagocitnog sistema (MNFS) [3,4,8]; modifikovano*

Tkivo	Ćelije
Koža	Langerhansove ćelije
Vezivna tkiva	Dendritične ćelije
Krv	Monociti
Čvrsto (solidno, bilo koje) tkivo	Stalni makrofagi (histiociti) i mijeloidne dendritične ćelije
Kostno tkivo	Osteoklasti
Kostna srž	Monociti i prekursori monocita (monoblasti i promonociti)
Sinovije	Tip A sinovijalnih ćelija
Limfoidno tkivo	Dendritične ćelije
Limfni čvorovi i slezina	Fiksni i slobodni makrofagi (sinusni histiociti)
Jetra	Kupferove ćelije
Pluća	Alveolarni makrofagi
Centralni nervni sistem	Mikrogljalne ćelije (mikroglija)
Periferni nervni sistem	Monociti iz krvi postaju makrofagi
Serozne šupljine	Pleuralni i peritonealni makrofagi
Implantatna mesta	Inflamatorni makrofagi
Hronični inflamatorni eksudat	Eksudatni makrofagi
Granulom	Epiteloidne ćelije, multinuklearne gigantske ćelije

#### 4.1.3 Granulaciono tkivo

Zapaljenska reakcija je tesno povezana sa procesom reparacije oštećenog područja. Zapaljenje služi da spreči, zaustavi i onemogući štetno dejstvo agensa i njegovo dalje širenje, ali i da kroz niz pratećih procesa dovede do regeneracije, reparacije, rekonstrukcije i reorganizacije oštećenog tkiva. Zarastanje i obnavljane počinje tokom ranih faza inflamacije, ali se kompletno ispoljava tek po neutralisanju štetnih efekata zapaljenja. Tokom reparacije, povređeno tkivo se zamenjuje kroz regeneraciju nativnih parenhimskih ćelija i popunjavanjem defekta fibroznim tkivom za stvaranje ožiljka ili, najčešće njihovom kombinacijom [4,6].

U toku prvog dana implantacije biomaterijala, odnosno povrede tkiva, počinje reparativni proces akcijom monocita i makrofaga. Fibroblasti i vaskularne endotelne ćelije u mestu implantacije proliferišu i počinju formirati granulaciono tkivo, specijalizovani tip tkiva, koje ograničava zapaljenje. Garnulaciono tkivo se naziva po ružičastom, mekanom granularnom izgledu na površini rane. Ima karakteristična histološka svojstva koja uključuju proliferaciju novih malih krvnih sudova i fibroblasta. Zavisno od veličine povrede, granulaciono tkivo može se videti rano, već u toku 3-5 dana, nakon implantacije biomaterijala [3].

Novi krvni sudovi formiraju se pupljenjem ili razgranavanjem prethodnih krvnih sudova u procesu koji se naziva *neovaskularizacija* ili *angiogeneza*. Ovaj proces uključuje proliferaciju, diferencijaciju, maturaciju, i organizaciju endotelnih ćelija u kapilarne sudove. Fibroblasti takođe proliferišu u razvijajućem granulacionom tkivu i aktivni su u sintetisanju kolagena i proteoglikana. U ranim stadijumima razvoja granulacionog tkiva, proteoglikani preovladaju, a kasnije kolagen, posebno tip III kolagena, koji formira fibroznu kapsulu [3]. Neki fibroblasti u razvojnom granulacionom tkivu mogu imati svojstva glatkih mišićnih ćelija, odnosno aktin mikrofilamenta. Ove ćelije se nazivaju *miofibroblasti* i odgovorne su za kontrakciju rane viđenu tokom razvoja granulacionog tkiva [3]. U granulacionom tkivu su većinom uvek prisutni i makrofagi. Ostale ćelije mogu biti prisutne, ako se javi hemotaksična stimulacija.

Reakcija *zarastanja rane* uopšteno je zavisna od veličine ili stepena povrede, odnosno defekta načinjenog ugrađivanjem biomaterijala [3]. Zarastanje rane pomoću primarne suture ili šava, ili prvobitnog nastojanja da rana ostane čista odnosi se prvenstveno na hirurški rez (inciziju), u kojem ivice rane moraju biti pogodne za hirurško zašivanje primarnim šavom. Zarastanje pod ovim okolnostima zbiva se bez značajne bakterijske kontaminacije (zagodenja) i sa minimalnim gubitkom tkiva. Zarastanje rane pomoću sekundarnog šava ili naknadnog šivenja dešava se kada postoji veliki tkivni defekt koji mora biti popunjeno ili postoji preveliki gubitak ćelija i tkiva. U zarastanju rane pomoću odloženog šivenja, regeneracija parenhimskih ćelija ne može kompletno ostvariti originalnu građu i velike količine granuloznog tkiva se formiraju, što stvara veće površine *fibroze* ili formiranja ožiljka. U ovakvim stanjima, razni regioni tkiva mogu istovremeno pokazivati različite stadijume procesa zarastanja.

Granulaciono tkivo se jasno razlikuje od granuloma, kojeg čine male kolekcije modifikovanih makrofaga zvanih *epiteloidne ćelije*. Granulom nastaje usled granulomatozne inflamacije kao posebne forme hronične inflamacijske reakcije karak-

teristične po fokalnim akumulacijama aktivisanih makrofaga, koji se često razvijaju u epitelima slične (*epiteloidne*) strukture. Granulom je žarište hroničnog zapaljenja, sastavljeno od agregacije makrofaga transformisanih u epiteloidne ćelije okružene prstenom mononuklearnih leukocita, uglavnom limfocita i povremeno plazmocita. Često se epiteloidne ćelije spajaju, formirajući gigantske multinuklearne ćelije na periferiji ili ponekad u centru granuloma. Ove gigantske ćelije sadrže po 20 ili više malih jedara raspoređenih periferno (*Langhans-tip* gigantskih ćelija) ili slučajno (*strano telo-tip* gigantskih ćelija) [4].

TABELA 4.7 Sekretorni produkti makrofaga [8]; modifikovano.

Sekretorni produkti makrofaga	
Enzimi	Komponente komplementa
Lizozim	C1-C9
Kisele hidrolaze (proteaze, nukleaze, glikozidaze, fosfataze, lipaze, itd.)	Properdin Faktori B, D, I, i H
Elastaza	Koagulacioni faktori
Kolagenaza	Faktori V, VII, IX, i X
Aktivator plazminogena	Protrombin
Angiotenzin-konvertujući enzim	Tromboplastin
Medijatori	
<i>Interferoni</i> alfa i beta (IFN $\alpha$ i IFN $\beta$ )	Reaktivne kiseoničke vrste (ROS) <sup>6</sup>
Faktori stimulacije kolonija (GM-CSF, M-CSF, G-CSF, i drugi) <sup>1</sup>	Vodonik peroksid ( $H_2O_2$ ) Superoksid anjon ( $O_2^- \bullet$ )
<i>Interleukini</i> (IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12)	Azot monoksid [ <i>nitric oxide</i> (NO)] Pojedinačan kiseonik ( $O^{2-}$ )
Hemokini (CC, CXC, $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ , fraktalkin)	Vodonični radikali
Faktor nekroze tumora alfa (TNF $\alpha$ ) <sup>2</sup>	
Trombocit-lučeći faktor rasta (PDGF) <sup>3</sup>	
Aktivirajući faktor trombocita (PAF) <sup>4</sup>	
Transformišući faktor rasta beta (TGF $\beta$ ) <sup>5</sup>	
Faktori angiogeneze	Ostali produkti
Azot monoksid [ <i>nitric oxide</i> (NO)]	Glutation
Metaboliti arahidonata (prostaglandini, leukotrieni)	Nukleotidi (adenozin, timidin, guanozin, itd.)

**Skraćenice i objašnjenja:** <sup>1</sup>Faktori stimulacije kolonija {granulocita-makrofaga [*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* (GM-CSF)]; monocita [*monocyte colony-stimulating factor* (M-CSF)]; granulocita [*granulocyte colony-stimulating factor* (G-CSF)]}; <sup>2</sup>Faktor nekroze tumora alfa [*tumor necrosis factor*  $\alpha$  (TNF $\alpha$ )]; <sup>3</sup>Trombocit-lučeći faktor rasta [*platelet-derived growth factor* (PDGF)]; <sup>4</sup>Aktivirajući faktor trombocita [*platelet-activating factor* (PAF)]; <sup>5</sup>Transformišući faktor rasta beta [*transforming growth factor*  $\beta$  (TGF $\beta$ )]; <sup>6</sup>Reaktivne kiseoničke vrste [*reactive oxygen species* (ROS)].

Postoje dva tipa granuloma (stranog tela i imunski), koji se razlikuju po njihovoj patogenezi. *Granulomi stranog tela* se stvaraju kao reakcija na relativno inertne strane čestice. Tipično formiranje granuloma se dešava kada je materijal (kao talk, sutura, ili druge čestice) preveliči za pojedinačnu fagocitozu makrofagima i ne izaziva specifičan zapaljenjski ili imunski odgovor. Langhansove ćelije (ili tip gigantskih ćelija na strano telo) okružuju nefagocitabilne čestice materijala u centru granuloma. Gigantske multinuklearne ćelije na strano telo formiraju se fuzijom monocita i makrofaga u pokušaju fagocitoze stranog materijala, pod uticajem citokina IL-4 i IL-13, sekretovanih iz Th2 limfocita [3].

Imunski granulomi su posledica prisustva nerastvorljivih čestica, tipično mikroba, koji su u stanju da indukuju ćelijski-posredovan imunski odgovor. Ovaj tip imunskog odgovora ne stvara obavezno granulome, ali je podstičući agens slabo podložan razgradnji ili usitnjavanju. U ovom odgovoru, makrofagi fagocituju strani materijal, zatim ga, kao APČ, obrađuju i prezentuju T limfocitima, prouzrokujući njihovo aktiviranje. Aktivisane T ćelije produkuju citokine, kao što je IL-2, koji aktiviraju druge T limfocite, potvrđujući odgovor, i IFN $\gamma$ , koji je važan činilac u aktivaciji makrofaga i njihovog transformisanja u epiteloidne ćelije i multinuklearne gigantske ćelije.

## 4.2 PROCESI ZARASTANJA

Sposobnost organizma da zameni oštećene ili mrtve ćelije i da popravi (reparira) tkiva nakon zapaljenja je ključna za njegov opstanak. Kada štetni agensi oštete ćelije ili tkiva, odgovor domaćina se sastoji od niza događaja kojima se nastoje ukloniti agensi, ograničiti oštećenje, i pripremiti preostale ćelije za njihovo umnožavanje ili replikaciju. Popravka tkivnog oštećenja načinjenog hirurškom resekcijom, ranama, i raznim tipovima hroničnog oštećenja, može se naširoko podeliti na dva procesa: regeneraciju (obnavljanje) i restauraciju (uspostavljanje) normalnog stanja, odnosno izlečenje. Regeneracija je rezultat restitucije izgubljenog tkiva, dok izlečenje može restaurirati originalne strukture, ali uključuje deponovanje kolagena i formiranje ožiljka.

Procesi zarastanja povređenog tkiva neposredno nakon povređivanja uključuju više mehanizama sanacije oštećenog tkiva, od kojih su najvažniji mehanizmi regeneracije, i restauracije, odnosno izlečenja u celini.

**Regeneracija** podrazumeva rast i razvoj ćelija i tkiva za zamenu izgubljenih struktura, kao što je rast amputiranog ekstremiteta u amfibija. U sisara, celi organi i kompleksi tkiva retko regenerišu nakon izlečenja, osim delova tkiva ili organa, kao što je slučaj sa delimičnim otklanjanjem tkiva jetre (parcijalna heptektomija) ili jednostranim otklanjanjem bubrega (unilateralna nefrektomija) [11]. Ovi procesi se sastoje od kompenzatornog rasta pre nego od prave regeneracije. Tkiva sa velikim proliferativnim kapacitetom, kao što imaju hematopoetski sistem i epiteli kože i gastrointestinalnog trakta, obnavljaju se kontinuirano i mogu se regenerisati nakon povrede, sve dok se ne razore matične ćelije.

**Zarastanje** je uobičajen odgovor tkiva na: (1) ranu (obično na koži), (2) inflamatori proces u unutrašnjim tkivima i organima, ili (3) čelijsku nekrozu u organima nesposobnim za regeneraciju [11]. Ova definicija uključuje i stanja kao što je ateroskleroza, pokušavajući da se izleči oštećenje arterijskog zida. Izlečenje se sastoji od variabilne zastupljenosti dva različita procesa: regeneracije, i odlaganja fibroznog tkiva ili formiranja ožiljka. Površinske rane, kao što je rana kože sa oštećenjem samo epitelja, izlečuju se regeneracijom epitela. Incisione i ekskisione rane kože, gde je oštećen dermis, leče se formiranjem kolagenog ožiljka. Ožiljak se takođe formira u miokardu posle infarkta, pošto se originalno tkivo ne može obnoviti, pa se zamjenjuje kolagenom. U parenhimskim organima, zamena inflamatornih infiltrata granulacionim tkivom, i na kraju fibrozom, naziva se *organizacija tkiva* nakon oštećenja.

Za nesmetanu regeneraciju potrebno je da postoji intaktan skelet ili mreža vezivnog tkiva. Suprotno od toga, izlečenje sa formiranjem ožiljka zbiva se ako se ošteti kostur ekstracelularnog matriksa (ECM), prouzrokujući promene tkivne arhitekture. Skelet ECM je neophodan za izlečenje rane zato što obezbeđuje mrežu za čelijsku migraciju i održava čelijsku polarnost, potrebnu za reorganizaciju višeslojivih struktura. Ćelije ECM (fibroblasti, makrofagi, i drugi tipovi ćelija) su izvor ključnih faktora tkivne reparacije.

*Reparativni procesi* su odlučujući za održavanje normalne strukture i funkcije i opstanak organizma. Izlečenje rana na koži i pomenutih raznih drugih stanja su najčešći primeri reparativnih procesa. Međutim, u zdravim tkivima, reparacija, u formi regeneracije ili izlečenja, zbiva se nakon praktično svakog insulta koji pro-uzrokuje tkivnu destrukciju.

U tkivima odraslih, veličina čelijske populacije je određena brzinom čelijske proliferacije, diferencijacije, i smrti apoptozom. Miociti i neuroni su *potpuno differentovane ćelije*, jer nisu sposobne za replikaciju, za razliku od pomenutih ćelija jetre i bubrega, koje ne proliferišu u normalnom stanju, osim kada je to potrebno [11]. U proliferativnim tkivima, kao što je kostna srž i višeslojni epiteli kože i creva, zrele ćelije su potpuno differentovane, kratkog života, nesposobne za replikaciju, ali mogu biti zamjenjene novim čelijama poreklom od matičnih ćelija. U tim tkivima postoji homeostatski ekvilibrijum (homeokineza) između proliferacije stem ćelija, njihove diferencijacije, i smrti zrelih differentovanih ćelija.

Čelijska proliferacija može biti stimulisana raznim fiziološkim i patološkim stanjima. Proliferacija endometrijumskih ćelija pod dejstvom estrogena tokom menstrualnog ciklusa i tiroid-štimulišući hormon (TSH)-posredovana replikacija ćelija tiroideje (štitaste žlezde) koja uvećava ovu žlezdu tokom trudnoće, primeri su fiziološke replikacije. Mnoga patološka stanja kao što je povreda, čelijska smrt, i mehaničke alteracije tkiva takođe stimulišu čelijsku proliferaciju. Fiziološki podražaji koji su prekomerni, stvaraju patološka stanja, kao što je nodularna hiperplazija prostate rezultat stimulacije dihidrotestosterona [12], i razvoj nodularne strume u tiroideji kao posledice povećanog nivoa TSH u serumu [13]. Čelijska proliferacija se vrši signalima (solubilni ili kontakt-zavisni) iz mikrosredine koji stimulišu ili inhibišu čelijsku proliferaciju (Tabl. 4.8). Višak stimulacije ili manjak inhibicije vodi ka obustavi rasta ili, u slučaju kancera, nekontrolisanom rastu. Mada ubrzan rast može biti iskomplikovan skraćenjem čelijskog ciklusa, najvažniji mehanizam rasta

jestе konverzija mirnih ili tihih целија у пролиферишуће целије помоћу убацивања целија у целијски циклус. За обе врсте целија, регрутујући или мирних у целијском циклусу, као и прогресију целијског циклуса, потребни су стимулишући сингали који превазилазе физиолошку инхибицију целијске пролиферације.

У процесу регенерације и излеђења клjučну улогу има регулација целијске пролиферације, која се нормално одрžава под стриктном физиолошком контролом. Ђелијска пролиферација се типично иницира акцијом многобројних фактора раста и цитокина. Постоји велики број полипептидних фактора раста, од којих неки утичу на готово све типове целија, док други имају ограничен капацитет. Уз стимулацију целијске пролиферације, фактори раста могу, такође, испољавати утицај на целијску диференцијацију и матурацију, целијску покретљивост, конtraktilност, angiogenezu, као и на активност исто толико важне као и њихови промотивни ефекти раста. Резултат њихових многобројних ефеката је и њихово учешће у tkivnoj regeneraciji i reparaciji, i konačno u izleđenju.

Регенерација укључује *restituciju* tkivnih компоненти идентичних онима које су уклонјене или уништене. Супротно томе, излеђење је fibroproliferativni одговор који пре „krpi“ него што обнавља tkivo. Репарација је комплексан, али уредно регулисан феномен који укључује бројне процесе: (1) индукцију запалјенског процеса као реакцију на почетну повреду, са укланjanjem oштећеног i мртвог tkiva; (2) пролиферацију i миграцију parenhimalnih целија i целија vezivnog tkiva; (3) формирање нових крвних судова (angiogeneza) i granulacionog tkiva; (4) синтезу протеина ECM i depoziciju kolagena; (5) remodeliranje tkiva; (6) конtrakцију rane; (7) jačање отпорности rane [11].

Не деšавају се сvi ови процеси u svakoj reakciji reparacije. На процес reparacije утичу mnogi faktori: (1) okruženje tkiva i veličina tkivne povrede; (2) intenzitet i trajanje dejstva štetnog agensa; (3) stanja која inhibишу reparацију, као што је приступ stranih tela ili неадекватно snabdevanje krvotokom; (4) razne bolesti које inhibишу reparацију (posebno *diabetes mellitus*); (5) upotreba steroida [11].

Cilj procesa reparacije је обнова tkiva до originalnog morfoloшког i функциональног стања. Inflamatorna reakcija na povredu је процес који садржи oштећење, eliminaciju štetnog agensa, otklanjanje oштећеног tkiva, i који покреће depoziciju komponenata ECM na mestu povrede. Нека tkiva bivaju потпуно обновљена nakon povrede (lat. *restitutio ad integrum*), као што је обнова kostи posle preloma ili regeneracija površinskog epitela u oguljotini kože. Kod tkiva која nemaju adekvatnu regenerativnu sposobnost (dublji slojevi kože, miokard), reaparacija se завршава deponovanjem vezivnog tkiva, које ствара oзилjak. Ако oштећење потраје, запалjenje постаје hroničно, i oштећење tkiva ometa normalnu reparaciju. Тада се као последица javlja deponovanje vezivnog tkiva u процесу који се назива *fibroza*, која уопштено обухвата svako nenormalno deponovanje vezivnog tkiva, bez obzira на uzrok.

Репарација почиње рano, još na почетку запалjenja. Ponekad se javlja već u toku 24 h nakon povrede. Ако се повлачење запалjenja (rezolucija) još nije desilo, fibroblasti i vaskularне endotelне целије почињу да се умножавају, formirajući специјализовани tip tkiva које označава *процес излеђења* i назива се *granulaciono tkivo*. Granulaciono tkivo је добило назив по свом ružičastom izgledu, mekom, granularном сastavu na površini rane, mada ga histološki obeležава stvaranje novih malih

krvnih sudova (angiogeneza) i proliferacija fibroblasta. Ovi novi krvni sudovi su propustljivi, dopuštajući prolazak proteina i eritrocita u vansudovni prostor. Stoga je novo granulaciono tkivo često edematozno.

*TABELA 4.8 Faktori rasta i citokini koji utiču na razne faze u zarastanju rane [11]; modifikovano.*

Faze u zarastanju rane	Faktori rasta i citokini
Hemotaksa monocita	PDGF <sup>1</sup> , FGF <sup>2</sup> , TGF- $\beta$ <sup>3</sup>
Migracija fibroblasta	PDGF, EGF <sup>4</sup> , FGF, TGF- $\beta$ , TNF <sup>5</sup> , IL-1 <sup>6</sup>
Proliferacija fibroblasta	PDGF, EGF, FGF, TNF, IGF <sup>7</sup>
Angiogeneza	VEGF <sup>8</sup> , Ang <sup>9</sup> , FGF
Sinteza kolagena	TGF- $\beta$ , PDGF, KGF <sup>10</sup>
Sekrecija kolagenaze	PDGF, FGF, EGF, TGF- $\beta$ inhibiše

**Skraćenice i objašnjenja:** <sup>1</sup>Trombocit-prodrukujući faktor rasta [*platelet-derived growth factor (PDGF isoforms A, B, C, D)*]; <sup>2</sup>Faktori rasta fibroblasta [*fibroblast growth factor-1 (acidic), -2 (basic) and family (FGF)*]; <sup>3</sup>Transformišući faktor rasta beta {[*transforming growth factor beta (TGF- $\beta$  isoforms 1,2,3)*] i ostali članovi; familije su kostni morfogenetski proteini [*bone morphogenetic proteins (BMPs)*] i aktivin}; <sup>4</sup>Epidermalni faktor rasta [*epidermal growth factor (EGF)*]; <sup>5</sup>Faktor nekroze tumora [*tumor necrosis factor (TNF)*]; <sup>6</sup>Interleukin-1 [*IL-1*]; <sup>7</sup>Insulinu sličan faktor rasta [*insulin-like growth factor (IGF isoforms I and II)*]; <sup>8</sup>Vaskularni endotelni ćelijski faktor rasta [*vascular endothelial cell growth factor (VEGF isoforms A, B, C, D)*]; <sup>9</sup>Angiopoetini 1 i 2 [*angiopoetin 1 and 2 (ang1 i ang2)*]; <sup>10</sup>Keratinocitni faktor rasta [*keratinocyte growth factor (KGF)*].

Angiogeneza je veoma bitna za obnavljanje tkiva i zarastanje rana nakon povrede, ali i za hroničnu inflamaciju i fibrozu, rast tumora, kao i vaskularizaciju ishemičnog tkiva. Proces angiogeneze se može odvijati na dva načina: neovaskularizacijom i/ili mobilizacijom prekursora ili progenitora endotelnih vaskularnih ćelija [*endothelial progenitor cells (EPCs)*] iz kostne srži. Neovaskularizacija je proces formiranja novih krvnih sudova u odraslih osoba, putem razgranavanja i produživanja prethodnih susednih kapilara, za razliku od njihovog stvaranja tokom embrionalnog razvoja koji se naziva *vaskulogeneza*. U ovom tipu angiogeneze prvo se javlja vazodilatacija i povećanje permeabiliteata postojećih krvnih sudova, potom degradacija ECM, onda migracija u pravcu angiogeneznog stimulusa, pa proliferacija i maturacija endotelnih ćelija, i na kraju regrutovanje periendotelnih ćelija (uključujući pericitе за male kapilare i vaskularne glatke mišićne ćelije za veće sudove) za potporu endotelnih tuba i formiranje zrelih sudova. U svim ovim procesima ključnu ulogu imaju razni medijatori, počev od vazodilatacije prouzrokovane pomoću NO i VEGF-indukovanog povećanja permeabiliteata postojećih krvnih sudova, preko proteolitičke degradacije BM metaloproteinazama i raskidanja međusobnih veza između endotelnih ćelija pomoću aktivatora plazminogena [14].

VEGF i angiopoetini imaju specijalnu ulogu u embrionalnoj vaskulogenezi i adultnoj angiogenezi [15]. VEGF ima mnoštvo funkcija u procesu angiogeneze: pokreće angiogenezu, povećava vaskularnu permeabilnost, stimuliše migraciju i pro-

liferaciju endotelnih ćelija, indukuje hiperplaziju limfatične vaskulature (VEGF-C); povećava endotelnu ekspresiju aktivatora plazminogena, inhibitora-1 aktivatora plazminogena, tkivnog faktora, i intersticijalne kolagenaze [11]. *Angiopoetini 1 i 2* (ang1 i ang2), PDGF, i TGF-β, učestvuju u završnom procesu stabilizacije formiranja krvnih sudova, koji uključuje regrutovanje pericita i glatkih mišićnih ćelija, kao i deponovanje proteina ECM [11]. U ovom procesu, kao regulatori angiogeneze, učestvuju i proteini ECM. Proces obezbeđivanja motiliteta i migracije endotelnih ćelija kontroliše nekoliko vrsta proteina uključujući: (1) integrine, posebno  $\alpha_v\beta_3$ , koji su značajni za formiranje i održavanje novoformiranih krvnih sudova; (2) matricelularne proteine (trombospondin 1, SPARK, tenascin C), koji destabilizuju ćelija-matriks interakcije i tako promovišu angiogenezu; i (3) proteinaze (aktivatori plazminogena i matriksne metaloproteinaze), koje su značajne za remodeliranje tkiva tokom invazije endotelnih ćelija [16]. Ove proteinaze dodatno cepaju ekstracelularne proteine, oslobođajući matriks-vezane faktore rasta kao što su VEGF i FGF-2, koji stimulišu angiogenezu.

Kao u embriogenezi što se stvaraju iz *angioblasta*, i u odraslih osoba, krvni sudovi se dodatno stvaraju iz angioblastima sličnih ćelija: *mobilizacijom progenitorskih ćelija endotela [endothelial progenitor cells (EPCs)]* iz kostne srži. EPCs učestvuju i u zameni oštećenih ili mrtvih endotelnih ćelija, u re-endotelizaciji vaskularnih implantata, i u neovaskularizaciji ishemičnih organa, kožnih rana, i tumora. Broj cirkulišućih EPCs utiče na vaskularnu funkciju i određuje rizik od kardiovaskularnih oboljenja [11].

**Formiranje ožiljka** je proces kojim se zamenom ćelija specifičnog tkiva pomoću ćelija vezivnog tkiva formira nefunkcionalno tkivo. Faktori rasta i citokini se luče na mestu povrede indukujući proliferaciju i migraciju fibroblasta. To se dešava u okviru razvoja granulacionog tkiva i novih krvnih sudova i petlji ECM koji se potetno formiraju na mestu reparacije. U formiranju ožiljka imaju udela tri procesa: (1) migracija i proliferacija fibroblasta na mestu oštećenja; (2) depozicija ECM; i (3) remodeliranje tkiva.

*Migracija i proliferacija fibroblasta* na mesta oštećenja trigerisane su mnogim faktorima rasta, uključujući TGF-β, PDGF, EGF, FGF, kao i citokine IL-1 i TNF (Tabl. 4.8). Izvori ovih faktora su trombociti, razne inflmatorne ćelije (posebno makrofagi), i aktivisani endotel. Makrofagi su važan ćelijski konstituent granulacionog tkiva, koji čisti ekstracelularni debris, fibrin, i drugi strani materijal na mestu reparacije. Ove ćelije takođe stvaraju TGF-β, PDGF, i FGF, i potpomažu migraciju i proliferaciju fibroblasta. TGF-β je faktor koji ima najveće efekte na deponovanje fibroznog tkiva, prouzrokujući migraciju i proliferaciju fibroblasta, povećanje sinteze kolagena i fibronektina, kao i smanjenje degradacije ECM pomoću metaloproteinaza. TGF-β je takođe hemotaksični faktor za monocite i prouzrokuje angiogenezu in vivo, verovatno pomoću indukcije ulaska makrofaga. Ekspresija TGF-β se povećava u tkivima u brojnim hroničnim fibroznim bolestima.

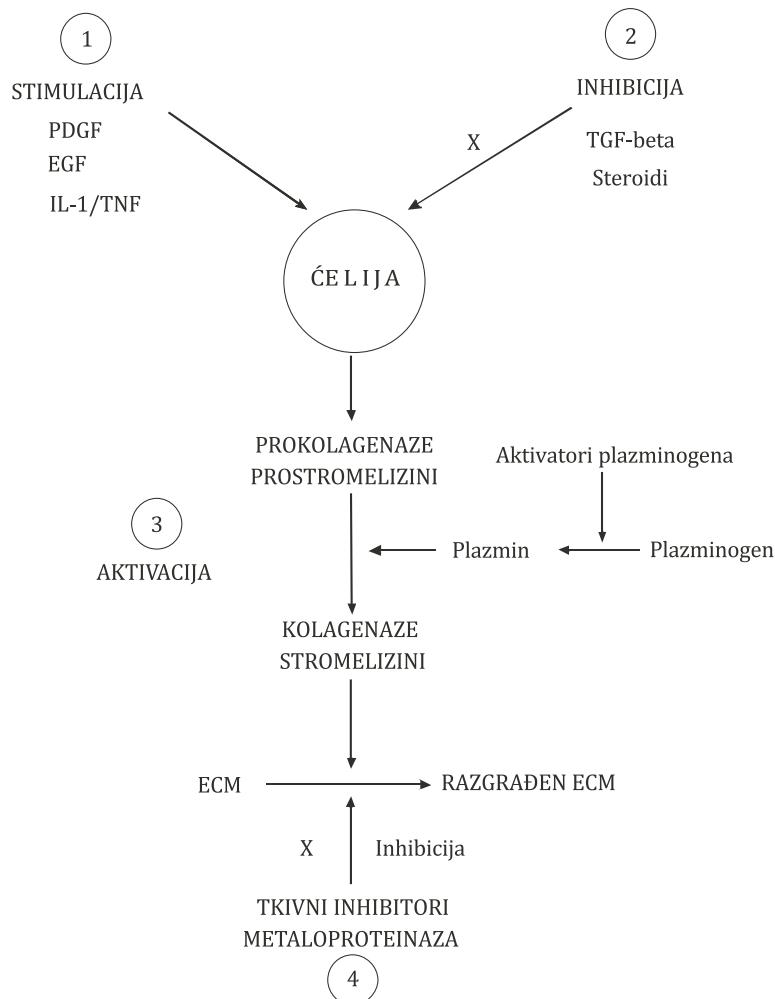
*Depozicija ECM* napreduje sa odmicanjem reparativnog procesa i smanjenjem broja proliferišućih endotelnih ćelija i fibroblasta. Fibrilarni kolageni formiraju veliki deo vezivnog tkiva na mestu reparacije i važni su za razvoj otpornosti u zarastanju rane. Sinteza kolagena počinje od 3 do 5 dana nakon povrede i traje

nekoliko nedelja, zavisno od veličine rane. Mnogi od istih faktora rasta koji regulišu proliferaciju fibroblasta takođe stimulišu sintezu ECM (Tabela 4.8). Naprimer, sintezu kolagena povećava nekoliko faktora, uključujući faktore rasta (PDGF, FGF, TGF- $\beta$ ) i citokine (IL-1, IL-13), koje sekretuju leukociti i fibroblasti u zarastajućoj rani. Neto akumulacija kolagena, međutim, zavisi ne samo od povećanja sinteze, nego i od smanjenja njegove degradacije. Na kraju, skelet granulacionog tkiva pretvara se u ožiljak sastavljen od vretenastih fibroblasta, gustog kolagena, fragmenata elastičnog tkiva, i drugih komponenata ECM. Kako ožiljak sazreva, vaskularna regresija se nastavlja, eventualno transformišući bogato vaskularizovano granulaciono tkivo u bledi, avaskularni ožiljak.

*Remodeliranje tkiva* je završni proces pri formiranju ožiljka koji se nastavlja na proces deponovanja ECM. Zamena granulacionog tkiva sa ožiljkom uključuje strukturne i funkcionalne promene ECM. Neki od faktora rasta koji stimulišu sintezu kolagena i drugih tkivnih molekula takođe modulišu sintezu i aktivaciju metaloproteinaza, enzima koji razgrađuju ove komponente ECM. Balans između sinteze ECM i njegove degradacije rezultuje u *remodeliranju* skeleta vezivnog tkiva, važne karakteristike i za hroničnu inflamaciju i reparaciju rane.

Degradacija kolagena i ostalih proteina ECM se dešava dejstvom enzima iz familije matriks metaloproteinaza (MMP) [*matrix metalloproteinases (MMPs)*], čija aktivnost zavisi od prisustva jona cinka ( $Zn^{2+}$ ) (Sl. 4.2) [11]. Ova familija enzima, koja uključuje više od 20 članova, ima zajednički 180-rezidua cink-proteaze domen. MMP uključuju *intersticijalne kolagenaze* (MMP-1, 2, i 3), koje cepaju fibrilarni kolagen tipa I, II, i III; *gelatinaze* (MMP-2 i 9), koje razgrađuju amorfni kolagen i fibronektin; *stromelizine* (MMP-3, 10 i 11), koje deluju na razne komponente ECM, uključujući proteoglikane, laminin, fibronektin, i amorfne kolagene; i familiju *membrana-vezane MMP*, površina-udružene proteinaze [11]. MMP se sintetišu kao propeptidi kojima je potrebno proteolitičko cepanje za aktivaciju. Njih produkuje nekoliko tipova ćelija: fibroblasti, makrofagi, neutrofili, sinovijalne ćelije, i neke epitelne ćelije. Njihovu sekreciju indukuju određene draži (stimulusi), uključujući faktore rasta (PDGF, FGF), citokine (IL-1, TNF), fagocitozu, i fizički stres, dok ih inhibišu TGF- $\beta$  i steroidi. Kolagenaze cepaju kolagen pod fiziološkim uslovima, sekući trostruki heliks na dva nejednaka dela, koji su onda pogodni za razgradnju od drugih proteinaza. Kolagenaze se sintetišu kao latentni prekursori (prokolagenaze) da bi se aktivirale pomoću hemijskih faktora, kao što su slobodni radikali produkovani tokom oksidativne eksplozije ili rasprskavanja leukocita i proteinaza. Jednom formirane, aktivisane kolagenaze brzo se inhibišu pomoću familije specifičnih *tkivnih inhibitora metaloproteinaza* [*tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs)*], koje produkuje većina mezenhimalnih ćelija, tako sprečavajući nekontrolisano dejstvo ovih proteaza (Sl. 4.2) [11]. Kolagenaze i njihovi inhibitori su prostorno i vremenski regulisani u zarastajućoj rani. One su ključne za debridman povređenog mesta i u remodeliranju vezivnog tkiva potrebne su za reparaciju nastalog defekta.

Velika i važna familija enzima povezanih sa MMP naziva se familija domena aktivisanog disintegrina i metaloproteinaze [*activated disintegrin and metalloproteinase-domain family (ADAM)*] [11]. Enzimi ADAM su zakačeni za plazma membranu i svojom proteolitičkom aktivnošću cepaju i oslobađaju ekstracelularne domene



*SLIKA 4.2 Regulacija matriksnih metaloproteinaza [11], modifikovano: {trombocit-producujući faktor rasta [platelet-derived growth factor (PDGF)]; epitelijski faktor rasta [epithelial growth factor (EGF)]; interleukin-1 (IL-1); faktor nekroze tumora [tumor necrosis factor (TNF); transformišući faktor rasta beta [transforming growth factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ )]; ekstracelularni matriks (ECM)}.*

ćelija-površinskih proteina, kao što su prekursorske forme TNF- $\alpha$  i TNF- $\beta$ . ADAM-17 {takođe poznat kao konvertujući enzim faktora alfa nekroze tumora [*tumor necrosis factor  $\alpha$ -converting enzyme (TACE)*] ili TNF-alfa-konvertujući enzim} cepta prekursore oba ova molekula, produkujući aktivne faktore koji će biti oslobođeni ili ostati zakačeni za ćelijsku membranu [17].

Opšti principi reparacije, koji važe za većinu tkiva, mogu se videti kroz zarastanje rane na koži. Mada većina kožnih lezija zarasta uspešno, ipak krajnji ishod ne mora biti funkcionalno perfektn. Za razliku od epiderma, dermalni slojevi ne regenerišu, nego na mestu defekta ostaje ožiljak od vezivnog tkiva. Kod površinskih rana, epitel se obnavlja i može ostati mali ožiljak.

Zarastanje rane na koži uopšteno se može podeliti na tri faze: (1) zapaljenje (rano i kasno); (2) formiranje granulacionog tkiva i reepitelizacija; i (3) kontrakcija rane, depozicija ECM, i remodeliranje [11]. Ove faze se preklapaju, i njihovo odvajanje je ponekad samo uslovno. Ipak, one pomažu u razumevanju sleda događanja u zarastanju rane. Kao što je već ukazano, zarastanje rane je fibroproliferativni odgovor posredovan faktorima rasta i citokinima [18, 19].

Kožne rane se klasično opisuju pomoću primarnog ili sekundarnog zarastanja ili šivenja. Razlika između ova dva tipa zarastanja zasniva se pre na prirodi rane, nego na procesu izlečenja.

*Primarno izlečenje* ili izlečenje u prvom pokušaju, s primarnim šavom su-protnih ivica rane, je najpovoljnija varijanta zarastanja rane. Najmanje komplikovan primer reparacije rane jeste izlečenje čiste, neinficirane hirurške incizije slične hirurškoj suturi (šavu). Takvo lečenje se označava kao *primarni vez ili šav*, ili *izlečenje u prvom pokušaju*. Incizija prouzrokuje smrt ograničenog broja epitelnih ćelija i vezivnog tkiva, kao i cepanje kontinuiteta epitelne bazalne membrane (BM). Uzak incizionalni prostor neposredno se puni sa koagulisanom krvi zadržavajući fibrin i ćelije krvi; dehidracija površine uguruška formira dobro poznatu krastu sa rubom koji uokviruje ranu. Proces zarastanja prati niz sekvenčnih postupaka. Zarastanje pomoću sekundarnog ili odloženog šava, odnosno u drugom pokušaju zbog razdvojenih ivica rane, dešava se kada postoji veoma veliki gubitak ćelija i tkiva, kada kao u površinskoj rani, reparativni proces postaje mnogo komplikovaniji.

Regeneracija parenhimalnih ćelija ne može kompletno restaurirati originalnu arhitekturu, i stoga masovno raste granulaciono tkivo od margina do kompletne reparacije. Ova forma zarastanja ili izlečenja se označava kao *sekundarno spajanje* ili *izlečenje u sekundarnom ili naknadnom pokušaju*.

*TABELA 4.9 Faktori koji inhibišu zarastanje rane [11]; modifikovano.*

Lokalni faktori	Sistemski faktori
Snabdevanje krvotokom	Starost
Denervacija	Gojaznost
Lokalna infekcija	Malnutricija
Strano telo	Metabolički poremećaji
Hematom	Anemija
Mehanički stres	Sistemska infekcija, povišena temperatura
Nekrotično tkivo	Trauma, hipovolemija i hipoksija
Hirurške tehnike Zaštita (zavojji)	Genetički poremećaji ( <i>osteogenesis imperfecta</i> , <i>Ehlers-Danlos-ovi sindromi</i> , <i>Marfan-ov sindrom</i> )
Tip tkiva	Maligna bolest
	Lekovi (steroidi, citotoksične supstance, intenzivna antibiotička terapija)

*Sekundarno izlečenje* se razlikuje od primarnog u nekoliko činjenica. Prvo, i neizbežno, veliki tkivni defekti proizvode veće fibrinske ugruške (koji ih pune) i više nekrotičnog debrisa i eksudata koji se moraju ukloniti. Sledstveno, stoga inflamatorna reakcija biva mnogo intenzivnija. Drugo, formiraju se mnogo veće količine granulacionog tkiva. Treće, možda kontrakcija rane najbolje diferencira primarno od sekundarnog zarastanja, jer se javlja u obe forme kod velikih površinskih rana. Inicijalni postupci kontrakcije rane uključuju formiranje mreže aktin-sadržavajućih *fibroblasta* na ivicama rane, dok permanentna kontrakcija rane zahteva delovanje *miofibroblasta*: izmenjenih fibroblasta koji imaju ultrastrukturne karakteristike glatkih mišićnih ćelija. Kontrakcija ovih ćelija na mestu rane smanjuje zjad između dermalnih ivica rane. Četvrto, u sekundarnom izlečenju se javlja formiranje substantijalnog ožiljka i tanjenje epiderma.

Kada se suture skinu, obično na kraju prve nedelje, rana postaje otpornija za oko 10% od otpornosti normalne nepovređene kože, da bi se brzo povećavala u toku sledeće 4 nedelje [11]. Ova brzina potom opada u toku 3. meseca nakon originalne incizije, dostižući plato na oko 70-80% od otpornosti nepovređene kože, stanja koje može perzistirati tokom života [11]. Vraćanje otpornosti na istezanje je rezultat preovladavanja sinteze kolagena nad njegovom degradacijom u toku prva 2 meseca zarastanja, i, kasnije, usled strukturnih modifikacija kolagenih vlakana (ukrštanje, povećanje dimenzija) nakon prekida sinteze kolagena.

Lokalni i sistemski faktori koji utiču na zarastanje rane su mnogobrojni (Tabела 6-9) [11].

Među lokalnim faktorima, infekcija i strano telo, zbog odlaganja procesa zarastanja usled hronične inflamacije, zauzimaju poseban značaj. Mehanički faktori, kao što je pokretanje ivica rane, zbog oštećenja tkiva ili nastalih problema u cirkulaciji, mogu prozrokovati usporen tok zarastanja rane. Veličina, lokacija i tip rane, takođe, bitno utiču na tok njenog srastanja. Dobro prokrvljena tkiva, kao što su lice i ruke, imaju brži i uspešniji tok zarastanja, nego tkiva sa slabijom cirkulacijom, kao što su potkolenice i stopala.

Ishrana (nutricija) je jedan od najvažnijih sistemskih faktora, koji ima direktnе efekte na zarastanje rane. Deficit u ishrani, kao što je nedostatak vitamina C ili deficit metala u tragu (cink, bakar), može izazvati smanjenje sinteze kolagena i time usporiti zarastanja rane. Metabolička stanja, takođe, mogu uticati na tok zarastanja rane. Tako šećerna bolest (*diabetes mellitus*), zbog izazivanja mikroangiopatije, može prouzrokovati usporeno zarastanje rane. Poremećaji cirkulacije, kao što je neadekvatan krvotok prouzrokovani arteriosklerozom ili venskim problemima (npr., proširene vene), takođe, usporavaju zarastanje. Hormoni, kao npr., glukokortikoidi zbog svog antiinflamatornog efekta, utiču na razne komponente zapaljenja, ispoljavajući inhibiciju sinteze kolagena.

**Komplikacije u zarastanju rane** na koži se dešavaju kao posledica poremećaja neke od bazičnih komponenti reparativnog procesa i mogu se svrstati u tri opšte grupe: (1) deficitno formiranje ožiljka; (2) prekomerno formiranje reparativnih komponenti; i (3) formiranje kontraktura [11]. Neadekvatno formiranje granulacionog tkiva ili sastojaka ožiljka može dovesti do dve vrste komplikacija: dehiscencije (prskanja) rane i ulceracije (oguljotine) rane.

*Dehiscencija ili ruptura rane* se najčešće dešava od 5-12 dana posle zašivanja [6]. Najčešća je nakon abdominalne operacije i dešava se usled povećanja abdominalnog pritiska, prouzrokovanih najčešće kašljem, povraćanjem, ili zapaljenjem, kao što je ileus.

*Ulceracija rane* najčešće može nastati usled neadekvatne vaskularizacije tokom zarastanja ili oštećenja epitelizacije. Tako rane na donjim udovima često ulcerišu zbog aterosklerotične periferne vaskularne bolesti [20] ili gubitka senzacije usled periferne dijabetičke neuropatije [13, 21]. Slično zapaljenju, proces epitelizacije koče antizapaljeni lekovi (steroidi), hipoksemija i slaba ishrana. Antizapaljeni steroidi inhibišu sintezu i sekreciju fagocitnih medijatora potrebnih za epitelizaciju (npr., EGF), hipoksemija smanjuje energetske potrebe ćelija, dok nedostatak hranljivih supstanci, kao što je cink, onemogućava aktivnost MMP, koje su ključne za ćelijsku migraciju [6]. Normalan fiziološki rastvor 0,9% NaCl je najbolja supstanca za ispiranje rane, koja poboljšava epitelizaciju. Rastvori kao što su povidon-jod i vodonik peroksid suše ranu i tako pre inhibišu, nego što stimulišu migraciju epitelnih ćelija.

*Prekomerno formiranje komponenata reparativnog procesa* može, takođe, komplikovati zarastanje rane. Poremećaji rasta mogu se desiti čak u početku zarastanja normalne rane. Akumulacija prekomernih količina kolagena može prouzrokovati *hipertrofičan ožiljak*, a ako tkivo ožiljka uzraste izvan granica originalne rane i ne povuče se nastaje *keloid*. Prekomerno formiranje granulacionog tkiva ili *bujna granulacija* (poznata kao „*divlje meso*“) je drugi poremećaj zarastanja rane, koji se izdiže iznad normalnog nivoa okolne kože i blokira normalnu reepitelizaciju [22]. Incizioni ožiljci ili traumatske povrede mogu biti praćeni bujnom proliferacijom fibroblasta i drugih vezivnih tkivnih elemenata. Tako se stvaraju, čak i nakon uklanjanja ožiljka (ekscizija), *agresivne fibromatoze (dezmoidi)*, koje se nalaze na granici između benignih proliferacija i malignih tumora [23].

*Retrakcija rane* ili kontrakcija (veličine) rane je važan deo normalnog procesa zarastanja. To je završni proces rekonstruktivne faze zarastanja rane, koji je potreban za zatvaranje svake rane, posebno pri sekundarnom zarastanju. Kontrakcija se zapaža od 6-12 dana posle povrede i u normalnom zarastanju približava ivice rane oko 0,5 mm/dan [6]. Međutim, prekomerna retrakcija rane prouzrokuje deformacije rane i okolnog tkiva. Kontrakturama su posebno sklane rane na dlanovima, tabanima, i prednjim delovima grudi, posebno ako se radi o opekotinama [24].

U poremećaju normalne retrakcije rane učestvuje enzim stromelizin-1 (MMP-3), koji razara fibroblastne aktinske filamente, potrebne za kontrakciju mlađe rane [11]. Znajući to vrše se pokušaji kontrole kontrakcije miofibroblasta davanjem inhibitora glatkih mišićnih ćelija (*kolticin*) i inhibitora ukrštenog formiranja i povezivanja matriksnih kolagena ili specijalno aktivnosti MMP [6,24]. Ova dva zadnja tretmana zasnivaju se na tome da miofibroblasti vezani za kolagen mogu „zaključati“ kontrahovane ćelije u toj poziciji [6,24].

## 4.3 PITANJA ZA REKAPITULACIJU

- 4.1 Čime se odlikuje akutno zapaljenje?
- 4.2 Šta je „frustrirana fagocitoza“?
- 4.3 Na kakav tip zapaljenja ukazuje infiltracija mononuklearnih ćelija?
- 4.4 Koji su medijatori akutnog zapaljenja?
- 4.5 Koji su sekretorni produkti makrofaga?
- 4.6 Šta se prvo javlja sa ugradnjom implantata?
- 4.7 Kada pošinje reparativni proces u toku implantacije biomaterijala?
- 4.8 Kakva je uloga remodeliranja tkiva pri formiranju ožiljka?
- 4.9 Usled čega najčešće nastaje usporeno zarastanje rane?
- 4.10 Šta je ruptura rane?

## 4.4 LITERATURA

1. F.J. Schoen, Introduction, in: B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.4.1.
2. J.J. Jacobs, K.A. Roebuck, M. Archibeck, N.J., N.J. Hallab, T.T. Glant, Osteolysis: basic science. *Clin. Orthop.* 393 (2001) 71-77.
3. J.M. Anderson, Inflammation, Wound Healing, and the Foreign-Body Response, in: B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.4.2.
4. V. Kumar, A.K., Abbas, N. Fausto, Acute and Chronic Inflammation, in: V. Kumar, A.K., Abbas, N. Fausto (eds.), *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 7th Ed. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 1.2.
5. J.C. Stinchcombe, Griffiths G.M., Regulated secretion from hemopoietic cells, *J. Cell. Biol.* 147 (1999) 1.
6. B. Crippes Trask, N.S. Rote, S.E. Huether, Innate Immunity: Inflammation, in: K.L. McCance, S.E. Huether (eds.), *Pathophysiology: The Biologic Basis for Disease in Adults and Children*. 5th Ed. (Elsevier/Mosby, St. Louis, 2006), Sect. 1.3.6.
7. A.I. Terr, Inflammation, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 1.13.
8. T.G. Parslow, D.F Bainton, Innate Immunity, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th Ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 1.2.
9. F.B. Brodsky, Antigen Presentation & the Major Histocompatibility Complex, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th Ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 1.6.

10. V. Piddubnyak, P. Kurcok, A. Matuszowicz, M. Głowala, A. Fiszer-Kierzkowska, Z. Jedliński, M. Juzwa, Z.Z. Krawczyk, Oligo-3-hydroxybutyrates as potential carriers for drug delivery. *Biomaterials* 25(22) (2004) 5271-5279.
11. V. Kumar, A.K., Abbas, N. Fausto, Tissue Renewal and Repair: Regeneration, Healing, and Fibrosis. in: V. Kumar, A.K., Abbas, N. Fausto (eds.), *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 7th Ed. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 1.3.
12. J.I. Epstein, The Lower Urinary Tract and Male Genital System. in: V. Kumar, A.K., Abbas, N. Fausto (eds.), *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 7th Ed. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 2.21.
13. A. Maitra, A.K. Abbas, The Endocrine System. in: V. Kumar, A.K., Abbas, N. Fausto (eds.), *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 7th Ed. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 2.24.
14. F. Blasi, P. Carmeliet, uPAR: a versatile signalling orchestrator. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 3 (2002) 932.
15. J. Folkman, Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis. *Semin. Oncol.* 29 (2002) 15.
16. P. Bornstein, E.H. Sage, Matricellular proteins: extracellular modulators of cell function. *Curr. Opin. Cell. Biol.* 14 (2002) 608.
17. J.J. Oppenheim, F.W. Ruscetti, Cytokines, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Immunobiology (eds.), *Medical Immunology*, 10th Ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 1.10.
18. S. Werner, R. Grose, Regulation of wound healing by growth factors and cytokines, *Physiol. Rev.* 83 (2003) 835-870.
19. G. Henry, W.L. Garner, Inflammatory mediators in wound healing, *Surg. Clin. North. Am.* 83 (2003) 483-507.
20. F.J. Schoen, Blood Vessels, in: V. Kumar, A.K., Abbas, N. Fausto (eds.), *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 7th Ed. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 2.11.
21. D.C. Anthony, M.P. Frosch, U. De Girolami, in: Peripheral Nerve and Skeletal Muscle, in: V. Kumar, A.K., Abbas, N. Fausto (eds.), *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 7th Ed. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 2.27.
22. K.L. McCance, T. Cameron Grey, Altered Cellular and Tissue Biology, in: K.L. McCance, S.E. Huether (eds.), *Pathophysiology: The Biologic Basis for Disease in Adults and Children*. 5th Ed. (Elsevier/Mosby, St. Louis, 2006), Sect. 1.1.2.
23. V. Kumar, A.K., Abbas, N. Fausto, Neoplasia. in: V. Kumar, A.K., Abbas, N. Fausto (eds.), *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 7th Ed. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 1.7.
24. A. Barbul, Wound Healing, in: F.C. Brunicardi (ed.), *Schwartz Principles of Surgery*, 8th Ed. (McGraw-Hill, New York, 2005), Sect.1.8.

## IMUNOLOŠKE REAKCIJE NA BIOMATERIJALE<sup>1</sup>

Imunski sistem je odbrambeni sistem organizma, izgrađen od organizovanog sistema ćelija koji ima sposobnost da razlikuje "sopstvene" (gen) molekule, ćelije i tkiva od "tuđih" (antigen), organizmu stranih supstanci (grč. *antigenum*, protivtelo; *anti*, protiv + *genan*, stvarati; telo koje je sposobno da izazove stvaranje protivtela u krvi). Ovaj sistem ima sposobnost da neutrališe ili inaktivise molekule strane organizmu i da uništava žive i mrtve ćelije stranog ili vlastitog porekla. Iako je primarno namenjen za odbranu tela od infektivnih organizama, imunski sistem štiti organizam od štetnog dejstva svake neinfektivne strane supstance, uključujući razne molekule, strana tela, tumorske i oštećene sopstvene ćelije. Primarna funkcija imunskog sistema je da razlikuje "sopstveno" od "stranog" i da uništi sve što je "strano" brzo i efikasno. Ponekad se dešava reakcija protiv sopstvenih zdravih molekula, ćelija i tkiva, koja prouzrokuje *autoimunsku bolest*, mada uopšteno imunski sistem ne reaguje na vlastite molekule ili povredene ćelije i tkiva domaćina. U tom, patološkom smislu, imunski sistem se može definisati kao reakcija odbrambenog sistema na bilo koju organizmu stranu supstancu, bez obzira na njeno poreklo, svojstva i ponašanje.

Imunski sistem nije homogen kao drugi organski sistemi, već se njegove komponente nalaze raspoređene po celom telu: (1) u krvi, limfi, epitelnim i vezivnim tkivima; (2) u limfnim folikulima vezivnog tkiva i nekih organa; i (3) u limfatičnim organima razne veličine (limfnim čvorovima, slezini, timusu, i kostnoj srži) [1].

Celovit imunski (odbrambeni) sistem organizma čine: (1) limfopoetski (limfatični) organi; (2) mononukleusni fagocitni sistem (MNFS); i (3) leukociti krvi [1].

Limfni folikuli (nodusi ili čvorići) i izolovane ćelije imunskog sistema koje se nalaze u sluzokoži digestivnog trakta [krajnicima, Pajerovim (Peyer) pločama, i slepom crevu], i u sluzokožama respiratornog, urinarnog i reproduktivnog sistema, označavaju se kao *limfatično tkivo sluzokoža* [*mucosa-associated lymphoid tissue* (MALT)], i pripadaju, takođe, limfatičnim organima.

Timus i kostna srž [analog Fabricijusove kese (*bursa Fabricii*) u ptica]] u siseara se nazivaju *primarni ili centralni limfopoetski (limfatični) organi*, a limfociti koji

<sup>1</sup>Ovo poglavlje napisao je Drago Đorđević.

su u njima nastali, diferencirali se i sazreli nazivaju se *timus-zavisni* (T) limfociti i *Bursa Fabricii-zavisni* (B) limfociti. Timus je mesto gde se dešava završna diferencijacija i selekcija T limfocita. Najbolje je razvijen i aktivan odmah nakon rođenja, a posle puberteta, kada je najveći, počinje njegova involucija. Međutim, timus, kao i kostna srž, do starosti zadržava sposobnost neprekidne produkcije limfocita. U timusu se stvaraju i deluju proteinski faktori rasta koji podstiču proliferaciju i diferencijaciju T limfocita: timozin- $\alpha$ , timopoetin, timulin i timusni humoralni faktor [1].

T i B limfociti naseljavaju razne organe u telu nazvane *periferni ili sekundarni limfopoetski (limfatični) organi* (krajnici, slezina, Pajerova ploča, slepo crevo, limfni čvorovi, sluzokože, odnosno MALT) [1]. U limfopoetskim organima T i B limfociti neravnomerno su raspoređeni u specifičnim zonama naseljavanja (*T- i B-zavisne zone*) (Tabl. 5.1) [1]. B-zavisnu zonu predstavljaju: limfni folikuli u slezini, površnom korteksu limfnog čvora, i u MALT [1]. U B-zavisnoj zoni nalaze se: mnogobrojni B limfociti, folikulske dendritske ćelije i makrofagi [1]. T-zavisnu zonu čine: periterijski limfocitni omotač u slezini, duboki korteks limfnih čvorova, interfolikularna i parafolikularna zona MALT [1]. U T-zavisnoj zoni nalaze se mnogobrojni T limfociti, retki B limfociti, interdigitantne ćelije i makrofagi [1].

U limfatičnim organima T i B limfociti nisu sesilne (nepokretne) ćelije, već mobilne (pokretne) ćelije, pošto se stalno premeštaju sa jednog mesta na drugo procesom koji se naziva *recirkulacija limfocita*. Folikulske dendritske ćelije ili interdigitantne ćelije su posebna vrsta ćelija, koja kao i makrofagi i B limfociti, potiču iz kostne srži, a po funkciji predstavljaju specijalizovanu klasu ćelija zvanu *antigen-prezentujuće ćelije* (APĆ) [1]. Makrofagi i dendritske ćelije pripadaju pokretnim, a po potrebi sesilnim, ćelijama MNFS.

**TABELA 5.1 Približan procenat T i B limfocita u limfatičnim organima [1]**

Limfatični organi	T limfociti (%)	B limfociti (%)
Timus	100	0
Kostna srž	10	90
Slezina	45	55
Limfni čvorovi	60	40
Krv	75	35

Ovakva raspoređenost po celom organizmu ćelija imunskog sistema i neprekidna cirkulacija limfocita kroz krv, vezivno tkivo i limfatične organe (*recirkulacija*) omogućuje telu efikasnost sistema kontrole i odbrane od neželjenih faktora i njihovog dejstva.

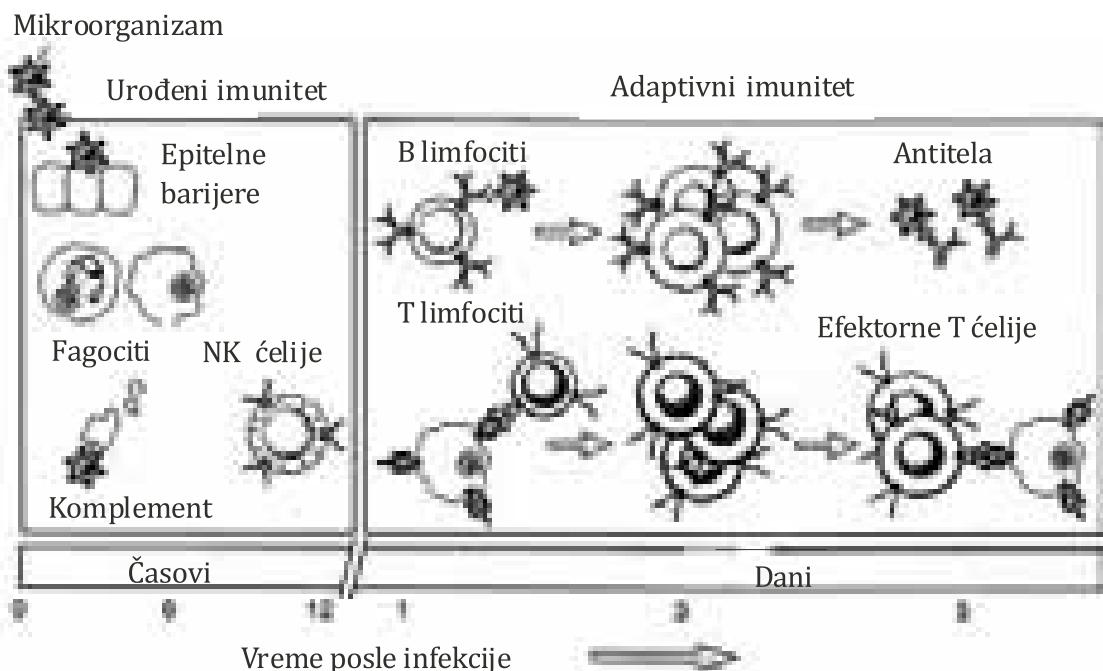
Odbrana organizma od infekcija i oštećenja tkiva zasniva se na tri nivoa odbrane: (1) ćelijskim i tkivnim barijerama: fizičkim, mehaničkim i biohemijskim (*prva linija odbrane*); (2) zapaljenskom odgovoru (*druga linija odbrane*); i (3) adaptivnom (stečenom) imunitetu (*treća linija odbrane*), s tim što barijere i zapaljenski odgovor čine glavne komponente urođenog imuniteta [2].

## 5.1 UROĐENI (PRIRODNI) I STEČENI (ADAPTIVNI) IMUNITET

Svaki imunski odgovor je kompleksan niz regulisanih događaja u koje su uključeni mnogi tipovi ćelija. On započinje onog momenta kada antigen uđe u telo i susretne APĆ [3]. Ove APĆ zarobljavaju male količine antigena i izlažu ih u obliku koji može biti prepoznat pomoću antigen-specifičnih pomažućih (*helper*) T<sub>h</sub> limfocita. Pomažuće T ćelije postaju aktivisane i, zauzvrat, pokreću aktivaciju ostalih klasa limfocita, kao što su B ćelije, ili citotoksične T ćelije. Aktivisani limfociti potom se umnožavaju noseći svoje specifične izvršne funkcije, koje, u većini slučajeva, zaređom inaktiviraju ili eliminišu antigen. U svakom stadijumu ovog procesa, limfociti i APĆ međusobno komuniciraju bilo putem direktnog kontakta ili pomoću izlučenih regulišućih citokina. Ove ćelije mogu, takođe, istovremeno reagovati sa ostalim tipovima ćelija ili sa komponentama komplementa, kinina, ili fibrinolitičkog sistema, prouzrokujući aktivaciju fagocita, koagulaciju krvi, ili početak zarastanja rane.

Imunski odgovori mogu biti *lokalni i/ili sistemski*, ali su gotovo uvek veoma specifični, usmeravajući celu svoju moć protiv antiga, mada mogu izazvati manje ili veće oštećenje normalnog tkiva domaćina [3]. Odgovori se takođe precizno kontrolisu i normalno završavaju nakon eliminacije antiga.

Postoje dva osnovna tipa imunskog odgovora: *urođeni (prirodni) i stečeni (adaptivni)* [4], koja se sastoje od izvršnih ćelijskih komponenti zajedno poznatih kao *celularni (ćelijski posredovan imunitet)* i komponenti rastvorenih u telesnim tečnostima (koje su se nekad zvali *telesni humor*), nezavisnih od ćelija, nazvanih zajednički *humoralni imunitet* [5].



SLIKA 5.1 Urođeni i adaptivni (stečeni) imunitet sa svojim glavnim komponentama i vremenom delovanja [4]; modifikovano.

**Urođeni, prirodni, imunski odgovor** je brz, nespecifičan i evoluciono stariji; ostvaruje se aktivnošću komponenti celularnog imuniteta, efektorskih ćelija: neutrofila, makrofaga, mastocita i ćelija prirodnih ubica [*natural killer* (NK)]; kao i aktivnošću komponenti humoralnog imuniteta, efektorskih proteina [4, 5]. Nađen je i u beskičmenjaka i biljaka, nema sposobnost pamćenja, jer ne produkuje memorijske ćelije (Sl. 5.1) (Tabl. 5.2) [4].

*TABELA 5.2 Osnovne razlike između komponenata, fizioloških svojstava i mehanizama urođenog i stečenog imuniteta [4, 6]; modifikovano.*

Imunitet	Urođeni	Stečeni
Fizičko/hemijske barijere	Koža, sluzokožni epitel, antimikrobnii proteini (npr., defenzini).	Limfociti u epitelima, sekretovana antitela.
Proteini krvi	Komplement	Antitela
Ćelije	Fagociti (makrofagi, neutrofili), NK ćelije <sup>1</sup> .	Limfociti
Način prepoznavanja liganda (izvršnog molekula)	Nasleđenom strukturom molekula (CRP <sup>2</sup> , LBP <sup>3</sup> , SAP <sup>4</sup> , MBP <sup>5</sup> , i drugi).	Somatskim mutacijama i rekombinacijom gena V, D i J stvara se Fab fragment antitela, odnosno idiotipski deo receptora T limfocita.
Struktura liganda/antigena	Lipopolisaharidi, polisaharidi, lipidi.	Belančevine, glikoproteini.
Specifičnost prepoznavanja	Nekoliko grupa molekula zajedničkih i životno važnih mnogim mikrobima (LPS <sup>6</sup> , manani, bakterijska DNK <sup>7</sup> , i druge).	Minimalne razlike molekul-antigen.
Vreme ostvarivanja zaštitne uloge	4-96 časova.	> 96 časova, dani, nedelje.
Osnovni mehanizam pojačanja reaktivnosti u odgovoru na agense	Hiperakutno povećanje koncentracije proteina akutne faze zapaljenja (CRP, LBP, SAP, MBP, C2 <sup>8</sup> i C4); lančana amplifikacija aktivacije komplementa.	Klonska ekspanzija specifičnih T i B limfocita; autostimulacija; imunska memorija.

**Skraćenice i objašnjenja:** <sup>1</sup>Ćelije prirodne ubice [*natural killer cells* (NK)]; <sup>2</sup>C-reaktivni protein [*C-reactive protein* (CRP)]; <sup>3</sup>Lipopolisaharid-vezujući protein [*lipopolysaccharide-binding protein* (LBP)]; <sup>4</sup>Serumski amiloid protein P [*serum amyloid protein P* (SAP)]; <sup>5</sup>Manan-vezujući protein [*mannan-binding protein* (MBP)]; <sup>6</sup>Lipopolisaharid [*lipopolysaccharide* (LPS)]; <sup>7</sup>Dezoksiribonukleinska kiselina (DNK); <sup>8</sup>Proteinska komponenta sistema komplementa [*complement component 2, 4* (C2, C4)].

Ćelije i proteini ovog sistema stvaraju prvu liniju odbrane, a u mnogim slučajevima, sposobni su i da iz korena sasvim eliminišu infekciju. Komponente urođe-

nog imuniteta su ključne u mobilizaciji svih sledećih efektora, uključujući elemente stečenog imuniteta, za eliminaciju mikroorganizama. Urođeni imunitet se uključuje u akciju pomoću molekulskih struktura koje su zajedničke za grupe dotočnih mikroba (Tabl. 5.3) [4, 5]. Svaka ćelija urođenog odgovora ispoljava na svojoj površini iste receptore za prepoznavanje, koji imaju ograničenu širinu od nekoliko do preko 20 raznih tipova molekula, bez mogućnosti finijeg hemijskog razlikovanja sličnih grupa [4]. Pošto nemaju sposobnost pamćenja, sve ćelije uvek reaguju na isti način pri svakom, pa i ponovnom, susretu sa stranim agensom. Cirkulišući proteini (komplement, koagulacioni faktori, C-reaktivni protein itd.) imaju sposobnost da direktno „zalepe” ili „ubace” pore-formirajuće proteine u mikrobe vodeći ih direktno u smrt (npr. komplement), ili elegantnije, da ih oblože (npr. opsonini), čineći ih tako „privlačnijim” za fagocitozu (Tabl. 5.4) [5]. U tome im pomažu citokini: proteini koji regulišu i koordiniraju ćelijski odgovor i na urođenom (prirodnom) i stečenom (adaptivnom) nivou.

Komponente urođenog sistema odbrane prepoznaju mesto povrede, „smatrajući” da je izazvano infekcijom ili da može postati mesto infekcije. Tako komponente koagulacione kaskade ili denaturisani elementi vezivnog tkiva bivaju prepoznati i vezani za površinske receptore fagocita, indukujući njihovu aktivaciju. Ovo je posebno važno pri dospevanju stranog tela, kao što su čestice implantata, u tkivo, gde i minorna povreda ili denaturacija komponenti ekstraćelularnog matriksa (ECM) privlači, „vezuje”, i aktivira makrofage, uprkos svoj „inertnosti” površine ili hemijskog sastava biomaterijala.

Funkcija svih regрутujućih i aktivirajućih faktora je da privuku fagocite kako bi izvršili ingestiju, varenje i uništavanje, stranih supstanci. Primarno odgovorne ćelije u najranijoj fazi povrede ili infekcije su neutrofili (mikrofagi), kratkoživeći (časovi) fagociti sposobni da „pojedu” i uniše mikrobe pomoću svojih enzimskih sistema, posebno proteaza i lipaza.

*TABELA 5.3 Patogen-specifični najčešći makromolekuli [4,5]; modifikovano.*

Makromolekuli	Poreklo
Peptidoglikan	Bakterijski ćelijski zidovi
Lipopolisaharid [ <i>lipopolysaccharide (LPS)</i> ]	Ćelijski zid gram-negativnih bakterija
Lipoteikoična kiselina	Ćelijski zid gram-pozitivnih bakterija
N-formilmetyonil peptidi	Bakterije
Razni glikolipidi	Mikobakterije
Manani	Gljivice, mikobakterije
DNK sa nemetilisanim CpG*	Bakterije
Duplo uvrnuta RNK**	Određeni virusi

**Skraćenice i objašnjenja:** \* Dezoksiribonukleinska kiselina (DNK) se sastoji od dinukleotidnih sekvenci baza citozin-guanozin (CpG), pri čemu citozin ima obično metilisan deo (eng. *part*) u eukariota, ali ne i u bakterija; \*\*Ribonukleinska kiselina (RNK).

Makrofagi su veće ćelije od mikrofaga (neutrofila), koje se naknadno regrutuju i aktiviraju, sa nekoliko puta većim kapacitetom fagocitoze, ali i dužinom života ponekad ravnoj životu domaćina. Njih regrutuje i privlači na mesto povrede bilo kakva promena u adhezionim molekulima ECM, a posebno na endotelnim i drugim ćelijama ili njihovoj blizini, uključujući i hemotaksične signale iz oštećenih ćelija (hemokine), plazme (komponente komplementa) ili od samih stranih supstanci (Tabl. 5.4) [4, 5]. Fagociti eliminišu strane supstance, posebno mikrobe, ubijajući ih u peroksizomima, najčešće pomoću kiseoničkih metabolita, reaktivnih kiseoničkih vrsta [*reactive oxygen species (ROS)*], ili enzimskom razgradnjom proteazama.

*TABELA 5.4 Glavni humoralni izvršni proteini urođenog imunskog sistema [4,5]; modifikovano.*

Protein	Glavni ciljevi na mikrobima	Efekti
Lizozim	Peptidoglikan ćelijskog zida bakterije.	Varenje ćelijskog zida.
Manan-vezujući lektin	Manozom veoma bogati glikoproteini i glikolipidi.	Opsonizacija; aktivacija komplementa.
C-reaktivni protein	Polisaharidi i fosforilholin na površinama mikroba.	Opsonizacija; aktivacija komplementa.
Serumski amiloid protein P	Ugljeni hidrati u zidu ćelija.	Opsonizacija.
LPS*-vezujući protein	LPS	Olakšavanje vezivanja LPS za CD14.
Rastvoren CD14**	LPS	Olakšavanje vezivanja LPS za ćelije domaćina.
Defenzini	Mikrobne membrane	Liza membrane
Protein komplementa C3	Kovalentne veze za ugljene hidrate i proteine na površini mikroba.	Opsonizacija; aktivacija komplementa; mnogi drugi efekti.

**Skraćenice i objašnjenja:** \*Bakterijski lipopolisaharid [*lipopolysaccharide (LPS)*]; \*\*Protein ćelijske površine koji se označava kao klaster diferencijacije [*cluster of differentiation (CD14)*].

Izlučivanje ovako moćnih destruktivnih supstanci u okolno tkivo može prouzrokovati i štetne lokalne, pa čak i sistemske efekte. Obimno lokalno oštećenje tokom prekomerne aktivacije neutrofila ispoljava se kao gnojno zapaljenje (*absces*) sa potpunom destrukcijom parenhima i strome dotičnog tkiva ili organa. Aktivirani fagociti, posebno makrofagi, izlučuju razne citokine i druge faktore koji mogu imati lokalne i sistemske ili opšte efekte, kao što su [4]: (1) faktor nekroze tumora [*tumor necrosis factor (TNF)*], koji dodatno regrutuje i aktivira neutrofile; (2) *interleukin-12 (IL-12)*, koji aktivira T limfocite i NK ćelije {ćelije prirodne ubice [*natural killer cells (NK)*]}; (3) koagulacioni putevi (potpuno izlaganje tkivnog faktora); (4) angiogeni faktori, za formiranje novih krvnih sudova (angiogeneza ili neovaskula-

rizacija); (5) faktori aktivacije fibroblasta {npr., trombocit-produkujući faktor rasta [*platelet-derived growth factor (PDGF)*] da indukuju proliferaciju fibroblasta; (6) transformišući faktor rasta beta [*transforming growth factor- $\beta$*  (*TGF- $\beta$* )], čija ekspresija povećava sintezu ECM; (7) matriksne metaloproteinaze (MMP) [*matrix metalloproteinases (MMPs)*], koje remodeliraju ECM. Time produžena aktivacija makrofaga može dovesti do razvoja tkivne fiboze i stvaranja ožiljka.

Urođeni i stečeni mehanizmi odbrane organizma od stranih supstanci međusobno su povezani, zajedno deluju i jedan drugog stimulišu. Tako, početni urođeni odgovor na mikrobe stimuliše adaptivne imunske odgovore, utičući na to kakvog tipa će biti reakcija. Pored toga, stečeni imunitet upravlja i koristi efektorne mehanizme urođenog imuniteta u čišćenju organizma od infektivnih agenasa.

**Adaptivni ili stečeni imunski odgovor**, koji zavisi od toga da li su B i T limfociti početno prepoznali antigen, mnogo je složeniji, sporiji i specifičniji; evoluciono je mlađi, funkcioniše uz pomoć citokina i antitela i stvara memoriske ćelije [4,6]. Njegov kapacitet prepoznavanja je gotovo neograničen, jer može da prepozna  $10^9$ - $10^{11}$  različitih antigenskih determinanti (epitopa) i da stvari isto toliki broj različitih ćelija za raspoznavanje, pošto je jedna ćelija specifična za samo jednu antigensku determinantu [4]. Strane supstance tako indukuju ove specifične imunske odgovore na „strano”, „tuđe” ili „neprijateljsko”, pa se nazivaju *antigeni*, a svaki antigen će tipično aktivirati samo jednu (ili mali set) od ćelija.

Stečeni imunski odgovor prvi put se pojavljuje u nižih kičmenjaka (sa vili-com), a čine ga ćelijski (*celularni*) i cirkulišući (*humoralni*) proteinski medijatori koji prate urođene reakcije u prepoznavanju i otklanjanju specifičnog agensa (specifičan, adaptivni ili stečeni imunitet) [4]. Adaptivni mehanizmi koji dovode do otklanjanja agensa ili antiga stoga se i dele na *humoralni* (cirkulišući) i *celularni* (ćelijski) imunski odgovor. *Humoralni imunitet* se ostvaruje produkcijom glikoproteina zvanih *antitela* iz plazmocita, koji su nastali od klena aktiviranih B limfocita, da bi se vezali za poseban (specifičan) mikrobni (ili neki molekularni) antigen i tako ga učinili prepoznatljivim i podložnim za uništenje. *Ćelijski imunitet* je posredovan T limfocitima: (1) pomažućim T (Th) limfocitima koji sekretuju citokine da deluju na B limfocite, na druge T limfocite i na zapaljenske ćelije (makrofagi, neutrofili, i dr.); i (2) citotoksičnim T (Tc) limfocitima, da napadaju i uništavaju strane ćelije ili ćelije koje ispoljavaju strane epitope na svojoj površini, kao što su ćelije inficirane virusima ili parazitima i tumorske ćelije [7].

Oba tipa imunskog odgovora, osim malih izuzetaka, aktiviraju se kada limfociti prepoznastrane epitope na antigenima [1]. Antigen je svaki molekul kojeg prepozna strane ćelije imunskog odgovora, koji može da izazove njihovu reakciju.

**Antigen** je svaki molekul kojeg prepoznastrane ćelije pomoću receptora ili B ćelije pomoću imunoglobulina, koji može izazvati imunski odgovor [8]. Međutim, nisu svi antigeni sposobni da izazovu imunski odgovor. Stoga, svaki molekul ili kolekciju molekula koji izaziva imunski odgovor bolje je nazvati *imunogen* [8]. Tipični imunogeni uključuju patogene mikroorganizme (npr., virusse, bakterije, ili parazite), strane tkivne graftove, ili ostale strane supstance iz okruženja, kao što su proteini polena, trave, ili hrane. Imunogeni mogu biti solubilni molekuli (proteini, polisa-

haridi, nukleoproteini) ili molekuli koji pripadaju celoj ćeliji (bakterije, protozoe, tumorske ćelije, ćelije inficirane virusom).

Proteini su, uopšteno, najmoćniji imunogeni. Ostale vrste molekula, kao što su lipidi, ugljeni hidrati, ili nukleinske kiseline, većinom postaju imunogeni nakon vezivanja za imunogene proteine, kao lipoproteinski, glikoproteinski, ili nukleoproteinski kompleksi [8].

Imunski odgovori na većinu proteinskih imunogena mogu se javiti samo ako imunogen bude obuhvaćen, zarobljen, „pojeden”, procesiran, i prezentovan pomoću APĆ. Samo T ćelije pomoću svojih, T ćelijskih receptora za antigene [*T cell receptor for antigen* (TCR)], mogu prepoznati imunogene, odnosno komplekse (CD3/TCR) formirane pomoću peptida vezanih za molekule proteina glavnog kompleksa tkivne podudarnosti [*major histocompatibility complex* (MHC)] na površinama ćelija domaćina [8,9]. MHC kompleks je grupa hromozomskih lokusa koji kodira sintezu nekoliko proteina poznatih kao klasa I molekula MHC i klasa II molekula MHC. Kako za svaki lokus postoji veliki broj alela, u opštoj populaciji prisutan je veliki broj varijacija tih molekula. Međutim, jedna osoba eksprimira samo jedan set klase I proteina i jedan set klase II proteina, pa su ti proteini jedinstveni za svaku osobu. Svaka ćelija s jedrom ima klasu I proteina, dok je klasa II proteina prisutna samo u maloj populaciji ćelija nazvanih ćelije koje prezentuju imunogen (APĆ).

U svih sisara, proteinski molekuli histokompatibilnosti *grupisani* su zajedno na hromozomima u *klasteru* uopšteno nazvane MHC, pomoću kojih organizam razlikuje svoje od tuđih molekula. Proteini ovog kompleksa označeni su kao „histokompatibilni” molekuli zato što su prvi put prepoznati kao glavni određujući element tkivne („histo”) kompatibilnosti u transplantaciji organa. U ljudi, ova grupa (klaster) molekula MHC nalazi se na hromozomu 6 i naziva se *antigeni ljudskog leukocita* [*human leukocyte antigens* (HLA)], jer je otkriveno da prepoznaju površinske glikoproteine na membrani leukocita i vežu se za njih [9]. Dakle, termin HLA je sinonim za ljudske MHC proteine.

Svaka od dve glavne podgrupe T limfocita prepoznaće klasu I molekula MHC (MHC I) ili klasu II molekula MHC (MHC II). Klasa MHC I je eksprimovana praktično na svim tipovima telesnih ćelija i koristi se za prezentaciju supstanci kod CD8 T ćelija, od kojih je većina citotoksična. Tc limfociti su identifikovani prema svojoj ekspresiji CD8 površinskog markera, proteina ćelijske površine, koji se označava kao klaster diferencijacije [*cluster of differentiation* (CD8)] [3]. CD8 T ćelije se označavaju kao CD4<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup> [*jednom-pozitivni* (CD8) *limfociti*] i čine 25% od ukupnih T limfocita krvi, i kao CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup> (*duplo-negativni limfociti*), zastupljeni 4% od ukupnih T limfocita krvi; one prepoznaju intracelularne agense u inficiranim ćelijama i vrše njihovo uništavanje [3]. Većina ćelija može ispoljiti antigene za Tc ćelije i tako postati meta za citotoksični odgovor.

U ljudi, postoje tri vrste MHC I molekula i njihovih gena, koji se nazivaju HLA-A, -B, i -C, i tri vrste MHC II molekula i njihovih gena, koji se poznati kao HLA-DP, -DQ, i -DR [3].

Klasa MHC II proteina eksprimovana je samo na makrofagima i malom broju drugih tipova ćelija, da bi se koristila za prezentaciju antiga kod CD4 T ćelija,

čiju većinu čine pomažući (Th) limfociti. Th ćelije, identifikovane prema njihovoj ekspresiji CD4 površinskog markera, poznate su i kao CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> [*jednom-pozitivni* (CD4) *limfociti*], koji čine 70% od ukupnih T limfocita krvi [3]. Postoje i *duplo-pozitivni limfociti* (CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>), koji čine 1% od ukupnih T limfocita krvi, čija uloga još nije poznata [3]. Pored CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> *efektornih* ćelija, postoje i *memorijske* CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> ćelije [3]. Odnos između CD4 ili CD8 ćelija sa Th i Tc ćelijskom funkcijom je strog, ali nije apsolutan, tako da manji broj CD8 ćelija ima pomažuću aktivnost, kao što i manji broj CD4 ćelija ima citotoksičnu aktivnost [3].

Pošto je aktivacija Th ćelija potrebna praktično za sve imunske odgovore, na klasi II MHC proteina zasnovane APĆ imaju vodeću ulogu u kontroli imunskih reakcija. U stvari, termin *antigen prezentirajuća ćelija* odnosi se uobičajeno samo na te specijalizovane ćelije koje nose ili sadrže klasu II MHC proteina [8]. Ove ćelije, ponekad zvane „*profesionalne*“ APĆ, uključuju dendritičke ćelije, makrofage, i B limfocite [8]. Dendritičke ćelije (koje se ne smeju mešati s ćelijama nervnog tkiva) nalaze se u površnom sloju kože, epidermu (gde se nazivaju *Langerhansove ćelije*), u drugim epitelima i u limfatičnim organima. Langerhansove ćelije epiderma imaju veoma efikasan sistem za „hvatanje“ imunogena koji su uspeli da uđu u epiderm. Te ćelije imaju više produžetaka kojima obuhvataju imunogene i uvlače ih prema dermu, tako da zajedno mogu da prođu u limfne sudove.

Da bi imunogen bio prepozнат moraju prethodno APĆ da ga učine prepoznatljivim. APĆ prvo obuhvatanja, zarobljavanja i uvlače u membranskoj vezikuli (endozomu) u citoplazmu imunogena. Stapanjem endozoma sa lizozomom nastaje prelizozom, u kojem kroz seriju promena zvanih *procesiranje antigena*, dolazi do njegove *obrade*. Obrada antiga kod imunogena proteinske prirode uključuje de-naturaciju i delimičnu proteolitičku digestiju, tako da se imunogen cepta na kratke peptide. Određen broj tih peptida se potom nekovalentno udružuje sa klasom II MHC proteina i transportuje do površine APĆ, gde se *predstavlja* ili *izlažu* u procesu zvanom *prezentacija (predstavljanje ili izlaganje) antigena*. Tek tada CD4 Th limfociti pomoću svojih receptora za antigen (TCR) mogu doći u direktni kontakt sa APĆ, na njihovoj površini prepoznati imunogen i vezati se za njega, i to samo ako je predstavljen u formi peptid-MHC proteinskog kompleksa [8].

Korišćenje na peptidima baziranog sistema prepoznavanja omogućuje veću raznovrsnost stečenom imunskom sistemu (zbog složenosti peptida u odnosu na ugljene hidrate ili lipide) u otkrivanju i razlikovanju širokog spektra imunogena, kao i mnogo veću specifičnost u njegovim odgovorima. Peptid-specifični odgovori mogu biti dodatno usmereni protiv virusno kodiranih proteina koje sintetišu inficirane ćelije domaćina, čak iako nemaju neke neobične modifikacije ugljenih hidrata ili lipida [9].

Zavisno od porekla imunogena, obrada ili procesiranje antiga može se odvijati kroz jedan od dva glavna puta, koji određuju imunski odgovor (Tabl. 5.5) [9].

Ćelije imunskog sistema ne prepoznaju ceo molekul imunogena i reaguju samo sa malim molekulskim područjem (domenom) imunogena koji se ranije nazi-vao *antagenska determinanta*, a sada *epitop* (grč. *epi*, odozgo, iznad + *topos*, mesto) [10]. Epitop je specifično mesto za koje se veže TCR ili određeni imunoglobulin.

Mesto vezivanja epitopa na TCR ili imunoglobulinu pre se nazivalo *antigen-vezujuće mesto*, a sada *paratop* (grč. *para*, posle, van + *topos*, mesto) [2,11]. Pošto nisu svi antigeni imunogenetični, nisu ni svi T-ćelijski i B-ćelijski epitopi, pa ni svako vezivanje za TCR ili imunoglobulin neće izazvati imunski odgovor [10].

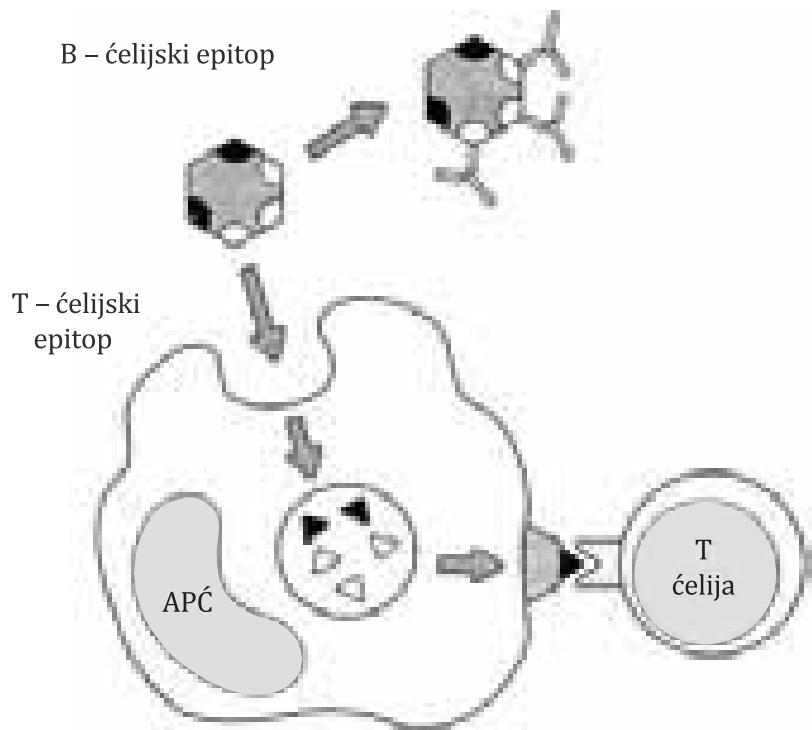
*TABELA 5.5 Putevi obrade ili procesiranja antiga [9]; modifikovano.*

Antigen	Endocitozni put	Citosolični put
Glavni izvori antiga	Endocitozovani ekstracelularni proteini (domaći i strani) Membranski proteini (domaći i strani).	Citosolični proteini domaćina ili intracelularnih patogena (virusa, bakterija, parazita). Signalni peptidi (domaći i strani).
Mašinerija za obradu	Lizozomalni enzimi.	Proteazomi (uključujući LMP) <sup>1</sup> .
Aktivirani tip ćelije	Profesionalne APĆ <sup>2</sup> .	Sve nuklearne ćelije.
Mesto vezivanja antigen-MHC <sup>3</sup>	Endocitozne vezikule, prelizozomi.	Granulirani endoplazmatski retikulum.
Korišćeni MHC	Klasa II.	Klasa I.
Prezentovan za	CD4 (pomažuće) T ćelije.	CD8 (citotoksične) T ćelije.

**Skraćenice i objašnjenja:** <sup>1</sup>Protein male molekulske težine [*low-molecular-weight protein* (LMP)]; <sup>2</sup>*Antigen prezentujuća ćelija* (APĆ); <sup>3</sup>Glavni kompleks tkivne podudarnosti [*major histocompatibility complex* (MHC)].

Odgovor organizma na imunogene može biti ćelijski ili humoralni. U ćelijskom (celularnom) imunskom odgovoru limfociti su primarni u prepoznavanju *T-ćelijskih epitopa* i eliminaciji imunogena, dok su u humoralnom odgovoru u prepoznavanju *B-ćelijskih epitopa* primarni imunoglobulini, glikoproteinski molekuli koje sekretuju plazmociti (Sl. 5.2) [10]. Neki epitopi (npr., polisaharidi bakterijskog zida ili lipidi) obično izazivaju humoralni imunski odgovor, dok proteini izazivaju i ćelijski i humoralni odgovor [10]. T i B limfociti su *jedine* ćelije koje imaju sposobnost da selektivno prepoznaju specifične epitope među velikim brojem ( $10^{18}$ ) raznih epitopa [1].

T limfociti imaju površinske receptore za antigene (TCR), koji nisu u stanju da sami prepoznaju intaktnu stranu supstancu (imunogen), već pre njene svarene delice („procesiranje ili obrada antiga”) izložene na površini („prezentacija ili predstavljanje antiga”) određenih tipova ćelija domaćina udruženim sa molekulima MHC [3]. Za Th ćelije, ove pomoćne ćelije su APĆ, najčešće makrofagi, jedan od glavnih ćelijskih tipova urođenog imunskog odgovora. Makrofagi utiču na odgovore limfocita najmanje na dva načina [4]: (1) putem sekrecije citokina, kao što su TNF- $\alpha$  i IL-12, koji kontrolišu proliferaciju, diferencijaciju i efektorsku funkciju limfocita; i (2) aktivisani makrofagi čine većinu od APĆ, koje obrađuju i izlažu strane supstance u formi koja može biti prepoznata i na koju će reagovati limfociti. Preko ova dva



*SLIKA 5.2 Prezentacija antiga. Većina velikih antiga sadrži multiple epitope. B-ćelijski epitopi (belo) jesu regioni koji se vežu za paratope imunoglobulinskih proteina. T-ćelijske epitope (crno) prepoznaju T limfociti i vežu ih svojim paratopima samo posle obrade i izlaganja udruženo sa proteinom glavnog tkivne podudarnosti [major histocompatibility complex (MHC)] na površini antigen-prezentujuće ćelije (APC) [10].*

tipa regulišućih interakcija urođeni imunski sistem pokreće i koordinira odgovore adaptivnog (stečenog) imunskog sistema, upravljajući njime po potrebi.

Prepoznavanjem epitopa pomoću TCR na Th limfocitima ( $CD4^+ \alpha\beta$ -limfociti T) [6] i njihovim vezivanjem u kompleks epitop/TCR (paratop), po sistemu "brava/ključ", Th limfociti se pobuđuju na proliferaciju i diferencijaciju. Umnožavanjem nastaju klonovi istovrsnih limfocita koji ćelijskim kontaktima i pomoću izlučenih citokina pokreću diferencijaciju humoralnog i celularnog izvršnog dela adaptivnog (stečenog) imuniteta. Time Th limfociti ostvaruju dodatni deo svoje pomoćničke aktivnosti. Prema izlučenim citokinima pomoćnički učinak se ostvaruje preko dva funkcionalna obrazca ili odgovora Th limfocita [6]: (1) tip I ili Th1 limfociti; i (2) tip II ili Th2 limfociti. Th1 limfociti primarno luče citokine IL-2, IL-12, interferon gama (IFN- $\gamma$ ), i TNF- $\beta$  (limfotoksin), a Th2 limfociti: IL-4, 5, 6, 9, 10, 13, i TNF- $\alpha$ , kojeg sekretuju i Th1 limfociti, pored ostalih nespecifičnih zajedničkih citokina (IL-3, IL-6, i GM-CSF) [6, 12, 13]. U fiziološkom imunskom odgovoru adaptivni stečeni imunitet u načelu se postiže odgovorom tipa Th1, kao i u lakšim povredama, pri čemu se razvijaju antitela i Tc limfociti sa dominacijom celularnog, ćelijski posredovanog imuniteta [12]. Vakcinacijom se postiže prethodna zaštita organizma (prevencija) od

bolesti po istom, Th1 obrascu odgovora. Humoralni, antitelo-posredovan imunitet se postiže odgovorom tipa Th2, tako da dominira u fiziološkoj stimulaciji B limfocita, kao i u odgovoru na teže povrede [12]. Između Th1 i Th2 obrasca postoji aktivna uzajamna inhibicija, tako da IFN- $\gamma$  iz Th1 obrasca direktno koči Th2 odgovor, dok IL-4 iz Th2 obrazac direktno koči Th1 odgovor [6].

U odgovoru na nove imunogene Th limfociti se takmiče u preovladavanju „svog” načina reagovanja. U prvom kontaktu sa imunogenom Th limfocit se uz pomoć okoline usmerava prema jednom od dva oblika reagovanja. Ako u sredini preovladava IL-12 (iz dendritičnih ćelija i makrofaga), doći će do usmeravanja diferencijacije prema tipu Th1 obrasca, a ako dominiraju IL-4 i/ili IL-10, iz samih Th limfocita (autostimulacija) i drugih izvora, nastaje diferencijacija prema tipu Th2 odgovora [6]. U zdravom organizmu preovladava usmeravanje prema tipu Th1 odgovora, uz minimalan odgovor tipa Th2. Ovde postoji normalno dominantno kočenje Th2 pomoću IFN- $\gamma$  uz ravnotežu sopstvene stimulacije (autostimulacija) Th1 pomoću IL-2 i Th2 pomoću IL-4.

Zbog smanjenog izlaganja antigenima (imunogenima), uključujući i značaj vakcinacije, savremeni uslovi života pogoduju usmeravanju diferencijacije Th limfocita prema Th2 tipu odgovora. Takav higijenski način života i povišeni standard deluju kao faktor povećanog rizika za atopijski način reagovanja i pojavu atopijskih bolesti.

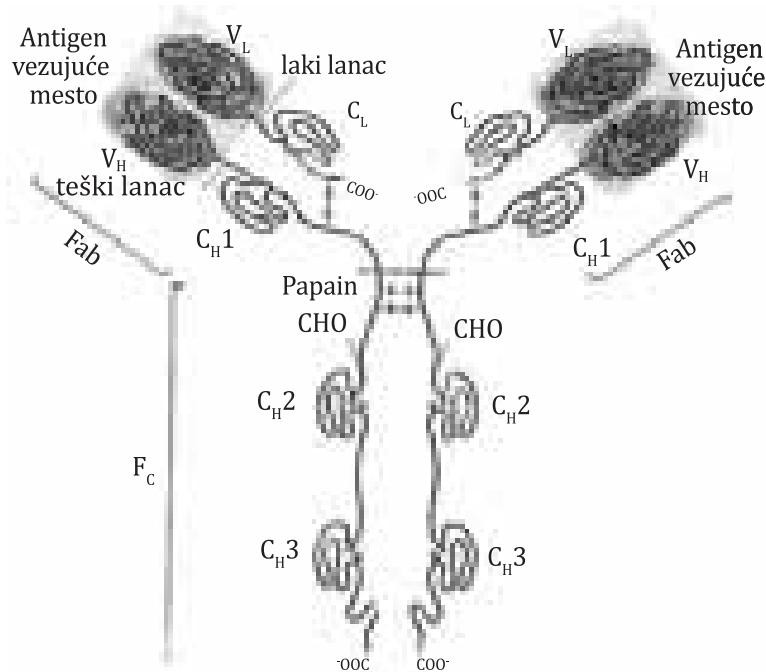
Imunogeni (kao što su mikrobi ili molekuli) koji dospevaju u kožu ili sluzokožu (ili u vezivno tkivo u slučaju primene vakcine), eliminisu se na dva načina. Prvo, imunogen fagocitiraju makrofagi ili dendritičke ćelije, koje ga zatim prenose kroz limfne sudove do limfnih čvorova koji dreniraju tu oblast tela zvane *satelitski ili regionalni limfni čvorovi*. Drugo, molekuli, kompletne mikrobi ili produkti njihove degradacije, prenose se limfom do regionalnih limfnih čvorova, gde ih fagocituju makrofagi ili druge APĆ. Imunogene koji su dospeli u limfne čvorove prepoznaju B limfociti. APĆ koje dolaze iz kože ili sluzokože, kao i APĆ koje obrađuju imunogene u limfnim čvorovima, ispoljavaju imunogene u vidu kompleksa sa klasom II molekula MHC, koji pomažu T limfocitima. B limfociti koji prepoznaju imunogen aktiviraju se uz pomoć Th limfocita i prolaze kroz nekoliko ciklusa ćelijske deobe. Mnoge kćerke ćelije B limfocita diferenciraju se u *plazmocite* i sekretuju antitela protiv imunogena koje prepoznaju B limfociti. Plazmociti sekretuju većinu antitela u limfu i ta antitela mogu dospeti u krvotok i delovati na imunogene na razne načine. B limfociti koji se ne transformišu u plazmocite ostaju *B memorijski limfociti*.

Intracelularne supstance, kao što su one koje se sintetišu u ćeliji inficiranoj virusom, tumorskoj ćeliji ili transplantiranoj ćeliji, prezentuju se Tc vezani za klasu I molekula MHC. Tc limfociti, aktivirani Th limfocitima, prolaze kroz nekoliko ciklusa proliferacije i neki od njih postaju efektorni Tc limfociti koji mogu da denaturišu ćelije koje vezuju imunogene. Citotoksični Tc limfociti mogu da deluju protiv stranih ćelija ili ćelija inficiranih virusima preko dva osnovna mehanizma [1, 8]: (1) delovanjem na ćelije koje je potrebno uništiti proizvodnjom proteina *perforina*, koji stvaraju otvore u ćelijskoj membrani ciljnih ćelija, pa se one nakon toga raspadaju (liziraju); (2) dejstvom na ciljnu ćeliju i njeno uništavanje pokretanjem mehanizma programske ćelijske smrti ili *apoptoze*.

Humoralni imunitet, koji nastaje kao posledica toga što su B limfociti prepoznali imunogen, pa se transformisali u plazmocite koji sekretuju antitela, obično se razvija simultano sa celularnim imunitetom.

**Antitela** su glikoproteini koji specifično reaguju sa antigenskim determinantama ili epitopima. Antitela pripadaju familiji *imunoglobulina* (Ig). Receptori B limfocita prepoznavaju specifične epitope, vezuju se za njih, što aktivira proliferaciju i završnu diferencijaciju B ćelija da se transformišu u plazmocite, koji sekretuju slobodne molekule antitela. Ta antitela dospevaju u krvotok i cirkulišući u plazmi dospevaju do svih tkiva i ćelija, gde u ćelijama mogu biti deo sekreta nekih epitela (npr., mlečnih i pljuvačnih žlezda). Druga antitela nisu slobodni molekuli, već su integralni proteini ćelijske membrane limfocita, koji će se vezati za svaki epitop koji specifično prepozna.

Postoji nekoliko klasa molekula antitela, ali svi imaju isti plan građe: izgrađuju ih dva jednaka laka lanca i dva jednaka teška lanca povezana disulfidnim vezama i nekovalentnim silama (Sl. 5.3) [14]. Izolovani karboksitreminalni deo molekula teških lanaca naziva se *Fc fragment*. Fc fragmenti imunoglobulina reaguju sa specifičnim receptorima raznih ćelija i zbog toga antitela mogu da se vezuju za površinu tih ćelija. U različitim antitelima prvih 110 aminokiselina u blizini amino-terminalnog dela lakinih i teških lanaca veoma je promenljivo [13,15]. Zbog toga se taj region naziva *varijabilni region* molekula antitela. Mesto vezivanja za imunogen na antitetu sastoji se od varijabilnih fragmenata jednog teškog i jednog lako lanca. Zato svaki molekul antitela ima dva vezujuća mesta za imunogen i oba se vezuju za isti imunogen. Molekuli iste klase imunoglobulina formiraju dimere, trimere, ili pentamere.



SLIKA 5.3 Humani imunoglobulin G [14]

Glavne klase imunoglobulina (Ig) kod ljudi su: IgG, IgA, IgM, IgE, IgD (Tabl. 5.6). Funkcije imunoglobulina ili antitela su mnogobrojne i različite. Neka antitela imaju sposobnost aglutinacije ćelija i precipitacije (taloženja solubilnih imunogenih), te tako neutrališu njihova nepoželjna dejstva u telu. Iako je fagocitoza mikroba i drugih čestica spontana, ona je veoma stimulisana ako se mikrobi prekriju antitelima (*opsonizacija*) koja se produkuju protiv njih. Opsonizacija se dešava zbog toga što makrofagi, neutrofili, i eozinofili imaju na svojoj površini receptore za Fc fragment IgG.

Mehanizam inaktivacije i eliminacije imunogena može se sumirati u nekoliko uzastopnih međusobno zavisnih procesa u čijoj regulaciji učestvuju citokini [8]: (1) aglutinacija, u kojoj se antitelo vezuje za imunogen, formira aggregate i redukuje broj slobodnih imunogena, dok aggregate mogu da unesu u sebe i fagociti; (2) opsonizacija imunogena antitelima; (3) antitelima stimulisana fagocitoza imunogena; (4) neutralizacija, u kojoj vezivanje antitela za mikroorganizme (posebno virus) blokira njihovu adheziju za ćelije i vrši inaktivaciju toksina (bakterijski toksini, otrovi insekata ili zmija); (5) aktivacija komplementa, u kojoj vezivanje antitela za početni protein iz sistema komplementa pokreće kaskadu komplementa i uzrokuje lizu ćelije; (6) cito-toksičnost posredovana ćelijama, koja uključuje adheziju antitela za površinu parazitskih glista, kojom se aktiviraju ćelije imunskog suistema (makrofagi i eozinofili) i stimulišu za oslobođanje molekula koji napadaju površinu parazita.

**Sistem komplementa i kininski sistem** su ključni elementi u urođenom imunskom sistemu, pokreću i ubrzavaju zapaljenje, i u slučaju komplementa, ostvaruju prvu liniju odbrane protiv infekcija.

TABELA 5.6 Glavne klase antitela ili imunoglobulina (Ig) [1]; modifikovano.

Klasa	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Struktura	Monomer	Dimer ili trimer <sup>1</sup>	Pentamer	Monomer	Monomer
Procenat u serumu	80%	10-15%	5-10%	0,2%	0,002%
Nepoznato prisustvo <sup>2</sup>	Fetalna cirkulacija u gravidnih žena	Sekrecija (pljuvačka, sluz, suze, mleko...)	Površina B limfocita (kao monomer)	Površina B limfocita	Vezivanje za površinu mastocita i bazofila
Poznate funkcije	Zaštita novorođenog deteta, aktivacija fagocitoze, neutralizacija imunogena	Zaštita površine sluzokože	Prvo antitelo koje se proizvodi u inicijalnom imunskom odgovoru; aktivacija komplementa	Receptor za imunogene koji podstiču početnu aktivaciju B limfocita	Učestvuje u alergiji i destrukciji parazitskih glista

**Skraćenice i objašnjenja:** <sup>1</sup>Dimer ili trimer sa sekretornom komponentom; <sup>2</sup>Prisustvo na drugim mestima van krvi, vezivnog tkiva i limfatičnih organa.

**Sistem komplementa** je grupa od preko 30 proteina plazme i membranskih proteina, koji se stvaraju uglavnom u jetri. Aktivira se pomoću kompleksa antigen-antitelo, kao i nekih antigena, putem lanca uzastopno povezanih reakcija na tri načina: klasičnim, lektinskim i alternativnim putem koji se stapaju u jedan izvršni put nazvan *membranski napadački kompleks [membrane-attack complex (MAC)]* [16, 17]. Klasični put, sastavljen od devet komponenti (C1-C9), aktivira se prvenstveno imunskim kompleksima, mada ga mogu aktivirati i drugi proteini, kao što su C-reaktivni protein, serumski amiloid protein, i amiloidna vlakna, kao i apoptotička tela [16, 17]. Lektinski put čine tri komponente: manan-vezujući lektin [*mannan-binding lectin (MBL)*] i dve serumske proteaze, MBL-pridruženi serum protein 1 i 2 [*MBL-associated serum protein (MASP)*] ili MASP-1 i MASP-2 [16, 17]. MBL put aktivira njegovo prepoznavanje i vezivanje za određene ugljene hidrate izložene na površini mikroba, čime se potom aktivira MASP-1 i MASP-2. MASP-2 proteaza cepa C4 komponentu komplementa za stvaranje C3 konvertaze (C4b2a), koja cepa C3 komponentu u seriji, dok aktivisana MASP-1 proteaza, takođe, cepa C3 i može aktivirati direktno alternativni put [16, 17]. C3 nije samo vodeća komponenta u klasičnom putu i centralna komponenta u lektinskom putu, nego je i ključna komponenta alternativnog komplementnog puta. Alternativni put grade tri komponente: properdin, faktor B, i faktor D, čijom sekvencijalnom aktivacijom pomoću stranih supstanci, bez prisustva antitela, dolazi do stvaranja C5 konvertaze, koja pretvara C5 u C5a, što vodi sekvencijalnom formiranju izvršnog puta kaskade C5b-9 zvanog *MAC* [16, 17].

Sva tri komplementna puta vode zajedničkoj tački: cepanju C5 i stvaranju C5a i C5b. C5a je snažan inflamatorni medijator koji učestvuje u receptor-posredovanoj aktivaciji leukocita, dok C5b započinje formiranje od makromolekularnog kompleksa proteina cilindrični transmembranski kanal, *C5b678(9)n* ili *MAC*, koji perforira (buši) ćelijske membrane agenasa, pri čemu nastaje osmotska liza ćelija [4, 8, 16, 17]. Svaki od puteva ima svoje kontrolne sisteme: komplementne regulatorne proteine plazme i/ili ćelijski udružene proteine, koji deluju na brojnim tačkama kaskade.

Sistem komplementa je direktno i indirektno uključen u reakcije urođenog i ćelijske reakcije stečenog imuniteta. Ovakav kaskadni poredak efektora funkcioniše tokom aktivacije brojnih komponenata komplementa i komplementnih receptora (CR1, CR2, CR3, i CR4) na raznim ćelijama (Tabl. 5.7) [16, 17], ostvarujući svoje aktivnosti (Tabl. 5.8) [16, 17].

Zaštitu organizma od stranih molekula, komplementna kaskada sistema ostvaruje kroz svoje funkcije na četiri načina [4, 8, 16, 17]. Sistem komplementa stimuliše fagocitozu bakterija i drugih mikroba, pošto opsonizacija dovodi do vezivanja C3 komponente (C3b) za specifične C3b receptore prisutne na površini ćelija koje se fagocituju. On stimuliše zapaljenske reakcije putem vezivanja C3b fragmenata za mikrobe, oslobođanja C3a i C5a koji regrutuju i aktiviraju leukocite za uništavanje mikroba. Vezivanje C3b direktno indukuje lizu mikroba aktivacijom kasnijih komponenata i dejstvom na njihove ćelijske membrane formiranog MAC. I na kraju, komplement pomaže u regulaciji biološke aktivnosti ćelija, jer vezivanjem za ćelije može stimulisati njihovu aktivaciju i prouzrokovati njihovu deobu. Isto tako, vez-

vanje komplementa za antigene može olakšati njihovo vezivanje za receptore na APC i načiniti ih daleko „antigeničnijim” [17].

*TABELA 5.7 Receptori proteina komplementa [16, 17]; modifikovano.*

Receptor/ligand	Ćelija/odgovor
CR1 (CD35)/C3b, C4b, iC3Bb	PMNL <sup>1</sup> , eritrociti, monociti, B i T limfociti / čišćenje imunskih kompleksa, fagocitoza, kofaktor za olakšavanje cepanja C3b u C3dg, pomoć faktora I <sup>2</sup> , kao i cepanja C4b.
CR2 (CD21)/C3d, C3dg, iC3b	B limfociti/aktivacija i proliferacija B limfocita.
CR3 (CD11b/18)/iC3b, ICAM-1 <sup>3</sup> , $\beta$ glucan fibrinogen, koagulacioni faktor Xa	PMNL, monociti / celularna adhezija, fagocitoza, respiratorna eksplozivna aktivnost.
CR4 (CD11c/18)/iC3b	PMNL, trombociti, B limfociti / celularna adhezija, interakcije leukociti-endotelne ćelije.
C3aR/C3a	Mastociti, eozinofili raznih tkiva/hemotaksa, degranulacija, oslobođanje histamina, povećanje vaskularnog permeabilитета, produkcija IL-6.
C5aR/C5a, C5a desArg	PMNL, monociti, T limfociti, epitelne ćelije, endotelne ćelije, hepatociti, CNS, <sup>4</sup> fibroblasti / hemotaksa, hiperadherencija, degranulacija, povećanje vaskularnog permeabilитета, respiratorna eksplozija, produkcija citokina (IL-6, IL-8).
C1qRp, C1qR <sub>02</sub> , gC1qR, cC1gR/ C1q, MBL <sup>5</sup> , SP-A <sup>6</sup>	PMNL, monociti, B limfociti, fagociti, mikroglija, trombociti, endotelne ćelije, glatke mišićne ćelije/ hemotaksa, fagocitoza, respiratorna eksplozivna aktivnost, stvaranje slobodnih kiseoničkih radikala.
H/H <sup>7</sup>	B limfociti, monociti / sekrecija faktora I, respiratorna eksplozivna aktivnost.

**Skraćenice i objašnjenja:** <sup>1</sup>Polimorfonuklearni leukociti [*polymorphonuclear leucocytes (PMNL)*]; <sup>2</sup>Faktor I je činilac koji cepa C3b u iC3b i iC3b u C3dg uz pomoć receptora CR1; <sup>3</sup>Intercelularni adhezionalni molekul 1 [*intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1)*]; <sup>4</sup>Centralni nervni sistem [*central nervous system (CNS)*]; <sup>5</sup>Manan-vezujući lektin [*mannan-binding lectin (MBL)*]; <sup>6</sup>Surfaktantni protein A [*surfactant protein A (SP-A)*]; <sup>7</sup>Faktor H je kofaktor za cepanje C3b komponente.

**Kininski sistem** čini *kininska kaskada* plazma proteina koja se aktivira pri susretu sa *negativno nanelektrisanom površinom*, predstavljajući bradikinin-generišući sistem koga grade: Hagemanov faktor, koagulacioni faktor XI, prekalikrein, i kininogen velike molekulske težine [17]. Bradikinin (grč. *bradis*, spor; sporodelujući kinin) je peptid sa velikom sposobnošću izazivanja lokalnih i sistemskih efekata, uključujući povećanje vaskularnog permeabilитета, vazodilataciju, hipotenziju, bol,

kontrakcije glatkih mišićnih ćelija, i aktivaciju fosfolipaze A<sub>2</sub>, koja vrši razlaganje arahidonske kiseline ćelijskih membrana i stvara njene aktivne metabolite sa lokalnim, sistemskim i opštim efektima.

*TABELA 5.8 Aktivnosti komplementa [16,17]; modifikovano.*

Aktivnost	Protein komplementa
Identifikacija/opsonizacija patogena	C3, C4
Regrutovanje/aktivacija zapaljenskih ćelija	C3a, C5a
Liza patogena/citotoksičnost	C5b-9 (MAC)*
Odstranjanje imunskih kompleksa i apoptozičnih ćelija	C1q, C3b, C4b
Povećanje ćelijskih imunskih odgovora (T i B ćelije)	C3, C4, C3a, C5a

**Skraćenice i objašnjenja:** \*Membranski napadački kompleks [*membrane-attack complex (MAC)*].

Bradikininski efekti se u većini slučajeva ostvaruju vezivanjem za jedan od dva tipa bradikininskih receptora (B-1 i B-2), prisutnih na mnogim vrstama ćelija, uključujući endotelne ćelije, glatke mišićne ćelije, sinovijalne oblažuće ćelije, i nervne ćelije [17]. Vezivanjem za receptore, bradikinin pokreće niz ćelijskih procesa, uključujući sintezu i sekreciju mnogih citokina, koji menjaju funkcije sopstvenih (autokrino dejstvo) i okolnih ćelija (parakrino dejstvo), ili krvotokom raznešeni, udaljenih ćelija (endokrino dejstvo).

**Citokini**, po svojoj prirodi peptidi ili glikoproteini, učestvuju u velikom broju u regulaciji mnoštva funkcija imunskog sistema, delujući i na celularni i na humoralni imunski odgovor (Tabl. 5.9) [1, 18].

Citokine primarno stvaraju ćelije imunskog sistema, uglavnom limfociti, leukociti, i makrofagi, ali ih mogu sintetisati i druge ćelije, uključujući endotelne ćelije i fibroblaste. Hemotaksini i hemokini su citokini koji indukuju privlačenje leukocita na mesto zapaljenja. Citokini deluju na većinu ćelija koje imaju receptore za njih, ne samo u imunskom sistemu, nego i drugim sistemima, kao što su nervni i endokrini sistem.

Imunski odgovor uključuje i ćelije (makrofage, neutrofile, i NK ćelije) i proteine (komplementa, i citokine), koji su antigen-nespecifični, iako imunitet podrazumeva izuzetno osetljive odgovore na samo određene strane molekule (antigene ili imunogene). To znači da normalno postoji interakcija između antigen-specifičnih i antigen-nespecifičnih puteva imunskog odgovora.

Aktivnosti Th limfocita su najbolji primer interakcije antigen-specifičnih i antigen-nespecifičnih puteva imunskog odgovora. Pomažući T limfociti imaju veoma važnu ulogu u imunskom odgovoru pošto su odgovorni za produkciju citokina, za interakciju sa B limfocitima radi podsticanja njihove diferencijacije u plazmocite, za aktivaciju makrofaga radi fagocitoze, za aktivaciju citotoksičnih limfocita i za indukciju inflamatorne reakcije [1, 18]. Neke od tih aktivnosti posredovane su citokinima.

## 5.2 PRIMARNI I SEKUNDARNI IMUNSKI ODGOVOR

Veoma važno svojstvo B i T limfocita je prisustvo receptora na njihovoј površini. Ti receptori su osnova za prepoznavanje antigenskih epitopa, pa stoga i za započinjanje imunskog odgovora. T limfociti prepoznaju linearne sekvence aminokiselina, dok je za B limfocite, takođe, bitan i prostorni raspored (molekulska konformacija) proteina, nukleinskih kiselina, polisaharida ili lipida. Svaki B limfocit koji napušta kostnu srž ili svaki T limfocit koji napušta timus ima samo jedan tip površinskih receptora koji prepoznae epitope. Kao rezultat genskog rearanžmana, tokom sazrevanja B i T limfocita stvara se više miliona diferenciranih ćelija, od kojih svaka nosi identične površinske receptore sposobne da prepoznae specifične epitope.

Dok organizam nije još u kontaktu sa imunogenom, veoma mali broj pojedinačnih limfocita može da prepozna svaki od milion postojećih epitopa. Tačan broj limfocita sposobnih za prepoznavanje je nepoznat, ali može da varira od jedne stotine do nekoliko stotina [1]. Čim se limfociti izlože epitopu koji mogu da prepoznae, dolazi do stimulacije ćelijske proliferacije, što dovodi do umnožavanja baš te vrste limfocita (kloniranje) i ekspanzije klona limfocita koji je sposoban da prepozna taj epitop.

*TABELA 5.9 Citokini koji najviše učestvuju u imunskom odgovoru [1,18]; modifikovano.*

Citokin	Glavna uloga
GM-CSF <sup>1</sup> , M-CSF <sup>2</sup>	Faktori rasata i diferencijacije ćelija kostne srži.
TNF- $\alpha$ , <sup>3</sup> IL-1, <sup>4</sup> IL-6	Kostimulacija APĆ <sup>5</sup> i T ćelija; aktivacija fagocita; rast B ćelija i produkcija imunoglobulina; odgovor akutne faze zapaljenja; inflamacija i temperatura; hematopoeza.
IL-12	Stimulacija urođenog i specifičnog imunskog odgovora.
IL-2, IL-4, IL-3	Faktori rasta za T i B limfocite i povećanje njihove funkcije; uticaj na rast i funkcije NK-ćelija <sup>6</sup> (IL-2), eozinofila, mastocita (IL-4).
IL-5	Diferencijacija i aktivacija eozinofila.
Interferon- $\gamma$ (IFN $\gamma$ )	Aktivacija makrofaga.
IL-10, TGF- $\beta$ <sup>7</sup>	Regulacija imunskog odgovora.
Interferon- $\alpha$ (IFN $\alpha$ ) Interferon- $\beta$ (IFN $\beta$ )	Antivirusno dejstvo. Indukcija klase I MHC <sup>8</sup> na svim telesnim ćelijama; aktivacija makrofaga i NK-ćelija.

**Skraćenice i objašnjenja:** <sup>1</sup>Faktor stimulacije rasta kolonija granulocita i makrofaga [*granuloocyte-monocyte colony-stimulating factor* (GM-CSF)]; <sup>2</sup>Faktor stimulacije rasta kolonija makrofaga [*monocyte colony-stimulating factor* (M-CSF)]; <sup>3</sup>Faktor tumorske nekroze alfa [*tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ )]; <sup>4</sup>Interleukin (IL); <sup>5</sup>*Antigen-presenting cells* (APCs); <sup>6</sup>Ćelije prirodne ubice [*natural killer cells* (NK)]; <sup>7</sup>Transformišući faktor rasta beta [*transforming growth factor beta* (TGF- $\beta$ )]; <sup>8</sup>Klasa I glavnog kompleksa tkivne podudarnosti [*major histocompatibility complex* (MHC)].

Prema vremenu pojavljivanja i svojoj sposobnosti prepoznavanja, odgovor organizma na imunogene može biti primarni i sekundarni. Kada se osoba prvi put susretne sa specifičnim imunogenom to je *prvi kontakt* ili *prvobitni kontakt* i vodi relativno slabom, kratkotrajnom odgovoru koji se naziva *primarni ili inicijalni imunski odgovor*, ili tzv. *aktivna senzibilizacija*. On se sastoji od nekoliko faza, počev od *latentne faze ili faze zaostajanja* između početnog izlaganja imunogenu i nalaza antitela u cirkulaciji kroz oko 7 dana (4-10) u ljudi [6,8]. Stoga se naziva i *rani-humoralni tip odgovora*, za razliku od *kasnog-ćelijskog tipa odgovora*.

Tokom ovog perioda glavno mesto pripada aktivaciji Th i B limfocita. Prvi kontakt CD4<sup>+</sup> ili CD8<sup>+</sup> T limfocita sa specifičnim epitopima praćen je umnožavanjem tih ćelijskih klonova. Neke ćelije iz tih klonova postaju *efektorne ćelije*, dok druge ostaju *memorijski* pomažući ili memorijski citotoksični T limfociti, koji reaguju veoma brzo na sledeći susret sa istim epitopom.

Nakon latentne faze sledi *eksponencijalna faza* karakteristična po brzom porastu količine cirkulišućih antitela sekretovanih iz transformisanih B ćelija u plazmocite. Posle nje sledi *faza platoa*, a potom *faza opadanja* koncentracije antitela u krvi, označavajući prvo ravnotežu između broja antitela i broja neutralisanih ili otklonjenih imunogena, a potom (u fazi opadanja) otklanjanje imunogena do njegovog potpunog iskorenjivanja.

Ponovni susret sa istim imunogenom, ali sada senzibilisanog organizma, vodi odgovoru koji je kvalitativno sličan primarnom odgovoru, ali ispoljava značajne kvantitativne razlike. U takvom, *sekundarnom ili anamnestičkom* („zapamćenom“) *imunskom odgovoru*, latentna faza je kratkotrajna, a ostale faze su više strukovno izrazitije, sa porastom nivoa antitela koji je neuporedivo brži, veći i dugotrajniji [8]. *Rani sekundarni humoralni odgovor* preosetljivosti se uopšteno javlja u prvih 12 h od susreta sa antigenom i nastaje kao posledica reakcije sa preformiranim antitelima ili oslobođanjem medijatora iz bazofila, dok se *kasni sekundarni celularni odgovor* ispoljava posle 48-72 h [19].

Veliki broj antigen-specifičnih memorijskih T i B limfocita proizvedenih tokom primarnog imunskog odgovora, pri njihovoj aktivaciji u ponovnom susretu sa imunogenom, stvara brzi porast, većeg intenziteta i dugog trajanja, karakterističan za sekundarni imunski odgovor. Memorijske T i B ćelije ostaju u cirkulaciji godinama, spremne da reaguju opet pri pojavi svog specifičnog antiga.

### 5.3 KONTROLA IMUNSKOG ODGOVORA

Imunski odgovor je normalno dobro kontrolisan. Antigen-zavisna proliferacija limfocitnog klena u primarnom i sekundarnom imunskom odgovoru, kao i pri svakom naknadnom susretu sa imunogenom, predstavlja primer *pozitivne selekcije*, gde antigen stimuliše proliferaciju, diferencijaciju i maturaciju ćelija koje je aktivirao. U određenim uslovima, kontakt sa antigenima ili drugim stimulišućim faktorima prouzrokuje *negativnu selekciju* reagujućeg limfocitnog klena, uslovljaju-

vajući smrt ćelija selektovanog klonu [8], kao što se normalno dešava sa preko 95% nezrelih timocita u timusu [7].

Negativna selekcija limfocita je uobičajen događaj koji je ključan za sposobnost imunskog sistema da razlikuje sopstveno od tuđeg i za otklanjanje *autoreaktivnih*, potencijalno štetnih ćelijskih klonova. Limfociti često umiru nakon pokretanja genetskog programa za samouništenje iz okolne sredine, uključujući aktivaciju pomoću vezivanja antigena za površinu imunoglobulina ili TCR koja, pod drugim okolnostima, vodi klonalnoj proliferaciji. Ponovljena ili intenzivna aktivacija T ili B ćelija obično vodi genetski programiranoj smrti (apoptozi) u procesu koji se naziva *aktivacijom-indukovana ćelijska smrt* (AIĆS) [*activation-induced cell death* (AICD)] [7,8]. Aktivirana kontaktom sa sopstvenim antigenima, AIĆS predstavlja važan mehanizam za uklanjanje autoreaktivnih T i B limfocita, koji se uobičajeno odvija među normalnim timocitima, progenitorskim ćelijama u kostnoj srži, i germinativnim centrima B ćelija u limfnim čvorovima [7,8].

Drugi signalni put, posebno važan za ubijanje limfocita i pomoću limfocita, uključuje površinski transmembranski protein zvani *Fas* (takođe nazvan *APO-1* ili *CD95*) [2, 7, 11], koji je izložen prirodno u mnoštvu normalnih i neoplastičnih ćelijskih tipova, kao i na aktivisanim T i B limfocitima. Ekstracelularni deo Fas služi kao receptor za različit površinski protein, homotrimer polipeptida nazvan *Fas ligand* (*FasL*), nađen na većini T limfocita i mnogih drugih tipova ćelija. Kada ćelije izlože ova dva proteina međusobnom kontaktu, vezivanje *FasL* prouzrokuje da se Fas trimериzuje i, povratno, indukuje *aktivaciju kaskade kaspaza*, koje dovode do apoptoze u *Fas*-posedujućim ćelijama [20]. Tumorski supresorski protein *p53* je transkripcionalni aktivator koji ubrzava apoptozu, kontrolišući aktivnost Fas proteina [7].

Citotoksični T limfociti koriste ovaj put kao jedan od mehanizama za ubijanje: aktivisani Tc limfociti izlažu *FasL*, koji je sposoban da indukuje apoptozu u ciljnim ćelijama koje izlažu *Fas*, vezivanjem *FasL* za *Fas* [8]. Pomažući Th limfociti, nakon produžene ili ponavljane aktivacije, izlažu i *Fas* i *FasL*, tako da mogu da izvrše samoubistvo ili ubistvo drugih ćelija, što predstavlja glavni put za AIĆS, ali i glavni mehanizam kontrole i ograničenja intenziteta imunskog odgovora [7, 8]. Isti mehanizam se koristi za uništavanje autoreaktivnih Th ćelija, koje ispoljavaju previše autoantigena u perifernim tkivima, a mutacije u *Fas* proteinu su odgovorne za neke retke autoimunske bolesti [8]. *Fas*-posredovano ubijanje može biti uključeno u fenomen *imunska privilegija*, koji označava da strana tkiva ugrađena na određena mesta u telu mnogo manje su izložena imunskom napadu, nego drugde, zahvaljujući prvenstveno postojanju *FasL* na ćelijama tog mesta, koji koči bilo koje lokalne imunske odgovore [8].

Važnost negativne selekcije se vidi u *folikularnom limfomu*, najčešćoj formi malignoma B ćelija [15]. Glavni faktor u genezi ove bolesti je normalni ćelijski protein iz *Bcl-2* familije, koji inhibiše apoptozu (protektor *Bcl-2*) [7] u nekim limfocitima i drugim tipovima ćelija [20, 21]. Folikularni limfom nastaje kada klon B limfocita izlaže nenormalno veliki broj *Bcl-2* proteina na svojoj površini i postane rezistentan na uništavanje [21]. To znači da je dobro kontrolisana brzina programirane smrti limfocita veoma korisna po organizam, jer sprečava izazivanje njihove preterane proliferacije.

## 5.4 POREMEĆAJI IMUNSKOG ODGOVORA

Urođeni (prirodni) i adaptivni (stečeni) imunitet prvenstveno postoje da bi branili organizam od infekcija, jer se odbrana od neoplazmi kroz evoluciju kasnije razvila kao adaptivna reakcija. Imunska aktivacija, nažalost, ne vodi samo aktivaciji odbrambenih mehanizama i stvaranju zaštitnih imunoglobulina i T ćelija, nego često i razvoju odgovora koji mogu biti potencijalno štetni po tkiva domaćina.

Urođeni (prirodni) i adaptivni (stečeni) imunski odgovori mogu biti uključeni u uzročnike poremećenog funkcionisanja imunskog sistema i pojavu bolesnih stanja. Tako makrofagi u urođenom imunskom odgovoru, pri produženoj aktivaciji, izazivaju tkivnu fibrozu i razvoj ožiljka. U lokalnom odgovoru na prisustvo stranog materijala, takođe, dolazi do pojave granulacionog tkiva usled stalne aktivacije makrofaga. Štaviše, određeni bakterijski toksini (LPS) nespecifično stimulišu makrofage, kao i druge tipove ćelija, pa nastaje sistemska reakcija usled prekomernog lučenja citokina.

Adaptivni (stečeni) imunitet, sa povećanjem specifičnosti, trebalo bi da vodi smanjenju tkivnog oštećenja pri sekundarnom odgovoru. Međutim, ponekad nije tako, već se pojavljuju razne vrste oštećenja ciljnih tkiva ili organa, kao što je pri tuberkulozi pluća. Nisu ni svi antigeni egzogenog porekla, već mogu biti i endogenog. Zbog gubitka tolerancije prema endogenim antigenima može nastati autoimunska bolest. Može doći do pojave ukrštene reakcije sa sopstvenim antigenima, gde antitela protiv određenih streptokoknih infekcija prouzrokuju reumatsko oštećenje srčanih zalizaka i stvaraju srčanu manu. Takav higijenski način života i povišeni standard deluju kao faktor povećanog rizika za atopijski način reagovanja i pojavu atopijskih bolesti. *Atopija* (grč. *a*, negacija + *topos*, mesto = izvan svog mesta) je *urođena sklonost* da se odgovori imunološki na takve obične okružujuće prirodne alergene stalnom produkcijom IgE antitela [22].

Savremeni („zapadni“) uslovi i način života predstavljaju faktor povećanog rizika za atopijski način reagovanja imunskog sistema i pojavu atopijskih bolesti. „Zdrav zapadnjački život“, uz minimalno izlaganje infektivnim i drugim agensima, usmerava diferencijaciju Th limfocita prema Th2 odgovoru, što pogoduje atopiji i većoj učestalosti alergijskih bolesti. Atopijska patogeneza se stvara preovladavanjem odgovora tipa Th2, uz minimalan odgovor tipa Th1, dok je suprotno kod autoimunske patogeneze, gde preovladava tip Th1, uz minimalan odgovor tipa Th2. Preovladavanje jednog od obrazaca Th reakcije sastavni je deo etiopatogenetskih mehanizama (nastanka i razvoja) velikog broja bolesti (Tabl. 5.10) [6].

Četiri glavne komponente imunskog sistema štite organizam od stalnih napada virusnih, bakterijskih, gljivičnih, i parazitskih patogena. Ove komponente obuhvataju antitelo-posredovane (B ćelijske), ćelijski-posredovane (T ćelijske), fagocitne, i komplementne sisteme. Svaki od sistema može delovati nezavisno ili u sadejstvu sa jednim ili više drugih. Poremećaj jednog ili više ovih sistema može biti urođen, stečen, sekundaran na embrionalnu abnormalnost ili enzimski defekt, ili nepoznatog porekla [23].

Poremećaj funkcionisanja pojedinih komponenti imunskog sistema ponekad prouzrokuje privremeni ili trajni prekid fine mreže usklađenih reakcija uro-

đenog i adaptivnog imuniteta, pa imunski sistem ne reaguje u skladu sa potrebama organizma. Neadekvatni imunski odgovori mogu biti kvantitativno i kvalitativno izmenjeni, pojavljajući se kao: (1) oslabljena zaštita domaćina (imunodeficijencija); i (2) preterana zaštita domaćina (preosetljivost ili hipersenzitivnost) [24].

*TABELA 5.10 Etiopatogenetska uloga skretanja stečene reaktivnosti imunskog sistema u raznim grupama bolesti [6]; modifikovano.*

Grupa bolesti/sindroma/stanja	
Preovladavanje pomoćničkog obrasca ili odgovora T limfocita tipa Th1	Preovladavanje pomoćničkog obrasca ili odgovora T limfocita tipa Th2
Reakcije i bolesti presađivanja tkiva	Anafilaktoidne reakcije
Autoimunske bolesti	Preosetljivost tipa I
Zaštitna imunost pri infekcijama	Sindrom bronhijalne astme
Preosetljivost tipa II, tipa III, i tipa IV	Kožne preosetljivosti
Sindrom hipersplenizma	Probavne preosetljivosti
Serumska bolest	Parazitarne infekcije i infestacije
Vakcinacije (uspele)	"Zapadni" uslovi i način života

**Imunodeficijencija** je stanje oslabljene imunske zaštite organizma nastalo usled abnormalnosti u jednoj ili više komponenata imunskog sistema. Manje ili veće disfunkcije, ili potpuni gubitak specifične imunske reakcije klinički se ispoljavaju kao posebni *sindromi imunodeficijencije*.

*Reakcije imunodeficijencije* označavaju oslabljen imunski odgovor nastao zbog oštećene funkcije jedne ili više komponenti imunskog ili zapaljenskog odgovora, uključujući T limfocite, B limfocite, fagocite, i komplement, kao i njihove kombinacije. Kao posledica imunodeficijencije postoji sklonost infekcijama, uključujući oportunističke infekcije prouzrokovane normalnom florom organizma, kao i češće pojavljivanje tumora [6]. Mnoštvo faktora može prouzrokovati imunodeficijencije: (1) genetski poremećaji; (2) biohemski i metabolički deficit; (3) vitaminski ili mineralni deficit; (4) zastoj u embriogenezi; (5) autoimunske bolesti; i (6) stečena imunodeficijencija [23]. Abnormalnosti imunskog sistema mogu se klasifikovati kao *primarne* (kongenitalne ili urođene), i kao *sekundarne* ili stečene tokom života [25]. *Primarna (kongenitalna ili urođena) imunodeficijencija* prouzrokovana je genetskim anomalijama, kojih je do sada otkriveno preko 100 u formi primarnih sindroma imunodeficijencije [25]. *Sekundarna (stečena) imunodeficijencija* nastaje usled mnogih poremećaja i bolesti ili normalnih fizioloških promena imunskog sistema. Stečene forme imunodeficijencije su daleko češće od urođenih formi, jer, pored ostalog, obuhvataju normalna fiziološka stanja (trudnoća, pubertet, stareњe) i psihološki stres (emocionalna trauma, poremećaji ishrane). Stečena forma može biti posledica niza faktora, uključujući postvirusne infekcije, postransfuziju ili multiple transfuzije, metaboličke poremećaje, hronične infekcije, drogiranje, uzmanjanje lekova, alkoholizam, lošu ishranu ili gubitak proteina, hroničnu bolest bu-

brega, kancer, radijacionu i imunosupresivnu terapiju, povrede i hirurške zahvate [23, 25].

Imunodeficijencija može pogoditi pojedinačno ili u raznim kombinacijama komponente humoralnog (*humoralna imunodeficijencija*) i celularnog (*celularna imunodeficijencija*) imuniteta ili obe (*mešovita ili kombinovana imunodeficijencija*), uključujući sistem komplementa, fagocitnu aktivnost, razvoj i funkciju APĆ, T i B limfocita, sa posledičnom pojavom mnoštva raznih sindroma ili bolesti. Sekundarne imunodeficijencije u humoralnom imunitetu mogu dodatno dovesti do pojave selektivnog gubitka imunoglobulina putem gastrointestinalnog ili urogenitalnog trakta, što još više pojačava sklonost infekcijama. Najopasniju stečenu formu imunodeficijencije stvara retrovirus poznat kao HIV (*human immunodeficiency virus*), prouzrokujući *sindrom stečene imunodeficijencije [acquired immune deficiency syndrome (AIDS)]*. HIV ubija Th limfocite i time uništava imunitet inficiranog bolesnika. Zbog toga bolesnik postaje podložan infekcijama pripadnika normalne flore, koji obično ne izazivaju infekciju u zdravih, imunokompetentnih osoba [26]. Osobe sa imunodeficijencijom, pored sklonosti infekcijama, imaju povećan rizik i od odbacivanja kalema, zbog razvoja bolesti prouzrokovane reakcijom kalema protiv primaoca [*graft-versus-host disease (GVHD)*] [24, 27].

**Hipersenzitativnost (preosetljivost) ili preterana zaštita domaćina** se može ispoljiti kao: (1) preterana reakcija na prisustvo antigena sredine (*alergija*); (2) pogrešno usmerena reakcija na sopstvene antigene (*autoimunost*); i (3) usmerena reakcija protiv korisnih stranih tkiva, kao što su transfuzije ili transplantati (*aloimunost*) [24].

**Hipersenzitivne reakcije ili reakcije preosetljivosti** su zajednički naziv za alergiju, autoimunost i aloimunost. Hipersenzitativnost predstavlja izmenjeni imunološki odgovor na antigen čija je posledica oštećenje tkiva ili bolest domaćina [24]. Alergija, autoimunost, i aloimunost (označena i kao izoimunost) su stanja poremećenog imuniteta koja karakteriše izmenjena imunoreaktivnost (Tabl. 5.11) [24].

**Alergija** (grč. *alos*, drugi, drukčiji + *ergon*, rad) predstavlja određene bolesti u kojima imunski odgovori na antigene sredine prouzrokuju zapaljenje tkiva i poremećaj funkcije organa [22]. Ponekad se preosetljivost ili hipersenzitativnost, senzibilisanost ili senzitivnost, označavaju kao sinonimi za alergiju [22]. Sam termin *alergija* originalno označava obe strane imunskog odgovora: imunost, koja je korisna, i preosetljivost, koja je štetna [24]. Alergija sada označava štetne efekte preosetljivosti na sredinske (egzogene) antigene, a imunost označava zaštitne reakcije na antigene ispoljene preko antigena uzročnika bolesti. **Alergen** (grč. *alos*, drugi, drukčiji + *genan*, stvarati) je svaki antigen koji prouzrokuje alergiju. Alergeni su antigeni životne sredine koji prouzrokuju atipične imunske odgovore u genetski predisponiranih osoba. Većina alergena su haptenci koji imaju sposobnost da reaguju sa proteinima domaćina (npr. penicilin) i u kompleksu haptens-protein (ćelijske membrane) prouzrokuju imunski odgovor, ili su to imunogeni proteini male molekulske težine.

**Autoimunost** je poremećaj imunološke tolerancije na sopstvene antigene (autoantigene). Imunski sistem normalno ne prepoznae strogo autoantigene. Zdra-

ve osobe svih uzrasta, a posebno starije, mogu produkovati male količine antitela protiv sopstvenih antigena (autoantitela) bez razvoja vidljive autoimunske bolesti. Prisustvo malih količina autoantitela ne ukazuje na bolesno stanje. Autoimunost predstavlja prekid imunske tolerancije u kojoj telesni imunski sistem počinje prepoznavati autoantigene kao strane i reagovati u takvom stepenu da izaziva oštećenje sopstvenog tkiva [24]. Mnogi klinički poremećaji su udruženi sa autoimunošću i označavaju se opštim nazivom autoimunske bolesti (Tabl. 5.11) [24].

**Aloimunost** je imunski odgovor jedne osobe na prisustvo tkiva druge osobe. Aloimunske bolesti su vrsta hipersenzitivne reakcije koja se dešava kada imunski sistem jedne osobe stvara imunološku reakciju protiv tkiva druge osobe [24]. Aloimunost se najčešće viđa tokom imunoloških reakcija na transfuzije, transplantiranja tkiva, ili na fetus tokom trudnoće.

Mehanizam koji pokreće hipersenzitivnost, pošto se sastoji od alergije, autoimunosti, i aloimunosti još nije kompletno razjašnjen. Prihvaćeno je uopšteno da genetski, infektivni, i verovatno sredinski faktori doprinose hipersenzitivnosti. Većina bolesti prouzrokovanih hipersenzitivnošću razvija se zahvaljujući interakcijama najmanje tri variable: (1) originalnom „insultu”, koji menja imunološku homeostazu (homeokinezu ili alostazu), kao stanje ravnoteže između tolerancije na sopstvene antigene ili nestašicu imunske reakcije na antigene sredine; (2) individualni genetski sastav, koji određuje stepen rezultujućeg imunskog odgovora od efekata insulta; i (3) imunološki proces, koji prouzrokuje simptome bolesti [24].

**Mehanizmi hipersenzitivnosti** su vrlo složeni, multifaktorski, i još sasvim nerazjašnjeni. Bolesti prouzrokovane reakcijama preosetljivosti ili hipersenzitiviteta mogu se karakterisati, takođe, pomoću posebnog imunskog mehanizma koji posreduju u bolesti (Tabl. 5.11) [24]. Ovi mehanizmi su očigledni i jasni u većini reakcija preosetljivosti i podeljeni su na četiri različita tipa, prema Kumbsu i Gelu: tip I (IgE-posredovane reakcije), tip II (tkivo-specifične reakcije), tip III (imunski kompleks-posredovane reakcije), i tip IV (ćelija-posredovane reakcije) (Tabl. 5.11) [24].

**Alergijske ili hipersenzitivne reakcije** su posledica nenormalnog i intenzivnog imunskog odgovora u cilju neutralisanja efekata određenih imunogena. Ta pojačana netolerantnost stvara brojne patološke procese od kojih neki mogu biti opasni i po život. Alergijske reakcije izazivaju oštećenja koja mogu biti lokalna, blaga i popravljiva (npr., koprivnica) ili teža, pa i generalizovana i smrtonosna (npr., generalizovana anafilaksija ili anafilaktički šok).

**Atopija** je, kao što je rečeno, urođena sklonost imunološkom reagovanju na uobičajeno prisutne prirodne alergene stalnim stvaranjem IgE antitela. Alergijski rinitis i alergijska astma su najčešće uobičajene *simptomatske* manifestacije *atopijskih bolesti*, koje mogu biti i *asimptomatske*. IgE antitela prouzrokuju i *neatopijске alergijske bolesti* koje se javljaju bez IgE-posredovane atopije, kao što su anafilaksija i urtikarija-angioedem [22].

Atopija je u porastu u razvijenim zemljama (10-30%), nastala kao rezultat genetskih predispozicija i izloženosti alergenima životne sredine, uslovjenih higijenskim standardom i savremenim načinom življenja [22].

**TABELA 5.11 Hipersenzitivne reakcije: relativna učestalost<sup>1</sup>, primeri<sup>2</sup> i imunološki mehanizmi destrukcije tkiva [24]; modifikovano.**

Hipersenzitivnost	Mehanizam			
Ciljni antigen	Tip I (IgE-posredovan) <sup>3</sup>	Tip II (tkivno specifičan)	Tip III (kompleksima posredovan)	Tip IV (ćelijama posredovan)
Alergija	++++	+	+	++
Antigeni sredine	Anafilaksija Atopijske bolesti	Hemoliza u alergijama na lekove	Glutenska (pšenična) alergija	Alergija na otrov bršljana Granulomatoze
Autoimunost	±	++	+++	+
Sopstveni antigeni	Mogu doprineti nekim reakcijama tipa III	Autoimunska trombocitopenija i hemolitička anemija Grejvsova bolest	Autoimunske bolesti (RA <sup>4</sup> , SLE <sup>5</sup> , Artusova reakcija i dr.)	Autoimunske bolesti (Hašimoto tiroiditis, i dr.)
Aloimunost	±	++	+	++
Antigeni drugih osoba	Mogu doprineti nekim reakcijama tipa III	Hemolitička bolest novorođenčeta	Anafilaksija na IgA u IV γ-globulinu	Odbacivanje kalema (grafta)
Brzina razvoja	Neposredno	Neposredno	Neposredno	Odloženo
Klasa uključenih antitela	IgE	IgG IgM	IgG IgM	Ne
Glavne uključene efektorske ćelije	Mastociti Bazofili	Tkvni makrofagi NK ćelije	Neutrofili	Citotoksični (Tc) limfociti Makrofagi
Učešće komplementa	Ne	Često	Da	Ne

**Skraćenice i objašnjenja:** <sup>1</sup>Učestalost svake reakcije označena je u rangu od retke (±) do veoma zastupljene (+++); <sup>2</sup>Dat je najmanje po jedan primer za svaki tip reakcije; <sup>3</sup>Imunoglobulin (Ig); <sup>4</sup>Reumatoidni artritis [*rheumatoid arthritis* (RA)]; <sup>5</sup>Sistemski lupus eritematozus [*systemic lupus erythematosus* (SLE)].

Anafilaksija (grč. *ana*, iznad, na, pre, opet + *filaksis*, zaštita = preosetljivost organizma), kao što je urtikarija ili koprivnjača (lat. *urticaria*), prouzrokovana, takođe, IgE antitelima, ali bez genetske predispozicije i bez predilekcionog mesta i ciljnog organa [28].

Sve alergijske reakcije posledica su delovanja humoralnih (sistem komplementa, medijatori iz mastocita i bazofila) i ćelijskih (T limfociti, fagociti, NK ćelije) izvršilaca. Oštećenja nastaju kada su efektorski mehanizmi previše aktivirani ili kada je regulacija njihove aktivnosti poremećena. Alergijska oštećenja nastaju: (1) aktiviranjem mastocita i bazofila IgE antitelima; (2) aktiviranjem sistema komplementa, fagocita i NK ćelija IgG i IgM antitelima; (3) aktiviranjem T limfocita (Tc i limfokini) i limfokina zapaljenskim procesom. Prema klasičnoj podeli, reakcije (1) i (2) su reakcije preosetljivosti ranog tipa, a (3) je reakcija preosetljivosti kasnog tipa. Prema Kumbsovom (*Coombs*) i Gelovoj (*Gell*) podeli, mehanizam reakcije (1) je reakcija tipa I, mehanizam reakcije (2) je reakcija tipa II i III, a mehanizam (3) je reakcija tipa IV.

Antitela uključena u imunoposredovane bolesti mogu se vezivati za epitope koji su endogenog porekla (sintetisani u ćelijama i tkivima) ili epitope egzogenog porekla, a potom biti pasivno adsorbovana (npr., određeni antibiotici ili strani proteini). Zavisno od toga ko će ih prepoznati, antitela se vežu za površine ćelija ili za komponente ECM, prouzrokujući oštećenje pomoću određenih osnovnih mehanizama.

**Tip I preosetljivosti ili neposredna hipersenzitivnost (anafilaktički tip preosetljivosti) ili IgE-posredovana hipersenzitivnost** je trenutna reakcija, trenutna hipersenzitivnost na imunogene ili čestice strane organizmu [4, 6, 29]. U ovoj reakciji postojeći IgE u krvi brzo se angažuju uz sintezu novih iz plazmocita za vezivanje njihovog Fc fragmenta za Fc-receptore na površinama mastocita i bazofila i vezivanje svojim Fab fragmentima za imunogen. Zbog toga se reakcije ovog tipa preosetljivosti nazivaju i *alergije uzrokovane imunoglobulinom E* [6]. To su reakcije atopijskog načina reagovanja na antigene, jer alergen pokreće Th2 tip odgovora koji usmerava imunoreaktivnost prema karakterističnom humoralnom i ćelijskom obrascu reagovanja. Kada se cirkulišući IgE vežu za Fc-receptore (glukoproteine) i posledično ukrste pomoću specifičnog alergena (antigena) sa svojim Fab fragmentima, oni prouzrokuju otvaranje kalcijumovih ( $Ca^{2+}$ ) jonskih kanala u ćelijskim membranama mastocita i bazofila. Ulazak  $Ca^{2+}$  jona pokreće niz procesa koji indukuju degranulaciju mastocita i bazofila i lučenje i sintezu mnogobrojnih medijatora. Pritom dolazi do oslobođanja prethodno formiranih medijatora: histamina, faktora hemotakse eozinofila i hemotakse neutrofila, kao i sinteze i lučenja sekundarnih medijatora {prostaglandina, leukotriena, faktora aktivacije trombocita [*platelet-activating factor (PAF)*]} [6]. Osim IgE, aktiviranje mastocita i bazofila i oslobođanje iz njih medijatora, mogu prouzrokovati mnoge druge supstance, hemijska jedinjenja, otrovi, lekovi, i fizički faktori, pri čemu nastaju tzv. *pseudoalergijske reakcije (non-IgE reaction)* [6]. Tako, naprimjer, acetilsalicilna kiselina (*andol, aspirin*), potiskujući sintezu prostaglandina, stimuliše sintezu leukotriena, čime može pokrenuti alergijski astmatički napad.

Prethodno formirani medijatori su vazoaktivni amini (histamin i serotonin), koji prouzrokuju vazodilataciju i povećanje vaskularnog permeabiliteta. Njima pripadaju i faktori hemotakse eozinofila i hemotakse neutrofila, koji privlače ove ćelije na mesto reakcije. Sekundarni medijatori su supstance koje se sintetišu novo (*de novo*). To su kompleksna jedinjenja koja učestvuju u zapaljenju: (1) *prostaglandini*

(npr., PGD<sub>2</sub>), koji mogu uticati na kontrakciju respiratorne i vaskularne muskulature i povećati vaskularni permeabilitet; (2) leukotrieni (npr., LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, i LTE<sub>4</sub>), koji su kao izvanredni vazokonstriktori i bronhokonstriktori prethodno identifikovani kao *spororeagujuća supstanca anafilaksije [slow-reacting substance of anaphylaxis (SRS-A)]*, ili LTB4 (hemotaksički faktor neutrofila) [19]; (3) PAF, brzo katabolišući fosfolipidni derivat, koji smanjuje vaskularni tonus glatke muskulature i povećava vaskularnu permeabilnost, prouzrokujući dodatno i bronhokonstrikciju; (4) heparin (antikoagulans) i *bazofilni kalikrein gnafilakse* (BK-A), koji cepa kininogen da bi se formirao bradikinin [19]; (5) citokini, posebno TNF (regrutuje neutrofile i monocyte u talasima) i IL-4 (indukuje lokalnu epitelnu i makrofagnu ekspresiju hemokina, kao što je eotaksin, kao i endotelnu adheziju izloženog molekula, što dovodi zajedno do regrutovanja eozinofila) [4]. Za razliku od vazoaktivnih amina i lipidnih medijatora (PG, LT, PAF), koji izazivaju neposrednu preosetljivost (tip I hipersenzitivnosti), citokini prouzrokuju reakciju kasne faze, 2-4 h nakon ponovljenog izlaganja alergenu [4].

Aktivacija mastocita i/ili bazofila u većini krvnih sudova izaziva vazodilataciju i povećanje vaskularnog permeabiliteta, sa varijabilnim infiltratom pretežno od eozinofila. Eozinofili su zapaljenske ćelije koje su klasično udružene sa parazitskim infekcijama (infestacijama), kao i sa alergijama. Oni sadrže specifične granule sa snažnom citotoksičnom aktivnošću za razne tipove ćelija.

Imunski odgovor tipa I preosetljivosti je zapaljenska reakcija, koja stvara simptome koji su povezani sa tipičnim alergijskim reakcijama: crvenilo, otok, svrab, suzne oči i curenje nosa sa visokom temperaturom, ili mučninom, povraćanjem i prolivom ili respiratornim znacima kao posledicom povećanja sekrecije sluzi i suženja disajnih puteva (bronhokonstrikcija).

Klinička slika u bilo kojem delu tela zavisi od mesta ulaska alergena i može se ispoljiti kao lokalna, sistemska, ili alergijska reakcija opštег tipa. Pri ulasku alergena kroz kožu, pojavljuje se obično osip ili urtikarija kože, koje se mogu videti i pri udisanju (inhalačiji) ili ingestiji alergena. Uduhnuti alergeni prouzrokuju obično otok sluzokože respiratornih puteva, pojačanu sekreciju sluzi, bronhokonstrikciju i otežano, često čujno, disanje sa kašljem. Ingestija alergena je obično praćena pojavom grčeva u trbuhu, prolivima ili povraćanjem. Međutim, zavisno od stepena senzibilisanosti, svako unošenje alergena može se ispoljiti i opštim simptomima, uključujući pre svega pad krvnog pritiska (hipotenziju) i njene posledice.

Reakcije tipa I preosetljivosti tipično se dešavaju za nekoliko sekundi do nekoliko minuta nakon susreta sa alergenom, i to je *rana faza* tipa I hipersenzitivnosti. Međutim, *kasna faza* tipa I preosetljivosti može ispoljiti alergijske simptome i znake dugo nakon otklanjanja alergena. Arahidonska kiselina sa svojim metabolitima je udružena sa reakcijama kasne faze tipa I preosetljivosti, posebno u atopijskim bolestima, kao što je alergijska bronhijalna astma [6, 30]. Tako, utrljavanje ulja za masažu može nakon nekoliko časova izazvati pojavu kašla, otežanog disanja i sviranja u grudima, jer mnoga ulja sadrže tzv. *omega-6-premazane* molekule koji aktiviraju oslobađanje arahidonske kiseline i njenih metabolita, prouzrokujući alergijsku astmu ili kožne simptome i znake nakon masaže [30].

**Tip II preosetljivosti ili antitelima (IgG i IgM) posredovana hipersenzitivnost (citotoksički tip preosetljivosti)** posledica je prejakog reagovanja pojačavajućih mehanizama (komplement, bradikinin) pokrenutih stečenom imunskom reakcijom humoralnog odgovora tipa Th1 [4, 6, 29].

Veživanje antigena za čelijske površine ili fiksne tkivne antigene prouzrokuje niz promena u samim čelijama i tkivima za koje su se vezali. Antigeni se vežu za unutrašnje i spoljašnje tkivne antigene što može indukovati oštećenje tkiva pomoću aktivacije komplementa, pokretanja opsonizacije, ili putem interakcije sa važnim molekulima na čelijskoj površini.

Antitela IgG (IgG1, IgG2, IgG3) i IgM mogu se spajati sa antigenima u čelijskim membranama (tip II) ili sa antigenima u telesnim tečnostima (tip III, stvaranje imunskih kompleksa). U oba slučaja mogu nastati upalne reakcije i oštećenje tkiva zbog aktiviranja istih humoralnih i celularnih mehanizama i efektora. Samo vezivanje antitela za površinu čelije može promeniti njenu funkciju, ometajući delovanje čelijskih receptora za hormone, neurotransmitere, citokine...

Od humoralnih efektora najvažnije je vezivanje IgG i IgM za sistem komplementa preko klasičnog puta, koji, jednom aktiviran, ima sam brojne štetne efekte i još oslobađa medijatore iz mastocita i bazofila. Posle aktiviranja komplementa zapaljenje i oštećenja ponajpre stvaraju fragmenti C3a i C5a. Aktiviran sistem komplementa može indukovati direktnu citolizu preko C5b-9 komponenata MAC perforiranjem, ili pomoću opsonizacije (preko C3b), povećavajući fagocitozu makrofaga i neutrofila [8], što se dešava u transfuzijskim reakcijama [19].

Lokalna aktivacija kaskade komplementa dodatno stvara fragmente komplementa, kao što su C3a i C5a, koji regrutuju i aktiviraju leukocite za destrukciju mikroba. Fragmenti komplementa C3a i C5a (tzv. *anafilotsinski*) posreduju u povećanju vaskularne permeabilnosti i relaksacije glatkih mišića krvnih sudova (vazodilatacija), većinom putem oslobađanja histamina iz mastocita. Fragment C5a aktivira i lipoksigenačni put u katabolizmu arahidonske kiseline, povećavajući sintezu leukotriena, kao što posreduje i u hemotaksi PMNL i monocita. Vezivanjem za cirkulišuće čelije, komplement može direktno prouzrokovati njihovo uništavanje. Vezivanje antitela i opsonizacija fragmenata komplementa indukuje efikasnu fagocitozu i destrukciju pomoću čelija MNFS slezine i jetre [4]. Uz sistem komplementa, kao humoralni efektori mogu delovati i koagulacijski i fibrinolitički sistemi.

Među čelijskim efektorima upale i oštećenja tkiva najvažniji su fagociti (mononuklearni i polimorfonuklearni). Spajanjem sa IgG i IgM vazanim za antigen, fagociti menjaju svoja osnovna svojstva (sposobnost pokretljivosti, adherencije, endocitoze, sinteze i egzocitoze). Sada im IgG i IgM deluju kao opsonini (opsoninska adherencija) i aktiviraju komplement, pri čemu sami ili putem komplementa prouzrokuju hemotaksu i pojačanje adherencije, endocitoze, digestije, i egzocitoze [6]. Vezivanje antitela zajedno sa C3b opsonizacijom može indirektno prouzrokovati i oštećenje tkiva. Velike čestice stranih supstanci, nefagocitabilne čelije, ili delovi tkiva mogu podstići „frustriranu fagocitozu” pomoću neutrofila ili makrofaga [31], čiji svaki pokušaj izaziva oslobađanje enzima, posebno proteaza, ali i toksičnih ROS, što se može završiti ubijanjem sopstvenih čelija i oštećenjem tkiva. To je jedan od

mehanizama nastanka oštećenja tkiva na mestu ugradnje raznih medicinskih sredstava od relativno inertnih biomaterijala.

Ciljne ćelije obmotane malom količinom antitela mogu postati privlačne i za razne nesenzibilisane ćelije urođenog imuniteta sa Fc-receptorima, posebno za najvažnije među njima, NK ćelije. Fc fragment vezanih IgG i IgM aktivira NK ćelije, indukujući uništavanje antiga, odnosno ćelije na čijoj je površini antigen, bez fagocitoze.

Vezivanje antitela za određene receptore može indukovati patološke promene, čak bez prouzrokovanja tkivnog oštećenja. Grejvsova (*Graves*) bolest je primer gde se antitela vežu za receptor tirostimulirajućeg hormona [*thyroid stimulating hormone (TSH) receptor*] na tiroidnim epitelnim ćelijama i podražavaju autentičnu TSH ligand interakciju, čiji je rezultat autonomna stimulacija štitaste žlezde sa povišenjem funkcije (hipertiroidizam). Slično tome, antitela koja ukršteno reaguju sa acetilholinskim receptorom na neuromišićnoj sinapsi mogu blokirati vezivanje acetilholina, što stvara razvoj malaksalosti u mišićima, odnosno bolest zvanu *myastenia gravis* (grč. *myasthenia*, slabost mišića + lat. *gravis*, težak, opasan).

Oštećenje tkiva prouzrokovano anti-tkivnim antitelima može nastati usled taloženja antitela prilikom direktnog vezivanja za antigene u ECM. Kao posledica toga nastaje komplement posredovano i Fc receptor posredovano regrutovanje i aktivacija zapaljenjskih ćelija, prvenstveno neutrofila i makrofaga, koji svojim arsenalom enzima i ROS čine efikasan mehanizam za oštećenje tkiva [4].

**Tip III preosetljivosti ili imunskim kompleksima posredovana hipersenzitivnost (imunskim kompleksima posredovan tip preosetljivosti)** obuhvata poremećaje koji nastaju usled formiranja nerastvorljivih antigen-antitelo kompleksa, fiksacije komplementa i lokalizovanog zapaljenja. [4, 6, 24, 25, 29]. Cirkulišući antigeni i antitela iz telesnih tečnosti u mnogim situacijama se kombinuju formirajući nerastvorljive aggregate zvane *imunski kompleksi* (IK). Normalno IK se efikasno odstranjuju iz organizma pomoću makrofaga uglavnom u slezini i jetri. Međutim, ponekad zbog svoje veličine ili promenjenih svojstava, IK nisu u stanju da adekvatno aktiviraju komplement i fagocite. Tada dolazi do pojave presporog odstranjivanja IK iz telesnih tečnosti. IK se mogu adsorbovati na razne ćelije (eritrocite, leukocite, trombocite) i aktivirajući efektorske mehanizme prouzrokovati njihovo razaranje. Tako stradaju i okolne ćelije, „nedužni posmatrači”, koje ne učestvuju neposredno u imunskim reakcijama. IK se ponekad talože u nekim krvnim sudovima ili tkivima, uključujući kožu, glomerule bubrega, i sinoviju zglobova [25]. Kada dođe jednom do taloženja, mehanizam oštećenja dotičnog mesta zasniva se na sve većoj akumulaciji i sve intenzivnijoj aktivaciji komplementa i nastajanju povrede dejstvom neutrofila i/ili makrofaga [4, 25]. IK aktiviraju komplement putem fiksacije Fc fragmenta antitela za Fc receptor na komponenti C1q, pri čemu na kraju dolazi do oslobođanja C3a i C5a anafilatoksina [32]. Ovi molekuli aktiviraju mastocite da luče faktore propustljivosti (histamin, TNF $\alpha$ , i dr.), dozvoljavajući da se IK talože duž bazalne membrane endotelnih ćelija vaskularnog zida [32]. Aktivacija komplementa pomoću IK stvara hemotaksičke i vazoaktivne medijatore koji oštećuju tkivo kombinacijom deponovanja IK, oštećenja vaskularnog permeabilитета и krvotoka, kao i dejstvom toksičnih produkata iz zapaljenjskih ćelija [32].

IK mogu neposredno aktivisati trombocite za agregaciju, pri čemu nastaju mikrotrombi, kao i da oslobađaju medijatore zapaljenja, pre svega prostaglandine, faktore pojačanja propustljivosti, hemotaksične faktore, faktore koagulacije i hidrolaze [6].

Klasične IK-posredovane alergijske bolesti su kožna Artusova (*Arthus*) reakcija ili fenomen i sistemska serumska bolest. Artusova reakcija nastaje pri višku antitela, a serumska bolest pri višku antiga. Artusova reakcija i serumska bolest retko se javljaju u ljudi, mada se i jedna i druga bolest dešavaju pri upotrebi određenih lekova proteinske i neproteinske prirode, ubodima insekata ili pauka [32].

Oštećenje tkiva posredovano IK javlja se u određenim nealergijskim bolestima (sistemski lupus eritematosus, vaskulitis, glomerulonefritis, reumatoidni artritis), kao i u hiperakutnom i akutnom odbacivanju alografta [24,25,33].

**Tip IV preosetljivosti ili ćelijama posredovana hipersenzitivnost (ćelijski ili kasni tip preosetljivosti)** je alergijska reakcija koja uključuje ćelijski-posredovane, a ne antitelo-posredovane imunske odgovore [4, 6, 24, 25, 29]. Ćelijski posredovan imunitet je glavni mehanizam odgovora protiv raznih mikroorganizama, uključujući intracelularne patogene, kao što su *Mycobacterium tuberculosis* i virusi, kao i ekstracelularni agensi, kao što su gljivice, protozoe, i paraziti. On može prouzrokovati ćelijsku smrt i oštećenje tkiva i u odgovoru na hemijske antigene (kontaktni dermatitis) ili autoantigene (autoimunske bolesti).

Tip IV reakcija preosetljivosti se ostvaruje posredstvom specifično senzibilisanih T limfocita (Tc i Th1) [24], pa se označavaju i kao *alergije uzrokovane T limfocitima* [6]. Postoje dva tipa T ćelijama posredovanih odgovora: (1) direktna Tc ćelijama posredovana citotoksičnost; i (2) indirektna odložena Tc ćelijama posredovana citotoksičnost.

*Direktna Tc ćelijama posredovana citotoksičnost* ili T ćelijama posredovana citoliza prouzrokovana je antigen-specifičnim Tc limfocitima, koji prepoznaju specifičan antigen udruženo sa klasom MHC I proteina, indukujući direktno citolizu [4, 24, 25]. U ovom tipu reakcije ćelijski posredovane preosetljivosti Tc limfociti direktno ubijaju ciljne APĆ. U virusnim infekcijama, ubijanjem inficiranih ciljnih ćelija, Tc limfociti mogu oštetiti tkivo, čak i kad virus nije citotoksičan [25], jer predstavljava antigen. Tc posredovana citoliza je veoma specifična, bez značajne „vidljive” povrede tkiva [4].

*Indirektna odložena Th ćelijama posredovana citotoksičnost* je odložen tip hipersenzitivnosti [*delayed-type hypersensitivity* (DTH)], posredovan Th1 ćelijama, citokinima i antigen nespecifičnim efektorskim ćelijama [4, 24]. To je tip ćelijski posredovane reakcije pomoću citokina ili, preciznije, limfokini-produkujućih Th1 limfocita [24], čija je indukcija strogo specifična za antigen, ali sami limfokini deluju nespecifično. Limfokini mogu delovati direktno citotoksično ili indirektno aktivacijom drugih efektorskih mehanizama (npr., fagocita), koji izazivaju zapaljenje i oštećenje tkiva.

Odložen tip hipersenzitivnosti se zasniva na prepoznavanju specifičnog antiga pomoću APĆ i Th1 limfocita u sadejstvu sa klasom MHC II proteina, kao i odgovoru u obliku produkcije rastvorljivih antigen-nespecifičnih citokina (limfokina).

Citokini dalje indukuju regrutovanje i proliferaciju Th1 limfocita, kao i privlačenje i aktivaciju mase antigen nespecifičnih (više od 90%) [4] makrofaga, monocita, fibroblasta, kao i drugih zapaljenskih ćelija, koje izazivaju zapaljenje i oštećenje tkiva [25]. Ovaj T ćelijama (Th1) posredovan odgovor zahteva sintezu efektorskih molekula i stoga mu je potrebno 24-72 h da se razvije, zbog čega je i nazvan *odložen tip hipersenzitivnosti* [25].

Ovaj *citokinima posredovan tip* oštećenja tkiva ključan je u čišćenju intracellularnih infekcija, ali nije dostupan za antitela ili Tc limfocite (npr., tuberkuloza, lajšmanija, histoplazmoza), kao ni za razne velike infektivne agense, koji se dobro ne suzbijaju samo antitelima (npr., gljivice, protozoe, paraziti) [4]. Iako precizno regulisane, relativno nespecifične efektorske komponente ćelijama posredovanog imuniteta (citokini i aktivisani makrofagi) su veoma odgovorne za oštećenja viđena u tipu DTH reakcije [4, 25].

U poređenju sa Tc limfocitima, *citokinima posredovan imunitet* može razviti konačno jednu antigen-nespecifičnu komponentu. To se dešava posle primarnog antigen-specifičnog odgovora T ćelija, kada regrutovane antigen-nespecifične T ćelije i makrofagi mogu prouzrokovati značajno vidljivu povredu tkiva [24]. Makrofagi su posebno važna komponenta regrutovanih zapaljenskih ćelija u DTH i mnogo posreduju u sledećim imunskim odgovorima efektora. Sa svojim arsenalom od ROS, prostaglandina, lizozomalnih enzima, i citokina, aktivisani makrofagi mogu potencijalno izazvati značajno razaranje susednih ćelija i tkivnih komponenti.

Klinički primeri tipa IV reakcija preosetljivosti su mnogobrojni, uključujući kožni test za tuberkulozu (tuberkulinski test), tuberkulozu, lepru, infekcije parazitima, odbacivanje kalema (grafta), reakcije na toksine (berilioza), i mnoge alergijske reakcije kao što je organska prašina (pneumonitis hipersenzitivnosti) ili metali (kontaktni dermatitis) [19].

Granulomatozno zapaljenje sa formiranjem granuloma je jedna od značajnih formi DTH sa istaknutom lokalizovanom komponentom koju čine aktivisani makrofagi (Sl. 5.4) [4]. Granulomi (čvorici od zapaljenskih ćelija) su karakterističan odgovor imunskog sistema na strani materijal (kao što su implantirani materijali), i time važni elementi u većini tkivo-materijal interakcija. Stvaranje granuloma može biti posredovano istim osnovnim DTH putevima (antigen-specifičnim T ćelijama i regrutovanim nespecifičnim makrofagima) u stalnom prisustvu antiga (kao što je bacil tuberkuloze, kojeg je teško iskoreniti).

Antigen-prezentujuće ćelije (APĆ) urođenog imunskog sistema procesiraju (obrađuju) antigen i potom ga prezentuju (izlažu) CD4<sup>+</sup> Th ćelijama (Sl. 5.4). APĆ, takođe, luče IL-12 i druge citokine za izvršenje ćeljske aktivacije. Aktivisane ćelije, zauzvrat, izlučuju citokine, kao što je TNF koji će regrutovati zapaljenske ćelije, i IFN-γ da bi indukovao aktivaciju regrutovanih ćelija, posebno makrofaga. Ovi citokini mogu indukovati fuziju makrofaga, stvarajući gigantske multinuklearne ćelije. Ako se antigen efikasno ne eliminiše, stalni krug aktivacije T ćelija i makrofaga vodi akumulaciji agregata aktivisanih ćelija. Aktivisani makrofagi će takođe lučiti medijatore koji će prouzrokovati oštećenje okolnih tkivnih komponenti, kao i citokine koji će razviti tkivnu fibru. Sa prisutnim antigenom, hronična aktivacija makro-

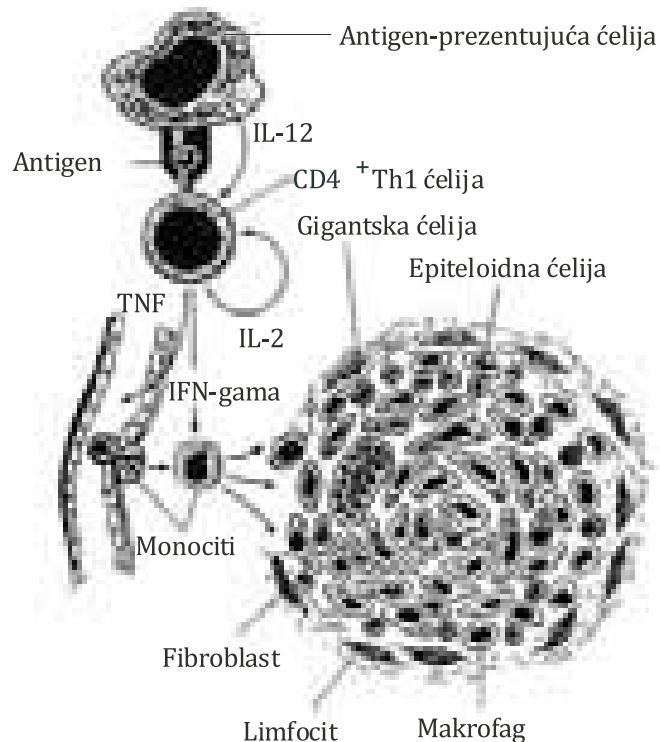
faga se ispoljava lučenjem citokina, dostižući vrhunac sa razvojem okolne fiboze. Krajnji rezultat je gubitak tkivne funkcije i formiranje ožiljka.

Granulomi su pogodni za otklanjanje pretežno pomoću organizovanja lokalne akumulacije aktivisanih makrofaga, ili na kraju kad okružujući bedemi padnu, infektivne organizme raširene svuda teško je ovde naći.

Granulomi se stvaraju, takođe, u prisustvu velikih, inertnih, ili nefagocitabilnih supstanci. U slučaju „inertnog“ stranog tela, adsorpcija proteina domaćina na površinu stranog materijala sa posledičnom denaturacijom i modifikacijom može dovesti do direktnе aktivacije makrofaga preko receptora uključenih u urođeni imunitet.

Prisustvo granuloma ukazuje samo na ograničen broj patoloških stanja, od kojih su najčešća: strano telo, tuberkuloza, i sarkoidoza (Tabl. 5.12) [4, 34, 35]. Konačnu potvrdu o prisustvu posebne iritirajuće supstance (antigena) daju serološki testovi, kulture, ili specijalna pretraživanja; ili se, pak, dijagnoza isključuje (npr., sarkoidoza) [34].

Povreda tkiva udružena sa granulomima može se desiti tokom zamene, kompresije, i nekroze susednog zdravog tkiva, ili može biti posledica stalnog hroničnog zapaljenja koje vodi pojavi granuloma na prvom mestu (npr., berilioza). Granulomi udruženi sa raznim „autoimunskim“ poremećajima, kao što su: arteritis gigantskih ćelija (*arteritis temporalis, arteritis cranialis*) i nodozni poliarteritis (*polyarteritis nodosa*), Kronova (*Crohn*) bolest, Dekvervajnov (*de Quervain*) tiroiditis i Vegener-



Slika 5.4 Šematski prikaz događaja u granulomatoznom zapaljenju koji dovode do stvaranja granuloma u odgovoru na stalno prisustvo antigena [4]; modifikovano.

va (*Wegener*) granulomatoza, pretežno odražavaju bolesti sa stalnom stimulacijom antiga, ili povećan DTH odgovor na specifične sopstvene antigene [4, 35].

**Autoimunske bolesti** nastaju kada dođe do prekida u prepoznavanju vlastitih antiga, nereagovanja na njih i pojavljivanja reakcija netolerancije ili autoimunosti. *Imunološka tolerancija* je stanje u kojem je osoba nesposobna da razvije imunski odgovor na specifičan antigen [25]. Sopstvena tolerancija (*autotolerancija*) predstavlja nesposobnost stvaranja imunskog odgovora protiv sopstvenih antiga (autoantiga). Autoantigeni su HLA antigeni kodirani pomoću MHC gena koji služe kao markeri za prepoznavanje sopstvenog u imunskom sistemu.

Glavnu ulogu u stvaranju stanja imunske tolerancije imaju centralna i periferna tolerancija [29]. *Centralna tolerancija* u ljudi se razvija tokom embrionalnog perioda, tako što autoreaktivni T limfociti u timusu i B limfociti u kostnoj srži (primarnim limfoidnim organima) bivaju eliminisani ili inaktivisani tokom diferencijacije i proliferacije [24, 25]. Tako se otklanjaju klonovi T i B ćelija sa antigenskim receptorima za sopstvene antige. *Periferna tolerancija* se ostvaruje u sekundarnim limfnim organima (slezini i limfnim čvorovima) eliminicijom ili inaktivacijom autoreaktivnih T i B limfocita, izbeglih od ovih procesa u primarnim limfoidnim organima, putem akcije regulatornih T limfocita ili dendritičkih APČ [24].

Imunska tolerancija se normalno održava na bazi stalnog odstranjivanja ili inaktivacije autoreaktivnih limfocitnih klonova specifičnih za vlastite antige. Autoimunske bolesti nastaju kada imunski sistem reaguje protiv autoantiga na takav način da ošteće svoja tkiva autoantitelima ili autoreaktivnim T limfocitima. Pojava autoreaktivnih T ili B limfocita protiv sopstvenih molekula ne znači bolest sve dok ta aktivacija ne izazove njihovo oštećenje, odnosno lokalizovano ili sistemsko oštećenje ćelija i tkiva. Ćelije i tkiva bivaju napadnuti ili čak uništeni citotoksičnim T limfocitima ili autoantitelima.

TABELA 5.12 Primeri granulomatoznog zapaljenja [4, 34, 35]; modifikovano.

Granulomatozno zapaljenje	
Mehanizam	Uzročnik
Direktna aktivacija makrofaga	Prašina (npr., berilijum, silicijum, azbest).
	Strano telo (npr., hirurški konac, grudni implantat).
	Podagra (kristali urata).
T ćelijama posredovana aktivacija makrofaga	Infekcije (tuberkuloza, lepra, sifilis, bolest mačije ogrebotine, šistozomijaza, gljivica).
	Nekrotizirajući vaskulitis sa granulomima ( <i>Wegener-ova</i> granulomatoza, arteritis gigantskih ćelija, nodozni poliarteritis).
	“Autoimunski” poremećaji sa granulomima ( <i>Crohn-ova</i> bolest, <i>de Quervain</i> -ov tiroiditis).
	Sarkidoza (inicirajući agens nepoznat).

Autoimunsku bolest, kao prekomernu, neželjenu reakciju autoreaktivnih T ili B limfocita, mogu izazvati razni genetski i sredinski faktori, zavisno od pola. Mechanizmi nastanka autoimunskih bolesti su mnogobrojni, ali se mogu svrstati u tri glavne kategorije: (1) izostanak imunotolerancije (unos tuđeg nosača koji se veže sa sopstvenim haptenom, izlaganje ukrštenim antigenima, stimulacija B limfocita poliklonskim mitogenima, nespecifična stimulacija T limfocita adjuvantima); (2) promena autoantigena (promena autoantigena virusima i bakterijama, otpuštanje odeljenih autoantigena, vezanje leka za autoantigene, mutacija gena); (3) poremećaji imunoregulacije (oštećenje fiziološke supresije imunoreakcije, pojačanje Th aktivnosti, poremećaji idiotipske mreže) [6, 24, 25]. Identifikacija gena, određivanje antitela protiv tkivnih antigena ili ćelijskih komponenti serološkim testovima uz kliničku sliku karakteriše autoimunost i tip autoimunske bolesti [36].

**Aloimunske bolesti** su vrsta hipersenzitivne reakcije imunskog sistema domaćina na prisustvo tkivnih antigena ostalih članova iste vrste [24]. Aloimunost se najčešće viđa u dva slučaja, kao: (1) neonatalna aloimunost (reakcija na fetus tokom trudnoće); i (2) tkivnopresadbene reakcije (transfuzijske reakcije i odbacivanje transplantata) [6, 24].

**Neonatalna aloimunost** (prolazna ili trajna) zasniva se na prepoznavanju različitih HLA antigena embriona (zametka, starosti do 3 meseca) ili fetusa (ploda, starosti preko 3 meseca), nasleđenih od oca, i reagovanju na njih majčinog imunskog sistema stvaranjem aloantitela koja prolaze kroz placentu (posteljicu) u fetalnu cirkulaciju prouzrokujući pojavu aloimunske bolesti u fetusu i neonatusu (novorođenčetu) [24]. Zavisno od stepena izbegavanja i kočenja prirodnih mehanizama ispoljavanja aloreaktivnosti, ovakav poremećaj trudnoće može se završiti odbacivanjem tkiva embriona ili fetusa (spontanim pobačajem) ili aloimunskom bolesti novorođenčeta (npr., Rh i ABO aloimunizacija ili Rh i ABO inkompatibilija) [24].

**Tkivnopresadbene reakcije** koje nastaju kao rezultat aloreaktivnosti mogu se ispoljiti u dva smera: (1) reakcija primaoca protiv davaoca [*host-versus-graft reaction* (HVGR)]; i (2) reakcija davaoca protiv primaoca [*graft-versus-host reaction* (GVHR)] [6, 25].

*Tkivni graft (kalem ili usadak) i transplantirani organi* označavaju se kao *autologni* i nazivaju se *autograft*, ako su transplantirana tkiva ili organi uzeti sa različitih mesta iste jedinke; kao *singenični* i nazivaju se *izograft*, ako su tkiva ili organi uzeti sa identičnog blizanca; kao *alogenični* (u slučaju ljudi, *homologni*) i nazivaju se *homograft*, ako su uzeti sa jedinki iste vrste koje jesu ili nisu u srodstvu, ali imaju slične HLA tipove; kao *heterologni* i nazivaju se *heterograft* ili *ksenograft*, ako su uzeti sa životinja druge vrste. Sve vrste kalema uobičajeno se označavaju kao *allograft*, izuzev autografa, osim ako drugčije nije naglašeno, bez obzira da li potiču od živog ili mrtvog (kadaver) organizma [25, 33].

*Autologni i izologni graftovi* lako se prihvataju ako se uspostavi dovoljna snabdevenost krvi. U takvim slučajevima nema odbacivanja, jer su transplantirane ćelije genetski jednake ili slične ćelijama domaćina i ispoljavaju iste MHC molekule na svojoj površini. Organizam prepoznaje ćelije grafta kao sopstvene (isti MHC), pa ne nastaje imunski odgovor.

*Homologni i heterologni graftovi* teško se prihvataju, bez obzira na dobru snabdevenost krvi. Membrane ćelija homolognih i heterolognih graftova sadrže na svojim membranama klasu I i klasu II molekula koji su domaćinu strani, pa se kao takvi prepoznaju i obrađuju. Odbacivanje transplantata je složen proces i nastaje aktivnošću T limfocita i antitela koja prodiru u graft i uništavaju transplantirane ćelije. Različite osobe eksprimiraju različite molekule MHC, pa ćelije, tkiva ili organi transplantirani različitim osobama indukuju intenzivnu imunsku reakciju, koja na kraju dovodi do *odbacivanja kalema ili grafta*.

Kada se ćelije stranih MHC antiga transplantiraju ili usađuju, imunski sistem primaoca (domaćina) pokušava da eliminiše ćelije davaoca (donora) procesom koji se naziva *reakcija primaoca protiv davaoca [host-versus-graft reaction (HVGR)]* ili *bolest primaoca protiv davaoca [host-versus-graft disease (HVGD)]* [6,25]. U obrnutom smeru nastaje *reakcija davaoca protiv primaoca [graft-versus-host reaction (GVHR)]* ili *bolest davaoca protiv primaoca [graft-versus-host disease (GVHD)]*, kada celularni imunski sistem transplantiranog tkiva napada tkivo primaoca [6,25]. Verovatnoća odbacivanja varira indirektno sa stepenom MCH ili HLA sličnosti u lokusima klase I i klase II između davaoca i primaoca [25].

***Reakcija primaoca protiv davaoca [host-versus-graft reaction (HVGR)] ili bolest primaoca protiv davaoca [host-versus-graft disease (HVGD)]*** se može javiti čak i kod malih razlika u HLA lokusima, koji mogu izazvati sporo odbacivanje kalema, ali i u ne-MHC lokusu [37]. Odbacivanje tokom HVGD je kompleksan proces koji uključuje ćelijski posredovana i cirkulišuća antitela. Mada mnoge ćelije mogu učestvovati u procesu akutnog odbacivanja kalema, samo su T limfociti apsolutno potrebni za takav završetak. Aktivacija Th i Tc nastaje kao odgovor na prisustvo HLA davaoca: direktnim reagovanjem sa molekulima klase I davaoca (*direktna aloreaktivnost*) ili njihovom prerađom pomoći APĆ i prezentacijom antigaena [*indirektna aloreaktivnost* ili unakrsno neslaganje (*cross-priming*)] [37]. Aktivacija Th vodi proliferaciji B limfocita i produkciji antitela, kao i T-ćelijski posredovanoj reakciji odložene preosetljivosti [*delayed-type hypersensitivity (DTH)*] ili T citotoksičnoj reakciji preosetljivosti. Zavisno od reaktivnosti imunskog sistema primaoca može doći do odbacivanja transplantata ili kalema na jedan od tri osnovna obrasca odbacivanja [6, 24, 25, 29].

***Hiperakutno odbacivanje alografa*** je neposredno i retko [24]; dešava u toku minuta ili časova posle transplantacije ili ugradnje kalema i ponekad može biti prepoznato na licu mesta, upravo nakon anastomoziranja vaskulature grafta i primaoca [29]. Kada se ponovo uspostavi cirkulacija u mestu ugradnje, kalem može pobledeti (tzv. *beli graft*) umesto normalne ružičaste boje, što je znak neposrednog odbacivanja [24].

Hiperakutno odbacivanje se obično dešava u primaoca sa već postojećim antitelima na antigene u kalemu. Antitela mogu postojati od prethodnog ugrađivanja kalema ili transfuzije koja sadrži trombocite i leukocite sa stranim HLA. Antitela mogu biti posledica infekcija virusima ili bakterijama, sa antigenima koji su oponašali MHC i antigene davaoca [25]. Dodatno tome, polovina žena sa višestrukim trudnoćama ima cirkulišuća antitela protiv HLA antiga muža [24].

Uspostavljanjem cirkulacije u kalemu, antitela (IgG i IgM) se vežu za vaskularne endotelne ćelije u tkivu kalema i aktiviraju zapaljenjski odgovor, uključujući koagulacionu kaskadu [24]. Proces se odvija po klasičnom tipu III Artusove reakcije preosetljivosti, uključujući brzu akumulaciju neutrofila i depoziciju IK i komplementa u sudovnom zidu, sa početnim oštećenjem endotelnih ćelija udruženim sa stvaranjem fibrinskotrombocitnih ugrušaka [29]. Ove rane promene vaskularnog endotela vremenom postaju raširenije i intenzivnije sve do stvaranja tromotičke okluzije (začepljenja) kapilara i fibrinoidne nekroze u aterijskim zidovima, pri čemu nastaje ishemijska nekroza ili infarkt kalema [33, 29].

**Akutno odbacivanje alografta** je ćelijski posredovan imunski odgovor tipa IV reakcije preosetljivosti, koji se dešava se u toku prvih nekoliko dana, nedelja ili meseci nakon usadijanja [24], a prepoznaje se po znacima otkazivanja funkcije organa [25]. Može se desiti i iznenada, mesecima ili godinama kasnije, posle prekida uzimanja imunosupresivnih lekova [25]. T limfociti imaju centralnu ulogu u akutnom odbacivanju kalema, prouzrokujući direktnu lizu ćelija kalema i regrutujući i aktivirajući zapaljenske ćelije, koje pre svega oštećuju endotelne ćelije krvnih sudova u vaskularizovanim kalemima [25].

Akutno odbacivanje započinje sa direktnim i indirektnim putem prezentacije antiga: (1) direktnim, gde krvne i donorske dendritičke APĆ kalema sa svojim alogenim klasama I i II HLA molekula predstavljaju primarni stimulus; i (2) indirektnim, gde APĆ primaoca (domaćina) izlažu alogene klase I i II HLA molekula od davaočevih ćelija parenhima tkiva [33]. APĆ i davaoca i primaoca daju sekundarne signale, IL-1 i IL-6, koji započinju aktivaciju limfocita. IL-1 aktivira Th1, a potom iz njih izluženi IL-2 učestvuje kao kofaktor u aktivaciji Tc i B limfocita, čime se započinje njihova klonalna proliferacija. Maturacija ovih aloantigen-reakтивnih ćelija označava početak njihovog izvršavanja funkcije otklanjanja organizmu stranih supstanci uz dodatno oštećenje antigen-sadržavajućih mesta ne samo pomoću Tc mehanizama, nego i mehanizama odložene (DTH) preosetljivosti i IK-posredovanih mehanizama funkcionisanja efektorskih ćelija [33].

Citotoksični (Tc) limfociti mogu direktno oštetići ciljne ćelije ili putem IFN $\gamma$  aktivirati monocite da se transformišu u aktivne makrofage, prouzrokujući nespecifičnu destrukciju ili pomoću mehanizma DTH [25]. Limfokini, koji se dodatno luče sa IL-2 i IFN $\gamma$  iz aktivisanih T ćelija, IL-4 i IL-5, imaju ulogu u određivanju producije antitela iz aktivisanih B ćelija ili plazmocita. Antitelom posredovano oštećenje može tek onda nastati direktno putem aktivacije komplementa ili pomoću regrutovanja antitelo-zavisnih ćelijski citotoksičnih [*antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity* (ADCC)] efektorskih ćelija [34].

**Hronično odbacivanje alografta** može se desiti nakon meseci ili godina normalnog funkcionisanja, a prepoznaje se po znacima laganog progresivnog slabljenja funkcije organa [6, 24, 25]. Hronično odbacivanje je spor ćelijski posredovan imunski odgovor tipa IV reakcije preosetljivosti. Prouzrokovani je zapaljenjskim oštećenjem oblažućih endotelnih ćelija krvnih sudova, nastalim kao rezultat slabe ćelijski posredovane reakcije protiv malih HLA antiga na tkivu kalema [24]. Manifestuje se gustom fibrozom intime krvnih sudova transplantiranog organa ili

kalema, kao posledicom aktiviranih T ćelija koje luče citokine što stimulišu fibrozu, vodeći ka sužavanju sudova i ishemijskoj nekrozi grafta [25,29].

**Sličnosti i razlike između odbacivanja alografta u formi organa i tkivnih transplantata i odgovora na sintetičke materijale ili biomaterijale tkivnog porekla** su raznovrsne i mnogobrojne. Glavni uzrok su, svakako, sličnosti i razlike u MHC proteinskim lokusima. Naime, prilikom transplantacije stranih ćelija ili organa u novog domaćina, proteini tkivne podudarnosti (histokompatibilnosti) na površinama ćelija grafta bivaju prepoznati od komponenata adaptivnog imuniteta kao tuđi. MHC molekuli razlikuju se u većine ljudi (osim jednojajnih blizanaca) i izazivaju aktivaciju Th i Tc limfocita, kao i produkciju antitela iz aktivisanih B limfocita (plazmocita). Kada se jednom aktiviraju putevi prepoznavanja, uobičajeni fiziološki efektorni mehanizmi (direktno uništavanje ćelija, aktivacija komplementa, fagocitoza, izlučivanje citokina, itd.) prekidaju podnošljivost grafta i započinju njegovu destrukciju. Opet je potrebno napomenuti da, iako su komponente urođenog imuniteta regrutovane i aktivisane u procesu oštećenja grafta, faza početnog prepoznavanja i pokretačka sila za odbacivanje transplantata, ipak, potiču od ćelija adaptivnog ili stečenog imuniteta. Za prevenciju odbacivanja ili za vraćanje grafta potreban je čitav spektar imunosupresivnih lekova, koji su uglavnom direktno ili potencijalno štetni po organizmu.

Medicinska sredstva izgrađena od sintetskih materijala i biomaterijala koji ne budu prepoznati kao strani pomoću mehanizama adaptivnog (stečenog) imuniteta, ne ostaju u organizmu, nego vremenom bivaju postepeno odbačeni. Neke komponente imunskog sistema, posebno urođenog imuniteta, vremenom dovode do oštećenja dotičnog sredstva ili materijala i posledičnog poremećaja ili, pak, gubitka njegove funkcije. Kao što je rečeno, nespecifična aktivacija makrofaga i komplementa dovodi do lokalnog tkivnog oštećenja putem proteolize, nakupljanja drugih zapaljenskih ćelija ili izlučivanja citokina. U mnogim slučajevima stalan odgovor urođenog imuniteta na hroničan podražaj medicinskog sredstva, koji ne može biti odbačen, pretvara se u razvoj granuloma ili fibroznog ožiljnog tkiva.

Tako pod određenim okolnostima, sintetički materijali i biomaterijali mogu imati načine otkazivanja koji su svojstveni za aktivaciju imunskog sistema, posebno komponenti urođenog imuniteta. Kao rezultat sekundarne stalne aktivacije makrofaga, „inertna” silikonska (*Silastic*) obložna proteza dojke može akumulirati ožiljak od gustog tkiva oko sebe koji, najblaže rečeno nije, čak, ni estetski najbolje rešenje [4]. Slično tome, metalna proteza kuka može indukovati pokretanje aktivacije makrofaga koja će u kosti dovesti do produkcije citokina i neizostavno izazavati resorpciju kosti i labavljenje proteze. Mada primena steroida u tim slučajevima može imati neke korisne efekte u ograničavanju aktivacije makrofaga, može indukovati i komplikacije, pored ostalih sporednih efekata, sa usporenim zarastanjem rane i povećanjem osetljivosti na infekcije.

**Imunski odgovor na biomaterijale uključuje komponente humorалног и целиуларног имуна.** Aktivacija komplementne kaskade bilo preko klasičnog, lektinskih, ili alternativnog puta vodi depoziciji C4b i C3b proteina. Prepoznavanje ovih molekula pomoću receptora na granulocitima može prouzrokovati aktivaciju ovih ćelija, vodeći produkciji degradacionih enzima i destruktivnih kiseoničkih metabo-

lita (ROS). Prepoznavanje C4b ili C3b proteina pomoću drugih proteina u kaskadi vodi formiranju enzima (C3 i C5 konvertaza), koji pojačavaju odgovor i mogu dovesti do produkcije snažnih zapaljenskih medijatora, posebno C5a. Komponenta C5a se veže za specifične receptore na PMNL i monocitima, pokrećući niz reakcija, uključujući hemotaksu, hiperadherenciju, degranulaciju, produkciju ROS i citokina (Tabela 6.2-9). Sistemsko izlaganje dejstvu C5a tokom ekstrakorporalnih procedura ili terapija (hemodijaliza, kardiopulmonalni bajpas, i dr.) udruženo je sa neutropenijom (smanjenjem broja neutrofila zbog receptor-zavisne aktivacije leukocita) i kardiopulmonalnim i drugim manifestacijama [16]. Uzrok ovih komplikacija je dodatno stvaranje sekundarnih medijatora, kao što su metaboliti arahidonske kiseline [*thromboxan* A2 (TxA2) i *leukotrien* B4 (LTB4)], ili citokini [16]. Ovo izlaganje može biti veoma opasno po život, pogotovo ako je praćeno postperfuzionim (postpumpnim) sindromom, u kojem može doći do disfunkcije i otkazivanja rada raznih organa: srca, bubrega, jetre, mozga, i digestivnog trakta [16]. Drugi deo proteina C5, komponenta C5b, direktno vodi formiranju MAC, aktivirajući ćelije na subliznim nivoima, ali ispoljavajući i citotoksički potencijal ako se produkuje u većim količinama. Formiranje MAC (C5b-9) povezano je sa povećanjem hemolize (razgradnje ćelija krvi) tokom ekstrakorporalnih procedura i formiranjem mikropartikula, a pokazuje povećanu aktivnost protrombinaze *in vitro* [16]. Protrombinaza može pokrenuti proces pretvaranja protrombina u trombin, a ovaj enzim prouzrokovati cepanje fibrinogena u fibrinske niti i tako stvoriti fibrinski ugrušak (tromb). To ukazuje da površine koje aktiviraju komplement agresivno, mogu biti mnogo sklonije nastanku krvnog ugruška ili tromba i pojavi tromboze.

Ograničavanje C3b depozicije (nukleofilnošću), adsorbovanje C5a za negativno nanelektrisane površinske grupe, i podsticanje uloge regulišućih faktora H i I, tri su načina efikasne kontrole dejstva aktivnih komponenti C5 [16, 29]. Pretvaranje ovih teorijskih objašnjenja u praktičan rad sa stvaranjem komercijalnih biomaterijala, razrešilo bi mnoge probleme sa komplement-kompatibilnim biomaterijalima, uključujući membrane za hemodijalizu i druga medicinska sredstva koja se koriste kao implantati.

Reakcija na strano telo se razvija u odgovoru na implantaciju gotovo svih biomaterijala i može se otkriti njihovom funkcijom, koja se završava slabljenjem ili otkazivanjem funkcionisanja implantata. Formiranje gigantskih ćelija na strano telo, koje oštećuju površinu biomaterijala, ograničava njegovu primenu i stvara komplikacije. Gigantske ćelije nastaju od monocita krvi koji ulaze na mesto implantacije posle operacije u odgovoru na lučenje hemotaksičkih signala. Najvažniji signal u njihovom formiranju je *monocitni hemoatraktant hemokina ligand 2 [chemoattractant chemokine ligand 2 (CCL2)]* [38,39], prethodno poznat kao *monocitni hemoatraktantni protein 1 [monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1)]*, koji, ipak, nije najbitniji u formiranju kapsule i reakciji na strano telo [38].

Gigantske ćelije su ključne efektorske ćelije zapaljenskog odgovora. Ako postoji velika površina biomaterijala kojeg okružuju, gigantske ćelije izlučuju u velikim količinama enzime, koji mogu znatno oštetiti površinu biomaterijala. Tokom njihove fagocitne aktivnosti, gigantske ćelije mogu izbacivati, egzocitozom, čestice nesvarenog materijala ili debrisa, koji može održavati stalno, hronično zapaljenje.

Eventualno, tokom reakcije na strano telo, implantirani materijali bivaju inkapsulirani pomoću kolagenozne, većinom avaskularne kapsule tokom 2 do 4 nedelje posle implantacije [38]. Na inkapsulaciju može uticati nekoliko faktora, uključujući mesto implanatacije, hidrofilnost, poroznost, površinsku strukturu, i hemijski sastav biomaterijala. Makrofagi su glavne ćelije u razvoju reakcije na strano telo, posebno fibroze, ali pre indirektno, jer šalju profibrotičke signale za fibroblaste [38].

Fuzija ćelija je osnovni biološki događaj koji je od suštinske važnosti za razine razvojne i homeokinetske procese. Fuzija je neophodna za formiranje osteoklasta i gigantskih ćelija i značajnu ulogu u procesu njenog ostvarenja ima nekoliko fuzionih receptora makrofaga, od kojih su najpoznatiji: fuzioni receptor makrofaga [*macrophage fusion receptor* (MFR)] i specifičan transmembranski protein dendritičkih ćelija [*dendritic cell-specific transmembrane protein* (DC-STAMP)] [40]. MFR i njegov ligand CD47 pripadaju superfamiliji imunoglobulina, i njihovo vezivanje u kompleks MFR-CD47 ima centralnu ulogu u međućelijskom prepoznavanju preko signala, koje je suštinsko za opstanak fuzionisanih makrofaga, kako ne bi jedan drugog ubili [40]. U procesu fuzionisanja učestvuje i CD44 površinski receptor [41], sličan MFR, čija ekspresija se indukuje snažno, ali prolazno, pri započinjanju fuzije makrofaga, kao i adhezionalni molekuli *E-cadherin* i *meltrin-α* [40]. Moguće je da DC-STAMP omogućava fuziju putem prolazne indukcije ekspresije proteina MFR i CD44, ili indukcijom još nepoznatog proteina [40]. Za fuziju nije potrebna diferencijacija osteoklasta i gigantskih ćelija, već, za obe vrste, samo ekspresija DC-STAMP, da bi postale multinuklearne [42]. Ovaj nalaz potvrđuje strukturna sličnost između DC-STAMP i hemokinskih receptora, koji su, takođe, sedmostruki transmembranski prelazeći ili obmotavajući proteini (*seven-transmembrane-spanning proteins*) [40]. To, takođe, ukazuje na mogućnost da DC-STAMP može funkcionisati kao fuzioni koreceptor na makrofagima [40]. Hemokinski receptori na makrofagima i T ćelijama poznati su kao ključni koreceptori za ulaz virusa u toku infekcije. Za HIV, hemokinski receptori CXCR4 i CCR5 su glavni koreceptori za T ćelija-tropne i makrofag-tropne 1 izolate HIV-a [40].

Makrofagi su prisutni u svim tkivima i mogu se spajati sa drugim makrofagima i diferencirati u multinuklearne osteoklaste (u kostima) ili gigantske ćelije (u mešovitim tkivima), gde imaju centralnu ulogu u osteoporosi i hroničnim zapaljenskim bolestima. Multinukleacija je suštinski korak u diferencijaciji osteoklasta, pošto mononuklearni makrofagi ne mogu resorbovati kost efikasno, kao što je esencijalna i u diferencijaciji gigantskih ćelija, koje se formiraju u tkivima u odgovoru na čestice stranih supstanci, pri čemu nastaju hronične zapaljenjenske reakcije, uključujući granulomatozne bolesti [41].

Makrofagi se mogu spajati i sa telesnim ćelijama da bi ostvarili tkivnu reparaciju, ali i sa tumorskim ćelijama pri započinjanju metastaza [40]. Mada ove ćelije imaju centralnu ulogu u osteoporosi i odbacivanju stranih tela (kalema ili biomaterijala) molekularni mehanizam odbacivanja još nije sasvim jasan. Zasad se zna da u makrofagima biva snažno indukovana ekspresija CD44 proteina na početku fuzije i CD44 intracelularni domen (CD44ICD) se cepa u njima prelazeći kroz fuziju, pri čemu istovremeno *presenilinski inhibitori* ograničavaju reakciju sprečavajući lučenje CD44ICD i samu fuziju [41]. CD44ICD pokreće fuziju tkivnih makrofaga i makro-

faga poreklom iz kostne srži, delujući iz jedra makrofaga, gde *potpomaže aktivaciju puta nuklearnog faktora kapa B [nuclear factor κB (NF-κB)]* intracelularne signalne transdukcije [41], odnosno nuklearnog transkripcionog faktora potrebnog za ekspresiju specifičnih gena u makrofagima.

**Reakcija davaoca protiv primaoca [graft-versus-host reaction (GVHR)] ili bolest davaoca protiv primaoca [graft-versus-host disease (GVHD)]** dešava se kada jedan neometan napad histokompatibilnih ćelija kalema zauzme mesto u organizmu domaćina, koji nije sposoban da se odbrani i odbaci strane ćelije [6,25,43]. To se zbiva ako su T limfociti u transplantovanom kalemu (npr., transfuzisanoj krvi) zreli i samim tim sposobni za ćelijski posredovanu destrukciju tkiva u primaocu kalema. Da bi se desila GVHD reakcija moraju postojati sledeći osnovni uslovi: (1) razlike u histokompatibilitetu između kalema (davaoca) i domaćina (primaoca); (2) funkcionalnost zrelih imunokomponentnih ćelija kalema; i (3) imunodeficijentne ćelije primaoca (domaćina), do te mere da ne mogu uništiti ćelije kalema [25,43]. GVHD se dešava kada imunokompetentni T limfociti u materijalu kalema prepoznaju strane antigene primaoca, pokrećući tip IV reakcije preosetljivosti protiv tkiva primaoca [24]. GVHD reakcija može biti posledica infuzije bilo kog krvnog produkta koji sadrži žive limfocite, kao što se dešava u materinsko-fetalnoj transfuziji krvi, intrauterinoj transfuziji, terapijskim transfuzijama cele krvi ili transfuzijama pakovanih eritrocita, zamrznutih ćelija, trombocita, sveže plazme, opranih ili leukocitima siromašnih eritrocita; ili zbog transplantacije fetalnog timusa, fetalne jetre, ili kostne srži [43]. Pojava GVHD reakcije dešava se 7-30 dana posle infuzije živih limfocita [24, 43]. Kada se jednom reakcija uspostavi, malo toga može se učiniti da bi se modifikovao njen pravac. Primarna ciljna tkiva GVHD su koža (npr., osip, gubitak ili povećanje pigmentacije), jetra (npr., oštećenje žučnih puteva, hepatomegalija), usta (npr., suvoća, ranice, infekcije), oči (npr., zapaljenje, iritacija, suvoća), i digestivni trakt (npr., jak proliv), čija oštećenja mogu prouzrokovati smrt zbog infekcija [24]. U većine imunodeficijentnih pacijenata, GVHD je smrtonosna.

Postoje dva tipa GVHD: *primarni*, koji je mnogo opasniji, i *sekundarni*, manje opasan i samostalno izlečiv [25]. Primarni uzročnici GVHD su donorske imunokompetentne T ćelije poreklom iz kostne srži i tkivo primaoca koje ih prepoznaje kao strane i reaguje protiv njih [25]. GVHD je rezultat aktivacije Th i Tc limfocita davaoca koji su osnova za stvaranje tipa IV, ćelijski posredovanih DTH i Tc limfocitima prouzrokovanih reakcija preosetljivosti [25]. U mehanizmu nastanka GVHD učestvuju i druge ćelije, pa se pretpostavlja da je uzrok povećanja serumskog nivoa IgE prolazni defekt supresorskih T limfocita [22]. Biopsija aktivnih GVHD oštećenja obično pokazuje infiltraciju mononukleara i eozinofila, kao i fagocita krvi i lokalnih fagocita [25]. Bitnu ulogu u ovim procesima imaju *interferoni*, posebno IFN- $\lambda$  tipa, koji indukuju proliferaciju FOXP3-eksprimirajućih supresorskih T ćelija [44]. IFN- $\lambda$ , poznati i kao IL-28 i IL-29, koekspresori su sa IFN- $\beta$  posle "zvonjenju" slične stimulacije receptora [*toll-like-receptor (TLR)*] u ljudskim od monocita nastalim dendritičkim ćelijama [44]. Nakon stimulacije, dendritičke ćelije indukuju IL-2 zavisnu proliferaciju Th1 ćelija sa kontakt-zavisnom supresivnom aktivnošću proliferacije supresorskih T ćelija započete sa potpuno zrelim dendritičkim ćelijama. Tako

su IFN- $\lambda$  sposobni da stvaraju tolerantne dendritičke ćelije, iako je ta aktivnost suprotna funkcijama IFN- $\beta$  [44].

GVHD se može ispoljiti kao bolest opšteg karaktera sa sistemskim manifestacijama, počev od makulopapuloznog osipa po koži sličnog alergijskim promenama, preko proliva, žutice, povećanja jetre i slezine (hepatosplenomegalija), poremećaja srčanog ritma (aritmije), pa do infiltrata u plućima i prenadraženosti CNS [25]. Začepljenje vena se dešava u 25% primaoca alogenih transplantata kostne srži, sa stopom smrtnosti većom od 30% [25].

**Hiperakutna GVHD** se javlja u toku ili neposredno posle ugradnje kalema tokom minuta ili časova.

**Akutna GVHD** se javlja tokom dana i nedelja nakon transplantacije, i ispoljava se najpre na epitelnim ćelijama kože, jetri i digestivnom traktu [25]. Koža je najčešće pogodjeni organ u akutnoj GVHD.

**Hronična GVHD** može biti nastavak akutne GVHD ili početi posle 100 dana nakon transplantacije [25]. Kožne lezije mogu biti takve da liče na sistemsku sklerozu sa manifestacijama koje oponašaju druge autoimunske bolesti [25]. Pošto je lečenje komplikovano i dugotrajno, pacijentima sumnjivim na imunodeficijenciju obavezno se vrši ozračivanje (najmanje 2500 R) krvnih produkata za prevenciju proliferacije limfocita i nastanka GVHD [25, 43].

## 5.5 PITANJA ZA REKAPITULACIJU

- 5.1 Koji su primarni limfni organi?
- 5.2 Šta sadrži urođeni imunitet?
- 5.3 Šta sadrži stečeni imunitet?
- 5.4 Na kojim limfocitima je eksprimovana klasa MHC I proteina?
- 5.5 Sa kojim ćelijama kontaktira APĆ?
- 5.6 Postoji li razlika između antiga, imunogena i alergena?
- 5.7 Koja je najčešća reakcija na biomaterijale?
- 5.8 Šta stvara granulom?
- 5.9 Kada se javlja reakcija primaoca protiv davaoca?
- 5.10 Zbog čega se kalem obično odbacuje?

## 5.6 LITERATURA

1. L.C. Junqueira, J. Carneiro, *Osnovi histologije: tekst i atlas*, Prevod 11. izdanja. (McGraw-Hill/Data status, Beograd, 2005), Poglavlje 14.
2. B. Crippes Trask, N.S. Rote, S.E. Huether, Innate Immunity: Inflammation, in: K.L. McCance, S.E. Huether (eds.), *Pathophysiology: The Biologic Basis for Disease in Adults and Children*. 5th Ed. (Elsevier/Mosby, St. Louis, 2006), Sect. 1.3.6.

3. T.G. Parslow, Lymphocytes & Lymphoid Tissues, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th Ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 1.3.
4. R.N. Mitchell, Innate and Adaptive Immunity: The Immune Response to Foreign Materials, in: B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.4.3.
5. T.G. Parslow, D.F. Bainton, Innate Immunity, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th Ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 1.2.
6. M. Marušić, Z. Kovač, Autoimunost, u: S. Gamulin, M. Marušić, Z. Kovač (urednici), *Patofiziologija*, šesto, obnovljeno i izmijenjeno izdanje. (Medicinska naklada, Zagreb, 2005), Knjiga prva, Poglavlje 15.6.
7. T.D. Pollard, W.C. Earnshaw, *Cell biology*, Revised reprint. (Saunders/Elsevier, Philadelphia, 2004), Sects. 6.30, 8.49.
8. T.G. Parslow, The Immune Response, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th Ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 1.4.
9. F.M. Brodsky, Antigen Presentation & the Major Histocompatibility Complex, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th Ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 1.6.
10. T.G. Parslow, Immunogens, Antigens & Vaccines, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th Ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 1.5.
11. N.S. Rote, B. Crippes Trask, Adaptive Immunity, in: K.L. McCance, S.E. Huether (eds.), *Pathophysiology: The Biologic Basis for Disease in Adults and Children*. 5th Ed. (Elsevier/Mosby, St. Louis, 2006), Sect. 1.3.7.
12. D. Schwartz, K.L. Kaplan, S.I. Schwartz, Hemostasis, Surgical Bleeding, and Transfusion, in: F.C. Brunicardi (ed.), *Schwartz Principles of Surgery*, 8th Ed. (McGraw-Hill, New York, 2005). Sect.1.3.
13. J.B. Imboden, W.E. Seaman, T Lymphocytes & Natural Killer Cells, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th Ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 1.9.
14. V.B. Đorđević, Biohemija krvi, u: D. Koraćević, G. Bjelaković, V.B. Đorđević, J. Nikolić, D.D. Pavlović, G. Kocić (urednici), *Biohemija*, 4. izmenjeno i dopunjeno izdanje. (Savremena administracija, Beograd, 2006), Poglavlje XII.
15. T.G. Parslow, Immunoglobulins & Immunoglobulin Genes, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th Ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 1.7.
16. R.J. Johnson, The Complement System, in: B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.4.4.
17. K.M. Cunnion, E. Wagner, M.M. Frank, Complement & Kinin, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 1.12.

18. J.J. Oppenheim, F.W. Ruscetti, Cytokines, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 1.10.
19. B.F. Haynes, A.S. Fauci, Upoznavanje sa imunskim sistemom, prevod, u: E. Braunwald, A.S. Fauci, D.L. Kasper, S.L. Hauser, D.L. Longo, J.L. Jameson (urednici), *Harissonova nacela interne medicine*, 15. izdanje. (Bard-fin & Romanov, Beograd - Banja Luka, 2004), Knjiga 2. Dvanaesti deo. Odeljak 1. Poglavlje 305.
20. C. Lowell, Fundamentals of Blood Cell Biology, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 1.1.
21. V. Kumar, A.K. Abbas, N. Fausto, Neoplasia, in: V. Kumar, A.K., Abbas, N. Fausto (eds.), *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 7th Ed. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 1.7.
22. A.I. Terr, The Atopic Diseases, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 3.26.
23. R.L. Roberts, R. Stiehm, Antibody (B-Cell) Immunodeficiency Disorders, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 3.21.
24. N.S. Rote, Alterations in Immunity and Inflammation, in: K.L. McCance, S.E. Huether (eds.), *Pathophysiology: The Biologic Basis for Disease in Adults and Children*. 5th Ed. (Elsevier/Mosby, St. Louis, 2006), Sect. 1.3.8.
25. C.M. Porth, K. Sweeney, Alterations in the Immune Response, in: C.M. Porth (ed.), *Essentials of Pathophysiology: Concepts of Altered Health States*, 2nd Ed. (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007), Sect. 4.15.
26. D. Schols, HIV co-receptors as targets for antiviral therapy. *Curr. Top. Med. Chem.* 4(9) (2004) 883-893.
27. V. Bhushan, R.H.Jr. Collins, Chronic graft-vs-host disease. *JAMA* 290(19) (2003) 2599-2603.
28. A.I. Terr, Anaphylaxis & Urticaria, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 3.27.
29. A.K. Abbas, Diseases of Immunity, in: V. Kumar, A.K., Abbas, N. Fausto (eds.), *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 7th Ed. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 1.6.
30. R. Werner R, A massage Therapist's Guide to Pathology. 3rd Ed. (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2005), Sect. 5.
31. J.J. Jacobs, K.A. Roebuck, M. Archibeck, N.J., N.J. Hallab, T.T. Glant, Osteolysis: basic science. *Clin. Orthop.* 393 (2001) 71-77.
32. A.I. Terr, Immune-Complex Allergic Diseases, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 3.28.
33. M. Suthanthiran, P. Stock, F. Keith, C. Linker, M.R. Garovoy, Clinical Transplantation, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 4.52.

- 
34. J.F. Fieselmann, H.B. Richerson, Respiratory Diseases, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 3.40.
  35. K.H. Fye, K.E. Sack, Inflammatory Vasculitides, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 3.34.
  36. C. Lowell, Clinical Laboratory Methods for Detection of Antigens & Antibodies, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 2.15.
  37. G.N. Nepom, J.D. Taurong, Glavni histokompatibilni kompleks gena, prevod, u: E. Braunwald, A.S. Fauci, D.L. Kasper, S.L. Hauser, D.L. Longo, J.L. Jameson (urednici), *Harisso-nova načela interne medicine*, 15. izdanje. (Bard-fin & Romanov, Beograd - Banja Luka, 2004), Knjiga 2. Dvanaesti deo. Odeljak 1. Poglavlje 306.
  38. T.R. Kyriakides, M.J. Foster, G.E. Keeney, A. Tsai, C.M. Giachelli, I. Clark-Lewis, J. Rollins, P. Bornstein, The CC chemokine ligand, CCL2/MCP1, participates in macrophage fusion and foreign body giant cell formation, *Am. J. Pathol.* 165 (2004) 2157-2166.
  39. M.S. Kim, C.J. Day, N.A. Morrison, MCP-1 is induced by receptor activator of nuclear factor- $\{\kappa\}$ B ligand, promotes human osteoclast fusion, and rescues granulocyte macrophage colony-stimulating factor suppression of osteoclast formation. *J. Biol. Chem.* 280 (2005) 16163-16169.
  40. A. Vignery, Macrophage fusion: the making of osteoclasts and giant cells. *J. Exp. Med.* 202(3) (2005) 337-340.
  41. W. Cui, J.Z. Ke, Q. Zhang, H.-Z. Ke, C. Chalouni, A. Vignery, The intracellular domain of CD44 promotes the fusion of macrophages. *Blood* 107(215) (2006) 796-805.
  42. M. Yagi, T. Miyamoto, Y. Sawatani, K. Iwamoto, N. Hosogane, N. Fujita, K. Morita, K. Ni-nomiya, T. Suzuki, K. Miyamoto, Y. Oike, M. Takeya, Y. Toyama, T. Suda, DC-STAMP is essential for cell-cell fusion in osteoclasts and foreign body giant cells, *J. Exp. Med.* 202 (2005) 345-351.
  43. E.R. Stiehm, R.L. Roberts, Combined Antibody (B-Cell) & Cellular (T-Cell) Immunodeficiency Disorders, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 3.23.
  44. F. J. D. Mennechet, G. Uze, Interferon- $\lambda$ -treated dendritic cells specifically induce proliferation of FOXP3-expressing suppressor T cells, *Blood* 107(11) (2006) 4417-4423.

# 6

## KOAGULACIJA KRVI<sup>1</sup>

Vaskularni sistem ima sposobnost da sam sebe održava i reguliše u zatvorenom krugu bioloških procesa u kome cirkuliše krv terana aktivnošću srca kao pumpe. Stabilna opšta sistemska i lokalna cirkulacija u jednom organu ili području, predstavlja stanje perfuzije ili prokrvljenosti koja je dovoljna za zadovoljenje metaboličkih i nutritivnih potreba, uključujući transport kiseonika ( $O_2$ ) i nutrienata do ćelija, i transport ugljen dioksida ( $CO_2$ ) i produkata metabolizma iz ćelija, kao i održavanje pH [koncentracije vodonikovih jona ( $H^+$ )] u ćelijama i tkivima.

Lokalna cirkulacija većinom zavisi od hemodinamskih odnosa u sistemskoj cirkulaciji, prvenstveno od udarnog volumena i minutnog volumena srca, stanja krvnih sudova i opšteg krvnog pritiska, kao i od količine i viskoznosti krvi u opštoj cirkulaciji. Kompleksna regulacija vaskularnog sistema autonomnim regulatornim mehanizmima neurohormonalnim i neurohumoralnim hemijskim faktorima, kao i nervnim putem preko vazomotora, čine ovaj sistem osjetljivim na niz poremećaja. Promene u funkcionalisanju ovog sistema mogu se ispoljiti lokalno kada se radi o poremećajima lokalne cirkulacije, ili mogu biti generalizovane u obliku poremećaja opšte cirkulacije.

Funkcija cirkulatornog sistema u suštini se svodi na zadovoljenje dva osnovna zahteva organizma: (1) da bi krv ostvarila potrebe svih tkiva i njihovih ćelija mora biti u tečnom stanju; i (2) uslov za ispunjenje zahteva je da krv ne može isticati kroz zidove krvnih sudova.

Zavisno od stanja cirkulatornog sistema, uzroka vaskularnih poremećaja, njihovih karakteristika i lokalizacije, bilo koji poremećaj u zadovoljenju dva osnovna zahteva, kao i oštećenje tkiva neminovno prouzrokuje poremećaj u hemizmu krvi ili oštećenje funkcije sudovnog sistema. Tako, akutna povreda većeg krvnog suda, ako se adekvatno ne reguliše, može dovesti život u opasnost. Normalno, svako, pa i masivno vensko krvavljenje, biva brzo *zaustavljeno* procesom poznatim kao *hemostaza*, koji se odvija kroz nekoliko uzastopnih manjih procesa koagulacije krvi sa stvaranjem krvnog koagulum. Stvaranje krvnog koaguluma može se desiti i u

<sup>1</sup>Ovo poglavље napisao je Drago Đorđević.

nepovređenom krvnom sudu i izazvati njegovo *začepljenje* ili okluziju što se označava kao *tromboza*, koja može biti uzrok invalidnosti ili smrti, posebno zbog moždanog ili srčanog udara.

Kada su krvni sudovi u lošem stanju ili se na neki način povrede, neposredna neizostavna reakcija je vazokonstrikcija. Vazokonstrikcija je rezultat *refleksnih neurogenih mehanizama* [1] pojačanim lučenjem vazoaktivnih supstanci iz endotelnih ćelija, kao što su endotelin-1 [*endothelin-1* (ET-1)], serotonin [*5-hydroxytryptamine* (5-HT)] i tromboksan A<sub>2</sub> [*thromboxane A<sub>2</sub>* (TXA<sub>2</sub>)] iz trombocita [2]. Ovaj kratkotrajni odgovor smanjuje dotok krvi u oštećeno područje. U stvari, ovo suženje krvnih sudova približava suprotne endotelne površine tako da njihov međusobni kontakt indukuje slepljivanje, koje delimično ili potpuno onemogućava protok krvi u područje distribucije.

Pri povredi krvnog suda ili tkiva organizam uključuje tri glavna mehanizma za zaustavljanje krvavljenja: vazokonstrikciju, agregaciju trombocita, i stvaranje trajnog koaguluma koji sprečava krvavljenje dok povreda ne zaraste. Povreda početno stimuliše trombocite (nepigmentovane bezjedarne krvne ćelije, u stvari, fragmente ili krvne pločice mnogo većih progenitorskih ćelija, megakariocita) da, nekoliko sekundi posle povrede, adheriraju na mesto povrede endotela (endotelnih ćelija) krvnog suda i tako formiraju *čep* koji zaustavlja manje krvavljenje. Ovaj proces se odvija uz pomoć fon Vilebrandovog faktora [*von Willebrand factor* (vWF)], velikog multimeričnog plazma glikoproteina, kojeg sekretuju endotelne ćelije i trombociti. Ovaj protein se veže za specifični receptor na membrani trombocita, glikoprotein Ib [*glycoprotein Ib* (GPIb)] i za kolagen [2], kao i verovatno za ostale komponente subendotelijalne membrane, izložene krvotoku usled vaskularne povrede. Adhezija aktivira trombocite da se transformišu, menjajući izgled, stvarajući na površini nove aktivne molekule i oslobađajući biološki aktivne supstance, uključujući 5-HT, adenosin difosfat [*adenosine diphosphate* (ADP)], trombin, i TXA<sub>2</sub> [2]. Ove supstance izazivaju dalju aktivaciju trombocita i pojačavaju kontrakciju glatkih mišića zida krvnog suda (vazokonstrikciju) *početno izazvanu* dejstvom *refleksnih neurogenih mehanizama* [1].

Agregacija trombocita biva posredovana pomoću integrina  $\alpha_{IIb}\beta_3$ , ćelijskih adhezionih receptora koji integrišu unutrašnje i spoljašnje signale [2]. Jedan molekul integrina  $\alpha_{IIb}\beta_3$  od svaka dva aktivisana trombocita može vezati istovetni molekul plazma proteina fibrinogena, prouzrokujući tako agregaciju trombocita [2]. Agregirani trombociti i oštećeno tkivo započinju zgrušavanje krvi ili koagulaciju, proces odbrane organizma od gubitka krvi. Zavisno od toga da li je oštećenje krvnog suda mehaničkog, hemijskog, biološkog, ili ćelijskog porekla, lokalno žarišno stvaranje koagulantnog enzima serum proteaze, trombina, uslovjava njegovo dejstvo na plazma protein fibrinogen da ga cepa na fibrinske monomere, čijom polimerizacijom se stvara kompleksan protein fibrin. Reakcijom fibrinskog kompleksa sa trombocitima stvara se fibrin-trombocitni koagulum, ugrušak ili tromb (*thrombus*) na mestu vaskularne povrede, završavajući tako proces formiranja tromba ili trombozu.

Proces stvaranja trombocitnog agregata ili čepa, odnosno primarnog, trombocitnog (belog) tromba, koji se dešava za nekoliko sekundi od momenta povrede,

naziva se *primarna hemostaza* i veoma je značajan za zaustavljanje krvavljenja iz malih krvnih sudova, kapilara, arteriola i venula [3-5].

Proces stvaranja trajnog ugruška ili sekundarnog fibrinskog (crvenog) tromba naziva se *sekundarna hemostaza* [3, 5]. Nju čine reakcije koagulacionog sistema plazme, koje prouzrokuju stvaranje fibrina, čija mreža ojačava prvobitni hemostatski ugrušak, završavajući se za nekoliko minuta. Ovaj proces je posebno značajan za zaustavljanje krvavljenja iz velikih krvnih sudova u daljem toku događanja nakon povrede.

Istovremeno sa formiranjem ugruška na mestu povrede krvnog suda, mehanizmi hemostaze se uključuju održavajući krv tečnom u prirodnoj cirkulaciji pomoću dejstva antikoagulacionih faktora i akcesornih supstanci. Tromboza se dešava kada hemostatski stimulus nije regulisan ili kada su prirodni antikoagulantni mehanizmi premašeni stepenom aktivacije stimulusa.

Neadekvatna reakcija povređenog krvnog suda, kao i kvantitativni i kvalitativni poremećaji u koagulacionoj kaskadi, dovode do pojave suprotnog procesa, koji se ispoljava kao *krvavljenje* ili *hemoragija*.

## 6.1 MEHANIZMI KOAGULACIJE KRVI

Mehanizmi hemostaze služe za sprečavanje krvavljenja u slučaju povrede ili prekida u vaskularnom sistemu. Hemostaza se može biohemijski posmatrati kao mehanizam održavanja normalnog balansa između procesa stvaranja tromba (*prokoagulaciona faza*) i procesa zaustavljanja formiranja tromba (*antikoagulaciona faza*) i njegove razgradnje (*fibrinoliza*) [6].

Hemostaza i tromboza regulisane su pomoću tri glavne *komponente hemostaze*, koje uključuju vaskularni endotel, trombocite, i koagulacionu kaskadu [1], kojima se pridružuje formiranje fibrina, i fibrinoliza. Postoje mehanizmi koji se suprotstavljaju mehanizmima hemostaze i oni obuhvataju antikoagulacione sisteme. Njima pripadaju faktori koji se suprotstavljaju formiranju tromba i fibrinolitički sistem.

**Vaskularni endotel.** Endotel služi kao fizička barijera u srcu i krvnim sudovima za normalno sprečavanje adherencije krvnih ćelija. Endotelne ćelije grade endotel i tako čine barijeru propustljivosti za razmenu nutrienata, krajnjih produkata metabolizma, kao i tečnosti između plazme i intersticijuma, regulišući transport makromolekula i ostalih supstanci. Međutim, manje od 0,01% vaskularnih endotelnih ćelija proliferiše u fiziološkim uslovima, pa je vreme potrebno da se potpuno zamene novim ćelijama duže od 1000 dana, a u krvnim sudovima mrežnjače čak preko 5000 dana [7].

Ćelije endotela sekretuju parakrine faktore koji utiču na susedne ćelije glatkih mišića, delujući kao vazodilatatori azot monoksid [*nitric oxide (NO)*], endotel-producujući hiperpolarizujući faktor [*endothelium-derived hyperpolarizing faktor (EDHF)*] i prostaciklin [*prostaglandin I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>)*] ili vazokonstriktori endotelin-1 [*endothelin-1 (ET-1)*], endotel-producujući konstriksijski faktor-1 [*endothelium-*

derived constricting faktor (EDCF<sub>1</sub>)] i endotel-produkujući konstrikcijski faktor-2 [endothelium-derived constricting faktor (EDCF<sub>2</sub>)] [8].

Endotelne ćelije sintetišu aktivne hormone (angiotenzin I) od inaktivnih prekursora (jetra sintetiše i ekskretuje veoma veliki protein,  $\alpha_2$ -globulin, angiotenzinogen) u bubrežima (pomoću enzima renina, kojeg stvaraju granularne ćelije juksta-glomerularnog aparata). Endotelne ćelije, takođe, ekstrahuju ili razgrađuju hormone {angiotenzin I pomoću angiotenzin-konvertujućeg enzima [angiotensin-converting enzyme (ACE)] u angiotenzin II, vrlo snažan vazokonstriktor]} i ostale medijatore u plućnim kapilarima. One, isto tako, sekretuju citokine tokom imunskog odgovora i produkuju faktore rasta u odgovoru na oštećenje bilo kojeg porekla.

Endotel krvnih sudova ima važnu ulogu u regulaciji koagulacije, fibrinolize, vaskularnog tonusa, ćelijskog rasta i diferencijacije, kao i imunskih i zapaljen-skih reakcija. Endotel je strogo netrombogen i u normalnom stanju ne reaguje ni sa trombocitima, niti sa cirkulišućim faktorima koagulacije [10].

Svi biomaterijali u kontaktu sa krví, kao što su arterijski i venski kateteri, veštački srčani zalisci, vaskularne proteze, aparati za hemodijalizu, i druga sredstva, stvaraju tromboembolijske komplikacije pri protoku krvi preko oštećene površine endotela. Embolus je odvojena intravaskularna čvrsta, tečna, ili gasna masa koju nosi krv na mesto daleko od njenog porekla [1]. Normalan intaktni endotel ispoljava antitrombotičke, antikoagulantne, i fibrinolitičke efekte.

*Antitrombotički efekti endotela* su brojni. Endotelne ćelije sintetišu PGI<sub>2</sub>, koji inhibira agregaciju trombocita i prouzrokuje relaksaciju glatkih mišića krvnog suda, a samim tim i *vazodilataciju*. Prostaciklin povećava aktivnost trombocitne adenilat ciklaze (*adenylate cyclase*) i time nivo trombocitnog cikličnog adenosin monofosfata [*cyclic adenosine monophosphate (cAMP)*]. Visok nivo cAMP sprečava aktivaciju trombocita. Lokalno povećanje krvotoka usled vazodilatacije prouzrokovano PGI<sub>2</sub> može pomoći u sprečavanju formiranja agregacije trombocita, ograničavajući tako intravaskularni hemostazni odgovor. Proizvodi lipooksigenaze, proizvodi metabolizma endotelnog prostaglandina, takođe, inhibiraju adheziju trombocita. Enzimska aktivnost endotelne ektonukleotidaze (*ectonucleotidase*) ili adenosin-difosfataze, takođe, utiče na funkciju trombocita putem degradacije plazma ADP-a, koji aktivira trombocite i stimuliše njihovu agregaciju [1].

Endotelne ćelije, takođe, proizvode endotel-produkujući relaksirajući faktor [endothelium-derived relaxing factor (EDRF)], koji je identifikovan kao NO. Slično PGI<sub>2</sub>, NO je snažan inhibitor kontrakcija glatke muskulature i prouzrokuje vazodilataciju. NO, takođe, inhibiše agregaciju trombocita, stimuliše disagregaciju, inhibiše adheziju trombocita i monocita za endotelnu površinu, kao i proliferaciju glatkih mišićnih ćelija.

*Antikoagulacioni efekti endotela* su višestruki. Pored inhibicije adhezije i agregacije trombocita, intaktan vaskularni endotel, takođe, onemogućava enzim-ske reakcije koagulacije. Endotelne ćelije sintetišu heparinu slične glikozaminoglikane, koji imaju antikoagulantnu aktivnost. Heparin sulfat aktivira cirkulišući *antitrombin III* (AT III), koji onda efikasno neutrališe aktivisane faktore koagulacije XII, XI, X, IX, i II (trombin) na površini ćelije, ograničavajući tako produkciju trom-

bina. *Trombomodulin* je endotelni površinski ćelijski receptor koji veže trombin i inhibiše sposobnost enzima da cepa fibrinogen, dok ubrzava aktivaciju proteina C pomoću trombina više od 1000 puta [1]. Aktivisani protein C, opet, inaktivira *aktivne faktore Va i VIIIa* i povećava fibrinolizu, verovatno vezivanjem nekog inhibitora aktivatora plazminogena. Aktivnost proteina C se olakšava pomoću proteina S, koji funkcioniše kao kofaktor. Cirkulišući AT III, takođe, inaktivije trombin vezivanjem za trombomodulin, i ovo se ubrzava pomoću heparin sulfata. Vezivanje trombina za trombomodulin prouzrokuje gubitak koagulantnih efekata i povećava njihovu sposobnost za aktiviranje proteina C, koji deluje kao antikoagulant i inhibiše stvaranje tromba (trombogenezu).

*Fibrinolitički efekti endotela* ispoljavaju se na više načina. Endotel sintetiše i luči *aktivatore plazminogena*. Endotel je glavni *in vivo* izvor tkivnog aktivatora plazminogena [*tissue plasminogen activator* (tPA)], enzima koji konvertuje plazminogen u plazmin, opet enzim koji lizira fibrin. Efikasnost lokalne fibrinolize se, takođe, povećava vezivanjem površinskih receptora endotelnih ćelija za plazminogen. Ova lokalna fibrinoliza može povećati krvavljenje u nekih osetljivih bolesnika, kao i u bolesnika bez normalne produkcije inhibitora aktivatora plazminogena [*plasminogen activator inhibitors* (PAIs, PAI-1)].

Oštećenje zida krvnog suda može dovesti do povrede endotelnih ćelija, njihove disfunkcije ili gubitka i posledičnog formiranja krvnog ugruška ili tromba. Direktna povreda uključuje vaskularnu traumu, interventne endovaskularne ili radiološke procedure, termičko oštećenje, i hirurške procedure. Indirektna povreda endotelnih ćelija može nastati od virusa, bakterija, hlamidija, gljivica, imunskih kompleksa, nusprodukata pušenja, holesterola, povećanog homocisteina u krvi, lokalizovane turbulencije oko prostora stenoze, implantata, kao i enzima od aktivisanih trombocita i leukocita.

*Protrombotički efekti endotela* vezani su za dejstvo na trombocite, stimulaciju koagulacije, i antifibrinolitičke efekte. *Trombocitni efekti* su vezani za gubitak antitrombotičnih karakteristika endotela, udruženih sa stimulacijom endotelne prokoagulantne aktivnosti. Tako endotelne ćelije i pri povredi luče dodatno vWF, esencijalni kofaktor za vezivanje trombocita za kolagen i druge površine.

*Prokoagulacioni efekti endotela* mogu biti indukovani nizom faktora, uključujući bakterijske endotoksine, trombin, *interleukin-1* (IL-1), i faktor nekrose tumor-a [*tumor necrosis factor* (TNF)]. Oštećene endotelne ćelije eksprimuju tkivni faktor, koji onda deluje kao kofaktor sa faktorom VII za aktivaciju spoljne koagулacione kaskade.

*Antifibrinolitički efekti endotela*, pre svega, odnose se na oštećene endotelne ćelije, koje indukuju ekspresiju receptora koji vezuju koagulacione faktore, kao što stvaraju trombin i povećavaju lokalnu trombozu na svojoj površini. One sekretuju inhibitore aktivatora plazminogena (PAIs), koji vrši inhibiciju fibrinolize [1].

**Trombociti (krvne pločice).** Trombociti imaju centralnu ulogu u normalnoj hemostazi. Trombociti žive 8-11 dana, pri čemu se u cirkulaciji nalazi oko 70%, a u slezini oko 30% od ukupnog broja trombocita [9]. Dok normalno cirkulišu u neaktivisanom stanju, oni su glatki diskovi koji na membrani imaju brojne gliko-

proteinske receptore (npr., GPIb i GPIIb/IIIa) iz familije integrina. Oni sadrže tri vrste granula: (1) alfa granule; (2) guste granule; i (3) lizozomalne granule [10]. *Alfa granule* trombocita eksprimuju adhezionalni molekul P-selektin na svojoj membrani, sadrže proteine plazme (fibrinogen, albumin, fibronektin, koagulacione faktoare V i VIII), i trombocit- specifične proteine: trombocitni faktor 4 [*platelet factor 4* (heparin-vezujući hemokin)] i  $\beta$ -tromboglobulin ( $\beta$ -TG), kao i trombocitni (trombocit-dobijeni) faktor rasta [*platelet-derived growth factor (PDGF)*] i transformišući faktor rasta beta [*transforming growth factor  $\beta$  (TGF-  $\beta$ )*] [1,10]. *Guste granule* (*gusta tela*) ili  $\delta$  *granule* trombocita sadrže adeninske nukleotide adenozin difosfat [*adenosine diphosphate (ADP)*] i adenozin trifosfat [*adenosine triphosphate (ATP)*], ionizovani kalcijum ( $Ca^{2+}$ ), histamin, serotonin, i adrenalin [1]. *Lizozomalne granule* trombocita sadrže enzime (kisele hidrolaze) [10].

Posle povrede krvnog suda, trombociti se susreću sa sastojcima ECM-a koji se normalno nalaze ispod intaktnog endotela u formi kolagena (najvažniji), proteoglikana, fibronektina i ostalih adhezivnih glikoproteina. U kontaktu sa ECM-om, trombociti ispoljavaju tri opšte reakcije: (1) adheziju (*trombocit-površina interakciju*) i promenu oblika; (2) sekreciju (*reakciju oslobođanja aktivnih supstanci*); i (3) agregaciju (*trombocit-trombocit interakciju*) [1,10].

*Adhezija trombocita* se dešava pri povredi krvnog suda i u kontaktu sa veštačkim površinama [10]. Usled oštećenja zida krvnog suda, subendotelne strukture bivaju izložene dejstvu cirkulacije (krvnog toka i same krvi), što vodi adheziji trombocita, početnoj fazi u formiranju krvnog ugruška ili tromba. Trombociti sadrže nekoliko glikoproteinskih [*glycoprotein (GP)*] receptorskih molekula na njihovoј površini, koji se vežu za kolagen i adhezivne proteine lokalizovane u zidu krvnog suda. Glavni adhezivni proteini uključuju vWF, fibronektin, laminin, trombospondin, i vitronektin [2]. Trombocitni receptor, glikoprotein Ib [*glycoprotein Ib (GPIb)*], neaktivisanih trombocita veže se za vWF, koji se nalazi u subendotelu [2]. Ovom vezivanju nije potrebna aktivacija trombocita, što znači da je aktivacija nezavisna. Trombocitna interakcija GPIb-vWF zavisi od brzine torzije (*shear rate*), kao i od transporta trombocita do zida krvnog suda. Tako, brzine torzije (*shear rates*) u venama ispod  $650\text{ s}^{-1}$  ne stvaraju GPIb-vWF-zavisan adhezionalni mehanizam, kao što se dešava u arterijskom sistemu [1]. Adhezija trombocita se, takođe, poboljšava pomoću ostalih GP, sa fibrinogenom, fibrinom i subendotelnim kolagenom, koji služe kao supstrati [10]. Direktno vezivanje GPIa za kolagen ultimativno je posledica aktivacije trombocita i sekrecije mnogih supstanci. Adhezija trombocita za polimerizujući fibrin je potrebna za formiranje tromba i njegov rast. GPIIb:IIIa kompleks je fibrinogen receptor i odgovoran je za adheziju trombocita za fibrinsku mrežu [2]. Adhezija se ubrzava sa povećanjem broja kontaktnih mesta sa fibrinogenom i ostalim na površinu adsorbovanih adhezivnih proteina [10].

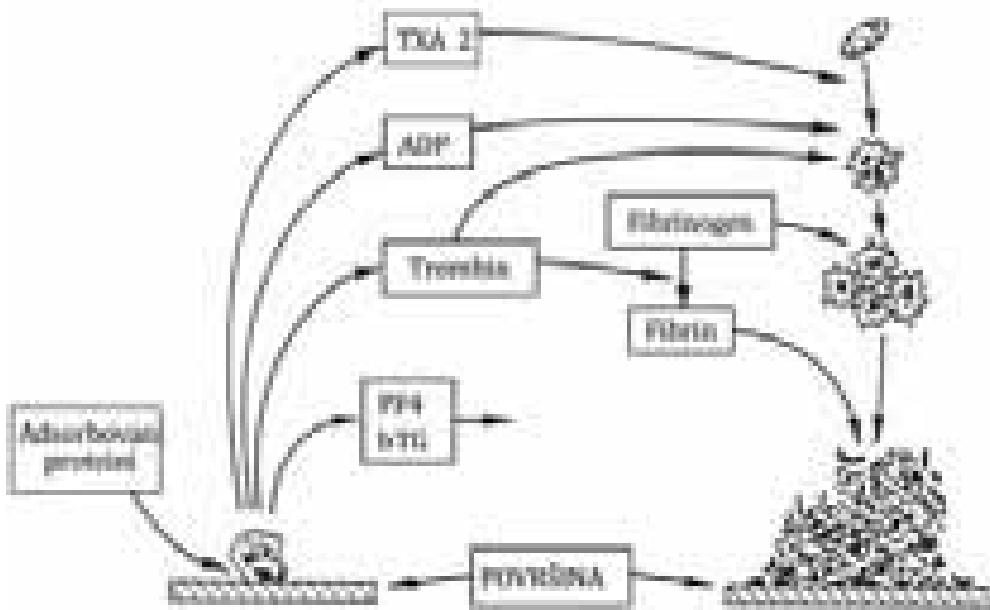
*Trombocitna sekrecija* se indukuje brojnim faktorima koji prouzrokuju agregaciju trombocita. Trombocitna sekrecija i agregacija verovatno se dešavaju zajedno *in vivo* i opisuju se zajedno kao *aktivacija trombocita*. Supstance koje se luče sekrecijom trombocita aktiviraju ostale trombocite i doprinose rastu tromba. Početni događaj u aktivaciji trombocita je vezivanje agonista, kao što su trombin ili ADP, za vanćelijski domen specifičnog trombocitnog membranskog receptora, koji za-

tim aktivira fosfolipazu C [*phospholipase C* (PLC)] [2]. PLC onda pokreće fosfoinozidni put kroz hidrolizu membranskog fosfolipidnog fosfatidilinozitol 4,5-bifosfata [*phosphatidylinositol 4,5-biphosphate* (PIP<sub>2</sub>)], koji je izvor za porast dva trombocitna sekundarna mesendžera, inozitol 1,4,5-trifosfat [*inositol 1,4,5-triphosphate* (IP<sub>3</sub>)] i diacilglicerol [*diacylglycerol* (DAG)] [2]. IP<sub>3</sub> indukuje oslobađanje kalcijuma iz trombocitnog gustog tubularnog sistema prouzrokujući povećanje citosolnog kalcijuma, koji je važna komponenta u aktivaciji trombocita. DAG aktivira protein kinazu C [*protein kinase C* (PKC)], koja zauzvrat potpomaže fosforilaciju proteina. Ovo vodi trombocitnoj sekreciji sa ekspresijom fibrinogen receptora, GPIIb:IIIa, uzrokujući agregaciju trombocita [2]. Ostali agonisti aktivacije trombocita uključuju kolagen, adrenalin (epinefrin), TXA<sub>2</sub>, i aktivirajući faktor trombocita [*platelet activating factor* (PAF)], koji prouzrokuje pražnjenje sadržaja gustih i α-granula trombocita [2]. Povećanje citosolnog Ca<sup>2+</sup> je verovatno završni put trombocitne sekrecije i jedna od ključnih karika agregacije trombocita [10].

*Aggregacija trombocita* dešava se istovremeno sa trombocitnom sekrecijom u nizu reakcija uključujući: (1) oslobođanje ADP iz gustih granula; (2) formiranje male količine trombina; i (3) aktivaciju trombocitnih biohemijskih procesa koji vode stvaranju TXA<sub>2</sub> [10]. Oslobođanje ADP, formiranje trombina, i stvaranje TXA<sub>2</sub> deluje zajednički u regrutovanju trombocita za rast trombocitnog aggregata. Stimulacija trombocita pomoću ovih agonista prouzrokuje izlaganje na površini trombocita aktivisanog GPIIb:IIIa receptora, koji potom veže proteine plazme za potpomaganje agregacije. Fibrinogen je navažniji u tom procesu, jer služi kao veza između agregisanih trombocita i vezivanje fibrinogena za taj (GPIIb:IIIa) njegov receptor, što je preduslov za agregaciju trombocita. Ova premošćavajuća veza je kalcijum zavisna i obuhvata neke od produkata trombocitnih α-granula, uključujući fibronektin, trombospondin, vitronektin, i vWF [2]. Ostali agonisti agregacije trombocita su TXA<sub>2</sub>, kolagen, trombin, i PAF. Trombin se direktno veže za trombinske receptore trombocita i ima ključnu ulogu u formiranju aggregata trombocita pomoću: (1) aktivacije trombocita, koji katalizuju proces stvaranja dodatnog trombina; (2) stimulacije oslobođanja ADP i stvaranja TXA<sub>2</sub>; i (3) stimulacije formiranja fibrina, koji stabilizuje trombocitni tromb (Sl. 6.1) [10].

Putevi sekrecije i agregacije trombocita verovatno se zbivaju kroz zajednički završni put, uključujući unutarćelijsku mobilizaciju kalcijuma iz trombocitnog gustog tubularnog sistema u citosol i vezivanje kalcijuma za kalmodulin. Posledica ovog procesa je aktivacija protein kinaza koja vodi agregaciji trombocita. Preuzimanje kalcijuma u gусте tubule zavisno je od cAMP-a. Lekovi koji povećavaju cAMP smanjuju mobilizaciju kalcijuma od svih agonista i tako inhibišu aktivaciju trombocita.

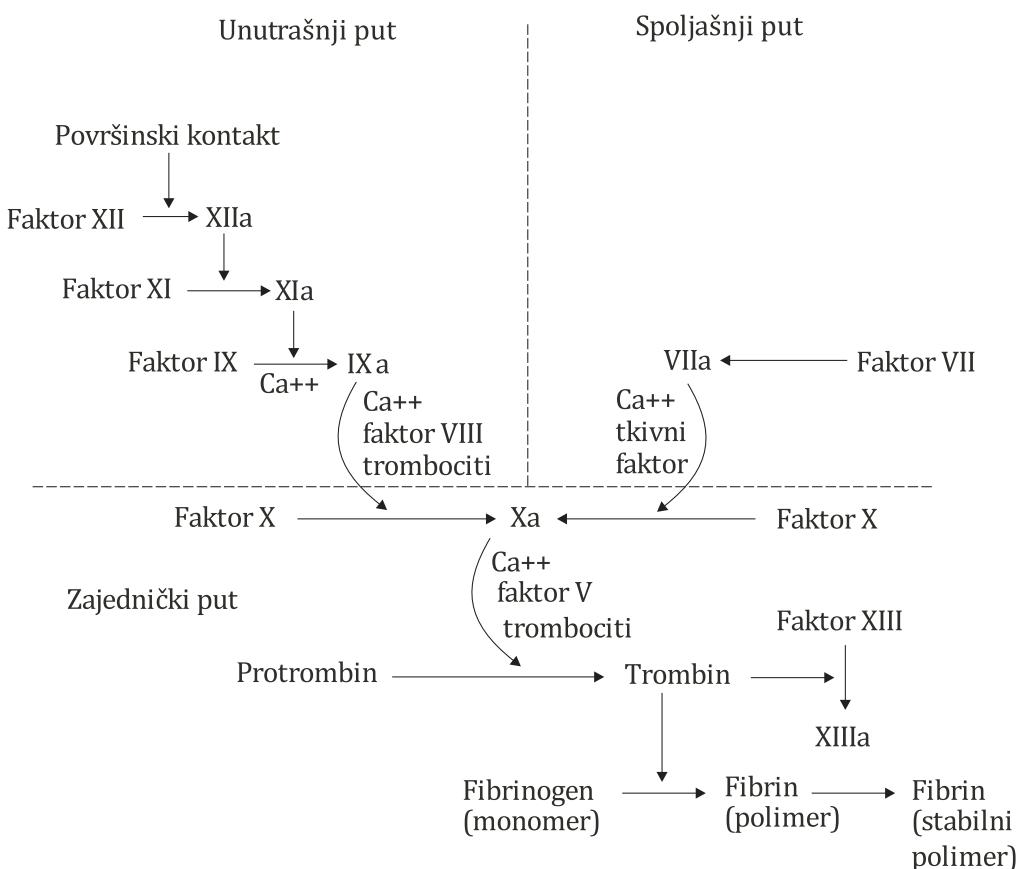
*Koagulantna aktivnost trombocita* se ispoljava pri agreagaciji, uključujući izlaganje negativno nanelektrisanih fosfolipida membrane (fosfatidilserin), koji ubrzavaju dva ključna procesa u koagulacionoj kaskadi: aktivaciju faktora X i konverziju protrombina u trombin [10]. Trombociti, takođe, olakšavaju proteolitičku aktivaciju koagulacionih faktora XII i XI. Površina agregisane mase trombocita tako služi kao mesto gde se trombin brzo formira u suvišku u odnosu na kapacitet neutrališućih antikoagulacionih faktora. Trombin, takođe, direktno aktivira trombocite i stvara polimerizaciju fibrina, koji adheriraju na površinu trombocitnog ugruška.



**SLIKA 6.1 Reakcija trombocita na veštačke površine [10].** Prateći adsorpciju proteina na površine, trombociti adheriraju i oslobađaju sadržaj iz  $\alpha$ -granula, uključujući trombocitni faktor 4 [platelet factor 4 (PF4)] i  $\beta$ -tromboglobulin ( $\beta$ -TG), kao i sadržaj gustih granula, uključujući adenozin difosfat [adenosine diphosphate (ADP)]. Trombin se stvara lokalno kroz koagulacione reakcije katalizovane pomoću prokoagulantnih fosfolipida površine trombocita. Tromboksan A2 (TXA2) se sintetiše iz prostaglandina H2 (PGH2) trombocita, nastalih u metabolizmu arahidonske kiseline. Izlučene komponente ADP, TXA2, i trombin regрутују dodatno cirkuliшуће trombocite u rastuću masu agregiranih trombocita. Pomoću trombina iz fibrinogena stvoreni fibrin stabilizuje trombocitnu masu.

**Koagulaciona kaskada.** Koagulacija predstavlja deo fiziološkog procesa koji vodi stvaranju trombina i formiranju fibrinskog ugruška. Koagulacija sa završnim formiranjem krvnog ugruška ili tromba prvo bitno započinje bifurkacionom kaskadom, kao dva različita puta proteolitičkih reakcija, unutrašnji i spoljašnji (Sl. 6.2) [10], u kojima učestvuje oko 20 različitih supstanci (Tabl. 6.1) [2,6,11,12], od kojih većinu čine plazma glikoproteini sintetisani u jetri [2]. *Unutrašnji put* proteolitičkih reakcija (*kontakt faktor put*) je nazvan zbog kaskadnih procesa koji se svi dešavaju u (*unutar*) krvi. *Spoljašnji put* proteolitičkih reakcija (*tkivni faktor put*) je nazvan tako zbog toga što se potrebni ćelijski elementi kaskadnih procesa nalaze izvan (*spolja*) krvi. Formiranje tromba uključuje odvojene procese unutrašnjeg i spoljašnjeg puta koji vode aktiviranju jednog zajedničkog faktora, faktora X, koji se označava Xa (slovo *a* označava *aktiviran faktor*).

U unutrašnjem putu, faktor XII se aktivira *kontaktom sa površinom* i veže, što biva praćeno sekvenčijalnom aktivacijom faktora XI, IX, X, i protrombina. Funkcija unutrašnjeg puta se određuje merenjem aktivisanog parcijalnog tromboplastinskog vremena [*activated partial thromboplastin time* (aPTT)]. U spoljašnjem putu, dolazi



SLIKA 6.2 Koagulaciona kaskada i mehanizmi interakcija koagulacionih faktora [10]; modifikovano.

do formiranja kompleksa između *tkivnog faktora* i faktora VII, koji onda biva praćen sekvencijalnom aktivacijom faktora VII, X, i trombina. Funkcija spoljašnjeg puta se određuje merenjem protrombinskog vremena [*prothrombin time* (PT)]. *Zajednički završni put* započinje aktivacijom koagulacionog faktora X.

Koagulacioni faktori, *in vivo*, uključeni u formiranje ugruška od tkivnog faktora su najvažniji u procesima hemostaze i tromboze. *Tkivni faktor* je normalan sastavni deo površine nevaskularnih ćelija i eksprimovan je na površini stimulisanih monocita i endotelnih ćelija. Ekstracelularni domen tkivnog faktora čini receptor faktora VII (faktor VII receptor), i izloženost površine ćelije eksprimuje tkivni faktor prema cirkulišućim proteinima plazme dovodeći do vezivanja faktora VII za tkivni faktor. Tako se stvara aktivisana forma faktora VII, faktor VIIa, koji aktivira faktore IX i X. Faktor Xa u kompleksu sa faktorom Va potom aktivira protrombin, takođe vezan za ćelijsku membranu. To vodi stvaranju trombina, koji cepa fibrinogen na monomerni fibrin. Monomerni fibrin se zatim polimerizuje formirajući fibrinski ugrušak.

**Vitamin K** je izuzetno važan za normalno funkcionisanje koagulacione kaskade. To je vitamin koji se normalno sintetiše u ljudskom organizmu, zahvaljujući

postojanju normalne crevne flore. Normalna flora, čiji mikrobi žive u harmoniji sa svojim domaćinom, zdravim njihovim nosiocem ne prouzrokujući bolest, veoma su imunogeni, kao što su gram-negativne bakterije. Zbog ukrštene reaktivnosti između srodnih bakterija, antitela produkovana pri odgovoru na komensalne (koji žive zajedno) organizme štite domaćina od mnogih patogenih mikroba. Članovi normalne flore stvaraju vitamin K, kofaktor esencijalan za sintezu koagulacionih faktora II, VII, X, i XI [14], kao i proteina C i S [1]. Bez ovog doprinosa normalne flore, ljudski koagulacioni sistem bio bi sasvim nemoćan [14].

Neke veštačke površine u kontaktu sa krvi mogu indukovati trombozu, embolizaciju, i smanjenje ili potrošnju trombocita i koagulacionih faktora plazme, kao i sistemske efekte aktivisanih koagulacionih i komplementnih produkata i trombocitne aktivacije. Ne postoji ni jedna sintetička ili modifikovana biološka površina rezistentna na trombozu (tromborezistentna) kao što je normalan, intaktan, endotel krvnih sudova [1]. Međutim, važno je razumeti da pod određenim okolnostima endotelne ćelije mogu biti „disfunkcionalne” i, mada su fizički intaktne, mogu ekspresionirati protrombotičke molekule i tako indukovati trombozu [15].

Tromboembolijske komplikacije su glavni uzročnik morbiditeta i mortaliteta u pacijenata sa kardiovaskularnim aparatima. Oba tromba, i primarni, trombocitni (beli) i sekundarni, fibrinski (crveni), formiraju se udruženo sa veštačkim zalisticima ili drugim kardiovaskularnim aparatima. Rast tromba i njegova sudbina zavise od odnosa trombogenih i antitrombogenih (zaštitnih) mehanizama. Trombogeni mehanizam sadržan je u Virhovljevom (*Virchow*) trijasu čiji su osnovni faktori hemodinamički (staza i turbulencija), krvni (sklonost pojačanom zgrušavanju krvi) i vaskularni (površinska trombogenost). Zbog turbulencije krvi stvara se u početku trombogeneze nestabilno jezgro, i to u samom dnu džepa zalistika. Njega prvobitno čine plazma proteini i trombociti, koji uz delovanje prokoagulacionih faktora i adheriranih trombocita, ispunjavaju dno zalistika. U ovoj početnoj fazi trombogeneze tromb je nestabilan i biva otopljen delovanjem zaštitnih mehanizama. Kako se vremenom stanje cirkulacije ne popravlja, na tom predilekcionom mestu, stvaraju se trombotički depoziti, koji čine *privremeni* ili primarni trombocitni (beli) tromb, od kojeg potom nastaje *trajni* ili sekundarni, fibrinski (crveni) tromb [3,5].

Ovakav razvoj procesa trombogeneze posledica je kontakta veštačkih (nefizioloških) površina sa krvotokom, pri čemu nastaju tri procesa protrombotičkih interakcija: 1) depozicija plazma proteina, 2) adhezija trombocita i leukocita, i 3) masivno formiranje fibrina, odnosno koagulacija krvi [16]. Svi organizmu strani materijali izloženi krvi spontano i brzo (u sekundama) bivaju obloženi (adsorbowani) tankim slojem plazma proteina, većinom fibrinogena, jer je najteži (340 kD) i najbolji adsorbens [9], služi kao veza između agregiranih trombocita [2], a izaziva i adheziju ćelija za endotel [17].

TABELA 6.1 Koagulacioni faktori [2, 6, 11, 12]; modifikovano

Faktor: broj/ sinonim	Alternativno ime	Glavne karakteristike	Glavni izvor lučenja	Mo- lek. masa (kD) <sup>a</sup>
I Ia	Fibrinogen Fibrin	Plazma globulin. Kompleksan protein.	Jetra	340
II IIa	Protrombin	Plazma $\alpha_2$ -globulin; sadrži N-terminal Gla residue; za sintezu u jetri potreban vitamin K.	Jetra	66
	Trombin	Serum proteaza.		
III (kofaktor)	Tkvni faktor; tkvni tromboplastin.	Transmembranski protein; integralni glikoprotein membrane; član tipa II familije citokinskih receptora; receptor za faktor VIIa; može biti prisutan u fosfolipidnoj membrani za prokoagulantnu aktivnost.	Većina tkiva (posebno placenta, pluća, mozak)	30
IV	$\text{Ca}^{2+}$	Kalcijumovi joni.	...	40,08 <sup>b</sup>
V Va <sup>c</sup> (ko-faktor)	Proakcelerin; labilni faktor; akcelerator globulin. Aktivna forma faktora V.	Protein kofaktor; plazma protein sintetizovan u jetri i deponovan u trombocitima; jednolančani protein. Heterodimer smešten zajedno pomoću jednog $\text{Ca}^{2+}$ jona; visoko homologan sa faktorom VIIa.	Jetra Endotelne ćelije	249
	Va <sup>c</sup>	Staromodan, zastareo, i izbačen.		
VII VIIa	Prokonvertin; stabilni faktor; serum protrombin konverzionalni akcelerator (SPCA). <sup>d</sup> Aktivna forma faktora VII.	Plazma protein; za sintezu u jetri potreban vitamin K.	Jetra	46
		Serum proteaza; endopeptidaza sa Gla reziduama.		
VIII VIIIa (kofaktor)	Antihemofilijski faktor (AHF); <sup>e</sup> faktor VIII prokoagulantna komponenta (FVIII:C). <sup>f</sup> Aktivna forma faktora VIII.	Plazma protein sa fosfolipid vezujućim domenom.	Jetra Endotelne ćelije	265
		Protein kofaktor; visoko homologan sa faktorom Va.		

IX	<i>Christmas</i> -ov faktor; plazma tromboplastin komponenta (PTC). <sup>g</sup>	Plazma protein; za sintezu u jetri potreban vitamin K.	Jetra	47
IXa	Aktivna forma faktora IX.	Proteaza; endopeptidaza sa Gla reziduama; disulfid-povezan heterodimer.		
X	<i>Stuart-Prower</i> -ov faktor.	Plazma glikoprotein; za sintezu u jetri potreban vitamin K.	Jetra	50
Xa	Aktivna forma faktora X.	Proteaza; endopeptidaza sa Gla reziduama.		
XI	Plazmin prethodnik tromboplastina; plazma tromboplastin preteča (PTA). <sup>h</sup>	Plazma protein produkovan u megakariocitima i deponovan u trombocitima.	Jetra Krvne pločice	136
XIa	Aktivna forma faktora XI.	Proteaza; endopeptidaza; disulfid-povezan homodimer.		
XII	<i>Hageman</i> -ov faktor (HAF). <sup>i</sup>	Plazma glikoprotein.	Jetra	67
XIIa	Aktivna forma faktora XII.	Proteaza; endopeptidaza.		
XIII	Fibrin stabilizirajući faktor (FSF); <sup>j</sup> proglutamidaza.	Plazma protein deponovan u trombocitima; transglutaminaza.	Krvne pločice	301
XIIIa	Aktivna forma faktora XIII.	Transpeptidaza; tetramer od dva A lanca i dva B lanca.		
Visoko-molekularni kininogen HMWK	Kininogen velike molekulske težine; <sup>k</sup> <i>Fitzgerald</i> -ov faktor.	Receptor protein; plazma protein deponovan u trombocitima; prekursor bradikinina; kalikrein odseca bradikinin od HMWK.	Jetra Krvne pločice	70
Plazma prekalikrein	<i>Fletcher</i> -ov faktor; plazma kalikrein prekursor.	Plazma protein; Zimogen/aktivator faktora XII; XIIa konverte prekalikrein u kalikrein sa HMWK kao učvršćivačem.	Jetra	69
Plazma kalikrein		Serum proteaza; kalikrein odseca bradikinin od HMWK; dejstvom na kininogen oslobađa vazodilatatore kinine.		
fon Vile-brand-ov faktor	vWF	Veliki multimerni plazma glikoprotein poreklom iz endotelnih ćelija i megakariocita (trombocita); stabilizuje faktor VIIIa; olakšava adheziju i agregaciju trombocita.	Endotelne ćelije Krvne pločice	$\sim 10^4$ jedna subjedinica 225

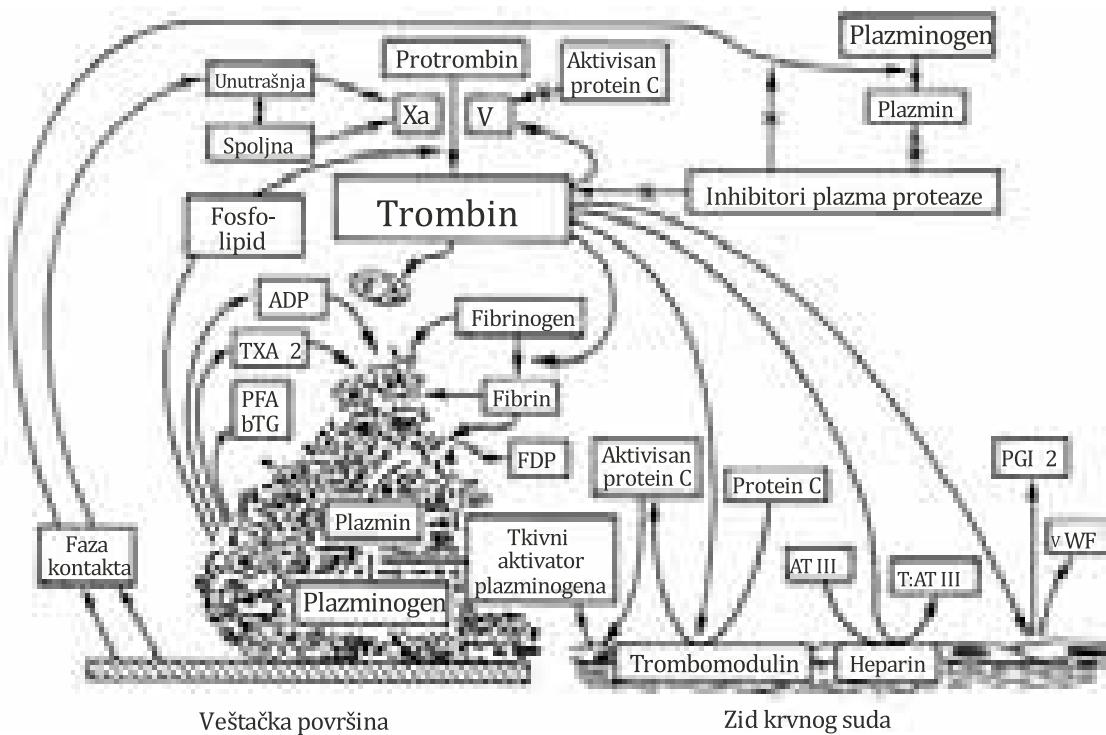
**Skraćenice i objašnjenja:** <sup>a</sup> Molekulska masa [*molecular mass* (MM)] čestice se izražava u jedinicama daltonima [*daltons* (D)], koji se definišu kao 1/12 mase  $^{12}\text{C}$  atoma [*atomic mass units* (amu)]. Alternativno, ova mera može se izražavati kao molekulska težina [*molecular weight* (MW)], koja se definiše kao odnos mase čestice prema 1/12 mase  $^{12}\text{C}$  atoma i označava simbolom  $Mr$  kao relativna molekulska masa [*relative molecular mass* ( $Mr$ )]. Kako se u oba slučaja nomenklatura odnosi na molekulsku masu, češće se koristi samo termin *molekulska masa* [13]; <sup>b</sup> Atomska težina kalcijuma ( $\text{Ca}^{2+}$ ) je 40,08 u odnosu na [ugljenik ( $^{12}\text{C}$ )]; <sup>c</sup> Faktor Va je jednom nazvan faktor VI; zbog toga *nema* faktora VI; <sup>d</sup>Serum protrombin konverzionalni akcelerator [*serum prothrombin conversion accelerator* (SPCA)]; <sup>e</sup>Antihemofilijski faktor [*antihemophilic factor* (AHF)]; <sup>f</sup>Faktor VIII prokoagulantna komponenta [*factor VIII procoagulant component* (FVIII:C)]; <sup>g</sup>Plazma tromboplastin komponenta [*plasma thromboplastin component* (PTC)]; <sup>h</sup>Plazmin prethodnik tromboplastina ili plazma tromboplastin preteča [*plasma thromboplastin antecedent* (PTA)]; <sup>i</sup> *Hageman* faktor [*Hageman factor* (HAF)]; <sup>j</sup> Fibrin stabilizirajući faktor [*fibrin stabilizing factor* (FSF)]; <sup>k</sup>Kininogen velike molekulske težine [*high molecular weight kininogen* (HMWK)].

Ovaj proces humoralne trombogeneze biva praćen celularnom trombogenezom, počevši od adhezije trombocita do prvi adsorbovanih proteina plazme posred fibrinogena. Ako je stanje relativne staze krvi prisutno, počinje faza formiranja fibrinskih vlakana u koagulacionoj kaskadi i stvaranje trajnog, fibrinskog tromba umesto privremenog, trombocitnog tromba.

U trombogenoj reakciji na veštačke površine, trombociti imaju primarnu regulatornu ulogu. Adhezija trombocita za veštačke površine izuzetno mnogo liči na adheziju za vaskularni subendotel ogoličen povredom. Iz tih razloga, pacijenti sa kardiovaskularnim tretmanima ili aparatima moraju da uzimaju antikoagulantne lekove (sistemske ili oralne antikoagulanse). Najčešće su to inhibitori trombina, među kojima su tzv. kumarinski antikoagulansi, varfarin (*coumadin*) i dikumarol (*dicoumarol*), koji inhibišu stvaranje fibrina, ali ne i trombocitima posredovanu trombozu [18]. Stoga se moraju uzimati antitrombocitni lekovi, od kojih je najstariji i najpoznatiji aspirin. U današnjoj kliničkoj praksi sve više se umesto ovih lekova primenjuju drugi, mnogo efikasniji, ali neuporedivo skuplji i manje bezbedni lekovi, kao što su monoklonalna antitela, rekombinantni i hemijski sintetisani peptidi [18].

## 6.2 KONTROLNI MEHANIZMI KOAGULACIJE KRVI

Kardiovaskularni sistem sa svojim komponentama (ćelijskim i tečnim) normalno obezbeđuje mehanizme za kontrolu koagulacije i sprečavanje eventualnog nastanka i nepoželjnog širenja već nastalog krvnog ugruška. Postoje najmanje četiri tipa mehanizama pomoću kojih se ostvaruje kontrola koagulacije [10]. *Prvo*, krvotok može *redukovati* lokalizovanu koncentraciju prekursora i otkloniti aktivisane supstance pomoću dilucije (razvodnjavanja) na veći volumen, sa sledstvenim eliminisanjem iz cirkulacije tokom prolaska kroz "laboratoriju organizma", jetru. *Drugo*, brzina mnogih koagulacionih reakcija je velika samo kada im površina služi kao katalizator. Ove reakcije uključuju kontaktne reakcije, kao što je aktivacija faktora X pomoću faktora VII-tkvni faktor na mestu povrede, kao i reakcije koje se ubrzavaju



*SLIKA 6.3 Integrirane reakcije hemostaze između površine stranog tela i trombocita, koagulacionih faktora, vaskularnog endotela, i fibrinolitičkog sistema [10].*

vaju pomoću lokalnih depozita trombocitnih masa (aktivacija faktora X i protrombina). Treće, postoje prirodni inhibitori koagulacionih enzima, kao što je AT III, koji je snažan inhibitor trombina i drugih koagulacionih enzima. Ovi prirodni inhibitori koagulacije čine antikoagulacione sisteme, koji kontrolišu koagulaciju, sprečavajući normalno njene nepoželjne efekte.

**Antikoagulacioni sistemi.** Trombociti, faktori koagulacije, i endotelne ćelije čine interakcijski sistem čije komponente na više načina ostvaruju lokalizovanu hemostazu, dok istovremeno sprečavaju opštu trombozu ili diseminovanu intravaskularnu koagulaciju (DIK) (Slika 6.3) [10]. U ovom kontrolnom sistemu, endotelne ćelije su glavni izvor supstanci koje obezbeđuju kontrolne mehanizme za održavanje normalne tečne sredine u krvotoku. Supstance koje luče endotelne ćelije dele se na dve glavne vrste: (1) parakrini faktori; i (2) antikoagulacioni faktori.

**Parakrini faktori.** Endotelne ćelije, kao što je rečeno, sintetišu i luče PGI<sub>2</sub>, koji potpomaže vazodilataciju i time poboljšava krvotok, i ima inhibitorno dejstvo na aktivaciju i agregaciju trombocita. Stimulisane trombinom, endotelne ćelije, takođe, sintetišu i luče NO, koji inhibira adheziju i agregaciju trombocita. Kako su aktivacija, adhezija i agregacija trombocita preduslov za trombozu, ovi faktori redukuju veličinu i dužinu procesa zgrušavanja. Uostalom, organizam ima mehanizme za ograničavanje formiranja tromba, kao i za njegovu razgradnju nakon stvaranja.

**Antikoagulacioni faktori.** Kada se aktivira koagulaciona kaskada može se ograničiti na mestu povrede sprečavajući stvaranje tromba. Pored ograničavajućeg faktora aktivacije na mestima izloženim fosfolipidima, proces zgrušavanja se, takođe, reguliše pomoću tri tipa prirodnih antikoagulanata: (1) antitrombina (npr., AT III); (2) proteina C i S (dva vitamin K-zavisna proteina); i (3) inhibitora puta tkivnog faktora [*tissue factor pathway inhibitor* (TFPI)], proteina sekretovanog iz endotela (i ostalih tipova ćelija), koji se veže za Xa i tkivni faktor-VIIa, inaktivirajući ih, što brzo ograničava koagulaciju [1].

Postoje najmanje tri različita mehanizma koja sprečavaju formiranje tromba, njegov abnormalan rast i prekomerno širenje [1,2]. Defekti u bilo kojem od ovih prirodnih antikoagulantnih mehanizama prouzrokuju nenormalno visoku učestalostrlost tromboze ili hiperkoagulabilnost krvi, posebno u venama.

*Prvi inhibitorni mehanizam* deluje tokom početne faze zgrušavanja i koristi plazma protein, TFPI, kojeg uglavnom sekretuju endotelne ćelije. Inhibitor puta tkivnog faktora (TFPI) se veže za tri-molekularni kompleks (tkivni faktor/faktor VIIa/Ca<sup>2+</sup>) u spoljašnjem putu i inhibiše sposobnost ovog kompleksa za stvaranje faktora Xa [1]. Ovaj mehanizam pokazuje da spoljašnji put sam može stvoriti samo malu količinu trombina.

*Drugi inhibitorni mehanizam* se uključuje pomoću trombina. Trombin se veže za glikozaminoglikanski produkt endotelnih ćelija, trombomodulin [*thrombomodulin* (THM)], u stvari, trombin-receptor na endotelnim ćelijama. Ovo vezivanje eliminiše sve trombinske tromb-produkujuće, prokoagulantne efekte, kao i trombin iz cirkulacije, inhibirajući time procese koagulacije i formiranje tromba. Osim toga, vezivanje trombina za THM prouzrokuje povezivanje trombina za jedan poseban plazma protein, protein C. Za aktivaciju proteina C potrebno je da se trombin prethodno veže za njegov receptor, THM. Vezivanjem za trombin, aktivira se protein C, koji u kombinaciji sa još jednim plazma proteinom kao kofaktorom (protein S), potom inaktivise faktore VIIIa i Va. Trombin, tako, *direktno aktivise* faktore VIII i V, i *indirektno ih inaktivise* preko proteina C. Time ispoljava stimulišuće i inhibitorne efekte na puteve zgrušavanja krvi.

Trombin je centralna proteaza koagulacione kaskade odgovorna za sledeća prokoagulantna dejstva: (1) cepta fibrinogen na monomere fibrina; (2) aktivise faktore zgrušavanja XI, VIII, V, i XIII; 3) stimuliše aktivaciju trombocita. Trombin ispoljava i antikoagulantne efekte: aktivira protein C, koji deaktivira faktore zgrušavanja VIIIa i Va.

*Treći prirodni antikoagulans* je plazma protein, antitrombin III [*antithrombin III* (AT III)], koji inaktivira trombin i nekoliko drugih koagulacionih faktora. To se dešava tako što se cirkulišući AT III aktivise kada se veže za heparin, sulfatni glikozaminoglikan, koji se nalazi na površini endotelnih ćelija. Mada AT III može inhibisati trombin i Xa u odsustvu heparina, vezivanje heparina, izlučenog iz mastocita uglavnom usled povrede, povećava aktivnost AT III nekoliko stotina puta, a time inhibiciju trombina oko 9000 puta i inhibiciju Xa oko 17000 puta [6]. Na taj način, AT III sprečava širenje tromba brzom inaktivacijom veznog mesta svih aktivnih proteaza koagulacionog sistema, osim VIIa.

Svi antikoagulacioni faktori: TFPI, protein C, i AT III, funkcionišu u pravcu ograničenja formiranja tromba. Endotelne ćelije sintetišu i luče neke od antikoagulacionih faktora, umešane u koagulacionu kaskadu koja stvara fibrin (Tabl. 6.2) [2, 6, 11, 12].

*TABELA 6.2 Antikoagulacioni faktori [2, 6, 11, 12]; modifikovano.*

Faktor: ime/sinonim	Alternativno ime	Glavne karakteristike	Glavni izvor lučenja	Molek. masa (kD)
Antikonvertin	Inhibitor puta tkivnog faktora (TFPI ili LACI) <sup>a</sup> .	Proteaza inhibitor produkovani endotelnim ćelijama; GPI-vezan za ćelijsku membranu.	Endotelne ćelije	32
Antitrombin III	AT III	Plazma protein; serum proteaze inhibitor; član serpin familije <sup>b</sup> ; inhibiše faktor Xa i trombin, i verovatno faktoare XIIa, XIa, i IXa; heparan i heparin povećavaju njegovo inhibitorno dejstvo.	Jetra	58
Protein Z-zavisan proteaze inhibitor <sup>c</sup> ; protein Z inhibitor	ZPI	Plazma protein; u kontaktu sa proteinom Z (kofaktor sa Gla-sadržavajući kofaktor za protein Z inhibitor), Ca <sup>2+</sup> i membranom stvara kompleks koji inhibiše samo Xa, ali ne i ostale proteaze.	Jetra	72
Trombomodulin (kofaktor) <sup>d</sup>	THM	Glikozaminoglikan na površini endotelne ćelije; receptor za trombin; veže trombin i pokreće aktivaciju proteina C.	Endotelne ćelije	74
Protein C	Antikoagulant protein C; autoprotrombin IIA.	Plazma protein; endopeptidaza sa Gla reziduama; za sintezu u jetri potreban vitamin K.	Jetra	62
Protein Ca	Aktivna forma proteina C.	Serum proteaza; disulfid-vezan heterodimer.		
Protein S (kofaktor)		Plazma protein; za sintezu u jetri potreban vitamin K; kofaktor za protein C, i sa Gla reziduama.	Jetra	75

**Skraćenice i objašnjenja:** <sup>a</sup>Inhibitor puta tkivnog faktora [*tissue factor pathway inhibitor* (TFPI)], poznat kao lipoprotein-udružen koagulacioni faktor [*lipoprotein-associated coagulation inhibitor* (LACI)]; <sup>b</sup>Inhibitor serum proteinaze [*serine proteinase inhibitor* (serpin)] familije proteina; <sup>c</sup>Protein Z-zavisan proteaze inhibitor [*protein Z-dependent protease inhibitor* (ZPI)]; <sup>d</sup>Trombomodulin [*thrombomodulin* (THM)].

TABELA 6.3 Fibrinolitički faktori [2, 6, 11-13]; modifikovano.

Faktor: ime/sinonim	Alternativno ime	Glavne karakteristike	Glavni izvor lučenja	Molek. masa (kD)
Tkvivi aktivator plazminogena; tkivni tip aktivatora plazminogena	t-PA <sup>a</sup> TPA	Serum proteaza; katalizator hidrolize plazminogena na spoju između N-terminalnog dela teškog lanca i C-terminalnog dela lakog lanca; N kraj sadrži dve strukturne petlje, spojene tzv. kringle domene koji interreaguju sa fibrinom.	Endotelne ćelije	72
Urokinazni aktivator plazminogena; urokinazni tip aktivatora plazminogena.	u-PA <sup>b</sup>	Serum proteaza; slično t-PA, konvertuje plazminogen do aktivne proteaze plazmina uz prethodno vezivanje za svoj receptor u-PAR <sup>c</sup> .	Bubrezi	54
Receptor urokinaznog (tipa) aktivatora plazminogena	u-PAR <sup>c</sup>	Receptor na površini ćelije; veže se za u-PA i aktivira ga.	Endotelne ćelije	?
Plazminogen	PLG	Plazma protein; aktiviraju ga enzimi urokinaza i t-PA; daje plazmatsku serum proteazu, plazmin, koji cepa fibrin (fibrinoliza).	Jetra	86
Plazmin	Fibrinolizin	Serum proteaza; cepa fibrin i fibrinogen; prekida formiranje tromba i stvara fibrinske degradacione produkte koji inhibišu trombin.	Jetra	?
Inhibitor-1 aktivatora plazminogena	PAI-1 <sup>d</sup>	Član inhibitor serum proteinaze (serpin) <sup>e</sup> familije proteina; inhibiše obe vrste t-PA.	Jetra	?
Inhibitor-2 aktivatora plazminogena	PAI-2 <sup>f</sup>	Član inhibitor serum proteinaze (serpin) familije proteina; inhibiše uglavnom u-PA.	Jetra	?
$\alpha_2$ -antiplazmin	$\alpha_2$ -AP <sup>g</sup>	Glikoprotein; serpin koji jedini inhibiše slobodni i delimično vezani plazmin.	Jetra	70

**Skraćenice i objašnjenja:** <sup>a</sup>Tkvivi aktivator plazminogena [*tissue-type plasminogen activator* (t-PA)]; <sup>b</sup>Urokinazni aktivator plazminogena [*urokinase-type plasminogen activator* (u-PA)]; <sup>c</sup>Receptor urokinaznog aktivatora plazminogena [*urokinase-type plasminogen activator receptor* (u-PAR)]; <sup>d</sup>Inhibitor-1 aktivatora plazminogena [*plasminogen activator inhibitor-1* (PAI-1)]; <sup>e</sup>Inhibitor serum proteinaze [*serine proteinase inhibitor* (serpin)] familije proteina; <sup>f</sup>Inhibitor-2 aktivatora plazminogena [*plasminogen activator inhibitor-2* (PAI-2)]; <sup>g</sup> $\alpha_2$ -antiplazmin [*alpha<sub>2</sub>-antiplasmin* ( $\alpha_2$ -AP)].

**Fibrinolitički sistem.** Fibrinoliza je prirodni proces usmeren na održavanje prolaznosti krvnih sudova razgradnjom fibrinskih depozita. U cirkulišućoj krvi fibrinolitička aktivnost se dešava kada se  $\beta$ -globin plazminogen konvertuje u aktivni proteolitički enzim, plazmin, pomoću brojnih aktivatora plazminogena sintetisanih pomoću endotelnih ćelija, ali i ćelija drugih tkiva (Tabl. 6.3) [2, 6, 11-13]. Plazmin potom razgrađuje fibrin hidrolizom u solubilne polipeptide, fibrinske degradacione produkte.

Interakcija između komponenata fibrinolitičkog sistema značajna je u lokalnom okruženju krvnog ugruška. Plazminogen i tPA vode poreklo od okolnog endotela i vežu se specifično za fibrin, dok tPA konverte za ugrušak vezan plazminogen u plazmin. Nativni cirkulišući Glu-plazminogen [*Glutamic acid-plasminogen* (Glu-plasminogen)] se, takođe, cepta na Lys-plazminogen [*Lysine-plasminogen* (Lys-plasminogen)], i ima veliki afinitet za fibrin [2, 6, 11-13]. Posle vezivanja za ugrušak, Lys-plazminogen se mnogo lakše aktivira u plazmin nego Glu-plazminogen.

Plazmin koji je vezan za fibrin delimično je zaštićen od inhibitornog uticaja  $\alpha_2$ -antiplazmina, koji je glavni cirkulišući inhibitor plazmina. Plazmin se oslobađa posle fibrinolize, gde se brzo neutrališe  $\alpha_2$ -antiplazminom, uz ograničenje prekomerne inaktivacije pomoću  $\alpha_2$ -makroglobulina. Kada su oba ova inhibitora prekomerno zastupljena, što je moguće tokom trombolitičke terapije, onda se dešava degradacija koagulacionih faktora plazme i fibrinogena. Time se stvaraju uslovi za pojavu krvavljenja.

Endotel ima važnu ulogu u modulaciji fibrinolize *in vivo*. Endotelne ćelije koje su izložene trombinu se stimulišu za sintezu tPA i PAI-1. Od njihovih efekata, sinteza PAI-1 više vodi smanjenju fibrinolitičke aktivnosti.

**Komplement.** Sistem proteina komplementa primarno učestvuje u imunskom odgovoru na prisustvo stranih supstanci u organizmu, ostvarujući svoju ulogu uglavnom kao cirkulišući proteini u mehanizmima urođenog i, indirektno, adaptivnog (stečenog) imuniteta [19, 20]. Komplement se normalno aktivira pomoću kompleksa antigen-antitelo, kao i nekih antigena, putem lanca uzastopno povezanih enzimskih reakcija [21, 22], sličnih koagulacionom i fibrinolitičkom sistemu. Pošto postoje brojne interakcije između sistema komplementa, koagulacionog i fibrinolitičkog sistema, aktivacija komplementa postaje problem u kontaktu sa veštačkim površinama biomaterijala. Primećeno je da medicinski aparati sa velikim površinama (npr., hemodializatori) mogu prouzrokovati: (1) recipročne reakcije aktivacije između enzima komplementa i leukocita; i (2) aktivaciju komplementa, koja može posredovati u adheziji trombocita i leukocita na veštačke površine [10].

**Leukociti.** Primarna uloga leukocita je njihovo učešće u odbrani organizma od dejstva stranih supstanci. Razne vrste leukocita ostvaruju svoje funkcije u zapaljenju, infekcijama, oštećenju tkiva i tkivnoj reparaciji, kao i u ćelijskom odgovoru krvi na prisustvo stranih supstanci. Interakcija leukocita sa veštačkim površinama biomaterijala ostvaruje se pomoću još nedovoljno razjašnjenih mehanizama aktivacije komplementa, koagulacionih, fibrinolitičkih, kao i drugih enzimskih sistema. Rezultat te interakcije se ispoljava kroz prokoagulantne, fibrinolitičke, i inflamatorne aktivnosti leukocita [10]. Tako, naprimjer, stimulisani monociti izlažu na svo-

joj površini tkivni faktor, koji može započeti spoljašnji put koagulacije krvi [10]. Neutrofili mogu doprineti razgradnji ugruška pomoću lučenja fibrinolitičkih enzima (npr., neutrofilne elastaze) [10]. Interakcija leukocita sa biomaterijalima velike površine može biti vrlo snažna, posebno ako se aktivira komplement, rezultujući njihovim smanjenjem u krvotoku. Aktivisani leukociti, kroz svoje enzimske i druge delatnosti, mogu prouzrokovati poremećaj funkcije organa u drugim delovima tela. Tako, opšta i specifična uloga leukocita i njihovih mehanizama u trombozi i trombolizi, kao i njihove interakcije sa ostalim putevima, ostaju predmet budućih hematoloških i imunoloških istraživanja.

**Eritrociti.** Eritrociti se obično smatraju pasivnim učesnicima u procesima hemostaze i tromboze. Međutim, pod određenim okolnostima, kada je mali pritisak ili venski tok, eritrociti mogu formirati veliki deo od ukupne mase tromba. Koncentracija i kretanje eritrocita ima važne mehaničke efekte na difuzioni transport krvnih elemenata. U tečnoj krvi, naprimjer, kretanje eritrocita može povećati efektivnu masu trombocita za nekoliko redova veličine [10]. U nekim okolnostima, eritrociti mogu izlučiti hemijske faktore koji utiču na reaktivnost trombocita [10]. Proces direktnog pričvršćivanja eritrocita za veštačke površine je minimalan i ima neznatnu važnost za interakcije između krvi i biomaterijala.

## 6.3 PITANJA ZA REKAPITULACIJU

- 6.1 Šta je hemostaza?
- 6.2 Šta je tromboza?
- 6.3 Koje su tri glavne komponente hemostaze?
- 6.4 Pri povredi krvnog suda ili tkiva, koji je glavni mehanizam za zaustavljanje krvavljenja?
- 6.5 Koji su fiziološki efekti endotela?
- 6.6 Iz kojih granula trombociti normalno luče svoje medijatore?
- 6.7 Šta je najvažnije za rast trombocitnog agregata?
- 6.8 Šime se aktivira koagulaciona kaskada?
- 6.9 Šta igra centralnu ulogu u mehanizmima hemostaze i njenim interakcijama sa drugim sistemima?
- 6.10 Šta je najmoćniji antikoagulacioni faktor?

## 6.4 LITERATURA

1. R. N. Michell, Hemodynamic Disorders, Thromboembolic Disease, and Shock, in: V. Kumar, A.K., Abbas, N. Fausto (eds.), *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*, 7th Ed. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 1.4.
2. D. Voet, J.G. Voet, Blood Clotting, in: *Biochemistry*, 3nd Ed. (John Wiley & Sons, New York, 2005), Sect. 35.1.

3. I. Andreis, Poremećaji zgrušavanja krvi, u: S. Gamulin, M. Marušić, Z. Kovač (urednici), *Patofiziologija*. Šesto, obnovljeno i izmijenjeno izdanje. (Medicinska naklada, Zagreb, 2005), Knjiga prva. Poglavlje 26. Odjeljak 26.3.
4. Z. Kovač, Trombogeničke mikroangiopatije, u: S. Gamulin, M. Marušić, Z. Kovač (urednici), *Patofiziologija*. Šesto, obnovljeno i izmijenjeno izdanje. (Medicinska naklada, Zagreb, 2005), Knjiga prva. Poglavlje 26. Odjeljak 26.3.2.3.
5. I. Tonković, Z. Kružić, Poremećaji lokalne prokrvljenosti tkiva. u: S. Gamulin, M. Marušić, Z. Kovač (urednici), *Patofiziologija*. Šesto, obnovljeno i izmijenjeno izdanje. (Medicinska naklada, Zagreb, 2005), Knjiga prva. Poglavlje 28. Odjeljak 28.4.
6. T.E. Smith, Molecular Cell Biology, in: T.M. Devlin (ed.), *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations*, 5th Ed. (Wiley-Liss/John Wiley & Sons, New York, 2002), Sect. 5.23.5.
7. J. Folkman J, Angiogeneza, prevod, u: E. Braunwald, A.S. Fauci, D.L. Kasper, S.L. Hauser, D.L. Longo, J.L. Jameson (urednici), *Harissonova načela interne medicine*. 15. izdanje. (Bardfin & Romanov, Beograd - Banja Luka, 2004), Knjiga 1. Drigi šesti deo. Poglavlje 83.
8. E.L. Boulpaep, The Microcirculation, in: W.F. Boron, E.L. Boulpaep (eds.), *Medical physiology: a cellular and molecular approach*. Updated-edition. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 4.19.
9. V.B. Đorđević, Biohemija krvi, u: D. Koraćević, G. Bjelaković, V.B. Đorđević, J. Nikolić, D.D. Pavlović, G. Kocić (urednici), *Biohemija*. 4. izmenjeno i dopunjeno izdanje. (Savremena administracija, Beograd, 2006), Poglavlje XII.
10. S.R. Hanson, Blood Coagulation and Blood-Materials Interactions, in: B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.4.6.
11. A. Vander, J. Sherman, D. Luciano, *Human Physiology: The Mechanisms of Body Function*. International edition. (WCB/McGraw-Hill, Boston, 1998), Part III. Chapter 14. Section D and G.
12. E.L. Boulpaep, Organization of the Cardiovascular System, in: W.F. Boron, E.L. Boulpaep (eds.), *Medical physiology: a cellular and molecular approach*. Updated-edition. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 4.17.
13. Voet D., Voet J.G.: Life. In: Biochemistry. 3rd ed. Chapter 1. (John Wiley & Sons, Inc., New York, 2004), Section 1-1.
14. V. Del Bene, Normal flora, in: G. Virella (ed.), *Microbiology and infectious diseases*, 3rd Ed. (Williams & Wilkins, Baltimore, 1997), Sect. 3.11.
15. P.O. Bonetti, L.O. Lerman, A. Lerman, Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 23 (2003) 168-175.
16. F.J. Schoen, Introduction, in: B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.4.1.
17. V.B. Đorđević, Proteini akutne faze, u: D. Koraćević, G. Bjelaković, V.B. Đorđević, J. Nikolić, D.D. Pavlović, G. Kocić (urednici), *Biohemija*. 4. izmenjeno i dopunjeno izdanje. (Savremena administracija, Beograd, 2006), Dodatak poglavju XII.

18. R.I. Handin, Antikoagulantna, fibrinolitička i antitrombocitna terapija, prevod, u: E. Braunwald, A.S. Fauci, D.L. Kasper, S.L. Hauser, D.L. Longo, J.L. Jameson (urednici), *Harrisonova načela interne medicine*. 15. izdanje. (Bard-fin & Romanov, Beograd - Banja Luka, 2004), Knjiga 1. Drigi šesti deo. Odeljak 1. Poglavlje 118.
19. R.N. Mitchell, Innate and Adaptive Immunity: The Immune Response to Foreign Materials, in: B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.4.3.
20. T.G. Parslow, D.F Bainton, Innate Immunity, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th Ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 1.2.
21. R.J. Johnson, The Complement System, in: B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.4.4.
22. K.M. Cunnion, E. Wagner, M.M. Frank, Complement & Kinin, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 1.12.

---

## SISTEMSKA TOKSIČNOST I HIPERSENZITIVNOST, TUMOROGENEZA, INFEKCIJE<sup>1</sup>

Veštačka implantatna sredstva sadrže različite metalne legure, polimere, keramike, hidrogelove, ili delove koji su namenjeni za razne primene i sa raznovrsnim svojstvima. Sa izuzetkom sistema za oslobođanje lekova, konaca i drugih u telu rastvarajućih sistema od biomaterijala, implantatna sredstva su napravljena sa namerom da budu otporna na hemijsku i biohemijsku razgradnju i da, pritom, minimalno izlučuju svoje strukturne komponente ili aditive. Međutim, na sintetička sredstva utiču hemijski i, u nekim slučajevima, enzimski procesi, otpuštajući komponente biomaterijala u okolno tkivo. Pošto ne postoji prirodni mehanizam oporavka biomaterijala paralelan oporavku prirodnih tkiva, razgradnja (biodegradacija) je "jednosmeran" proces koji donosi mikroskopski i makroskopski vidljive površinske promene strukture sredstva, ponekad ojačane biomehaničkim i bioelektričnim uslovima u kojima su se sredstva odupirala dejству sila [1]. Sa izuzetkom patološke kalcifikacije određenih polimerskih implantata, promene površine ne moraju biti značajne za mehaničku otpornost implantata, dok u suprotnom oslobođene supstance veoma često imaju biološke efekte na okolna tkiva ili, moguće, na druge udaljene lokacije.

### 7.1 SISTEMSKA TOKSIČNOST I HIPERSENZITIVNOST

*Sistemski i udaljeni efekti biomaterijala* su zapaženi pomoću transporta fagocitovanih čestica sa velike udaljenosti do regionalnih limfnih čvorova i pluća. Kao posledica migriranja silikata kroz limfne sudove do limfnih čvorova, povećan, otvrdnuo podpazušni (aksilarni) limfni čvor može se naći u žene koja je dobila silikon-gel grudnu protezu, kao zamenu za odstranjenu dojku (mastektomija) zbog karcinoma, i tako dijagnostikovati kao tumor [1].

---

<sup>1</sup>Ovo poglavlje napisao je Drago Đorđević.

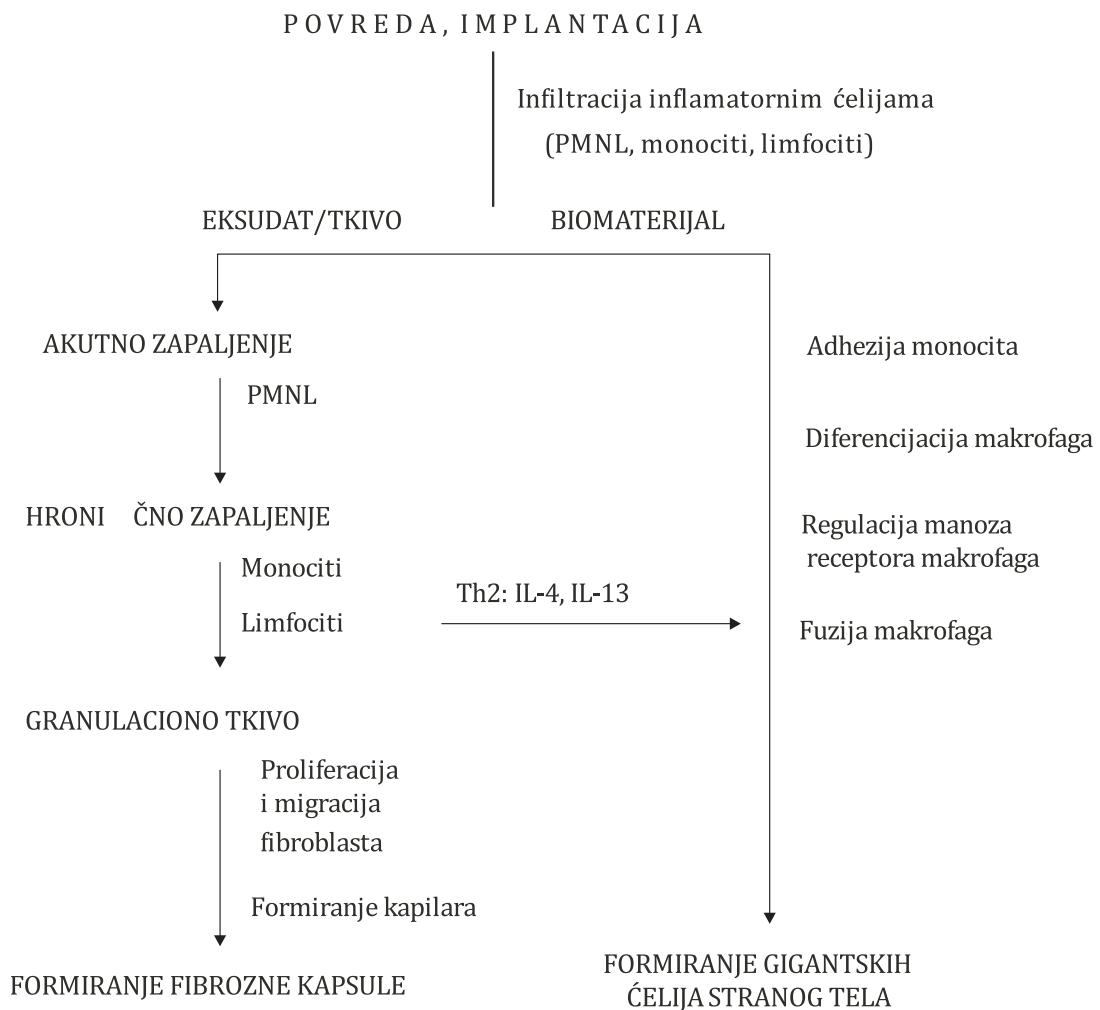
### 7.1.1 Kinetika i priroda komponenti biomaterijala

Svaka strana supstanca unesena u telo obično početno deluje na mestu kontakta sa dotičnim tkivom, ispoljavajući pre ili kasnije moguće regionalne, sistemske ili, čak, opšte efekte na organizam. Sastojci ugrađenih kalemova, alograftova ili ksenobiotika (grč, *ksenos*, spoljni, tuđ + *biotikos*, živ) imaju tzv. *parenteralni* (grč. *parenteralis* od *para*, posle, van + *enteron*, crevo) ili "vancrevni" kontakt sa vezivnim tkivom ili drugim specijalizovanim tkivima [2]. To znači da su alograftovi u startu zaobišli prvu liniju odbrane organizma, koju čine telesne barijere: fizičke, mehaničke i biohemiske [3], jer su dospeli u tkivo hirurškim putem. Oslobođene supstance iz biomaterijala u kontaktu sa kožom i sluzokožom moraju proći epitelne slojeve kože, sluzokože usta i gastrointestinalnog trakta, ili (za isparljive biomaterijale) plućne alveole, da bi njihovi molekuli dospeli "unutar" tela. Dalja distribucija stranih supstanci do drugih tkiva i organa zavisi od difuzije kroz membrane u krvne kapilare i limfne sudove. Transport može biti potpomognut rezorbibilnim vezivanjem za proteine plazme, globuline (metal, metalni sastojci), i hilomikrone (lipofilne supstance).

Skladištenje i kasnije otpuštanje može imati poseban značaj za određene sastojke u tkivima, kao što su masno tkivo i kosti. Osim toga, oslobođene komponente iz nekih biomaterijala sadrže hemijske supstance različitih atomskih i molekularnih veličina, rastvorljivosti, i drugih hemijskih karakteristika u zavisnosti od porekla materijala. Primeri su metalni joni, kao što je kobalt (Co), hrom (Cr) i nikl (Ni) [4], te molibden (Mo) i titan (Ti) iz metalnih ortopedskih implantata [5], ili protetskih stomatoloških materijala [6] ili, pak, rezidualnih monomera, hemijskih inicijatora, inhibitora, plasticizera, antioksidanata, itd., od polimernih implantata i dentalnih materijala [2].

Ostali degradacioni produkti iz neorganskih, organskih i kompozitnih sredstava, takođe, stižu do okružujućih tkiva. Kinetički mehanizmi za komponente biomaterijala su delom isti kao za ksenobiotike unete hranom ili putem izlaganja okruženju. To znači da su oslobođene komponente supstrat za oksidaciju, redukciju, i hidrolizu, praćene mehanizmima konjugacije i detoksifikacije u jetri [7]. Sve metaboličke promene u njihovom sastavu vrše se u cilju transformacije u hidrosolubilne ili liposolubilne proekte [8], kako bi se mogli odstraniti iz organizma putem urina (mokraćom), pluća (vazduhom) ili žući (izmetom), a u određenom stepenu i putem suznih (suza), pljuvačnih (pljuvačke), znojnih (znoja), lojnih (loja) i mlečnih žlezda (mleka), te kose i nokata.

Može se pretpostaviti da sve oslobođene komponente ili drugi metaboliti imaju neki sistemske toksični efekat na domaćina i/ili mogu li prouzrokovati neželjene imunološke promene u organizmu. Zbog boljeg razumevanja, potrebno je još jednom istaći lokalne efekte bimaterijala na tkiva domaćina, koji obuhvataju [9]: (1) krv-materijal interakcije; (2) zapaljenje; (3) toksičnost materijala; (4) promene u zarastanju rane; (5) infekcije; i (6) tumorogenezu [9]. Tkiva, takođe, ispoljavaju svoje efekte na biomaterijal, koji obuhvataju: (1) fiziko-mehaničke efekte (habanje, zamor, korozija, stres-korozivno lomljenje); i (2) biološke efekte (adsorpcija tkivnih komponenata na implantat, enzimska razgradnja, kalcifikacija) [9].



*SLIKA 7.1 Sekvence događaja uključenih u zapaljenje i zarastanje rane koji dovode do formiranja gigantskih multinuklearnih ćelija stranog tela [10]. Prikazana je važnost Th2 limfocita u fazi prolaznog hroničnog zapaljenja sa produkcijom interleukina IL-4 i IL-13, koji indukuju monocit/makrofagnu fuziju za formiranje gigantskih multinuklearnih ćelija.*

Neki od efekata interakcije biomaterijala sa tkivima organizma ispoljavaju se još u toku ugradnje biomaterijala (*hiperakutni*), dok se drugi manifestuju danima ili nedeljama kasnije (*akutni*), ili, čak, posle niza meseci ili godina (*hronični*).

Ako se ima u vidu spektar hemijskih medijatora koji učestvuju u zapaljenju nastalom nakon povrede tkiva u toku hirurške ugradnje biomaterijala (Tabl. 7.1) [10] i sled događaja koji se pritom i kasnije zbivaju (Sl. 7.1) [10], onda se može očekivati da svaka implantacija biomaterijala biva praćena lokalnim i sistemskim efektima.

Sistemski efekti prisustva biomaterijala obuhvataju opšte reakcije organizma na prisustvo stranog tela, koje uključuju: (1) alergijske reakcije ili reakcije hi-

persenzibiliteta; (2) tromboembolijske reakcije; (3) povećanje nivoa implantatnih elemenata u krvi; i (4) transport implantatnih čestica limfotokom [9].

*TABELA 7.1 Najvažniji hemijski medijatori zapaljenja poreklom iz plazme, ćelija, ili oštećenog tkiva [10]; modifikovano.*

Medijatori	Primeri
Vazoaktivni agensi	Histamin, seotonin, adenozin, azot monoksid, prostaciklin, endotelin, tromboksan A <sub>2</sub> .
Plazma proteaze	
Kininski sistem Komplement sistem Koagulacioni/fibrinolitički sistem	Bradikinin, kalikrein. C3a, C5a, C3b, C5b-C9. Fibrinski degradacioni produkti, aktivisan Hagemanov faktor (XIIa), tkivni plazminogen aktivator (tPA).
Leukotrieni	Leukotrien B <sub>4</sub> (LTB <sub>4</sub> ), hidroksieikosatetranoična kiselina (HETE).
Lizozomalne proteaze	Kolagenaza, elastaza.
Kiseonični slobodni radikali	Vodonik peroksid (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ), superoksid anjon (O <sub>2</sub> <sup>-</sup> •)
Aktivišući faktori trombocita	Lipidi ćelijske membrane.
Citokini	Interleukin 1 (IL-1), faktor nekroze tumora (TNF).
Faktori rasta	Trombocit-prodrukujući faktor rasta (PDGF) <sup>1</sup> , faktor rasta fibroblasta (FGF) <sup>2</sup> , transformišući faktor rasta (TGF-α i TGF-β) <sup>3</sup> , epitelnji faktor rasta (EGF) <sup>4</sup> .

**Skraćenice i objašnjenja:** <sup>1</sup>trombocit-produkujući faktor rasta [*platelet-derived growth factor (PDGF)*]; <sup>2</sup>faktor rasta fibroblasta [*fibroblast growth factor (FGF)*]; <sup>3</sup>transformišući faktor rasta alfa i beta [*transforming growth factor-α -β (TGF-α i TGF-β)*]; <sup>4</sup>epitelni faktor rasta [*epithelial growth factor (EGF)*].

### 7.1.2 Toksičnodinamička razmatranja

Sistemski efekti, posebno sistemska toksičnost biomaterijala, zavise od toksičnih supstanci koje pogadaju ciljni organ sa visokom osetljivošću na specifične toksine. Ciljni organi su po ovom redu [2]: centralni nervni sistem (CNS), hemoopoetski sistem, cirkulatorni sistem, i unutrašnji organi, kao što su jetra, bubrezi, i pluća. Toksičnost je bazirana na ometanju ključnih ćelijskih funkcija i zavise od doze i trajanja izlaganja. Ozbiljni efekti mogu biti inkompatibilni sa životom, ali većina efekata je lokalna i oštećuje reverzibilno ćelije. Međutim, neki subletalni efekti mogu uključivati mutacije somatskih ćelija izražene kao *kancerogeneza*, ili mutacije germinalnih ćelija, što prouzrokuje *reproaktivnu toksičnost* [2].

U razvoju opšte toksičnosti glavni faktor predstavlja doza, koja se definiše kao količina supstance kojoj je izložen organizam, obično izražena u miligramima

po kilogramu telesne težine (mg/kg TT). Šetni efekti stranih supstanci često su rezultat ponavljanja, hronične izloženosti malim dozama, koji preko produženog perioda mogu imati opasan efekat sličan jednom većem, u kraćem vremenskom periodu izloženosti, uslovjen ponavljanjem koje prelazi određeni nivo ili prag toksičnosti [11]. Ovde postoji starosna i individualna dozna zavisnost, kao i za lekove [12]. Ovaj nivo je određen kapacitetom metabolizma i eliminacijom toksične supstance. Drugi važan faktor jeste mogućnost *sinergističkog pojačavanja* efekata, kada je nekoliko toksikanata istovremeno prisutno. Bilo kakav mehanizam da je uključen, princip sistemske toksičnosti prepostavlja doznu zavisnu reakciju, koja može biti merena i opisana, i koja može biti objašnjena specifičnim reakcijama na posebnim molekularnim mestima [2].

Komponente biomaterijala predstavljaju veliki niz veoma različitih stranih supstanci sa nekoliko uobičajenih karakteristika i sa većinom nepoznatom koncentracijom. Većina njih se karakteriše toksičnošću sama po sebi (*per se*), sa velikim varijacijama vezanim za njihovo mesto na rang listi potencijalne toksičnosti. Metalni joni i soli dobijeni iz biomaterijalnih naprava, kao što su živa (Hg), Ni, Co i Cr, smatraju se otrovnim [4]. Slično se može tvrditi za komponente udružene sa polimernim materijalima [8]. Ipak, klinički važni podaci za koncentraciju degradacionih produkata su retki, kao naprimjer, aditivi ftalata i degradacioni produkti iz hemijskih aditiva, dobijenih iz kostnog cementa {polimetil matakrilat [*poli(metil methacrilat)*]}} dentalne proteze, izmereni u pljuvački [2].

Eksperimenti sprovedeni *in vitro* pokazali su da se Co, Cr i Ni oslobađaju iz baze metala ortodontskih sprava [4], mada količine nisu poredive sa vrednošću računatom u hrani koja se uzima, a deo unet preko sluzokože je, naravno, nepoznat [2]. Prisustvo rastvorene supstance je, takođe, demonstriran u okruženju implantnog tkiva, ali njeno merenje je teško izvodljivo. Informacija je moguća pri oslobađanju i resorbovanju Hg iz dentalnog amalgama. Serija studija je pokazala prisustvo Hg u plazmi i urinu posle udisanja metalne Hg oslobođene iz dentalnog amalgama [2]. Akumulacija Hg u tkivima dešava se u CNS-u i dokazana je posle profesionalnog izlaganja [13], dok je njena reproduktivna toksičnost osobito specifična [2]. Slično ostalim metalima, kao što su Cr i Ni, izloženost živi dešava se, takođe, kroz hranu i kroz udahnuti vazduh. Pažljivo pretraživanje velikog broja delom kontraverznih podataka od nacionalnih i međunarodnih naučnih komiteta nije dalo saglasnost da bi upotreba Hg amalgama morala biti obustavljena kao dentalni biomaterijal, iako Hg čini značajni deo zagadenja okoline [14].

Kada je profesionalna izloženost zanemarena, mogućnosti sistemske toksičnosti ili reproduktivne toksičnosti nisu ozbiljno razmatrane za ostale komponente biomaterijala ili metabolite, zbog njihove male koncentracije u poređenju sa njihovim toksičnim potencijalom. Korektan zaključak sa ove tačke gledišta bio bi da ne postoje podaci koji ukazuju na bilo kakvu sistemsku toksičnost prouzrokovanoj biomaterijalima kao izvorom ksenobiotika. Ipak, ovo polje interesovanja se karakteriše povećanjem broja sintetičkih biomaterijala na tržištu. Uprkos marketinškom testiranju programa, ipak je teško predvideti pojedine ili sinergističke toksične efekte rastvorljivih komponenti i degradacionih produkata u budućnosti.

### 7.1.3 Štetni efekti odbrambenih mehanizama organizma

Postoji veliki broj štetnih efekata koji se stvaraju pomoću odbrambenih mehanizama organizma protiv stranih supstanci. Ispitivanje direktnih sistemskih ne-povoljnih efekata na ciljne organe, prouzrokovanih proizvodima od biomaterijala, često je teško i komplikovano, mada su efekti dozno zavisni. Međutim, ispitivanje mogućnosti štetnih efekata pomoću drugih, dozno nezavisnih mehanizama, još je teže i komplikovanije.

Poznato je da sve supstance koje nisu prepoznate kao prirodne komponente tkiva, bivaju objekti mogućeg čišćenja pomoću nekoliko mehanizama. Fagocitoza je jedan od glavnih mehanizama nespecifične odbrane organizma, tako da *polimorfonuklearni leukociti* (PMNL), tkivni makrofagi i monociti vrše razgradnju i odstranjivanje sastojaka biomaterijala [15]. Veće strane komponente izazivaju agresivnije reakcije makrofaga sa njihovom fuzijom u gigantske multinuklearne ćelije, koje formiraju granulomatozno zapaljenje (Slika 7.1) [10,16]. Enzimi i ostali bioaktivni molekuli izlučeni iz fagocita u reakcijama na strana tela mogu prouzrokovati ozbiljna oštećenja lokalnih tkiva (Tabl. 7.1) [10]. Uz to, kontakt fagocitnih ćelija sa cirkulišućim sistemom limfotoka i krvotoka drugi je način neutralizovanja stranih supstanci putem imunskog sistema. Posebno je značajno prepoznavanje prethodnih stranih supstanci sa kojima se organizam susretao pomoću specifičnih mehanizama odbrane putem ćelija biološke memorije, memorijskih T i B limfocita, i davanje uzbune za njihovu neutralizaciju i eliminaciju [16].

### 7.1.4 Hipersenzitivnost i imunotoksičnost

Imunski sistem je biološki mehanizam odbrane koji se bori protiv potencijalno opasnih napadača, uglavnom mikroorganizama, ali i drugih stranih supstanci, uključujući produkte oštećenja tkiva i nepotrebne sopstvene molekule ili ćelije [3,17]. Tako, imunski sistem povremeno prekida napade opasnih invazivnih molekula sa povoljnim ili nepovoljnim efektima, sa intenzitetom koji je ponekad u kontrastu sa minimalnom količinom stranih tela, izazivajući oštećenja sopstvenih tkiva [16]. Ovaj fenomen se zove *hiperosenzitivnost* ili *preosetljivost* [18]. Rezultat povrede je deo grupe opasnih reakcija klasifikovanih kao *imunotoksičnost* [2]. U principu, imunološka hipersenzitivnost obuhvata dva različita mehanizma: (1) alergiju; i (2) nepodnošljivost (netoleranciju) [2].

*Alergija* je stanje koje nastaje kao rezultat *prekomerene reakcije* na prisustvo organizmu strane supstance uz genetičku predispoziciju i prethodno izlaganje (senzibilizaciju) dotičnoj supstanci. Alergijske reakcije mogu uključivati mnoštvo bolesti, kao što su alergijska kijavica, alergijska astma i koprivnjača (urtikarija), kao i kontaktni dermatitis ili ekcem.

*Nepodnošljivost* je nasleđena reakcija koja liči na alergiju i ima slične medijatore i faktore, kao što je aktivacija komplementa i oslobađanje histamina, ali nije zavisna od prethodnih procesa senzibilizacije. Reakcije nepodnošljivosti su obično

povezane sa hranom i lekovima, kao što je acetilsalicilna kiselina (*aspirin, andol*), dok je nepodnošljivost na rastvorljive komponente biomaterijala, kao što je benzoična kiselina, moguća ali nepoznata.

**Alergija i biomaterijali.** Strane supstance koje imaju sposobnost da uzrokuju alergijske reakcije nazivaju se *alergeni*. Ne postoji prihvatljiv način predviđanja da li je supstanca ili jedinjenje potencijalni alergen samo na bazi njegovih hemijskih sastojaka i/ili strukture. Eksperimentalni dokazi i godine empirijskih istraživanja posle testiranja supstanci koje prouzrokuju alergijske reakcije, dali su neke smernice u smislu predviđanja mogućnosti pojave alergija na određene supstance. Pokazalo se da veliki strani molekuli, kao što su proteini i nukleoproteini, obično jesu jaki alergeni, dok lipidi nisu [18]. Najjači hemijski alergeni udruženi sa biomaterijalima su često hemijski aktivne supstance male molekularne težine, često manje od 500 D (daltona), kao što su liposolubilne organske supstance dobijene iz polimernih materijala ili metalnih jona i metalnih soli [2]. Te supstance se nazivaju *hapteni* i toliko su mali antigeni da postaju pravi alergeni samo posle reakcije ili kombinacije sa većim molekulima kao što su proteini, koji služe kao nosači haptena, u makrofagima i Langerhansovim ćelijama domaćina [19].

**Tipovi alergija.** Zavisno od mehanizama izazvanih reakcija preosetljivosti ili hipersenzitiviteta, postoje četiri glavna tipa alergija, klasifikovana kao tip I-tip IV [18]. Tipovi I, II, i III su udruženi sa humoralnim antitelima iniciranim B-limfocitima, čijom aktivacijom nastaju plazmociti, koji stvaraju imunoglobuline (G, A, M, E, D), da bi delovali kao specifična antitela. Tip IV reakcija je ćelijski posredovana reakcija prouzrokovana T-limfocitima. Tipovi II i III alergije sadrže specifične antigene/antitela, koji pri susretu uključuju aktivaciju komplementa, razaranje (lizu) ćelija, oslobođanje vazoaktivnih supstanci, zapaljensku reakciju i oštećenje tkiva. Nekroza tkiva oko implantata (perimplantatnog tkiva) sa histološkom pojavom i serumskim nalazima komplementa dešava se u tipu III preosetljivosti (imunskim kompleksima posredovanom hipersenzitivnosti), što je dokazano u slučajevima atipičnog gubitka proteze kuka [2].

Američki Institut za hranu i lekove [*Food and Drug Administration* (FDA)] izdao je dokument (Vodič imunotoksičnog testiranja, 1999) u kojem izostavlja reakcije tipa II i III iz razloga postojanja "relativno retkih i manje sličnih dešavanja sa medicinskim sredstvima/materijalima", ostavljajući tipove I i IV kao relevantne pojave na prisustvo biomaterijala [20], što nije pošteno, prvenstveno prema pacijentima.

**Tip I hipersenzitivnosti.** Reakcija tipa I hipersenzitivnosti je zasnovana na interakciji između alergena i IgE imunoglobulina vezanih za IgE receptore na mastocitima i bazofilima, kao glavnim ćelijama [16-18], ali i eosinofilima i trombocitima [2], čiji je rezultat oslobođanje aktivnih medijatora, kao što su histamin, serotonin i druge vazoaktivne supstance. To je anafilaktički tip reakcije, čiji rezultat su lokalne ili sistemske reakcije, koje se dešavaju u okviru kratkog vremena (minuti) [16].

Simptomi i znaci reakcije tip I zavise od tkiva i organa koji su meta senzibilizacije, koji obično pripadaju nekom od sledećih sistema organa: kardiovaskularnom, respiratornom, gastrointestinalnom, i koži [21]. Inhalirani alergeni, kao što su polen ili rezidualni proteini vezani sa hiruškim lateks rukavicama, ili drugi prirodni

lateks proizvodi, mogu dovesti do astmatičnog napada, oticanja sluzokože grla, ili još gore, do pada krvnog pritiska i anafilaktičnog šoka. Alergeni iz hrane mogu, takođe, ispoljiti sistemske efekte [21]. Ova vrsta reakcije je obično vezana sa punim antigenima. Pošto su potencijalni alergeni udruženi sa biomaterijalima, mali molekularni haptenci, verovatnoća alergijske reakcije tipa IgE-posredovana preostljivost je niska, mada su nađena IgE antitela na Cr i Ni [2]. Pojave kontaktnih dermatitisa i urtikarija na ortopedska pomagala nisu retke, posebno na metale, kao što je Ni [22].

**Tip IV hipersenzitivnosti.** Reakcija tipa IV hipersenzitivnosti je čelijski posredovan tip odgovora kasne preostljivosti. Čelijski posredovana hipersenzitivnost se označava kao "odložena", jer čelijama je potrebno više od 12 sati, često 24-72 časa, da bi sintetisale citokine i razvile alergijski odgovor [2]. Producirana iritacija makrofaga pomoći na fagocitozu rezistentnih alergena, obično mikrobnog porekla ili drugog nefagocitabilnog materijala, može imati za posledicu hroničnu inflamatornu reakciju sa formiranjem granuloma [23]. T-limfociti proizvode odgovor koji je senzibilisan prethodnim susretima sa alergenom i zajedno sa ostalim limfocitima i mononuklearnim fagocitima formiraju četiri histološki različita tipa karakteristična za koža-zavisne tkivne reakcije [2]. Reakcije se manifestuju interakcijom čelija i posrednika, obuhvatajući: (1) oticanje [Džouns-Morov (*Jones-More*) tip]; (2) stvrdnjavanje (granulomatozni tip); (3) oticanje i stvrdnjavanje i moguću groznicu (tuberkulinski tip); i (4) ekzem (kontaktni tip) [24]. Kasnija forma odložene hipersenzitivnosti [*delayed-type hypersensitivity* (DTH)], ima specifičnu važnost u odnosu na biomaterijale. To je indirektna odložena Th čelijama posredovana citotoksičnost, posredovana Th1 čelijama, citokinima i antigen nespecifičnim efektorskim čelijama [18, 23].

Alergijski kontaktni dermatitis se stiče kroz prethodnu senzibilizaciju sa stranim supstancama. Hapten biva absorbovan kroz kožu ili sluzokožu, veže se za određene proteine udružene sa Langerhansovim čelijama, formirajući kompletan antigen. Antigen se prenosi dalje u regionalne linfne čvorove, vršeći aktivaciju specijalizovanih T čelija koje limfotokom ulaze u vensku cirkulaciju. Pri novom izlaganju, alergen može ponovo biti transportovan sa ulazne strane. Novi kontakt između alergena i aktivisanih, specijalizovanih T čelija oslobađa zapaljenske posrednike, rezultujući dalju proizvodnju i privlačenje T čelija, prouzrokujući oštećenje tkiva. Reakcije nisu ograničene samo na izložene delove, već mogu imati veću distribuciju, regionalnog karaktera.

Alergijski kontaktni dermatitis su klinički razvili alergolozi i dermatolozi primenjujući sumnjive haptene, korišćenjem epidermalnih ili intradermalnih kožnih testova i očitavajući dermalnu ili epidermalnu reakciju posle specifičnog vremena. Komercijalni test kitovi za epidermalno testiranje su korišćeni za seriju hemijskih supstanci vezanih za različita zanimanja. Tako je dobijena, na ovaj način, velika količina informacija o alergijskim karakteristikama supstanci iz biomaterijala, naročito u vezi sa dentalnim materijalima [2].

Mnogi biomaterijali korišćeni u stomatologiji [6], kao legure metala i otporni materijali, imaju medicinske suprotnosti, odnosno korisne i štetne efekte. Razlog je što se proces senzibilizacije često dešava pre kontakta sa biomaterijalom.

**Atopija.** Atopične osobe imaju *konstitucijsku predispoziciju* za IgE-zasnovanu hipersenzitativnu reakciju na obične prirodne alergene okruženja, uključujući i alergene hrane [25]. Reakcije su češće u ranim godinama života i uključuju prvenstveno histaminsko posredovanje u senskoj groznici, alergijskoj astmi, gastrointestinalnim poremećajima, i osipanju kože [16,18]. Atopičari imaju povećan rizik od stečenog iritirajućeg kontaktnog dermititisa na spolja primenjene biomaterijale, kao što je primena stomatoloških sredstava [2].

**Imunološka toksičnost medicinskih sredstava.** Imunološka toksičnost prema površini medicinskih sredstava i spoljnih komunicirajućih sredstava (dijalizatora, laparoskopija) može predstavljati mehanizme senzibilizacije i hipersenzitativnih reakcija sličnih onim kod oralno izloženih biomaterijala. Reakcije preosetljivosti na implantate u klinički nevidljivim mestima teško se raspoznavaju bez lokalnih i sistemskih manifestacija. Takve reakcije mogu biti deo lokalnih toksičnih i/ili mehanički indukovanih zapaljenjskih odgovora koji koriste slične posrednike za reakciju tkiva. Zbog nedostatka više različitih opisa, takve reakcije se označavaju kao *reakcije "dubokog tkiva"* tipa IV hipersenzitivnosti [2].

„Metalna alergija“ se lako prepoznaje i često nastaje u žena koje koriste jeftin nakit ili naušnice od legure sa velim sadržajem Ni, a može biti i povezana sa metalnim implantatima [26]. Sami po sebi, metalni joni nemaju strukturnu kompleksnost potrebnu za nadražaj imunskog sistema. Međutim, u kombinaciji sa proteinima, takvim kao što su u koži, vezivnom tkivu, i krvi, veliki broj metala indukuje imunske reakcije, koje mogu imati kliničke efekte. Co, Cr, i Ni uključeni su u ovu kategoriju, u kojoj je Ni najmoćniji, a najmanje 10% zdravog stanovništva ima pozitivan kožni test na jedan ili više ovih metala, na nekom pragovnom nivou [9].

Rađene su velike grupe *in vitro* i *in vivo* eksperimentalnih studija efekata dejstva potencijalno opasnih sredstava biomaterijala, kao što su veštački zglobovi, srčani zalistci i grudne proteze [26]. Aseptično gubljenje metalne proteze kuka udruženo je sa citotoksičnim efektima [4] i/ili "biološkim" uzrocima uz dodatak biomehaničkih faktora i pohabanih ostataka (debrisa) [2]. Međutim, još uvek je nejasno da li je senzibilisanost na metale doprinoseći faktor odbacivanja implantata [4, 26]. Dokazano je da imunološka senzibilizacija povećava proces odbacivanja implantata, ukazujući da odnos uzrok/efekat može biti obrnut [28]. Utvrđeno je da su lokalne i opšte ekcematozne reakcije, koje se dešavaju tokom ugrađivanja metalnih implantata u pacijenata, u stvari rezultat alergija na Co, Cr, i Ni [2]. Mnogi slučajevi, takođe, opisuju brzo izlečenje dermalne reakcije udružene sa eliminacijom metalnih implantata [29]. O alergijama na metale diskutovano je, takođe, kao o mogućem pomažućem faktoru u razvoju *in-stent* koronarne restenoze, mada postoji malo dokaza za takav efekat [30]. Međutim, uspostavljanje alergije na metale ne znači i udruženost sa kliničkim reakcijama implantata koji sadrže leguru metala [2]. Ako je ovo tvrđenje tačno, onda je u saglasnosti sa kliničkim posmatranjima upotrebe metalnih legura u stomatološkoj protetici i ortodonciji. Nehomogenost ili mešavina legura pojavljuje se kao faktor koji određuje otpuštanje potencijalno "hipersenzitivnih" jona metala, i otuda povećanje mogućnosti lakše pojave reakcija hipersenzitivnosti [2].

Kostni cement (metil metakrilat) je sledeći potencijalan alergijski faktor u ortopedskoj hirurgiji, paralelno sa reakcijama u stomatologiji [6] i kozmetici [31]. Implantati bazirani na silikonima još uvek su predmet diskusije, mada naučno važan odnos između uzroka i efekta bolesti bazirane na imunitetu za silikonske implantate nije ustanovljen [26].

U zdravstvenoj profesiji najrasprostranjenija je literatura o kliničkim istraživanjima vezanim za prirodni lateks, koji se koristi kao "materijal barijera" u naučne svrhe. Prihvaćeno je da rezidualni lateks proteini i hemijske supstance udružene sa procesom proizvodnje mogu prouzrokovati brze i odložene reakcije u pacijenata i zdravstvenih radnika [2].

### 7.1.5 Ostale interakcije

Stalno se ulažu napori za testiranje biomaterijala izgrađenih od raznih hemijskih supstanci. Testiranja FDA se stalno objavljuju i služe kao vodič za liste drugih interakcija medicinskih sredstava, ekstrakata medicinskih sredstava, ili pomagala (ađuvanata) imunskog sistema. Ova testiranja uključuju i moguće efekte biomaterijala na imunski sistem, kao što je slabljenje normalnih imunoloških zaštitnih mehanizama (imunosupresija) i dugotrajna imunološka aktivnost (imunostimulacija), koje mogu dovesti do štetnih autoimunskih odgovora. Autoimunska reakcija se objašnjava da biomaterijalima pridružen agens, koji deluje kao ađuvant, stimuliše na antitelo/komplementu zasnovano oštećenja tkiva, pomoću ukrštene reakcije sa ljudskim proteinom [2]. Isto tako, hronično zapaljenje, imunski-zavisni granulom, može delimično učestvovati u razvoju autoimunskih reakcija [2].

## 7.2 TUMOROGENEZA

Verovatnoća da implantatni materijali mogu prouzrokovati pojavu tumora ili ubrzati rast tumora dugo zanima kliničare, posebno onkologe (grč. *oncos*, rak) i istraživače biomaterijala. Neoplazija, koja označava "novi rast", je proces prekomerne i nekontrolisane ćelijske proliferacije (umnožavanja) ili novog rasta, zvanog *neoplazma* [32]. Novi rast označava neoplazmu ili tumor, odnosno „otok”, pošto većinu neoplazmi čine ekspanzivne čvrste mase tkiva nenormalnog izgleda i funkcije. Za razliku od tkivnog rasta koje se dešava u hipertrofiji i hiperplaziji, rast neoplazme je nekoordinisan i relativno autonoman zbog nedostatka normalne regulatorne kontrole nad ćelijskim rastom i umnožavanjem. Postojanje tumora, čak i kada nestane početni uzročnik njegove pojave, posledica je naslednih genetskih promena koje se prenose na potomstvo. Ove genetske promene prati prekomerna i neregulisana proliferacija koja postaje autonomna ili nezavisna od fizioloških stimulatora rasta, mada tumori uopšteno ostaju zavisni od domaćina zbog njihove ishrane i snabdevanja krvotokom.

Tkivno obnavljanje i reparacija, kao i patogeneza tumora uključuje čelijsku proliferaciju i diferencijaciju. *Proliferacija*, ili proces čelijskog umnožavanja, je urođeni adaptivni mehanizam za zamenu telesnih ćelija kada stare ćelije umru ili kada su potrebne dodatne ćelije. *Diferencijacija* je proces specijalizacije u kome nove ćelije stiču strukturu i funkciju ćelija koje zamenjuju. Ćelije koje su potpuno diferencirane nisu dugo sposobne za deobu. U zrelim tkivima, veličina čelijske populacije određena je brzinom čelijske proliferacije, diferencijacije, i smrti apoptozom [32, 33]. Kao što je rečeno, apoptoza je programirana čelijska smrt čiji je cilj eliminacija ostarelih ili nepoželjnih ćelija. U nekim slučajevima, nastanak tumorskih ćelija posledica je poremećaja procesa apoptoze [34].

### 7.2.1 Mehanizmi tumorogeneze

Svi tumori, dobroćudni (*benigni*), a posebno zloćudni (*maligni*), rezultat su poremećaja procesa čelijske proliferacije, diferencijacije, i apoptoze. Proces čelijskog rasta i deljenja (umnožavanja) naziva se *čelijski ciklus*. Uključivanje i progresija kroz razne stadijume čelijskog ciklusa kontrolisani su proteinima zvanim *ciklini*, ciklin-zavisnim kinazama [*cyclin-dependent kinases (CDKs)*], i njihovim (CDK) inhibitorima [34]. Pauze ili kontrolne tačke u čelijskom ciklusu dodatno određuju tačnost sa kojom se *deoksiribonukleinska kiselina (DNK)* duplira. Defekti u ciklin-CDK regulaciji kretanja kroz čelijski ciklus ili u tačnosti replikacije DNK u kontrolnim tačkama čelijskog ciklusa mogu doprineti razvoju zloćudnog tumora [34].

Genetski mehanizmi uključeni u transformaciju normalnih ćelija u tumorske, posebno maligne ćelije [*oncogenesis* (grč. *oncos*, rak + *genesis*, poreklo)], zavisni su od genske kontrole. Postoje tri vrste gena koji kontrolisu čelijski rast i umnožavanje (replikaciju): proto-onkogeni, tumorski supresor geni, i geni koji kontrolisu apoptozu [34]. Četvrta grupa gena, koja reguliše reparaciju oštećene DNK, takođe je uključena u proces onkogeneze. Geni koji vrše reparaciju oštećene DNK utiču na čelijsku proliferaciju i opstanak ćelije indirektno preko njihove sposobnosti da obnove neletalno oštećenje drugih gena, uključujući proto-onkogene, tumorske supresor gene, i gene koji kontrolisu apoptozu [32,33]. Ovi geni su glavna ciljna mesta genetskog oštećenja koje se zbiva tokom razvoja kancerskih ćelija [34]. Takvo genetsko oštećenje može biti prouzrokovano dejstvom fizičkih, hemijskih i bioloških faktora, kao što su zračenje, razne hemikalije, ili virusi, mada uzrok može biti i naslednog porekla. Ako se tome doda i aktivacija mnogih nezavisnih mutiranih gena, kao što su *onkogeni* {npr., gen receptor 2 ljudskog epidermalnog faktora rasta [*human epidermal growth factor receptor-2 (HER-2/neu)*] nastali mutacijom proto-onkogena, ili inaktivacija tumorskih supresor gena (npr, p53 gen), onda čelijski rast postaje autonoman i bez uticaja normalnih signala rasta [34].

Nonletalno genetsko oštećenje čini srž karcinogeneze. Tumor se formira klonalnom ekspanzijom pojedinačnog prekursora ćelije koja uključuje genetsko oštećenje, odnosno tumori su monoklonalni. Najčešći metod za određivanje tumorske klonalnosti uključuje analizu metilacionih obrazaca vezanih za veoma polimor-

fni genski lokus ljudskog androgenog receptora [*human androgen receptor gene analysis* (HUMARA)] [32]. Frekvencija humanog polimorfizma u opštoj populaciji je veća od 90%, tako da je lako ustanoviti klonalnost prikazivanjem da sve ćelije u tumoru pokazuju iste alele [32].

Kao što je poznato, postoje benigni i maligni tumori. Prema patološkim karakteristikama i kliničkom ponašanju benigni tumori su relativno bezopasni (dobroćudni), za razliku od malignih tumora koji su veoma opasni (zloćudni), često smrtonosni (Tabl. 7.2) [34, 35].

TABELA 7.2 Karakteristike benignih i malignih tumora [34, 35], modifikovano.

Karakteristike	Benigni	Maligni
Ćelijske karakteristike i diferencijacija	Dobro diferencirane ćelije koje liče ćelijama porekla; struktura može biti tipičnog tkivnog porekla.	Nediferencirane ili manje diferencirane ćelije, često sa neobičnim ćelijama; sa anaplasijom i atipičnom strukturom.
Brzina rasta	Obično progresivna i spora, može doći do mirovanja ili regresije; ćelije u mitozi su retke.	Varljiva, od sporog do brzog, zavisno od nivoa diferencijacije; mitoze mogu biti odsutne, manje ili više brojne, ali abnormalne; više anaplastičnih ćelija, veća brzina rasta.
Model rasta ili lokalna invazivnost	Obično kohezivan, šireći; dobro demarkiran; obično inkapsulirane mase bez infiltriranja u okolna tkiva.	Rast lokalno invazivan, šireći, tako da mase infiltriraju susedna normalna tkiva.
Metastaze	Odsutne; nema širenja.	Često prisutne; šire se krvotokom i limfotokom; veći i više nediferencirani primarni tumori imaju više izgleda da metastaziraju.

Maligni tumori se kolektivno označavaju kao kanceri (lat. *cancer*, rak), zbog sposobnosti da se tiho kao krabe zalepe (adheriraju) za susedne strukture i šire istovremeno u raznim pravcima. Benigni tumori ne mogu da penetriraju i da se infiltraju u susedna tkiva, niti da se šire na udaljena mesta. Oni ostaju lokalizovani i hirurško otklanjanje je definitivno oslobođanje od tumora u većini slučajeva. Suprotно tome, maligni tumori imaju tendenciju invazije i širenja na okolne strukture, ali i udaljena mesta. Na udaljena mesta dospevaju širenjem svojih ćelija krvnim i limfnim sudovima, gde osnivaju nove kolonije malignih ćelija, rastu, i opet infiltruju susedno tkivo kao satelitski ili "rasejani", "premešteni" tumori, zvani *metastaze* {[grč. *meta*, preko, povrh (u lokalizacionom značenju); posle, nakon (u vremenskom značenju) i [grč. *stasis*, položaj]}. Histološki, svi tumori, benigni i maligni, imaju dve osnovne komponente: prolifišuće neoplastične ćelije koje grade *parenhim*, i potporne ćelije koje čine *stromu*, poreklom od vezivnog tkiva i krvnih sudova. Mada je parenhim neoplazme specifičan za ćelije porekla, rast i evolucija neoplazmi jesu kri-

tično zavisni od nespecifične strome, obično sačinjene od krvnih sudova, vezivnog tkiva i zapaljenskih ćelija.

Tumori se u osnovi opisuju prema vrsti ćelija ili poreklu tkiva. Benigni tumori se identifikuju sa sufiksom "oma", koji predhodi opisu porekla ćelije ili tkiva (npr., *adenoma*-iz endokrine žlezde, *chondroma*-iz hrskavice). Maligni delovi benignih tumora nose slična imena izuzev sufiksa "karcinom" (*carcinoma*) koji se primenjuje za kancere koji potiču od epitela [npr., sa orožavanjem, skvamozni karcinom (*squamous carcinoma*), ili "adenokarcinom" (od pokrovnog i žlezdanog epitela), i "sarkom" (*sarcoma*) od vezivnog tkiva, odnosno mezenhimalnog porekla (npr., *osteo-* ili *hondro-sarcoma*, produkujući kost i hrskavicu]. Maligne neoplazme hematopoeznog sistema, u kome kancerogene ćelije cirkulišu u krvi, nazivaju se *leukemije*, a čvrsti tumori limfoidnog tkiva, *limfomi*.

Ćelije kancera pokazuju stepen variranja u sličnosti sa normalnim ćelijama pretečama ili prekursorima iz kojih su proizašle. Stoga, neoplastični rast prepliće abnormalne ćelijske proliferacije i modifikacije strukturalnih i funkcionalnih karakteristika tipova ćelija koje su umešane. Maligne ćelije su generalno manje diferencirane nego što su to normalne ćelije. Strukturalna sličnost ćelija kancera sa tim tkivima i organima omogućava specifičnu dijagnozu (izvorni organ i tip ćelije), dok stepen sličnosti obično predviđa prognozu pacijentu (tj. očekivani ishod baziran na biološkom ponašanju kancera). Zato su slabo diferencirani tumori uopšteno agresivniji tumori (tj. pokazuju više malignog ponašanja), nego oni koji su više diferencirani. Stepen po kome tumor imitira normalnu ćeliju ili tkivo zove se *stepen diferencijacije*. Opseg širenja i ostali efekti na pacijenta određuju njegov stadijum.

Rast neoplazme nije regulisan. Razmnožavanje neoplastične ćelije nije vezano za fiziološke potrebe tkiva i ne oštećuje se izmeštanjem faktora koji su početno prouzrokovali neoplastični proces. Ove karakteristike diferenciraju neoplazme od: (1) normalnog razmnožavanja ćelija u toku fetalnog razvoja ili postnatalnog rasta; (2) normalnog zarastanja rane nakon povrede; i (3) hiperplazijskog rasta kojim se prilagođava fiziološkim potrebama, ali koji se normalno prekida kada se uzročnik otkloni [35].

## 7.2.2 Veza između implantata i ljudskih i životinjskih tumora

Pojava neoplazmi na mestu implantiranog materijala je, ipak, neobična, uprkos velikog broja implantata koji se klinički koriste tokom dužeg vremenskog perioda u ljudskoj i životinjskoj populaciji [35]. Istraživanja su pokazala [35] da je više od 50 slučajeva tumora bilo vezano za strane materijale, od kojih je otprilike polovina bila povezana sa terapeutskim implantima. Ostali deo uključuje tumore vezane za metke, šrapnele, ostale metalne komade, šavove, voštanu kost, i hiruški sunđer. Implantat-produkujući tumori otkriveni su u kraćem i dužem vremenskom periodu posle implantacije. Više od 25% tumora udruženih sa stranim telima razvilo se do 15 godina, a više od 50% do 25 godina [35].

Većina malignih neoplazmi, primarno sarkoma, udružena je sa klinički slobmljenim fiksним sredstvima, totalnim zamenama zglobova, mehaničkim srčanim

zaliscima i vaskularnim graftovima, kao i eksperimentalnim stranim telima životinja i ljudi [35]. Sarkomi sadrže različite histološke tipove malignih ćelija, uključujući fibrosarkome, osteosarkome, hondrosarkome, i angiosarkome, koje karakteriše brzi i lokalni infiltrativni rast. Karcinom je manje zabeležen, bio je obično smanjen u situacijama gde je implantat bio postavljen u lumenu epitelnog oblažućeg organa. Nađeno je mnogo neoplazmi raznih vrsta sa raznim postimplatacionim vremenom pojavljivanja (Tabl. 7.3) [35]. Otkriveni limfomi su bili udruženi sa okružujućim kapsulama implantata dojke [36]. Formirani tumori su bili uglavnom na granici kontakta sa biomaterijalom, kao što je primer vaskularnog impalnta, ali i sa metastazama neimplantatnog osnovnog tumora (karcinom želuca) u potpuno zamenjenom kolenu (totalnoj protezi kolena) [35].

TABELA 7.3 Tumori udruženi sa mestima implantacije – reprezentativni izveštaji [35]

Sredstvo (spojeni materijal) <sup>1</sup>	Tumor <sup>2</sup>	Reference	Postimplantacija (godine)
Fiksacija frakture			
Intermedularna šipka (V)	L	McDonald (1980)	17
Smith-Petersen (V)	OS	Ward et al. (1987)	9
Ceo kuk			
Charnley-Mueller (UHMWPE, PMMA)	MFH	Bago-Granell et al (1984)	2
Mittlemeier (Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	STS	Ryu et al (1987)	1+
Charnley-Mueller (UHMWPE)	OS	Martin et al (1988)	10
Charnley-Mueller (SS, PMMA)	SS	Lamovec et al (1988)	12
Nepoznato (porozna Ti-Co legura)	OS	Adams et al (2003)	3
Celo koleno			
Nepoznato (V)	ES	Weber (1986)	4
Vaskularni graft			
Abdominalni aortni graft (D)	MFH	Weinberg i Maini (1980)	1+
Abdominalni aortni graft (D)	AS	Fehrenbacker et al (1981)	12
Proteza srčanih zalistaka St. Jude Medical (Carbon, Sizone-obložena Dacronska šivaća manžeta)	RS	Grubitzsch et al (2001)	<1

**Skraćenice i objašnjenja:** <sup>1</sup> Materijali: dakron (D); polimetakrilatni [*poly(methyl methacrylate)*] kostni cement (PMMA); čist čelik [*stainless steel* (SS)]; titan (Ti), kobalt (Co); polietilen ultravelike molekulske težine [*ultrahigh-molecular-weight-polyethylene* (UHMWPE)]; vitalijum (V). <sup>2</sup> Tipovi tumora: angiosarkom (AS); epiteloidni sarkom (ES); limfom (L); maligni fibrozni histiocitom (MFH); osteosarkom (OS); rabdomiosarkom (RS); sinovijalni sarkom (SS); sarkom mekog tkiva [*soft tissue sarcoma* (STS)].

Uloga implantiranih medicinskih sredstava u genezi lokalnog ili udaljenog maligniteta i dalje je sporna. U pojedinačnom slučaju, opreznost je neophodna pri uplenosti implantata u stvaranju neoplazme, mada pojava tumora na granici sa implantatom ne znači siguran dokaz da implantat uzrokuje tumor. Na osnovu liste epidemioloških studija i pregleda dostupnih podataka zaključeno je da nema sigurnih dokaza u ljudi za tumorogenost nemetalnih i metalnih hirurških implantata [37].

Neoplazme su obično i u ljudima i u životinjama mogu se pojaviti prirodno u zavisnosti od vrste biomaterijala koji se implantira i mesta ugradnje. Većina kliničkih veterinarskih slučajeva je posmatrana na psima, životinjskoj vrsti sa relativno visokom prirodnom učestalošću osteosarkoma i drugih tumora na mestu gde su implantirana ortopedska sredstva. Međutim, u ljudi spontani muskuloskeletni tumori nisu neuobičajeni. Ipak, kako su sarkomi aorte i ostalih velikih arterija retki, pridruženost primarnih vaskularnih malignoma sa kliničkim polimerskim graftovima može biti veća od ortopedskih sredstava.

Klinički benigne, ali bujne reakcije na strana tela mogu da simuliraju neoplazme. Fibrohistocitna oštećenja, npr. liče malignom tumoru i mogu se pojaviti kao reakcija na silitake, prethodno ubrizgane kao mekotkvivi sklerozirajući agens [35]. Ipak, regionalna limfadenopatija (povećanje limfnih čvorova) može nastati kao rezultat bujne reakcije na biomaterijal koji je migrirao iz proteze. Ovo je potvrđeno u slučajevima širenja silikonskih čestica iz zglobova prstiju i grudnih proteza, kao i supstanci iz polimernih zamena temporomandibularnog zglobova, te konvencionalnih metalnih, keramičkih, i polimernih totalnih zamena velikih zglobova [35]. Masovno oštećenje prouzrokovano granulomom stranog tela u limfnom čvoru može biti maskirano kao neoplazma pri fizičkom pregledu (ponekad zvano *pseudotumor*). Međutim, postoji potencijalna opasnost, pošto se može razviti u limfom zahvaljujući hroničnoj stimulaciji imunskog sistema [38].

### 7.2.3 Patobiologija stranim telima indukovane tumorogeneze

Na osnovu dosadašnjih eksperimentalnih i kliničkih istraživanja etiopatogeneze tumora prihvaćena su četiri osnovna principa nastanka tumora [35]. *Prvo*, neoplazija je udružena sa genetskim oštećenjima i često je rezultat neletalnog genetskog oštećenja (ili mutacije), urođene ili stečene dejstvom agenasa iz životne sredine, kao što su fizički efekti (npr. radijacija, vlakna stranog tela), hemikalije ili virusi. *Drugo*, osnovna meta genetskog oštećenja su ćelijski regulatorni geni (normalno prisutni i neophodni za fiziološko funkcionisanje ćelije, uključujući ćelijsku replikaciju, rast i obnovu oštećene DNK). *Treće*, tumorska masa se razvija iz klonalne ekspanzije jedne progenitorske ćelije koja je načinila genetsko oštećenje. *Četvrto*, tumorogeneza je multipli proces, uopšte nastao zahvaljujući akumulaciji uzastopnih genetskih oštećenja.

Posle nastajanja tumora, najvažniji faktori u njegovom rastu su kinetičke promene, odnosno uravnoteženje zamena ili gubitaka u broju ćelija i njihovom snabdevanju krvi. Stvaranje novih sudova (angiogeneza) je osnovna za povećanje

tumora i za njegov pristup normalnim krvnim sudovima, a potom nastanku metastaze [39].

Patogeneza implantat-indukovanih tumora još nije dobro proučena, iako većina eksperimentalnih podataka ukazuje da fizički efekti, pre nego hemijske karakteristike stranih tela, jesu osnovne determinante tumorogenosti [35]. Tumori su uzrokovani eksperimentalno od pomoći širokog spektra materijala različitog sastava, uključujući one koji bi mogli biti u osnovi nereaktivni, kao što su određena stakla, zlato ili platina, ali i drugi relativno retki metali i polimeri. Jedan hirurg je izveo veoma maligni eksperiment u kojem je novčić ubačen u pacove stvorio 60% sarkoma za 16 meseci, sugerujući da novčići i možda sav metalni novac su karcinogeni [40]. Među metalima koji su sigurno karcinogeni agensi nalaze se Cr (izaziva kancer pluća) i Ni (izaziva kancer pluća i nazalnih sinusa), a njima se pridružuju alkilirajuća sredstva (akutna mijelocitna leukemija, kancer mokraće bešike) i poliklični ugljovodonici (kancer pluća, kože) [41]. Čvrsti metali implantirani u konfiguraciju sa većom površinskom oblašću najviše su skloni tumorima [35]. Materijali gube svoju tumorogenost kada su implantirani u pulverizovanoj, fino obrađenoj ili utkanoj formi ili kada se površina u kontinuitetu prekida sa više perforacija. Ovaj trend se često zove Openhajmerov (*Oppenheimer*) efekat [4-35]. Tako se neoplazija prouzrokovana stranim telom uopšteno smatra transformacionim procesom koji posreduje pomoći fizičkog stanja implantata, što je nezavisno od sastava materijala, dok su specifični karcinogeni prisutni [35].

Tumorogeneza od čvrstih biomaterijala zavisi od razvoja fibrozne kapsule oko implantata. Tumorogenost se podudara direktno sa veličinom i zrelosti tkivne inkapsulacije stranog tela i inverzno je sa stepenom aktivnog ćelijskog zapaljenja [35]. Tako, aktivni, stalni zapaljeni odgovor sprečava formiranje tumora u eksperimentalnim sistemima. Domaći (naročito genetski) faktori, takođe, utiču na sklonost stvaranju tumora kao odgovor na strana tela. Ljudi su manje osetljivi na tumorogenezu stranih tela od glodara, uobičajenog eksperimentalnog modela [35]. U sistemu glodara, učestalost tumora i njegova latencija (skrivenost) zavise od vrste, pola i starosti. Postoji povećana mogućnost da neoplazija stranih tela može biti izazvana otpuštenim otpacima habanja (debris) ili elemenata nalik iglama iz sastava u mehanizmu koji je analogan azbest-zavisnom mezoteliomu [35]. Međutim, eksperimenti sa životinjama sugerisu da samo čestice sa veoma dugačkim dužinama/diametar odnosom (>100) stvaraju ovakav efekat [35]. Čestice sa ovim visokim odnosom ne liče na oslobođeni debrisi iz ortopedskih implantata.

Kancer na mestu stranog tela može biti mehanički zavisan od bolesti u kojoj je fibroza tkiva upadljiva karakteristika, uključujući azbestozu (oštećenje pluća uzrokovano hroničnim inhalacijama azbesta), ožiljke pluća ili jetre, ili, pak, hronične infekcije kostiju. Međutim, suprotno mezenhimalnom poreklu većine implantiranih tumora, ostale neoplazme udružene sa fibrozom uopšteno potiču od susednih epitelnih struktura (npr. mezoteliom sa azbestozom) [35].

Hemijski izazvani efekti su, takođe, mogući [34]. Od ortopedskih implantata, agensi za tumorogenezu mogu biti metalni delići otpušteni kao pohabane čestice. Implantati od Cr, Ni, Co i od nekih njihovih jedinjenja, ili kao folija ili kao otpaci su kancerogeni za glodare [35], ali većina od njih i za ljude [34]. Dokazano je da rasprostra-

njeno širenje metalnih otpadaka implantata (do limfnih čvorova, kostne srži, jetre i slezine, posebno u osoba sa slabo pričvršćenim zglobnim protezama) ne prouzrokuje samo oštećenje udaljenih organa, nego, takođe, može biti povezano sa indukcijom neoplazije [42]. Makrofagi koji učestvuju u širenju stranih supstanci do limfnih čvorova i dalje, mogu se lokalno ili regionalno spajati, ne samo sa telesnim ćelijama da bi ostvarili tkivnu reparaciju, već i sa tumorskim ćelijama, da bi „započeli“ metastazu [43]. Indukcija započinjanja fuzije potiče od signala iz ćelijskog jedra, aktiviranih pomoću intracelularnog domena CD44, slično kao i za stvaranje tumora [44].

„Neaktivni“ i „nebiodegradabilni“ implantati pokazali su da sadrže i/ili proizvode količine supstanci u tragovima, kao što je ostatak monomera, katalizatora, plasticizera, i antioksidanata. Takve supstance ubaćene u eksperimentalne životinje na prikladnoj test površini (bez implantata), u količinama sličnim nađenim blizu implantata, nisu generalno tumorogene. Šta više, hemijski kancerogeni kao što su nitrosamini ili oni koji se nalaze u duvanu mogu da potenciraju kancere koji nastaju vezano za fibrozne ožiljke [35].

Hemijski efekti uzeti su u obzir kao potencijalni karcinogeni od poliuretanskih biomaterijala [45]. Pod određenim uslovima (visoka temperatura u prisustvu jakih baza), diamini zvani 2,4 – toluen diamin (TDA) i 4,4' – metilen dianilin (MDA) mogu biti proizvedeni iz aromatičnih izocijanata korišćenih u sintezi poliuretana [45]. TDA i MDA su kancerogeni u glodara. Međutim, nepoznato je kako se: (1) TDA i MDA stvaraju *in vivo*; i (2) kako su ovi sastojci karcinogeni u ljudi, naročito u malim dozama prisutni u medicinskim sredstvima. Mada je pažnja fokusirana na poliuretanski penasti omotač silikonskog gela, kojim se pune grudni implantati, jedan tip od njih sadrži prekursor TDA, pa je rizik od karcinogeneze minimalan [35].

U genezi (stvaranju) tumorskih ćelija značajnu ulogu ima fuzioni receptor makrofaga, specifičan transmembranski protein dendritičkih ćelija [*dendritic cell-specific transmembrane protein* (DC-STAMP)] [43]. DC-STAMP je previše izložen u gigantskim ćelijama tumora zajedno sa receptorskim aktivatorom nuklearnog faktora kapa B ligandom [*receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand* (RANKL)], proteinom neophodnim za normalan razvoj osteoklasta [43]. Tumorogeneza stranih tela se karakteriše dugim latentnim periodom, tokom kojeg je potrebno prisustvo implantata za formiranje tumora. U tumorogenezi stranih tela postoji niz stepena razvoja (Tabela 7.4) [35]: (1) ćelijska proliferacija u sponi sa zapaljenjem tkiva udruženim sa reakcijom na strano telo (specifično prijemčive preneoplastične ćelije koje mogu biti prisutne na ovom stadijumu); (2) progresivno formiranje dobro demarkiranih fibrozne tkivne kapsule koja okružuje implantat; (3) prigušena reakcija tkiva (uspavanost i fagocitna neaktivnost makrofaga zakačenih za strano telo), ali direktni kontakt klonalnih preneoplastičnih ćelija sa površinom stranog tela; (4) završno sazrevanje preneoplastičnih ćelija; i (5) sarkomatozna proliferacija. Ova višestepena hipoteza tumorogeneze stranog tela je potvrđena eksperimentalno, gde su premaligna oštećenja nađena bila česta u kapsuli implantata [46].

Osnova hipoteze je da početno sticanje neoplastičnog potencijala i određivanje specifičnih karakteristika tumora ne zavise direktno od fizičkih ili hemijskih interakcija između prijemčivih ćelija i stranog tela, i zato strano telo samo po sebi verovatno ne inicira tumor. Međutim, iako kritični inicijalni događaj nastaje rano u

toku reakcije na strano telo, krajnja faza za neoplastičnu samostalnost (verovatno genetički događaj) se završava samo kada se preneoplastične ćelije pričvrste na površinu stranog tela. Kasnije nastaje proliferacija abnormalnih mezenhimalnih ćelija u ovom relativno mirnom mikrookruženju, u situaciji koja nebi bila pogodna sa produženjem aktivnog zapaljenja vezanog za manje inertne implantate.

*TABELA 7.4 Faze tumorogeneze povezane sa implantatom: hipoteza [35]; modifikovano*

Faze	Implantat-povezana tumorogeneza: hipoteza
1	Ćelijksa reakcija na strano telo.
2	Formiranje fibrozne kapsule.
3	Kontakt preneoplastičnih ćelija sa površinom implantata u toku mirne reakcije tkiva.
4	Preneoplastična ćelijska proliferacija i maturacija.
5	Rast tumora.

Ključni faktori u sarkomima indukovanim stranim telima uključuju konfiguraciju implantata, razvoj i remodeliranje fibrozne kapsule, a period latencije je dovoljno dug za progresiju do neoplazije u prijemčivom domaćinu. Glavna uloga stranog tela je, izgleda, da stimuliše formiranje fibrozne kapsule, koja vodi do maturacije i proliferacije neoplastičnih ćelija. Retka pojava implantat-zavisnih tumora upućuje na to da ćelije podložne kanceru nisu česte u reakcijama na strano telo kod implantiranih medicinskih sredstava u ljudi.

Ova hipoteza je u skladu sa vladajućom teorijom koja uključuje načine širenja i invazije malignog tumora kroz tkivo organizma, počev od pričvršćivanja malignih ćelija za ekstraćelularni matriks (ECM), pomoću specifičnih pričvršćujućih faktora, kao što su fibronektin i laminin, inače normalni sastojci bazalne membrane (BM) [47]. Potom sledi degradacija ili disolucija ECM, i na kraju širenje u ECM.

Dalje širenje obično se odvija duž BM i kroz intersticijalno vezivno tkivo siromašno u anatomske preprekama za napredovanje tumora. Površine tumorskih ćelija su bogate u lamininskim receptorima, tako da su sposobne da se pričvršćuju za BM, ali imaju i integrine (adhezionalne molekule), koji mogu biti receptori za mnoge komponente ECM, što im omogućuje dalje širenje do krvnih i limfnih sudova i nastanak metastaza [47].

Tumori se kroz telo mogu širiti na više načina: (1) direktnom invazijom na susedne organe, poznatom kao *lokalno širenje*; (2) metastazama do udaljenih organa pomoću limfotoka i venskih krvnih sudova; i (3) metastazama u pravcu implantacije [47].

Metastaza predstavlja širenje malignih ćelija sa primarnog mesta nastanka (primarni tumor) na udaljena mesta, što je karakteristika maligniteta. Metastaza obično uključuje niz uzastopnih patofizioloških procesa, koji su deo načina širenja: (1) direktno ili neprekidno širenje lokalne invazije tumorskih ćelija u okolno tkivo;

(2) prodiranje ili penetraciju u limfotok i krvotok, ili telesne šupljine; (3) oslobađanje ćelija u limfu ili krv; (4) transport do sekundarnih mesta širenja; i (5) ulazak, nastanjivanje i rast u sekundarnim mestima, sve do smrti domaćina [47].

## 7.3 INFEKCIJE

Spoljašnje i unutrašnje površine tela normalno i bezbedno naseljavaju brojne bakterije koje se zajednički nazivaju *normalna (mikro)flora*, od kojih mnoge obavljaju važne funkcije u organizmu domaćina, kao što je zaštita od kolonizacije patogenih mikroorganizama (patogenih agenasa), učešće u varenju hrane, i produkcija vitamina (npr. vitamina K) [48]. Većina ovih bakterija su anaerobni ili fakultativno anaerobni organizmi (nije im potreban ili delimično im je potreban kiseonik za rast i metabolizam), kojima se kao deo normalne flore pridružuju i određene gljivice (npr., *Candida albicans*), dok se prisustvo virusa i parazita uvek smatra patogenim [49].

U bilo kojoj anatomskoj lokaciji gde se nalazi normalna flora, jedna vrsta organizama uvek preovlađuje. Ovakav balans između mikroba pruža mikrobiološku i imunološku stabilnost i zaštitu određenoj osobi, mada može varirati sa starošću [npr., postoji tendencija zamene gram-pozitivnih bakterija (boje se metodom po Gramu) sa gljivicama, kao što je *Candida albicans*]], primenom antibiotika, ili pri oštećenju normalne anatomske ili fiziološke funkcije organizma [49].

Normalna mikroflora kože obuhvata veliki broj bakterija od kojih su najzastupljenije gram-pozitivne bakterije: epidermalni stafilokok (*Staphylococcus epidermidis*) (85-100% u zdravih) i drugi stafilokoki, posebno „zlatni” stafilokok (*Staphylococcus aureus*) u 5-25% u zdravih, kao i propionbakterija akni (*Propionibacterium acnes*) u 45-100% u tinejdžera [49]. Od gljivica najznačajniji pripadnik normalne mikroflore kože je *Candida albicans*, koja se nalazi ispod nokata i između prsta, posebno na nogama [49, 50].

Koža protiv patogenih mikroorganizama ima i svoju kiselost (pH ~ 5,5), koja preventivno deluje, zahvaljujući prisustvu masnih kiselina koje inhibiraju rast ostalih mikroba, osim pripadnika normalne mikroflore [50].

Sluzokože imaju svoju specifičnu mikrofloru, koja se razlikuje zavisno od lokacije. To su uglavnom gram-negativne bakterije (ne boje se metodom po Gramu), koje svojim prisustvom onemogućavaju naseljavanje patogena, bilo fizički ili biohemski: lučenjem sekreta mucina ili štetnih supstanci, najčešće masnih kiselina [49].

### 7.3.1 Oportunističke i druge infekcije

Svi mikroorganizmi, čak saprofiti i pripadnici normalne flore, mogu biti *oportunistički patogeni*, sposobni za razvoj infektivne bolesti (*oportunističke infekcije*).

**Oportunističke infekcije** nastaju kada zdravlje i otpornost organizma domaćina budu ugroženi nekom ozbilnjijom bolešću, operacijom, ili terapijskim sredstvom, što se *najčešće* i dešava kao *komplikacija prisustva biomaterijala* u telu domaćina.

Mikrobiolozi danas smatraju da svi infektivni agensi mogu prouzrokovati *transmisionu infektivnu bolest*, zahvaljujući posedovanju genetskog zapisa ili genoma od ribonukleinske kiseline (RNK) [ribonucleic acid (RNA)] ili deoksiribonukleinske kiseline (DNK) [deoxyribonucleic acid (DNA)], koji kodira produkciju esencijalnih proteina ili enzima potrebnih za opstanak i reprodukciju [48].

**Prioni**, koji se sastoje od malog modifikovanog inficiranog proteina domaćina, tzv. prionskog proteina (PrP), nemaju nikavu vrstu posebnog genoma, odnosno nukleinsku kiselinu, osim proteina nađenog u inficiranim neuronima domaćina. Bolest nastaje kada normalan protein podlegne promenama i postane otporan (rezistentan) na dejstvo proteaza (enzima koji cepaju i razgrađuju polipeptidne lance), prouzrokujući njegovo akumuliranje i oštećenje nervne ćelije. Proteaza-rezistentan PrP potpomaže i ubrzava konverziju normalnog proteaza-senzitivnog (osetljivog) proteina u nenormalnu formu, ispoljavajući time infektivnu prirodu bolesti.

Otkriveno su brojne prionske bolesti, od kojih su najčešće Krojcfelt-Jakobsova [*Creutzfeldt-Jacob disease* (CJD)] bolest [51], i kuru (udružena sa kanibalizmom, posebno Fore plemena sa Nove Gvineje) u ljudi, skrapije u ovaca, goveđa spongiformna encefalopatija [*bovine spongiform encephalopathy* (BSE)] ili „bolest ludih krava”, i mačja spongiformna encefalopatija [*feline spongiform encephalopathy* (FSE)], u domaćih životinja [52]. Zbog slične simptomatologije i patofiziologije, razne prionske bolesti su doble naziv *transmisione neurodegenerativne bolesti* [48].

Prioni ne izazivaju imunski odgovor i veoma su rezistentni na topotu, dezifikacije i radijaciju [48]. Prionske bolesti su smrtonosne, uglavnom kratkotrajne (nekoliko meseci ili, eventualno, nekoliko godina), koje se manifestuju progresivnom demencijom (za 6 meseci od pojave) [51], a završavaju atrofijom mozga, prouzrokovanim spongiformnom degeneracijom i razvojem astroglije (astroglioza) [52].

*Prionske bolesti* su infektivne transmisione bolesti, koje se mogu preneti na ljude tokom transplantacije organa, kao što je rožnjača (*cornea*), implantacijom kontaminirane elektroencefalografske (EEG) elektrode, i/ili hirurškim procedurama [52], uključujući usadijanje kalema (grafta). Hirurške procedure mogu izazvati prionsku bolest usled slučajnog prenošenja zaraze nesterilnim hirurškim instrumentima ili aparatom od prethodno operisanog zaraženog bolesnika sa CJD, BSE, ili FSE. Do sada je objavljeno više od 70 slučajeva CJD posle implantacije graftova tvrde moždane opne (*dura mater*), a jedan slučaj se pojavio nakon lečenja perforacije bubne opne perikardijalnim graftom [52]. Jedino sigurna preventivna mera protiv ovih bolesti je sterilizacija instrumenata ili aparature u autoklavu na 132 °C tokom 5 časova ili tretman sa dvonormalnim rastvorom natrijumove baze (2N NaOH) tokom nekoliko (5-6) časova [52].

**Virusi**, kao intracelularni paraziti, uvek su patogeni i njihovo prisustvo označava virusnu infekciju. Virusna infekcija može biti bezazlena [virus prehlade (*common cold virus*)], veoma opasna {virus B hepatitisa [*hepatitis B virus* (HBV)] i virus C hepatitisa [*hepatitis C virus* (HCV)]}, ili, čak, smrtonosna {virus humane imunodeficijencije [*human immunodeficiency virus* (HIV)]}. Sve vrste injekcija, a posebno direktno u krvotok {[intravenski (i.v.), intraarterijski (i.a.), intrakardijalno [*intracardial* (i.c.)]} potencijalno su opasne za prenošenje HBV, HCV, ili HIV infekcije [50].

**Bakterije** u prirodi retko žive kao pojedinačni organizmi obitavajući u vodenom rastvoru. Mnogo češće, bakterije imaju tendenciju udruživanja i kolonizacije okolnih površina životne sredine, stvarajući strukturne zajednice zvane *biofilmovi* [48].

Organizacija i struktura biofilmova obezbeđuje bakterijama bolju ishranu i eliminaciju metaboličkih otpadaka. U biofilmu, pojedinačni organizmi koriste hemijske signale za prostu međusobnu komunikaciju, koja im je potrebna za proliferaciju ili eventualnu evakuaciju, odnosno opstanak.

Na desetine miliona medicinskih sredstava koristi se svake godine, i uprkos mnogim prednostima u biomaterijalima, mnogi delovi od bilo kog tipa sredstava bivaju naseljeni (kolonizovani) bakterijama, postajući žarište koje postaje izvor infekcije. Aktuelna sredstva (npr. kontaktna sočiva) se kolonizuju čim se postave na površinsko tkivo, transkutana pomagala (npr. vaskularni kateter) se progresivno kolonizuju kožnim mikroorganizmima (mikrobima), pa, čak, i hirurški implantirana sredstva redovno postaju žarište infekcije.

Neki od najrasprostranjenijih biofilmova ikad viđenih na medicinskom sredstvu nađeni su na površini intrauterinih sredstava za kontracepciju, kao i na zubnim i dentalnim biomaterijalima, gde su najviše kolonizovane bakterije normalne flore usne duplje [53]. Implantirana sredstva mogu biti kolonizovana u toku hirurškog postupka, ili mogu biti kolonizovana organizmima koji dobijaju prilaz hematogenom putu, sa udaljenog izvora.

Najvažniji faktor u razvoju sredstava vezanih za infekcije je veština hiruškog tima, što se vidi iz podataka da kod proteze kuka biva inficirano manje od 0,2% slučajeva u velikim specijalizovanim klinikama, a manje od 4% sa manje profesionalnom opremom, a verovatno i timovima, u drugim ustanovama [53].

Velika i kompleksna medicinska sredstva koja zahtevaju dugu i komplikovanu operaciju za njihovo smeštanje imaju veliki rizik od bakterijske infekcije, dok transkutana pomagala ili aparati vrlo često bivaju inficirani. U mnogim oblastima medicine, rizik od infekcije ograničava korišćenje biomateriala, bez obzira na umetna inženjera i inkorporaciju najfinijih i najsoficitiranijih biomaterijala raspoloživih u ovom naprednom području koje se stalno menja. Pošto se medicinska sredstva sve redovnije koriste, hirurzi koji ih postavljaju koriste svoju dobro razvijenu moć opažanja da definišu "klasično" sredstvo vezano za infekciju.

Ove infekcije su često veoma spore u razvoju, sa neskrivenim simptomima ponekad viđenim skoro odmah, a ponekad su uočljive tek mesecima ili čak godinama posle postavljanja sredstva. Zapaljenje i gnoj su često lokalni, naročito na transkutanim pomagalima ili aparatima, ali određeni broj pacijenata sa biomaterijalima podložnim infekciji odjednom razvijaju akutnu raširenu infekciju prouzrokovanoj istim vrstama koje su kolonizovale sredstvo. Ovakvo akutno pogoršanje nakon primene biomaterijala podložnog infekciji dobro reaguje na terapiju antibioticima. Međutim, ovaj tretman skoro nikad ne ukida sve lokalne simptome, i kolonizovana sredstva često daju seriju predvidljivih akutnih pogoršanja, tako da jedino dobar medicinski menadžment određuje njegovo odstranjivanje.

Najčešći uzročnici *oportunističkih infekcija* biomaterijala su najzastupljeniji pripadnici normalne flore kože, epidermalni stafilokok (*S. epidermidis*) i „zlatni“ stafilokok (*S. aureus*) [49]. *Staphylococcus epidermidis* je normalno slabo virulentan mikroorganizam i stoga redak uzročnik neprotetičkih pridruženih dubokih infekcija, ali zbog svog uvelike u normalnoj flori kože najčešći uzročnik pridruženih dubokih infekcija. Ređe su prouzrokovali druge bakterije iz okruženja (npr. *Pseudomonas aeruginosa*), ili posebne vrste koje dominiraju pri infekcijama kod određenih sredstava. Zato što su inficirajuće bakterije i uobičajene gljivice (npr. *Candida albicans*) svuda prisutne u normalnom okruženju, primalac biomaterijala uvek ima dobar imunitet protiv ovih slabo virulentnih patogena, ali padom imuniteta remeti se biološka ravnoteža i obrana organizma ne uspeva da spreči infekciju [50].

Površina kože je naseljena širokim varijetetom bakterija i gljiva. Većina od njih biva ubijena ili otklonjena hiruškim preparatima (npr. sredstvima za dezinfekciju: benzin, alkohol, jod), ali dublji slojevi su takođe naseljeni bakterijama (u većini *Staphylococcus epidermidis*), koje često prežive sterilizaciju kože. Ova kožna bioflora brzo naseljava površine bilo kojeg biomaterijala preko kože i biofilm se pomera duž svakog biomaterijala koji je postavljen u podkožni "tunel," sve dok se cela površina biomaterijala ne naseli bioflorom.

Kada implantirana medicinska sredstva postanu naseljena, prisustvo ovih biofilmova uvek aktivira patogene promene u okolnim tkivima, ali simptomi se često sporo razvijaju. Mehanički srčani zališci i vaskularni kalemovi mogu biti odbačeni na šavu koji ih drži u mestu i izaziva zapaljenje, tako da uključena oslabljena tkiva stvaraju uslove za njihovo „odvezivanje“ i pomeranje [54]. Ortopedska sredstva mogu razviti "aseptično oslobođanje" onda kada sredstvo ne podlegne osteoklastnom (makrofagnom) razlaganju, a pritom nema ni znakova zapaljenja.

Biofilmovi uzročnih patogena su toliko koherenti da ustaljene kulture biomaterijala i tkiva skoro uvek bivaju negativne. Biofilmovi izazivaju samo nekoliko simptoma, jer njihov zatvoren ćelijski matriks proizvodi malo toksina i izaziva minimalne imunske reakcije i zapaljenja. Lokalni simptomi će se javiti tek kada se bakterijske ćelije oslobole iz pričvršćenih kolonija biofilma.

Mikrobiološka ispitivanja odbačenih medicinskih sredstava otkrivaju vrlo često prisustvo biofilmova. Stoga, jedinstvene karakteristike biomaterijal-zavisnih infekcija mogu biti objašnjene u suštini karakteristikama biofilma [55]. Spor razvoj i asimptomatična priroda mnogih biomaterijal-zavisnih infekcija mogu biti objašnjeni konstatacijom da bakterija biofilma proizvodi nekoliko toksina i izaziva slabu zapaljensku reakciju. Nalaz mnogih biomaterijal-zavisnih infekcija je negativan u ustaljenoj biološkoj kulturi, jer biofilmovi oslobođaju ograničen broj planktonskih ćelija, dok veliki fragmenti biofilma, odrasli kao pojedinačne kolonije na pločama kao i pričvršćene ćelije, ne rastu dobro na želatinskim (agar) površinama.

Uobičajene bakterijske vrste dominiraju u biomaterijal-zavisnim infekcijama iz razloga što formiraju biofilmove veoma efikasno u njihovom prirodnom okruženju (npr. koža), i ovaj vid rasta biofilma štiti ga od imunske reakcije koje nastaju u svim potencijalnim domaćinima. Ovaj vid rasta biofilma zaštićuje uzročne agense biomaterijal-zavisnih infekcija i od humornog i ćelijama posredovanog imuniteta

[56], tako da se ove infekcije dešavaju u zdravim osobama i nikada se ne otklanjaju, čak i kod domaćina sa najaktivnijim mehanizmima odbrane.

Ponovno javljanje (egzacerbacija) biomaterijal-zavisnih infekcija je prouzrokovano oslobađanjem planktonskih ćelija iz biofilma. Antibiotici mogu ubiti ove plutajuće ćelije i poništiti simptome akutne infekcije, ali infekcija i dalje opstaje, jer uzročni biofilm je obično otporan na ove antibakterijske agense.

Većina, ako ne sve, karakteristike biomaterijal-zavisne infekcije mogu biti objašnjene u suštini mikrobiološkim karakteristikama biofilma, tako da može biti korisno da se istraži polje začetka biofilma kao rani korak u istraživanju novih biomaterijala koji će kontrolisati ove infekcije.

### 7.3.2 Mikrobiologija biofilma

Mnogi od koncepata i tehnika, koje služe mikrobiolozima u stvarnom osvajaju oblasti epidemioloških bakterijskih bolesti uzrokovanih planktonskim organizmima, slabo nam pomažu u studiji o sredstvima podložnim infekcijama i drugim hroničnim bakterijskim bolestima. Potrebno je prihvatići suštinsku činjenicu da se bakterije biofilma razlikuju od njihovih planktonskih duplikata na više načina, kao što se spore razlikuju od vegetativnih bakterija. Ovo je suštinska stvar za specijalne metode biofilma koje se koriste u istraživanjima bakterijske kolonizacije biomaterijala.

**Adhezija bakterija na površini.** Postoji više teorija koje objašnjavaju mehanizme bakterijske adhezije na površini biomaterijala. Prema DLVO teoriji, koncept koloidnog ponašanja zamišlja planktonske bakterijske ćelije kao nežne koloidne čestice koje uzajamno deluju sa površinom [53]. Uzajamno delovanje bakterijskih ćelija i površine biomaterijala zasniva se na električnim punjenjima na obe površine, koja prevazilaze osnovno odbijanje pojedinačnih čestica [53]. Istraživanje planktonskih bakterija, korišćenjem specijalnih preparata elektronskog mikroskopa, jasno je prikazalo da ove površine nisu glatke.

Cela površina planktonskih ćelija sa svih strana prekrivena je matriksom od hidrofobnih egzopolisaharidnih (EPS) vlakana, i ponekad sa veoma uređenim proteinskim „omotačem”, uz dodatne ćelijske proteinske produžetke [bič (*flagela*) i treplje (*cilije* ili *pili*)] duge 2-6 µm [53, 57]. Spojni EPS sloj planktonskih ćelija učvršćen je za polisaharidna vlakna O antigena, koja se pružaju iz lipopolisaharida (LPS) spoljne membrane gram-negativnih ćelija, kao i polisaharidnih vlakana tikoikične (“tikoikične”) kiseline, koja se pružaju iz ćelijskih zidova gram-pozitivnih bakterija [53, 57]. Zamrznute zamene mikroskopskih preparata pokazale su da površina planktonskih bakterijskih ćelija, koje bi bile sposobne da stupe u interakciju sa površinom koju bi kolonizovale, imaju 0,2 do 0,4 µm debelu šumu proteina i polisaharidnih vlakana [53]. Planktonska bakterijska ćelija nije površinski glatka koloidna čestica i prava interakcija ovih ćelija sa površinom zasnovana je na premošćavanju bakterijskih vlakana sa vlaknima adsorbovanim na površini koja je kolonizovana. Stoga, DLVO teorija ima ograničenu upotrebu u istraživanjima bakterijske adhezije.

Sledeća konvencionalna mikrobiološka metoda koja se oslanja na čistu kulturu izolovanih ćelija iz podgrupa koje su odgajene na hiljadu puta bogatijem ambi-

ju, takođe nam ne služi dobro u studijama biofilma važnim za medicinska sredstva. Ovim metodom, koji datira još od *Roberta Kocha* (oko 1850. godine), proizvodi se labaratorijski prilagođena vrsta bakterija. To su selektovane bakterije u pravcu planktonskog rasta, jer prosto delovanje podkultura napušta adherentne ćelije iza sebe u staroj kulturi i transformiše samo slobodno plutajuće ćelije [53]. Ove laboratorijski prilagođene vrste nedostaju mnogim strukturnim površinama, kojim bi bile neophodne za njihov opstanak u neprijateljskom "divljem" okruženju. Međutim, one nisu tretirane antibakterijskim agensima, tako da opstaju u epruveti koja se testira, ali umiru ako se puste u prirodne ekosisteme. Kada se ove laboratorijski prilagođene vrste koriste u studijama o bakterijskoj adheziji na biomaterijale, one prilaze bliže glatkim površinskim koloidnim česticama, kako se zamišljalo u DLVO teoriji. Pokazalo se da laboratorijski prilagođene vrste bakterija opstaju veoma slabo u poređenju sa "divljim" prirodnim bakterijama, ponašajući se nezadovoljavajuće u kliničkim testovima. Većina mikrobiologa koji su se fokusirali na biofilmove nikada nisu radili adhezione eksperimente na vrstama koje su imale više od jednog transfera sa inficiranog pacijenta, iako je njihov cilj bio da procene sklonost biomaterijala za kolonizaciju navodnim patogenom. Tako su naučnici FDA i EPA upozoreni o neophodnosti korišćenja "divljih" bakterija u testiranju biomaterijala [53].

Kada planktonske ćelije ostanu na površini, i pri tom to čine sa značajnom agresivnošću, pokazuju ponašanje koje je podeljeno na "reverzibilni" i "ireverzibilni" šablon [53]. Najpokretniji organizmi (npr. *Pseudomonas aeruginosa*) mogu koristiti svoje flagele kao mehanizme za prizemljenje, a potom i tip IV treplji da proizvedu trzajnu pokretljivost koja im dozvoljava da se učvrste u doterane strukture, a neke u formacije koje liče na sočna ili voćna tela miksobakterija [53].

Drugi manje pokretni organizmi proizvode "prozore" ćelija sledeći adheziju, dok ćelije koje nemaju ni bičeva, ni treplji, jednostavno ostaju u mestu, ako im to mesto odgovara, ili se odvajaju ako im ono ne odgovara [53]. Kretanje je pokazatelj postadhezionog ponašanja bakterija, što upućuje na dalje istraživanje u Centru za Biofilm Inženjeringu [*Center for Biofilm Engineering (CBE)*]. Web stranica ([www.erc.montana.edu](http://www.erc.montana.edu)) [58].

Biofilm inženjeri su stvorili iznenađujuće rezultate [59, 60], pokazujući da mnoge ćelije koje prijanjaju za površinu, takođe se odvajaju i napuštaju područje pre nego što sačine genetski prekidač kojim bi se određivalo ireverzibilno pričvršćivanje i inicirao proces formiranja biofilma. Čine se veliki napor u traganjima za kolonizaciono-otpornim biomaterijalima, ali još uvek nema dovoljno dobrih rezultata.

Divlje bakterije prijanjaju jednakо dobro na vrlo hidrofobičnu (npr. *teflon*) površinu, kolonizuju glatku površinu; kao što prijanjaju na grubu površinu, isto tako kolonizuju ravne površine u veoma velikom delu sistemskih tokova [53]. Zato ne postoji savršena površina biomaterijala, koji je rezistentan na bakterijsku kolonizaciju, bez obzira na svojstva njegove površine.

**Formiranje biofilma na površini.** Formiranje biofilma na površini je genetski regulisan proces. Kada bakterijska ćelija "donese odluku" da kolonizira površinu, ona postavlja u pokret model ekspresije gena da naveliko menja njegov prethodni planktonski fenotip za proizvednju jedinstvenog biofilmskog fenotipa,

koji se može razlikovati čak 70% u ekspresiji proteina [61]. Neki od prvih gena koji su regulatori u adherentnim ćelijama uključeni su u proizvodnju EPS materijala, koji će formirati matriks biofilma i takođe će biti utočište za ireverzibilno kačenje ćelijama za površinu biomaterijala.

Jednom pričvršćene ćelije pokreću konverziju za biofilmski fenotip, više-ćelijsku zajednicu na kolonizanoj površini, da počne pričvršćivanje većeg broja ćelija pomoću binarne fuzije i pomoću daljeg regrutovanja planktonskih ćelija iz vodene, hidrofilne faze. Kako se povećava njihov broj i produkuju veće količine EPS matriksnog materijala, pričvršćene ćelije formiraju mikrokolonije u kojima one čine oko 15% zapreme, a matriks zauzima oko 85% zapreme [53].

Mikrokolonije grade oblike slične kulama i pečurkama u većini prirodnih i kultivisanih biofilmova, ali se mogu naći i druge morfološke strukture zavisno od vrste kolonije i mogućnosti ishrane [53]. Mikrokolonije mogu okupirati kolonizovanu površinu, gde različite entitete razdvajaju otvoreni vodenih kanali, ili imaju nekoliko naslaganih slojeva za formiranje tankih sesilnih (nepomičnih) zajednica, ali uvek održavaju svoj strukturalni integritet i kreću se nezavisno pod silama pritiska.

Kada biofilm sazre i podvrgne se većim fenotipskim promenama [62], proces ćelijskog deljenja i regrutovanja se ujednačava sa programiranim odvajanjem planktonskih ćelija iz sesilne zajednice i njene mase.

Većina prirodnih biofilmova predstavlja zrelu gustu i stabilnu strukturu zajednicu u toku nedelje ili dve od početka kolonizacije, koja ostaje relativno stabilna godinama [62].

Smatra se da se fenotip biofilma razvio tokom opstanka bakterija u surovom okruženju u primitivnim uslovima u toku evolucije, a planktonski fenotip se razvio kasnije, kao pogodan mehanizam za rasejanje [62].

**Prirodna kontrola formacije biofilma na površini.** Kompleksna struktura biofilmskih zajednica stimulisala je intenzivnu diskusiju kako signali (npr. hormoni ili feromoni) moraju biti operativni da dozvole razvoj oblikovanih mikrokolonija i ustaljenih vodenih kanala. U 1998.god. urađena je prva demonstracija, pokazavši da je razvoj biofilma u *P. aeruginosa* kontrolisan pomoću acil homoserinskog laktorskog [*acyl homoserine lactone* (AHL)] kvorum-raspoznavajućeg signala [63]. Naknadno je objavljeno da *agr*, *sar*, i *RAP* [64] signali kontrolisu ovaj isti proces u gram-pozitivnim organizmima. Pored toga, pokazano je da autoizazivač (autoinduktor) II signal (*furanon*) kontroliše formiranje biofilma, kao i mnoge druge procese svih bakterijskih vrsta [65]. Većina biofilm specijalista slaže se da su ovi signali jednostavno nagoveštaj ledenog brega, da će mnogo više signala biti otkriveno, i da specifične blokade ovih jednostavnih hemijskih signala nude praktičan način kontrole bakterijskog "ponašanja". Već je pokazano da specifični signali inhibitori mogu da blokiraju toksičnu proizvodnju u *S. aureus* i mogu čak vratiti specifične bakterije u suštinski nepatogeno stanje u životinjskim modelima [66].

Istraživanja načina formiranja i opstanka biofilma su veoma privlačna za proizvodnju agenasa koji bi bili sposobni da spreče pojavu biomaterijal-zavisnih infekcija. Ako su bakterije koje prave kontakt sa biomaterijalom "zaključane" u planktonskom fenotipu i onemogućene da prihvate zaštićen fenotip biofilma, one

bi bile brzo ubijene odbrambenim mehanizmom domaćina i/ili antibiotskom terapijom. Nekoliko hemijskih analoga koji blokira signalnu aktivnost ometanjem sa povezivanjem signala sa njegovim srodnim receptorom prikazano je efektivnim u inhibiranju formiranja biofilma u specifičnim patogenima [64]. Jedan takav analog (RIP) štiti vezivanje biofilm kontrolnih signala (RAP) za njegov receptor (TRAP) [53, 64]. Ovi blokeri signala pokazali su da predupređuju formiranje biofilma u životinjskom modelu sredstava koja su vezana za infekciju i dozvoljavaju kompletno istrebljivanje bakterija sa konvencionalnom antibiotskom terapijom [67, 68]. Postoji očito složena mreža signala u bakterijskim ćelijama i traganje za biofilm kontrolnim signal inhibitorima je vrlo komplikovano. Malo je verovatno da ćemo naići na signalni sistem uključenja ili isključenja za biofilm formacije i blokere koji sprečavaju biofilm formacije da mogu da regulišu individualno ponašanje bakterija (npr. proizvodnja toksina). Ipak, ohrabruju zapažanja nađena u prirodnim ekosistemima. Morske biljke i životinje kontrolišu biofilm formacije na njihovim površinama verovatno zbog biofilm/mulj srašćivanja koje bi ih sahranilo i onemogućilo fotosintezu u biljkama, a najmanje jedan od sadržaja koji koriste za ovu svrhu jeste signal inhibitor [53]. U ovim prirodnim sistemima, biljne i životinske površine su idealna mesta za formiranje i rast biofilma, ali ne i bakterijskih mutanata sposobnih da sprečavaju delovanje ovih prirodnih biofilm kontrolnih agenasa koji su se razvili tokom miliona godina evolucije.

**Novi inženjerski pristupi za kontrolu biofilma.** Trenutna terapija za biomaterijal-vezane infekcije sastoji se od pokušaja da se ubiju biološki entiteti (bakterije) sa hemijskim entitetima (antibiotici), sa jedinim promenljivim parametrima: koncentracijom i vremenom kontakta [53]. Inženjeri su savetovali da broj fizičkih snaga može biti obuzdan isporukom većih koncentracija antibiotika u inficirani organizam ili da se napravi kompromis da bakterija bude uništена na način koji je čini više osetljivim na letalne agense.

Dve tehnologije koje nude značajno terapijsko poboljšanje uključuju upotrebu ultrazvučne energije [69] i delovanje veoma slabih stalnih magnetskih polja (SMP) jednosmerne struje [direct current (DC)] [53] ili, još bolje, stalnih magneta okrenutih severnim [north (N)] polom na biofilm [70]. Oba ova metoda su se pokazala izrazito uspešnim u uništavanju mikrobske populacije osetljive na konvencionalne antibiotike [53, 70]. Vrše se praktična istraživanja modifikacija biomaterijala, kao i dizajna aparata, koji bi sprečili potencijalno formiranje biofilma nakon ugradnje biomaterijala i time nastanak biomaterijal-zavisnih infekcija.

### 7.3.3 Potencijalni agensi za kontrolu kolonizacije mikroba biomaterijala

Dosadašnja istraživanja su pokazala da se veoma teško izboriti protiv bakterijskih rezistentnih sojeva koji su izazivači biomaterijal-zavisnih infekcija. Ohrabruju podaci koji ukazuju da neki od kontrolnih molekula biofilma specifično ciljaju na „kvorum-osetljive” mehanizme, kao što su RIP na TRAP dvokomponentni sistem u gram-pozitivnih i brominirani furanoni na AHL sistemima gram-negativnih mikroba [53].

Zasad je poznato da signalna kontrola bakterijskog ponašanja jeste suptilan proces, u kojem mnogi faktori učestvuju u kontrolnoj mreži aktivnosti. Stoga, jednostavno nije moguće naći prost sistem uključenja ili isključenja koji će kontrolisati razvoj biofilma. Srećom, nađeno je nekoliko blokatora signala koji inhibišu formiranje biofilma i naglo redukuju njegovu patogenost u animalnim modelima (modelima na životinjama). Tako je pokazano da je RIP analogan za RAP signal, koji kontroliše formiranje biofilma svih vrsta stafilokoknog roda, ostvarujući prevenciju formiranja biofilma ovih mikroba na potkožnim dakronskim (*Dacron*) implantima u pacova [68,69]. Kada se daju specifični antibiotici u ovim testovima na životinjama, zbog menjanja i adaptiranja bakterija „zaključavanjem” u planktonski fenotip, nema pojave živih ćelija koje bi se obnovile i raširile od površine biomaterijala u okolna tkiva. Ovaj nalaz je izvrstan način kontrole biomaterijal-zavisnih infekcija, ali je suviše fokusiran na jednu vrstu mikroba, nego što je terapija antibioticima.

Nova istraživanja se moraju usmeriti na niz vrsta- i rod-specifičnih agenasa, koji će moći kontrolisati formiranje biofilma i produkciju toksina. Mikrobiologima, specijalistima za razvoj biofilma, najbolje mogu pomoći zapažanja da biljke štite sebe od patogene kolonizacije i stvaranja biofilma korišćenjem sličnih signala i blokatora signala tokom miliona godina zajedničke evolucije sa mikrobima, koji nisu uspeli da razviju rezistentne sojeve na njihovo preventivno dejstvo [62].

Oslobađanje kontrolnih agenasa sa površine biomaterijala je idealan model prevencije, odnosno kontrole biomaterijal-zavisnih infekcija. Ubijanje planktonskih sojeva bakterija, pre nego što se nasele i formiraju biofilm na biomaterijalu, može se ostvariti primenom antibiotika na više načina: (1) sistemskom terapijom antibioticima koji produkuju baktericidne koncentracije u telesne tečnosti u operativnom polju [71]; (2) oslobađanjem antibiotika i drugih baktericidnih sredstava iz biomaterijala u dovoljno velikim koncentracijama u neposrednu okolinu; (3) ispiranjem (irigacija) i drugim postupcima koji oslobađaju antibiotike sa površine biomaterijala nakon implantacije, pre zatvaranja rane [53]; (4) obogaćivanjem antibiotika nanopartikulama magneta (nanomedicina) [70]. Irigacija rane sa antibioticima već se koristi; biofilm-inhibirajući signali i blokeri signala su u razvoju, pa se ove *in situ* (lat., *in situ*, na mestu) procedure mogu sprovoditi uz dodatno korišćenje ultrazvučne energije i/ili stalnih (DC) električnih/magnetskih polja (SMP) za povećanje efikasnosti ubijanja bakterija u svežem biofilmu.

Veliki dodatni problem pri lečenju infekcija pridruženih implantiranim biomaterijalima predstavljaju rezistentni (otporni) mikroorganizmi na antibiotike. Da bi se uspešnije borili protiv rezistentnih infekcija, lekari, farmakolozi, pa i bioinženjeri, bi trebalo da poznaju osnovne mehanizme rezistencije.

Mehanizmi rezistencije koje koriste patogeni agensi uopšteno se mogu svrstati u više biohemijskih mehanizama [72,73]: (1) enzimska inaktivacija antibiotika pomoću produkcije enzima koji vrše onesposobljavanje leka (npr., beta laktamaza); (2) prevencija ili smanjenje intracelularne akumulacije leka pomoću aktivnog izbacivanja antibiotika iz bakterije (npr., multilekovni transporteri su vrlo efikasni u gram-negativnim bakterijama); (3) promena ili modifikacija ciljnog lek-specifičnog mesta ili mesta za vezivanje leka (npr., mutacija gena) za koje se vežu lekovi da bi

ispoljili antimikrobni efekat; i (4) promena starih i razvoj novih enzimskih puteva koji neutrališu ili inhibišu antibiotike.

## **7.4 PITANJA ZA REKAPITULACIJU**

- 7.1 Koji metalni joni biomaterijala su toksični?
- 7.2 Šta određuje toksičnost biomaterijala?
- 7.3 Postoji li starosna i individualna dozna zavisnost toksičnosti biomaterijala?
- 7.4 Šta vrši razgradnju i odstranjivanje sastojaka biomaterijala?
- 7.5 Šta je hipersenzitivnost?
- 7.6 Šta je imunološka hipersenzitivnost?
- 7.7 Koji su najjači hemijski alergeni?
- 7.8 Koji su najčešći tipovi alergija na biomaterijale?
- 7.9 Kako deluje imunološka senzibilizacija na proces odbacivanja implantata?
- 7.10 Može li autoimunska reakcija biti posledica uticaja biomaterijala na imunski sistem?
- 7.11 Kako nastaju tumori?
- 7.12 Koja grupa regulatornih gena je uključena u proces onkogeneze?
- 7.13 Kako se zove analiza uključena u metod za određivanje tumorske klonalnosti?
- 7.14 Kako se nazivaju maligni tumori vezivnog tkiva?
- 7.15 Da li je rast neoplazme regulisan?
- 7.16 Da li je pojava tumora na granici sa implantatom siguran dokaz da biomaterijal uzrokuje tumor?
- 7.17 Da li se neoplazme obično pojavljuju zavisno od vrste i mesta ugradnje biomaterijala?
- 7.18 Zašto se tumorogeneza pojavljuje posle mnogo godina?
- 7.19 Koji su faktori značajniji za nastanak implantat-indukovanih tumora?
- 7.20 Da li je fibrozna kapsula stranog tela značajna za razvoj neoplazije?
- 7.21 Kakve mikroorganizme obuhvata normalna mikroflora?
- 7.22 Koji mikroorganizam je najzastupljeniji u sastavu normalne mikroflore?
- 7.23 Koje infekcije najčešće prate implantaciju biomaterijala?
- 7.24 Koji mikroorganizmi imaju sklonost udruživanju i formiraju kolonija, zvanih *biofilmovi*?
- 7.25 Kakve oblike grade mikrokolonije biofilmova?
- 7.26 Šta se koristi za suzbijanje propratne infekcije implantata?
- 7.27 Pored upotrebe sistemske terapije antibioticima i drugih baktericidnih sredstava, šta se koristi protiv infekcija implantata?
- 7.28 Koji su uzročnici najtvrdokornijih infekcija pridruženih implantiranim biomaterijalima?
- 7.29 Koja su najsavremenija i najpouzdanija antibiotska sredstva?
- 7.30 Koliko glavnih mehanizma rezistencije na antibiotike je dosad poznato?

## 7.5 LITERATURA

1. L.V. McIntire, S.G. Eskin, A. Yee, Mechanical Forces on Cells, in: B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.3.5.
2. A. Hensten-Pettersen, N. Jacobsen, Systemic Toxicity and Hypersensitivity, in: B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.4.5.
3. B. Crippes Trask, N.S. Rote, S.E. Huether, Innate Immunity: Inflammation, in: K.L. McCance, S.E. Huether (eds.), *Pathophysiology: The Biologic Basis for Disease in Adults and Children*. 5th Ed. (Elsevier/Mosby, St. Louis, 2006), Sect. 1.3.6.
4. I. Catelas, A. Petit, H. Vali, C. Fragiskatos, R. Meilleur, D.J. Zukor, J. Antoniou, O.L. Huk, Quantitative analysis of macrophage apoptosis vs. necrosis induced by cobalt and chromium ions in vitro, *Biomaterials* 26(15) (2005) 2441-2453.
5. E. Tanner, Biomaterials for Orthopaedic Applications, in: S.P.F. Hughes, I.D. McCarthy (eds.), *Sciences basic to orthopaedics*. (W.B. Saunders Company, London, 1998), Sect. 3.18.
6. G. Spagnuolo, V. D'Antò, C. Cosentino, G. Schmalz, H. Schweikl, S. Rengo, Effect of N-acetyl-l-cysteine on ROS production and cell death caused by HEMA in human primary gingival fibroblasts, *Biomaterials* 27(9) (2006) 1803-1809.
7. S.E. Huether, Structure and Function of the Digestive System, in: K.L. McCance, S.E. Huether (eds.), *Pathophysiology: The Biologic Basis for Disease in Adults and Children*. 5th Ed. (Elsevier/Mosby, St. Louis, 2006), Sect. 2.12.38.
8. H. Vihola, A. Laukkonen, L. Valtola, H. Tenhu, J. Hirvonen, Cytotoxicity of thermosensitive polymers poly(*N*-isopropylacrylamide), poly(*N*-vinylcaprolactam) and amphiphilically modified poly(*N*-vinylcaprolactam). *Biomaterials* 26(16) (2005) 3055-3064.
9. F.J. Schoen, Introduction, in: B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.4.1.
10. J.M. Anderson, Inflammation, Wound Healing, and the Foreign-Body Response, in: B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.4.2.
11. H.P. Rang, M.M. Dale, J.M. Ritter, P.K. Moore, Harmful effects of drugs, in: *Pharmacology*. 5th Ed. (Churchill Livingstone/Elsevier Science, Edinburgh, 2003), Sect. 6.52.
12. H.P. Rang, M.M. Dale, J.M. Ritter, P.K. Moore, Individual variation and drug interaction, in: *Pharmacology*. 5th Ed. (Churchill Livingstone/Elsevier Science, Edinburgh, 2003), Sect. 6.51.
13. M. Nylander, L. Friberg, R. Eggleston, L. Björkmann, Mercury accumulation in tissues from dental staff and controls in relation to exposure. *Swed. Dent. J.* 13 (1989) 225-245.
14. European Commission, Dental Amalgam, A report with reference to The Medical Device Directive 93/42/EEC from an ad hoc Working Group mandated by DG III, 1998.
15. C.V. Sommer, C.M. Porth, Inflammation, Tissue Repair, and Fever, in: C.M. Porth (ed.), *Essentials of Pathophysiology: Concepts of Altered Health States*, 2nd Ed. (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007), Sect. 4.14.

16. C.M. Porth, K. Sweeney, Alterations in the Immune Response, in: C.M. Porth (ed.), *Essentials of Pathophysiology: Concepts of Altered Health States*, 2nd Ed. (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007), Sect. 4.15.
17. A.K. Abbas, Diseases of Immunity, in: V. Kumar, A.K., Abbas, N. Fausto (eds.), *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 7th Ed. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 1.6.
18. N.S. Rote, Alterations in Immunity and Inflammation, in: K.L. McCance, S.E. Huether (eds.), *Pathophysiology: The Biologic Basis for Disease in Adults and Children*. 5th Ed. (Elsevier/Mosby, St. Louis, 2006), Sect. 1.3.8.
19. N.S. Rote, B. Crippes Trask, Adaptive Immunity, in: K.L. McCance, S.E. Huether (eds.), *Pathophysiology: The Biologic Basis for Disease in Adults and Children*. 5th Ed. (Elsevier/Mosby, St. Louis, 2006), Sect. 1.3.7.
20. U.S. Department of Health and Human Services, *Food and Drug Administration*, Immunotoxicity Testing Guidance, Document issued May 6 (1999) 1-15.
21. A.I. Terr, Anaphylaxis & Urticaria, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 3.27.
22. H. Hu, Trovanja teškim metalima, prevod, u: E. Braunwald, A.S. Fauci, D.L. Kasper, S.L. Hauser, D.L. Longo, J.L. Jameson (urednici), *Harissonova načela interne medicine*, 15. izdanje. (Bard-fin & Romanov, Beograd - Banja Luka, 2004), Knjiga 2. Petnaesti deo. Odeljak 1. Poglavlje 395.
23. R.N. Mitchell, Innate and Adaptive Immunity: The Immune Response to Foreign Materials, in: B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.4.3.
24. I. Roitt, J. Brostoff, D. Male, *Immunology*, 2nd Ed. (Churchill Livingstone, Edinburgh; Gower Medical Publishing, London, 1997), Sect. 19, 22.
25. A.I. Terr, The Atopic Diseases, in: T.G. Parslow, D.P. Stites, A.I. Terr, J.B. Imboden (eds.), *Medical Immunology*, 10th ed. (McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2001), Sect. 3.26.
26. N. Hallab, K. Merrit, J.J. Jacobs, Metal sensitivity in patients with orthopedic implants, *J. Bone Joint Surg.* 83 (2001) 428-436.
27. K. Rodgers, P. Klykken, J. Jacobs, C. Frondoza, V. Tomazic, D. Zelikoff, Immunotoxicity of metal devices, Symposium overview, *Fund. Appl. Toxicol.* 36 (1997) 1-14.
28. V. Milavec-Puretic, D. Orlic, A. Marusic, Sensitivity to metals in 40 patients with failed hip endoprosthesis. *Arch. Trauma Surg.* 117 (1998) 383-386.
29. [28]. N. Al-Saffar, P.A. Revell, Pathology of the bone-implant interfaces, *J. Long-Term Effects Med. Implants* 9 (1999) 319-347.
30. U. Hillen, M. Haude, R. Erbel, M. Goos, Evaluation of metal allergies in patients with coronary stents, *Contact Dermatitis* 47 (2002) 353-356.
31. K. Kaplan, C.J. Della Valle, H. Haines, J.D. Zuckerman, Preoperative identification of a bone-cement allergy in a patient undergoing total knee arthroplasty, *J. Arthroplasty* 17 (2002) 788-791.

32. V. Kumar, A.K., Abbas, N. Fausto, Neoplasia, in: V. Kumar, A.K., Abbas, N. Fausto (eds.), *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 7th Ed. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 1.7.
33. V. Kumar, A.K., Abbas, N. Fausto, Tissue Renewal and Repair: Regeneration, Healing, and Fibrosis, in: V. Kumar, A.K., Abbas, N. Fausto (eds.), *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 7th Ed. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 1.3.
34. K. Twite, Neoplasia: A Disorder of Cell Proliferation and Differentiation, in: C.M. Porth (ed.), *Essentials of Pathophysiology: Concepts of Altered Health States*, 2nd Ed. (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007), Sect. 1.5.
35. F. J. Schoen, Tumorogenesis and Biomaterials, in: B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.4.7.
36. S. Sahoo, P.P. Rosen, R.M. Feddersen, D.S. Viswanatha, D.A. Clark, Anaplastic large cell lymphoma arising in a silicone breast implant capsule: case report and review of the literature, *Arch. Pathol. Lab. Med.* 127 (2003) e115-e118.
37. D.B. McGregor, R.A. Baan, C. Partensky, J.M. Rice, J.D. Willbourn, Evaluation of the carcinogenic risks to humans associated with surgical implants and other foreign bodies-a report of an IARC Monographs Programme Meeting, *Eur. J. Cancer* 36 (2000) 307-313.
38. J.O. Armitage, D.L. Longo, Maligniteti limfnihćelija, prevod, u: E. Braunwald, A.S. Fauci, D.L. Kasper, S.L. Hauser, D.L. Longo, J.L. Jameson (urednici), *Harissonova načela interne medicine*. 15. izdanje. (Bard-fin & Romanov, Beograd - Banja Luka, 2004), Knjiga 1. Drigi šesti deo. Odeljak 1. Poglavlje 112.
39. P. Carmeliet, Angiogenesis in health and disease, *Nat. Med.* 9 (2003) 653-660.
40. G.E. Moor, Q.N. Palmer, Money causes cancer, *Ban it, JAMA* 238 (1997) 397.
41. O.W. Brawley, B.S. Kramer, Prevencija i rano otkrivanje kancera, prevod, u: E. Braunwald, A.S. Fauci, D.L. Kasper, S.L. Hauser, D.L. Longo, J.L. Jameson (urednici), *Harissonova načela interne medicine*. 15. izdanje. (Bard-fin & Romanov, Beograd - Banja Luka, 2004), Knjiga 1. Drigi šesti deo. Odeljak 1. Poglavlje 80.
42. C.P. Case, V.G. Langkamer, C. James, M.R. Palmer, A.J. Kemp, R.F. Heap, L. Solomon, Widespread dissemination of metal debris from implants, *J. Bone Joint Surg. [Br.]* 76-B (1994) 701-712.
43. A. Vignery, Macrophage fusion: the making of osteoclasts and giant cells. *J. Exp. Med.* 202(3) (2005) 337-340.
44. W. Cui, J.Z. Ke, Q. Zhang, H.-Z. Ke, C. Chalouni, A. Vignery, The intracellular domain of CD44 promotes the fusion of macrophages. *Blood* 107(215) (2006) 796-805.
45. L. Pinchuk, A review of the biostability and carcinogenicity of polyurethanes in medicine and the new generation of "biostable" polyurethanes, *J. Biomater. Sci. Polymer Ed.* 6 (1994) 225-267.
46. C.J. Kirkpatrick, A. Alves, H. Kohler, J. Kriegsmann, F. Bittinger, M. Otto, D.F. Williams, R. Eloy, Biomaterial-induced sarcoma, *Am. J. Pathol.* 156 (2000) 1455-1467.
47. K.L. McCance, P. Barnette, Tumor Invasion and Metastasis, in: K.L. McCance, S.E. Huether (eds.), *Pathophysiology: The Biologic Basis for Disease in Adults and Children*. 5th Ed. (Elsevier/Mosby, St. Louis, 2006), Sect. 1.4.12.

48. Wm. M. Dunne, Mechanisms of Infectious Disease, in: C.M. Porth (ed.), *Essentials of Pathophysiology: Concepts of Altered Health States*, 2nd Ed. (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007), Sect. 4.12.
49. V. Del Bene, Normal flora, in: G. Virella (ed.), *Microbiology and Infectious Diseases*. 3rd Ed. (Williams & Wilkins, Baltimore, 1997), Sect. 3.11.
50. A.J. McAdam, A.H. Sharpe, Infectious Diseases, in: V. Kumar, A.K., Abbas, N. Fausto (eds.), *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 7th Ed. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 1.8.
51. D. Book, Disorders of Brain Function, in: C.M. Porth (ed.), *Essentials of Pathophysiology: Concepts of Altered Health States*, 2nd Ed. (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007), Sect. 10.36.
52. S.B. Prusiner, P. Bosque, Prijonske bolesti, Prevod: Slavko Janković, u: E. Braunwald, A.S. Fauci, D.L. Kasper, S.L. Hauser, D.L. Longo, J.L. Jameson (urednici): *Harissonova načela interne medicine*, 15. izdanje. (Bard-fin & Romanov, Beograd - Banja Luka, 2004), Knjiga 2. Drugi šesti deo. Poglavlje 375.
53. B. Costerton, G. Cook, M. Shirtliff, P. Stoodley, M. Pasmore, Biofilms, Biomaterials, and Device-Related Infections, in: B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.4.8.
54. J.A. Hyde, R.O. Darouiche, J.W. Costerton, Strategies for prophylaxis against prosthetic valve endocarditis: a review article. *J. Heart Valve Dis.* 7 (1998) 316-326.
55. J.W. Costerton, P.S. Stewart, E.P. Greenberg, Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections, *Science* 284 (1999) 1318-1322.
56. J.G. Leid, M.E. Shirtliff, J.W. Costerton, A.P. Stoodley, Human leukocytes adhere to, penetrate, and respond to *Staphylococcus aureus* biofilms, *Infect. Immun.* 70 (2002) 6339-6345.
57. T.B. Higerd, D.T. Kingsbury, M.G. Schmidt, Bacterial Structure, Physiology, and Classification, in: G. Virella (ed.), *Microbiology and Infectious Diseases*, 3rd Ed. (Williams & Wilkins, Baltimore, 1997), Sect. 1.2.
58. Center for Biofilm Engineering (CBE)]. Web stranica ([www.erc.montana.edu](http://www.erc.montana.edu)).
59. P. Stoodley, L. Hall-Stoodley, H.M. Lappin-Scott, Detachment, surface migration, and other dynamic behavior in bacterial biofilms revealed by digital time-lapse imaging, *Methods Enzymol.* 337 (2001a) 306-319.
60. P. Stoodley, S. Wilson, L. Hall-Stoodley, J. Boyle, H.M. Lappin-Scott, J.W. Costerton, Growth and detachment of cell clusters from mature mixed-species biofilms, *Appl. Environ. Microbiol.* 67 (2001b) 5608-5613.
61. K. Sauer, A.K. Camper, Characterization of phenotypic changes in *Pseudomonas putida* in response to surface-associated growth, *J. Bacteriol.* 183 (2001) 6579-6589.
62. P. Stoodley, K. Sauer, D.G. Davies, J.W. Costerton, Biofilms as complex differentiated communities, *Ann. Rev. Microbiol.* 56 (2002) 187-209.
63. D.G. Davies, M.R. Parsek, J.P. Pearson, B.H. Iglesias, J.W. Costerton, E.P. Greenberg, The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science* 280 (1998) 295-298.

64. N. Balaban, T. Goldkorn, R.T. Nham, L.B. Dang, S. Scott, R.M. Ridgley, A. Rasooly, S.C. Wright, J.W. Lerrick, R. Rasooly, J.R. Carlson, Autoinducer of virulence as a target for vaccine and therapy against *Staphylococcus aureus*, *Science* 280 (1998) 438-440.
65. K.B. Xavier, B.L. Bassler, LuxS quorum sensing: more than just a numbers game, *Curr. Opin. Microbiol.* 6 (2003) 191-197.
66. N. Balaban, L.V. Collins, J.S. Cullor, E.B. Hume, E. Medina-Acosta, D.M. Viera, R. O'Callaghan, P.V. Rossitto, M.E. Shirtliff, D.S. Serafim, A. Tarkowski, J.V. Torres, Prevention of diseases caused by *Staphylococcus aureus* using the peptide RIP, *Peptides* 21 (2000) 1301-1311.
67. N. Balaban, A. Giacometti, O. Cirioni, Y. Gov, R. Ghiselli, F. Mochegiani, C. Viticchi, M.S. Del Prete, V. Saba, G. Scalise, G. Dell'Acqua, Use of the quorum-sensing inhibitor RNAIII-inhibiting peptide to prevent biofilm formation in vivo by drug-resistant *Staphylococcus epidermidis*, *J. Infect. Dis.* 187 (2003a) 625-630.
68. N. Balaban, Y. Gov, A. Bitler, J.R. Boelaert, Prevention of *Staphylococcus aureus* biofilm on dialysis catheters and adherence to human cells. *Kidney Int.* 63 (2003b) 340-345.
69. J.L. Nelson, B.L. Roeder, J.C. Carmen, F. Roloff, W.G. Pitt, Ultrasonically activated chemotherapeutic drug delivery in a rat model, *Cancer Res.* 62 (2002) 7280-7283.
70. D. Đorđević, *Uticaj magnetnih polja na mehanizme neurohumoralne regulacije*. Doktorska disertacija. (Medicinski fakultet, Beograd, 2008).
71. J.D. Bryers, R.A. Jarvis, J. Lebo, A. Prudencio, T.R. Kyriakides, K. Uhrich, Biodegradation of poly(anhydride-esters) into non-steroidal anti-inflammatory drugs and their effect on *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in vitro and on the foreign-body response in vivo, *Biomaterials* 27(29) (2006) 5039-5048.
72. N.S. Rote, S.E. Huether, Infection, in: K.L. McCance, S.E. Huether (eds.), *Pathophysiology: The Biologic Basis for Disease in Adults and Children*, 5th Ed. (Elsevier/Mosby, St. Louis, 2006), Sect. 1.3.9.
73. H.P. Rang, M.M. Dale, J.M. Ritter, P.K. Moore, Basic Principles of Chemotherapy, in: *Pharmacology*, 5th Ed. (Churchill Livingstone/Elsevier Science, Edinburgh, 2003), Sect. 5.44.

# 8

## BIOLOŠKA KARAKTERIZACIJA BIOMATERIJALA<sup>1</sup>

Glavni uslov funkcije i opstanka određenog biomaterijala u ljudskom organizmu je povoljna interakcija ćelija i tkiva sa hemijskim materijama od kojih je biomaterijal izgrađen. Hemijski sastav adhezije površine *in vitro* [lat. *in vitro*, na staklu (u epruveti)] i *in vivo* (lat. *in vivo*, u živom organizmu), može prouzrokovati i biomaterial-adherentnu ili biomaterijal-zavisnu ćelijsku apoptozu (programirana ćelijsku smrt) [1]. *In vivo* studije su pokazale da hidrofilične i anjonske površine potpomažu smanjenje adhezije monocita i povećanje proporcije adherentnih apoptotičkih monocita/makrofaga, potencijalno redukujući rizik od oštećenja i zatajivanja implantata prouzrokovanih ovim ćelijama. Hidrofilna i anjonska površina hemijskih supstanci olakšava povećanje apoptotičkih nivoa adheriranih makrofaga, dok ograničava njihovu adheziju i fuziju (lat. *fusion*, stapanje) [2]. Ovaj fenomen predstavlja idealan mehanizam za eliminaciju prisustva potencijalno štetnih ćelija sa površine biomaterijala.

Pošto primjenjeni biomaterijali u većini slučajeva ostaju dugoročno u kontaktu sa lokalnim ćelijama i tkivima na mestu primene ili implantacije, stupajući s njima u interakcije, neophodno je da su što inertniji, kako ih organizam nebi odbacio ili uništio. Zbog toga što reakcija na strano telo nastupa *neposredno* nakon implantacije biomaterijala, progredirajući kroz *stadijume zapaljenja i zarastanja rane* sa učešćem raznih tipova ćelija kao specifičnih indikatora posebnih stadijuma reakcije, potrebno je izvršiti sva moguća testiranja biokompatibilnosti biomaterijala.

Procena biomaterijala se sastoji od njegove biokompatibilnosti i adekvatnog funkcionisanja na mestu primene. Neki biomaterijali vrše zadate funkcije za nekoliko sekundi, dok su drugi gotovo večno (godinama) implantirani i nesmetano obavljaju svoju ulogu. Naravno najviše ima prelaznih, bilo izmenjivih za kraći ili duži vremenski period, bilo trajnih formi biomaterijala.

Procena u *in vitro* uslovima može da nam pruži brže i jeftine podatke o biološkim interakcijama. Međutim, uvek se mora postaviti pitanje da li *in vitro* testovi zaista mere pojave koje će nastati u mnogo složenijoj *in vivo* sredini. *In vitro* testovi

<sup>1</sup>Ovo poglavlje napisao je Drago Đorđević.

u najmanjoj meri prethode testovima na životinjama, što je i poželjno. Ipak, trebalo bi imati na umu da rezultati *in vivo* testova nisu samo važni za samu primenu biomaterijala.

Testiranje biomaterijala se vrši na životinjama, jer su one model sredine koja se može sresti kod ljudi. Ipak, kod životinja postoji ogroman opseg razlika u pogledu anatomije, biohemije, fiziologije, i posebno ponašanja. Bez potvrde kroz kliničke studije na ljudima, često je teško izvesti potvrđan zaključak samo na osnovu delovanja na životinjama. Prvi korak prilikom izrade procedura za testiranje kod životinja je da se izabere životinski uzorak koji je u razumnoj meri, anatomski i biohemski, sličan čoveku. Eksperimenti su osmišljeni tako da se broj potrebnih životinja svede na najmanju meru, da se prema životinjama ponaša humano (npr., po uputstvu Nacionalnog Zdravstvenog Instituta o tretiranju laboratorijskih životinja), kao i da se u najvećoj meri istakne važnost bitnih informacija.

Testiranje, a naročito testiranje na živim sistemima, uvek vodi ka eksperimentalnoj varijabilnosti. Što je sistem složeniji (npr., ljudske ćelije nasuprot ćelijama mikroorganizama), može se očekivati veća statistička varijabilnost rezultata testiranja, sprovedenog nakon izrade statističkog nacrtta, koji će nam ukazati na minimalni broj uzoraka koje moramo testirati kako bismo dobili značajne rezultate.

Pomoć u izradi nacrta o testiranju mnogih biomaterijala je dostupna u okviru domaćih i međunarodnih organizacija za utvrđivanje standarda. Prema tome, Međunarodna organizacija za utvrđivanje standarda [*International Standards Organisation (ISO)*] i Američko udruženje za testiranje materijala [*American Society for Testing and Materials (ASTM)*] mogu da pruže detaljna pravila o naširoko primenjivim i pažljivo osmišljenim procedurama testiranja. Ostali protokoli testiranja se mogu pronaći u nevladinim organizacijama {npr., Američkom Institutu za hranu i lekove [*Food and Drug Administration (FDA)*] i Nacionalnim institutima za zdravlje [*National Institutes of Health (NIH)*]}, kao i laboratorijama za komercijano testiranje.

## **8.1 IN VITRO PROCENA KOMPATIBILNOSTI TKIVA**

U *in vitro* uslovima najčešće se koriste izolovane, adherentne ćelijske kulture, da bi se izmerile citotoksičnost i biološka kompatibilnost.

Termin „citotoksičnost“ označava izazivanje posledica toksikacije (smrt, promene u propustljivosti ćelijske membrane, enzimske inhibicije, itd.) na ćelijskom nivou [3]. To se značajno razlikuje od fizičkih faktora koji izazivaju ćelijsku adheziju (površinu zaduženu za materijal, hidrofobnost i hidrofilnost) [2].

Toksični materijal je definisan kao materijal koji ispušta dovoljnu količinu hemikalije koja inhibicijom ključnih metaboličkih tokova, može, na direktni ili indirektni način, da ubije ćeliju [4]. Broj ugroženih ćelija zavisi od količine i jačine hemikalije. I ako različiti faktori utiču na toksičnost hemikalije (sastav, temperatura, test sistema), količina unešene hemikalije u samo jednu ćeliju, je svakako najvažniji faktor.

### 8.1.1 Oslobođena doza i izložena doza

Koncept *oslobođene doze* se odnosi na dozu koju je ćelija apsorbovala. To se razlikuje od *koncepta izložene doze*, koja se odnosi na dozu nanetu test sistemu [5]. Tako, ako se životinja izloži atmosferi u kojoj ima štetne hemiklije (*izložena doza*), samo mali deo inhalirane supstancije će biti apsorbovan i oslobođen u organe i ćelije (*oslobođena doza*). S obzirom da različite ćelije reaguju različito na toksične efekte ksenobiotika (stranih supstanci), najosetljivije ćelije se smatraju cilnjim ćelijama. Da bi se pravilno uporedila osetljivost metoda ćelijske kulture u *in vivo* studijama, moraju se uporediti podaci iz lokalnih uzoraka toksičnosti, kao što su iritacija kože, implantacija i direktna izloženost tkiva. Ovi uzorci umanjuju neizvesnost oslobođene doze koja je povezana sa apsorpcijom, distribucijom i metabolizmom koji su nerazdvojivi deo sistemskih test uzoraka izloženosti.

### 8.1.2 Sigurnosni faktori

Pošto suštinske karakteristike materijala često ne omogućavaju da doza preterano poraste, za određivanje potencijalno opasnih biomaterijala poželjno je raspolagati izuzetno osetljivim test sistemom. Postoji velika doza neizvesnosti u ekstrapolaciji s jednog na drugi sistem, kao npr. sa životinja na ljudе. Da bi to dozvolili, toksikolozi su počeli da upotrebljavaju *koncept sigurnosnih faktora* kod varijacija unutar i među biološkim vrstama [5]. Ova praksa zahteva sposobnost da se u neljudskom test sistemu poveća predviđena klinička doza za ljudski sistem. Kod lokalnih toksičnih uzoraka životinja, postoji velika mogućnost da se uz pomoć distribucije, difuzije, metabolizma i promena u broju izloženih ćelija (moguća upala), smanji doza ciljne ćelije. S druge strane, u uzorcima ćelijske kulture, kod kojih je varijabilnost metabolizma, distribucije i apsorpcije svedena na minimum, doza po ćeliji je povećana do maksimuma kako bi proizvela izuzetno osetljiv test sistem.

### 8.1.3 Karakteristike rastvorljivosti

Osnovne komponente medicinskih uređaja su materijali nerastvorljivi u vodi (polimeri, metali i keramika), što znači da je manje od jednog dela materijala rastvorljivo u 10.000 delova vode [5]. Ostale komponente se kasnije mogu dodati u finalni proizvod kako bi se obezbedile željene fizičke, funkcionalne, proizvodne i sterline performanse. Plastika, npr. može da sadrži plastifikatore, slip agense, antioksidante, punioce, agense iz kalupa za livenje, ili druge aditive iz proizvodnog procesa. Rastvorljive komponete se mogu izdvajati iz nerastvorljivog materijala na različite načine. Davno je pokazano da se pretvaranje hemikalija iz čvrstog plastičnog materijala u tečne rastvore kontroliše pomoću difuzione otpornosti čvrstine, hemijske koncentracije, vremena, temperature, otrpornosti na transfer mase rastvarača, tečne turbulencije na čvrstoj-solventnoj podlozi i dela koeficijenta hemikalije u rastvaraču [6]. Zbog ovih varijabli, uslovi za pripremanje izdvajanja biomaterijala su posebno standardizovani kako bi poboljšali reproduktivnost podataka.

Potpuno rastvaranje biomaterijala je alternativan pristup u *in vitro* testiranju. Njegov glavni nedostatak je što ne stimuliše očekivanu kliničku primenu i može da stvori degradirajuće proizvode koji se ne javljaju u kliničkoj primeni. Stoga se aktuelna klinička doza ili agens izložen ćelijama na farmakokinetički način mogu povećati, jer stopa difuzije netaknutog materijala ili uređaja može biti veoma spora ili različita od one koja se javlja kod potpunog rastvaranja [7].

### **8.1.4 Metode istraživanja**

Danas se za proučavanje biomaterijala koriste najmanje tri metode istraživanja: direktni kontakt, agar analiza i elucija (takođe poznata kao ekstraktna dilucija) [5]. Ovo su morfološki ogledi, što znači da se njihovi rezultati mere posmatranjem promena u morfologiji ćelija. Ova tri ogleda se razlikuju po načinu na koji se test materijal izlaže ćelijama. Kao što nomenklatura nalaže, materijal za testiranje (test materijal) se može direktno staviti na ćeliju ili ekstrahovati u određenom rastvoru koji se zatim stavlja na ćeliju. Izbor metode zavisi od karakteristike test materijala, razloga iz kojeg se test vrši i upotrebe podataka za procenjivanje biokompatibilnosti.

Da bi se standardizovale metode i uporedili rezultati ovih ogleda, moraju se precizno pratiti: različit broj ćelija, faza rasta ćelija (period učestale replikacije ćelije), tip ćelije, trajanje izloženosti, veličina uzorka testa (npr. geometrija, gustina, oblik, debljina) i površina uzorka testa. Ovo je naročito važno kada je izvađena količina toksičnih supstanci na pragu otkrivanja, gde, npr. samo mali porast u veličini uzorka može da promeni ishod, da od netoksične postane veoma toksična supstansa. Ispod praga otkrivanja, razlike u ovim varijacijama su neprimetne. U pogledu opsega količine u ovim ogledima će se pojaviti različiti uglovi krive odgovarajuće doze ili odnos izloženost-posledice, sa različitim toksičnim agensima na način sličan onom kod životinjskih ogleda.

U načelu, poželjnije su linije ćelije koje su gajene za *in vitro* rast od primarnih ćelija koje se uzimaju sveže iz živih organizama, zbog toga što linije ćelija pospešuju reproduktivnost ogleda i smanjuju varijabilnost među laboratorijama. Odnosno, ćelijska linija je *in vitro* duplikat urođene životinjske loze koja se koristi u *in vivo* studijama. Ćelijske linije zadržavaju svoje genetske i morfološke karakteristike tokom velikog dela (ponekad i beskonačno) svog životnog veka [8]. Zbog toga je moguće imati uporedne podatke iste ćelijske linije potrebne za stvaranje baze podataka. Vlakna L-929 fibroblasta ćelije miša se najduže koriste za testiranje biomaterijala [5]. Ćelije L-929 su prevashodno izabrane zbog toga što su luke za održavanje u kulturi i što daju rezultate koji su usko povezani sa specifičnim životinjskim bioogledima. Takođe, fibroblast je posebno izabran za ove oglede, zbog toga što je među prvim ćelijama koje nastaju oko rane koja zarasta, a često je i osnovna ćelija u sastavu tkiva koja se vezuju sa ugrađene medicinske uređaje [9]. Mogu se koristiti i ćelijske linije ostalih tkiva ili vrsta. Izbor ćelijske linije zavisi od tipa ogleda, iskustva istraživača, zaključnih konstanti (sposobnosti za život, enzimske aktivnosti, posebnih receptora svake vrste, itd.) i mnogih drugih faktora. Nije neophodno

koristiti ljudske ćelijske linije za testiranje, jer, po definiciji, ove ćelije su u procesu nastajanja pretrpele različite promene, izgubile receptore i metaboličke puteve.

Opis metoda sva tri ogleda ćelijskih kultura se nalazi u Američkoj farmakopeji i u publikacijama Američkog društva za testiranje materijala (ASTM), u Britanskom institutu za standarde [*British Institute for Standards (BSI)*] i u Međunarodnoj organizaciji za standarde (ISO).

#### **Test direktnog kontakta**

U ćelijsku posudu prečnika 35 mm stavlja se monosloj L-929 fibroblast ćelija sisara [5]. Medijum ćelijske kulture se uklanja i zamenjuje sa 0,8 ml sveže sredine kulture [5]. Uzorci negativne ili pozitivne kontrole i artikli testa se pažljivo postavljaju na posebno pripremljene kulture i drže u inkubaciji 24 h na temperaturi od  $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$  u vlažnom inkubatoru. Sredina kulture i uzorci se uklanjuju i ćelija se fiksira i boji citohemijskom bojom kao što je hematoksilin plava. Mrtve ćelije se odvajaju od posude i nestaju u procesu fiksiranja. Žive ćelije ostaju fiksirane za posudu obojene hemijskom bojom. Toksičnost se utvrđuje nedostatkom obojenih ćelija ispod i oko periferije uzorka.

U sredini između mrtvih i živih ćelija, uz pomoć mikroskopa se može videti međuzona uništenih ćelija. Uništene ćelije će imati morfološke abnormalne promene. Promene u normalnosti variraju u zavisnosti od toksikanta i mogu se definisati kao povećana vakuolizacija ili grupisanje, delom zbog smanjene fiksiranosti za posudu, reckavosti, otoka, itd.

#### **Test agar difuzije**

U ćelijsku posudu prečnika 60 mm stavljuju se jednoslojne L-929 ćelije fibroblasta [5]. Sredina kulture se uklanja i zamenjuje sa svežom sredinom kulture koja sadrži 2 % agaru [5]. Pošto agar očvrsne, na površinu iste posude stavljuju se uzorci negativne i pozitivne kontrole i artikal testa, a kulture se drže u inkubaciji minimum 24 h na temperaturi od  $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$  u vlažnom inkubatoru.

Najveći problem ovog ogleda je izbor pravog agara. Agar je generičko ime za specifičan koloidni polimer koji potiče od crvenih algi. Postoje različite vrste agara koje se međusobno razlikuju po molekularnoj težini i veličini unakrsne veze koloida. Proizvodi tkiva sisara agar i agaroza su se pokazali najboljim. Agaroza je hemijski derivat agara koji ima nižu temperaturu pretvaranja u čvrsto stanje i manja je verovatnoća da će izazvati topotomi udar. Trebalo bi da je gustina agara konstantna, jer udaljenost difuzije utiče na ćelijsku koncentraciju toksikanta. Teoretski, možemo očekivati da će se različite hemikalije razliti duž agara različitom brzinom. Ovo je potvrđeno na globalnom nivou, međutim, s obzirom da većina toksikanata ima malu molekulsku masu (manje od 100 D), brzina razlivanja se neće znatno promeniti u toku 24 h, koliko ogled traje [5].

#### **Test elucije**

Elucija (lat. *elutio*, ispiranje) označava ispiranje nekog rastvora od nepoželjnih sastojaka. Ekstrakt materijala se priprema uz pomoć: (1) fiziološkog rastvora

0,9% NaCl ili sredine kulture bez seruma i specifične površine materijala po milimetru ekstrakta; i (2) uslova ekstrakcije koji su prilagođeni primeni i fizičkim karakteristikama materijala [5]. Kao alternativa, serum koji sadrži sredinu kulture se može upotrebiti na temperaturi ekstrakcije od  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ . Izbor ekstrakta postavlja ograničenje u pogledu opsega količine ogleda, tako što će bez dodatih hranljivih sastojaka, fiziološki rastvor 0,9% NaCl sam po sebi postati otrovan po ćelije nakon kraće inkubacije. Ekstrakt se stavlja na pripremljene jednoslojne L-929 ćelije fibroblasta i toksičnost se utvrđuje 48 h nakon inkubacije na  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  u vlažnom inkubatoru [5]. Upotreboom histohemijskih ili vitalnih boja mogu se razlikovati žive od mrtvih ćelija.

### **Interpretacija rezultata**

Svaki ogled se grubo tumači na osnovu četvrtine zaraženih ćelija. Ovo odgovara uobičajnim morfološkim i kliničkim skalama na kojima postoje stepeni zaraženosti izraženi kao: ne, blago, umereno i ozbiljno. Termini koji se koriste za opisivanje stepena zaraženosti upućuju na karakteristike ogleda.

Svaki ogled ima svoje prednosti i mane (Tabl. 8.1) [5]. Glavna briga svakog ogleda je transfer ili difuzija neke hemikalije X od test uzorka do same ćelije. To podrazumeva svu moguću količinu X hemikalije u materijalu, granicu rastvorljivosti X u fazi rastvaranja, uravnoteženu raspodelu X na površini materijala i rastvoru i stepen kretanja X kroz rasut materijal do površine materijala. Ukoliko postoji dovoljno analitičkih podataka koji mogu da potvrde da je nastala samo jedna jedina oslobođena hemikalija iz određenog materijala, onda bi empirijski *in vitro* i *in vivo* testovi toksičnosti mogli da se zamene naučnim recenzijama i farmakokinetičkim utvrđivanjem potencijalno opasnih supstanci na osnovu uzorka [7].

Ogledi direktnog kontakta podražavaju kliničku upotrebu nekog uređaja u tečnosti, npr., krvi, u kojoj je uređaj postavljen direktno na sredinu kulture i u kojoj se ekstrakcija vrši u prisustvu sredine kulture sa serumom na fizičkoj temperaturi. Prisustvo seruma verovatno pomaže u rastvorljivosti oslobođene supstance u sintezi proteina i *in vivo* mehanizmu u transportu supstancija nerastvorljivih u vodi kroz krv. Ogled direktnog kontakta se može koristiti i za testiranje uzorka specifičnog geometrijskog oblika (materijala u obliku kvadrata  $1 \times 1 \text{ cm}^3$  ili glinenih pločica) ili neodređenog geometrijskog oblika (glinenih delića) [5]. Najveći nedostatak ovog ogleda je moguća fizičko oštećenje ćelija koje može nastati pomeranjem uzorka ili njegovim uništavanjem ako ga zgneči uzorak veće gustine.

Nedostaci ogleda direktnog kontakta se mogu izbeći korišćenjem ogleda agar difuzije. Sloj agara između test uzorka i ćelija funkcioniše kao difuziona barijera koja sprečava povećanje koncentracije gradijenta oslobođenih toksikanata, a u isto vreme i štiti ćelije od fizičkog oštećenja. Sam test uzorak se može testirati kao difuziona barijera protiv migracije mastila ili materijala za obeležavanje kroz matricu materijala ka ćelijskoj strani uzorka. Čak i kontakt između test uzorka i agara obezbeđuje difuziju od površine materijala do agara i ćelijskih slojeva, odnosno, difuzija je na površini rastvor-materijal mnogo veća nego na površini vazduh-materij-

jal. Upijajući test uzorci koji mogu da uklone vodu iz omotača agara (čime izazivaju dehidriranje ćelija ispod agara), trebalo bi da se hidriraju pre početka ogleda.

*Tabela 8.1 Prednosti i mane ćelijskih kultura [5]; modifikovano*

	Direktni kontakt	Agar difuzija	Elucija
Prednosti	Eliminiše pripreme za ekstrakciju Zona difuzije Ciljne ćelije se dodiruju sa materijalom Podražava fiziološke uslove Standardizuje količinu test materijala ili test nedefinisanih oblika Producira vreme izloženosti dodavanjem svežih posrednika	Eliminiše pripreme za ekstrakciju Zona difuzije Bolja koncentracija gradijenta od toksikanata Može da testira jednu stranu materijala Ne zavisi od gustine materijala Koristi koture filter papira za testiranje tečnosti ili ekstrakata	Odvaja ekstrakciju od testiranja Posledice reakcija na dozu Produceno vreme izloženosti Izbor uslova ekstrakta Izbor rastvarača
Mane	Oštećenje ćelija ako se materijal pomeri Oštećenje ćelija kod materijala velike gustine Opadanje populacije ćelije kod vrlo rastvorljivih toksikanata	Zahteva ravnu površinu Rastvorljivost toksikanata u agaru Moguć topotni udar kod pripremanja agar obloge Ograničeno vreme izloženosti Moguća apsorpcija vode iz agara	Zahteva više faza i vremena

Test eluzije razdvaja ekstrakciju i fazu bioloških testiranja na dva odvojena procesa. To bi moglo da iscrpi ekstrakciju do te mere da se ispusti čitava količina dostupne hemikalije X iz materijala, pogotovo ako je ekstrakcija izvršena na povišenoj temperaturi koja bi verovatno mogla da poveća stopu kretanja i rastvorljivosti hemikalije X u datom rastvaraču. Međutim, kada se ekstrakt ohladi do sobne temperature, hemikalija X može da se iscedi iz rastvarača ili iz površine materijala. Pored toga, povišena temperatura ekstrakcije može da uzrokuje hemijske reakcije i stvari oslobođene hemikalije koje se u protivnom (da se temperatura nije povećala) ne bi pojatile.

Kao i kod bioloških ili hemijskih, tako se i kod ovih ogleda povremeno javlja smetnje, lažni negativni i lažni pozitivni rezultati. Fiksirajuća hemikalija, npr. kao što je formaldehid ili glutaldehid će u direktnom kontaktu dati lažan negativ, ali u

agar difuziji neće, jer ona koristi vitalnu boju. Vrlo apsorbujući materijal može dati lažan pozitiv u agar difuziji zbog dehidratacije agara. Ozbiljne promene u osmozi ili pH vrdenosti, takođe, mogu da stvore smetnje u ovim ogledima. Isto tako, agens koji oduzima neki važan element ćelijama, npr.  $\text{Ca}^{2+}$ , može da se javi kao lažni pozitivni rezultat.

### 8.1.5 Klinička upotreba

*In vitro* ogledi citotoksičnosti su primarni trijažni testovi biokompatibilnosti za različite vrste elastomernih, polimernih i drugih materijala koji se koriste za medicinske uređaje. Pošto se odredi profil citotoksičnosti nekog materijala, moraju se izvršiti ostali specifični testovi kako bi se utvrdila njegova biokompatibilnost.

Sadašnje iskustvo potvrđuje da se materijal koji je procenjen kao netoksičan u *in vitro* uslovima, pokazao se kao netoksičan i u *in vivo* ogledima. Međutim, to nužno ne znači da se toksični materijali u *in vitro* ogledima ne bi mogli upotrebiti u određene kliničke svrhe. Klinička prihvatljivost materijala zavisi od mnogo različitih faktora, a toksičnost ciljnih ćelija je samo jedan od njih.

*In vitro* ogledi često kritikuju, jer se u njima ne koriste ćelije sa značajnim metaboličkim aktivnostima, kao što je P-450 enzimski monooksigenazni sistem za metabolizam lekova [7]. Odnosno, ogled može samo da utvrdi urođenu toksičnost neke hemikalije, ali ne i da potvrdi moguću toksičnost metaboličkih proizvoda. U stvarnosti, za klinike su najvažnije biološke posledice oslobođenih hemikalija, jer je većina medicinskih uređaja u dodiru sa tkivima koja imaju veoma malu (kao što su koža, mišići, epitelna i potkožna tkiva) ili nikakvu metaboličku aktivnost. Toksični metabolički proizvodi se, najčešće, ne stvaraju na mestu implantacije, već se oslobođena hemikalija transportuje do udaljenih tkiva koja su metabolički aktivna.

Glavni putevi u kojima se stvaraju ili razgrađuju hemijske materije i njihovi metaboliti uključuju: (1) bubrege [10]; (2) hepatobiljni sistem [11]; (3) respiratorični sistem (važan za održavanje acidobazne ravnoteže i isparljive/gasne supstance) [12]. Tokom tog procesa dolazi do razblaživanja koncentracije u krvi, tkivima i svim tečnostima do te mere da koncentracija može pastu ispod granice biološke aktivnosti.

### 8.1.6 Novi istraživački pravci

Trenutno interesovanje za stvaranje novih alternativa kod testiranja životinja je doprinelo stvaranju različitog broja *in vitro* ogleda [13-16]. Ćelijske kulture već nekoliko decenija koriste trijažu lekova protiv raka i utvrđivanje genotoksičnosti (nepovratna interakcija sa nukleinskim kiselinama) [17, 18]. Modifikovan je i ogled elucije za korišćenje sa pločama za mikrotitraciju kako bi se utvrdila odgovarajuća doza citotoksičnosti kod alkohola, fenolovih derivata i hlorisanih toluena [5]. Ovaj sistem je takođe modifikovan za upotrebu mikrosomalnih (S-9) sistema aktivacije kako bi omogućili metabolizam lekova tokom utvrđivanja čistih hemika-

lija kao što su hemoterapijski i bakteriostatički agensi [5]. Metode mikrotitracije će verovatno imati veću primenu jer pružaju ponovljive, poluautomatske, kvantitativne i spektrometričke analize. Najveći problem će biti da se utvrdi adekvatni reper ili opseg količine za tumačenje podataka o mogućim kliničkim rizicima. U ranijim kvantitativnim metodama kod *in vitro* ogleda biokompatibilnosti nije pronađeno da se statističke razlike u biokompatibilnosti, koje su dostubne u kvantitativnim ogledima, biološki razlikuju.

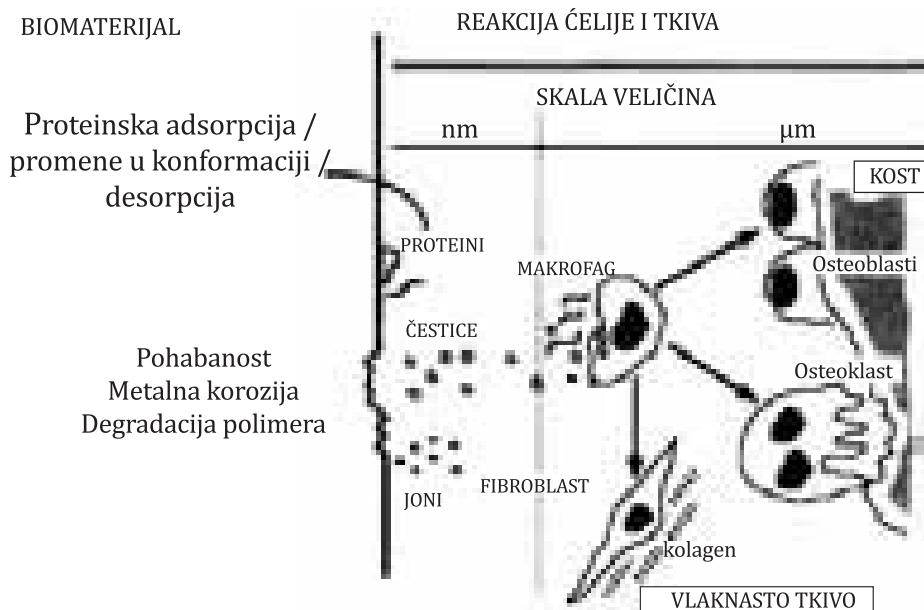
## 8.2 IN VIVO ODREĐIVANJE KOMPATIBILNOSTI TKIVA

Kritički element u razvoju i ugrađivanju (implantaciji) implantata u ljudi je *in vivo* određivanje kompatibilnosti biomaterijala i medicinskih uređaja sa tkivima. Iako *in vitro* sistemi pružaju važne fundamentalne informacije o određenim elementima ćelijskih i molekularnih interakcija sa biomaterijalima, oni ne mogu da zamene *in vivo* oglede. Uzorci životinja su neophodni kako bi se na osnovu njih utvrdile posledice sledećih bioloških dejstva u pogledu biomaterijala ili medicinskog uređaja: (1) dejstva različitih regulatornih, matičnih, stromalnih i faktultativnih ćelijskih tipova međusobno i sa implantima; (2) vrste i dejstva parakrinih i endokrinih faktora koji deluju na ćelije oko implantata; (3) ćelijske interakcije sa nerastvorljivim vanćelijskim komponentama matrice i rastvorljivih regulatornih molekula koje se mogu menjati zbog prisustva implantata; i (4) interakcije sa ćelijama koje prenosi krv, proteinima i molekulima.

Principi koji proučavaju isključivo reakciju tkiva na implantate se mogu pronaći u biomedicinskim naukama (npr. ćelijskoj i molekularnoj biologiji, biohemiji i psihologiji). Na reakcije tkiva na implantate utiču mnogi već pomenuti faktori u prethodnim poglavljima, uključujući [19-23, 32]: (1) tzv. "mrtvi prostor" koji stvara sam implantat; (2) rastvorljive supstance koje implantat ispušta (joni ili delovi polimera); (3) čestice nerastvorljivog materijala koje ispušta implantat (pohabani ostaci biomaterijala); (4) hemijske interakcije koje nastaju dodirom bioloških molekula i površine implantata; (5) promene u lancu distribucije tkiva, koje nastaju zbog neelastičnosti, pogrešnog spajanja između implantata i okolnog tkiva, i zbog kretanja implantata ka susednom tkivu zbog nedostatka mehaničke veze.

Biološke nauke se bave biološkim reakcijama na implantirane faktore u životinjski ili ljudski organizam. Naučni radovi o reakcijama tkiva na implantate zahtevaju metodologiju koja će moći da izvrši merenja na molekularnom, ćelijskom i tkivnom nivou (Sl. 8.1) [19]. Pored toga, vreme je jedna od bitnih varijabli, jer je vremenski razmak između molekularnih i ćelijskih protagonisti bioloških reakcija kritičan, a i zbog toga što ugrađeni (implantni) faktori deluju na biološke reakcije s različitim vremenskim konstantama. Dinamička priroda interakcija između tkiva i implantata nalaže da se finalna procena kompatibilnosti tkiva izvrši u zadatom vremenskom roku.

Procena biokompatibilnosti implantata zahteva da se utvrde kompatibilnost tkiva određenog materijala i efikasnost medicinskog uređaja (obično kod ži-



**SLIKA 8.1** Prikaz nekoliko molekulskih i ćelijskih interakcija koje podrazumevaju reakciju tkiva na biomaterijale. Ćelije (veličine  $\mu\text{m}$ , makrofagi) mogu direktno reagovati na proteine utičući na materijal, čestice i jone (veličine nm) koje luči površina. Makrofag može da izluči medijatore koji utiču na ćelije [citokine i eikosanoide (strelice)], kao što su fibroblasti, osteoblasti i osteoklasti, a tako i na tkiva veličine milimetra, uključujući vlaknasto (fibrozno) tkivo. Vremenski niz ovih interakcija počinje u prvim sekundama implantacije (ugradnje) i nastavlja se tokom godina [19]; modifikovano.

votinjskog uzorka koji stimuliše upotrebu kod ljudi). Reakcija tkiva na implantat je kumulativna patofiziološka posledica: (1) modulacije zarastanja akutne povrede nastale zbog hirurške rane ugradnje i prisustva implantata (Sl. 8.2); (2) eventualne hronične upale; i (3) obnavljanja okolnog tkiva dok se adaptira na implantat [19].

Ovaj složeni niz bioloških procesa ne može se prikazati *in vitro*. Pored toga, zarastanje i stres izazvan reakcijama prilagođavanja na obnavljanje tkiva variraju u zavisnosti od vrste tkiva. Izbor posebnog *in vivo* modela, kako bi se procenila kompatibilnost tkiva određenog biomaterijala ili medicinskog uređaja, trebalo bi da bude zasnovan na sličnosti zarastanja i rekaciji obnavljanja test mesta, tako da to test mesto može da se upotrebi za ugradnju u ljudi.

### 8.2.1 Mesta ugradnje ili implantacije

Osnovni kriterijum u odabiru mesta ugradnje u životinjskom uzorku je njegova sličnost sa mestom u ljudskom organizmu na kome će se primeniti medicinski uređaj. Međutim, vrlo često postoje ograničenja u sposobnosti nekih tkiva i organa kod životinja uzorka da se prilagode implantatima značajne veličine. Kod

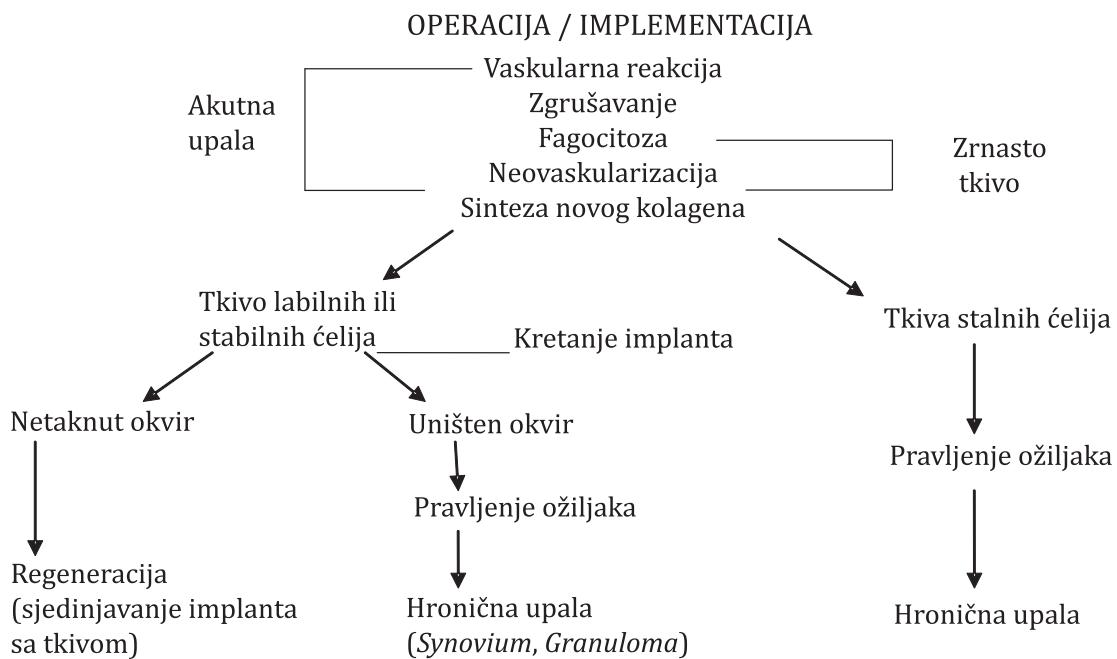
proučavanja prilagodljivosti određenog tkiva kao mesta ugradnje u bilo kom životinjskom uzorku, moraju se uzeti u obzir zarastanje i sposobnosti obnavljanja četiri osnovne vrste tkiva (vezivnog, mišićnog, epiteljnog i nervnog). Karakteristike parenhimatoznih (matičnih) ćelija svakog tipa tkiva mogu da pruže razlog za odabir određenog tkiva ili organa kao mesta na kome će biti izvršena ugradnja. U odabiru mesta za implantaciju, sledeće se mora uzeti u obzir: (1) vaskularizovanost; (2) priroda parenhimatoznih ćelija (pre svega njihova sposobnost mitoze i migracije, jer ovi procesi određuju sposobnost regeneracije tkiva); (3) prisustvo regulatornih ćelija (kao što su makrofagi i ćelije vezivnog tkiva); (4) efekat mehaničkog pritiska (udruženog sa deformacijom ekstracelularnog matriksa (ECM)) na ponašanje parenhimatoznih ćelija [19, 32].

Hirurške rane u nevaskularnom tkivu (npr. kornea i unutrašnja trećina meniskusa) mogu da ne zarastu zbog ograničene mogućnosti proliferacije i kretanja okolnih parenhimatoznih ćelija ka oštećenom mestu [24,25]. Pukotine između implantata i okolnog nevaskularnog tkiva mogu neograničeno ostati. Mesta implantacije u nevaskularnim tkivima, u kojima matične ćelije nemaju sposobnost mitoze (npr. nervno tkivo), zarastaju tako što se stvara ožiljak u pukotini između implantata i okolnog tkiva. Pored toga, susedne ćelije koje su umrle kao rezultat ugradnje implantata, bivaju zamjenjene fibroblastima i ožiljnim tkivom.

Samo prisustvo implantata stvara mrtvo mesto u tkivu koje privlači makrofage kao implantat-tkivni međusklop, mada se mnogo češće dešava interakcija preko prethodne adsorpcije određenih vrsta proteina (*adhezioni proteinii*) [26]. Ovi makrofagi, zajedno sa fibroblastima ožiljka, često formiraju definisani sloj ćelija koje okružuju implantat. Ovakvo tkivo je obično sinovijalnog porekla i ono je hronična reakcija na implantate (osim ukoliko uređaj nije direktno postavljen na kostno tkivo, odnosno osteointegriran). Ovaj proces se često zove *fibrozna enkapsulacija* [3]. Prisustvo regulatornih ćelija, kao što su makrofagi, u tkivnom međusklopu, može značajno uticati na odgovor tela na uređaj zbog toga što ove ćelije imaju mogućnost lučenja medijatora upale, ukoliko su stimulisane kretanjem uređaja ili supstancija iz biomaterijala. Moguća upala tkiva oko implantata je slična zapaljenju koje se javlja u oblozi bilo koje čaure sinovijuma ili burzi (npr., *bursitis*), stoga, rekacija na implantate se takođe definiše kao *implant bursitis* [3].

Prisustvo implantata može takođe da promeni distribuciju stresa ECM-a i tako smanji ili poveća pritisak na postojeće gradivne ćelije. Rezultat immobilizacije mekih tkiva je atrofija, koja nastaje kao rezultat smanjenja mehaničkog pritiska. Gubitak kostne mase oko jakih šipki od butne kondilarne proteze kuka i uređaja koji zamenjuju koleno povezani su sa nedostatkom mehaničkog pritiska ili "stresnog štita" [27]. Takođe su primećene hiperlazija i hipertrofija tkiva u kojima se mehanički pritisak povećao zbog prisustva implantata [28]. U funkcionalnom prilagođavanju ti procesi se označavaju kao: *aktivitetna hipertrofija* i *inaktivitetna atrofija*. Laki i srednji podražaji stimulišu fiziološku aktivnost, a prejaki škode, što odgovara *Arndt-Schult*-ovom biološkom zakonu [28].

Zbog postojećih razlika u karakteristikama tkiva na mestima implantacije, važno je napomenuti da materijali koji doprinose prihvatljivoj kompatibilnosti tkiva u jednoj implantaciji mogu dati nepoželjne rezultate u drugoj. Veličina i oblik



*SLIKA 8.2 Shema procesa zarastanja na mestu ugradnje implantata [19]; modifikovano.*

uređaja koji se koriste kod eksperimenata sa životinjama mogu imati takvu površinu i nepokretljivost koja bi mogla dosta da se razlikuje od uređaja namenjenog ljudskom organizmu. Takve razlike često nastaju usled razlika u veličini i obliku anatomske strukture.

### **Vezivno tkivo: kostno i mišićno-skeletno meko tkivo**

Protokoli implantacije koji su razvijeni kako bi se proučavala kompatibilnost materijala za ortopedске proteze u velikoj meri koriste kost kao mesto za implantaciju. Zbog svoje sposobnosti regeneracije, očekuje se da kost zameni implantate na kostnim mestima, ali gustina kosti koja se formira oko implantata zavisi od mesta implantacije. Oba tipa kosti: (1) kortikalna; i (2) kancelozna, trabekularna ili spongiozna kost se razlikuju po svojoj vaskularnosti i veličini bazena preosteoblasta koji se razmnožavaju kao reakcija na hiruršku ranu implantacije. Pošto se izabere kortikalno ili kancelozno mesto za implantaciju, mora se uzeti u obzir poreklo kostnih ćelija koje će se razmnožiti i krenuti ka mestu implantacije (pukotine između implantata i okolne kosti). U kortikalnoj kosti preosteoblasti oivičavaju centralne Haverzove (*Haversian*) kanale sistema osteona, okružene koncentričnim lamelama kružno raspoređenih osteocita, koji komuniciraju sa medуларном šupljinom pomoću transverzalnih ili kosih Volkmanovih (*Volkmann*) kanala, kao što okružuju i vaskularne kanale. Periostna obloga kortikalne kosti se takođe sastoji od preosteoblasta. U kanceloznoj kosti endostna površina trabekula prekrivena je preosteoblastima.

Još jedna od ključnih determinanti reakcije tkiva prilikom implantacije je mehaničko opterećenje koje stvara biomaterijal ili medicinski uređaj na mestu implantacije. Pomeranje uređaja blizu okolne kosti tokom najranijeg zarastanja rane (tj. veliki pritisak na tkivo) može da uništi stromu regenerišućeg kostnog tkiva, što vodi stvaranju ožiljnog tkiva (enkapsulacija) [29]. Mehanički faktori mogu takođe da utiču na fazu obnavljanja kosti nakon implantacije. Stepen raspodele opterećenja između implantata i okolne kosti je važna detriminta stresa usled adaptacije na obnavljanje kostnog tkiva [30]. Što je veće pogrešno spajanje, zbog neelastičnosti i tvrdoće između implantata i kosti domaćina, veća je promena distribucije normalnog pritiska u kostnom tkivu i veće neanatomsko obnavljanje usled atrofije (zbog *stres štita*) ili hiperlazije (zbog nenormalno dugog pritiska) [27, 28]. I druga tkiva mogu slično da se ponašaju zbog delovanja mehaničkih faktora [22, 23, 27]. Potrebno je napomenuti da se efekat mehaničke sile, kao stimulišućeg faktora za ćeliju, ostavaruje se na nivou gena (Gl. 3, Sl. 3.1) [27].

Mišićno-skeletna mekana tkiva, uključujući tetine, ligamenete, meniskus i zglobnu hrskavicu su takođe mesta za implantaciju test materijala, koji se koriste u uređajima za lečenje poremećaja u ovim tkivima [27,31]. Mnogo se manje zna o reakciji mišićno-skeletalnih mekanih tkiva na implantate nego o reakciji na materijale u kosti.

Svako mišićno-skeletno mekano tkivo je izazov za sebe, pogotovo kad je reč o pripremanju subjekta da primi implantat, tako da mehaničke sile koje se koriste tokom funkcionisanja tkiva neće protivurečiti proceni kompatibilnosti tkiva [22, 23, 27]. Kontrola mehaničkog opterećenja tokom prve faze lečenja je veoma važna. Kod ljudskih subjekata, opterećenje mehaničkih uređaja se može kontrolisati do određenog stepena lečenja zahvaljujući pravilnoj imobilizaciji ili mobilizaciji (npr., neprekidno pasivno kretanje). Međutim, veoma je teško primeniti slične metode kod životinja.

### **Vezivno tkivo: potkožno i kožno tkivo**

Potkožna tkiva se često biraju za procenu biokompatibilnosti ugrađenih materijala. Ovo su relativno pristupačna mesta koja omogućavaju uopštenu procenu bioloških reakcija na biomaterijale. Ovim pristupom se lako mogu otkriti upalne reakcije tkiva na agense koje ispušta ugrađeni materijal. Gustina fibrozne kapsule oko implantata, koji je smešten ispod kože, koristi se kao mera biokompatibilnosti biomaterijala već preko 30 godina [19].

Ponašanje peri-implantnog tkiva regulišu makrofagi, jer su oni osetljivi na agense koje biomaterijali ispuštaju. Aktivacija ovih regulišućih ćelija rastvorljivim (metalni joni) ili nerastvorljivim (čestice od habanja) agensima, može proizvesti stvaranje i ispuštanje supstanci koje izazivaju upale i utiču na ponašanje fibroblasta (*faktor rasta fibroblasta i faktor rasta trombocita*), dovodeći do zadebljanja fibrozne kapsule [33,34].

Poređenjem mehaničkih i biohemskihs svojstava komponenti ćelijski produkovanog matriksa [*cell-derived matrix* (CDM)] standardnog fibroblast-producovanog kolagena i gelova fibrina sa nativnom ljudskom kožom nađena je znatno veća snaga istezanja CDM nego gelova kolagena, gelova fibrina i CDM kultivisanog sa

serumom, ali manja nego nativne kože [34]. Makrofagi takođe stvaraju fibrogene agense koji utiču na zadebljanje kapsule kao reakciju na izvesno kretanje na mestu implantacije, zbog čega se može pomešati tumačenje odgovora tkiva sa ponašanjem samog materijala.

Hirurški defekti na koži usled implantacije zavise od sposobnosti regeneracije dermalnih i epidermalnih komponenti kože, uključujući kontrakciju koja se pojavljuje tokom perioda zarastanja. Vreme za koje nastaje kontrakcija kože koristi se često kao kvantitativna mera efektivnosti određenih supstancija koje olakšavaju regeneraciju [19].

### ***Mišić***

Paravertebralni mišići pacova, zečeva i pasa se koriste kao standardno место за implantaciju, koje pomaže u detekciji problematičnih supstanci koje implantat ispušta. Zbog izvesnog kretanja koje postoji između implantata i okolnog mišića i ograničene sposobnosti regeneracije skeletenih mišića [35,36], oko implantata se formira ožiljno tkivo. Oko površine biomaterijala se takođe mogu pronaći i makrofagi. I ovde izvesno kretanje može dovesti do zadebljanja fibrozne kapsule. Oko implantata koji su smešteni u mišićima koji trpe veća pomeranja, formiraju se gušće i deblje ožiljne kapsule [19].

### ***Epitel***

Mnogi poremećaji epitelnog sloja organa (epiderm i endotel) su ubrzali pro- učavanje reakcija na biomaterijale i olakšali proces regeneracije epitelnog tkiva. Postoje supstancije koje se mogu koristiti kao privremeni zaštitni materijal koji olakšava revitalizaciju kože.

Priroda lečenja epidermalnih rana izazvanih dejstvom topote, hemijskih agenasa i rezanjem tkiva je u velikoj meri povezana sa stadijumom u kome se rana osušila tokom faze lečenja. Postoje određeni zaštitni biomaterijali koji sprečavaju sušenje rane i omogućavaju joj da ostane vlažna tokom lečenja, što direktno utiče na brzinu obnavljanja epidermalnih ćelija oko rane i duž folikula dlake [19,37].

Materijali koji se koriste za pravljenje vaskularnih proteza se uglavnom testiraju na kompatibilnost krvi, jer zamenjuju određene segmente u raznim krvnim sudovima različitih životinjskih uzoraka [38,39]. Veoma je važno znati da postoji ogromna razlika u endotelizaciji vaskularnih proteza kod svake životinje uzorka posebno. Takođe, komponente u krvi, kao što su trombociti i fibronektin, mogu u velikoj meri da utiču na kretanje endotelnih ćelija ka površini biomaterijala [39]. Naročito veliki uticaj imaju citokini i faktori rasta. Tako, npr. faktorom nekroze tumor-a alfa [*tumor necrosis factor-α (TNF-α)*]-indukovana endotelnih ćelija E-selektin ekspresija, krucijalna je za regрутovanje leukocita na mestu implantacije [38].

### ***Nerv***

Poslednjih godina naučni radovi su pokazali sposobnost nervnih ćelija da regenerišu jako oštećene aksone. Nervne ćelije ne mogu da se dele, ali su nađene njihove matične ili stem ćelije [40]. Rezultati ovih studija pokazuju obećavajuću

biokompatibilnost kultivisanih hipokampalnih progenitorskih ćelija (HiB5) na filmovima polilaktične-ko-glikolitične kiseline [*poly(lactic-co-glycolic acid)*] (PLGA)], kao matrice (*scaffold*) za rast neuralnih stem ćelija za ćelijsku transplantaciju za nervnu regeneraciju [40].

Produciranje jako oštećenih aksona, međutim, odražava stepen stvaranja elektrofiziološkog kontinuiteta duž defektnih mesta. Određene matrice olakšavaju produžavanje takvih aksona, ubrzavajući regeneraciju nerva i ponovo uspostavljanje neke funkcije. Biomaterijali koji se koriste u eksperimentima regeneracije nerava sadrže cevčice od silikonskog elastomera koje su ugrađene u određenim defektivnim delovima perifernih nerava pacova. Opisan je uspešan razvoj elektrokondutivnog biomaterijala *poly(3,4-ethylenedioxythiophene)* (PEDOT) i njegov direktni funkcionalni kontakt sa električno aktivnim tkivima, kao što su nervno, srčano, i skeletnih mišića [41].

Neki drugi naučni radovi govore o vrsti materijali od kojih bi trebalo da se prave elektrode koje se koriste za nervni sistem i ugrađuju u moždano tkivo u subduralnom delu [42]. I na ovom mestu se, takođe, pojavljuje fibrozna (vlaknasta) kapsulacija [19]. Sintetisan je elektroaktivni i biodegradabilni ABA blok kopolimer polilaktida i anilin pentamera, koji potencijalno mogu služiti kao skeletni materijali za neuronalni ili kardiovaskularni tkivni inženjering [43].

### 8.2.2 Hirurški postupci i oblik implantata

Hirurški postupci koji se primenjuju da bi se procenila kompatibilnost biomaterijala i uređaja u tkivima zavise od veličine i oblika implantata i određenih karakteristika tkiva. Zato je potrebno koristiti hirurške tehnike koje minimizuju povrede tkiva. Što se više omekša tkivo, opsežnije je stvaranje ožiljaka. Alatke sa brzim rapavim ivicama, bušilice i sečiva, koja se koriste da naprave mesta za implantaciju u kosti mogu da stvore veliku količinu toplove koja devitalizuje okolno tkivo. Stoga bi trebalo da se koriste instrumenti sa irrigacijom na kojima se ispoljava brzina, jer oni minimiziraju posledice, uz strogu kontrola sterilnosti površine implantata. Trebalo bi voditi računa i da se spreči nanošenje materijala spolja na mesto ugradnje, kao što je talk sa hirurških rukavica. Važno je ostaviti implantat u vodenom rastvoru pre nego što se ugradi u telo. Otkriveno je da čestice vazduha na površini implantata povećavaju aktiviranje molekula sistema komplementa i tako utiču na reakciju tkiva.

Veličina implantata je naročito važna. Čestice supstancija, veličine na kojoj može da se izvrši fagocitoza, mogu izazvati upale, jer fagociti (makrofagi) tokom fagocitoze luče razne medijatore, posebno citokine i eikosanoide, koji izazivaju zapaljenja. Implantati (ostaci čestica) veći od monocita mogu biti obloženi istim ćelijskim tipom fagocita, ali ne izazivaju takve upale, jer ćelije nisu sposobne da izvrše fagocitozu implantata (*frustrirana fagocitoza*) [44], pri čemu se oštećuje vanćelijska sredina [32]. Aktivnost makrofaga na površini većih implantata uglavnom izaziva

fuziju izmenjenih, tzv. epiteloidnih ćelija i formiranje gigantskih multinuklearnih ćelija na periferiji ili ponekad u centru granuloma [45].

Otkriveno je da niz različitih materijala, koji su ugrađeni u razne životinjske vrste može da indukuje nastanak neoplazije na mestu implantacije na jedan od četiri osnovna principa nastanka tumora [46] (Gl. 7). Takav proces, povezan sa neprekidnom ravnom površinom implantata kod konkretnog *in vivo* modela pacova, nije primećen u ljudi [19].

Za izlaganje biomaterijala tkivu *in vivo* koristi se nekoliko metoda. Biomaterijal se, uglavnom, postavlja u direktni kontakt sa tkivom, tako što se ugrađuje hirurški. Jedna od najvažnijih varijabli hirurških postupaka je „doza“ biomaterijala. Naučni radovi o farmakološkim reakcijama na lekove se ne smatraju kompletним ukoliko se ne utvrdi reakcija na određenu dozu. Kod rastvorljivih supstanci (uglavnom lekova), doza se uglavnom određuje na osnovu težine (u nekim slučajevima i na osnovu „jedinica aktivnosti“) [47]. Međutim, analize doza kod biomaterijala se vrlo retko vrše, jer doza biomaterijala, uglavnom, zavisi od nekoliko varijabli koje mogu izazvati različite reakcije a to su: težina, veličina površine, obim mase, broj implantata (čestica), topografija. Površina je jedina kontrolisana varijabla u slučaju otpuštanja čestica biomaterijala i vrlo važna u interakciji sa biološkim molekulima i/ili ćelijama. Površina je uglavnom određena stepenom naboranosti, pa se moraju razviti metode koje će je kvantifikovati.

### **8.2.3 Kontrole**

Kontrole za proučavanje kompatibilnosti tkiva *in vivo* obuhvataju: (1) kontralateralno netaknuto tkivo, tj. anatomske kontrole; (2) fingirane kontrole (samo hirurški rez); (3) kontrole nepotpunjenih mesta implantacije; i (4) kontrole materijala i naprava [19, 23]. Priroda upotrebljenih kontrola zavisi od ishoda (varijabli ishoda) eksperimenta. Kontrole nepotpunjenih mesta implantacije mogu biti naročito vredne zbog posledica lečenja rane nakon hirurškog zahvata i zbog reakcije tkiva na implantat.

Kontrole materijala i uređaja se proučavaju zbog njihove hemije, mehaničkih svojstava i topografije sa eksperimentalnim uzorcima pre nego što postanu pozitivna ili negativna kontrola. U nekim slučajevima mogu se uzeti u obzir i električne karakteristike materijala i uređaja. Test i kontrolni uređaji moraju biti identičnog oblika i veličine.

### **8.2.4 Procena reakcije tkiva**

Metod koji se koristi za procenjivanje reakcije tkiva na bilo koji biomaterijal mora da uzme u obzir namensku upotrebu materijala i da bude sastavni deo eksperimentalnog plana. Lokalne reakcije na ugrađeni implantat se mogu kvantitativno i kvalitativno proceniti uz pomoć nekoliko metoda u zavisnosti od svrhe eksperimenta. Sistemske reakcije su takođe vrlo važne kod proučavanje kompatibilnosti *in vivo*.

Histologija, skenirajuća elektro mikroskopija (SEM) i transmisiona elektro mikroskopija (TEM) se koriste za utvrđivanje morfoloških svojstava materijala i okolnog tkiva na ćelijskom, molekularnom i tkivnom nivou. Morfologija i uzorci mrlja ćelijske i vanćelijske matrice omogućavaju da se ove komponente identifikuju unutar okolnog tkiva. Izgled ćelijskih organela koje se posmatraju TEM metodom pružaju uvid u funkcionalne sposobnosti sastavnih ćelija.

Imunocitohemija i imuno-TEM metode omogućavaju analizu regulatornih citokina i eikosanoida (prostaglandini, leukotrieni) i komponenti vanćelijske matrice, čime se može odrediti ćelijski fenotip i ćelijska aktivnost.

Ove metode omogućavaju povezivanje biohemije i morfologije. Zbog dinamičke prirode mesta za implantaciju, vreme za uzimanje uzorka je kritično, kao i samo rukovanje sa tkivom, a da se pritom očuva njegova morfološka i biološka aktivnost.

### ***Histologija i histohemija***

Histologija je najčešći metod za proučavanje kompatibilnosti tkiva na određeni materijal. Osnovu većine *in vivo* procedura čine kvalitativno određivanje relativnog broja različitih ćelijskih tipova i količine komponenti vanćelijske matrice koje se nalaze oko implantata. Debljina fibrozne kapsule oko implantata je najčešći pokazatelj koji se koristi za utvrđivanje reakcije tkiva na biomaterijal [19]. U novije vreme, kvantitativne analize histoloških delova se lakše vrše uz pomoć kompjuterizovanih slika analize.

Histohemijske metode se koriste za utvrđivanje određenih komponenti ćelijskih i vanćelijskih matrica. Lokalizacija lizosomalnih enzima je olakšala identifikovanje makrofaga u histološkim uzorcima. Lokalizacija kiselom fosfatazom otpornom na tartarate je pomogla da se izdvoje osteoklasti iz gigantskih višenuklearnih ćelija granuloma, kao i boja za alkalnu fosfatazu, koje učestvuju u identifikovanju osteoblasta. Druge histohemijske metode koriste grupu boja za otkrivanje određenih komponenti vanćelijske matrice (kolagen, elastin i glukozaminoglikani) [19].

U procesu implantacije histološkom metodom mora se обратити pažnja na posledice dehidrirajućih agenasa na materijal implantata, naročito kad je taj materijal polimer. Rastvarači, kao što su ksilen, aceton i propilen oksid, koji se najčešće koriste u histološkoj metodi, mogu dovesti do omešavanja ili rastvaranja određenih polimeričkih materijala (polimetil metakrilat i polisulfon) [19].

Sama histološka procena nije dovoljna da utvrdi da li je materijal biokompatibilan. Međutim, u kombinaciji sa drugim metodama, histološka metoda može biti vrlo korisna.

### ***Imunohistohemija***

Imunohistohemija je rutinska dijagnostička ili istraživačka imunološka tehnika koja se koristi za otkrivanje prisustva antiga na histološkom preparatu tkiva primenom specifičnog antitela za taj antigen za koje je vezan enzim. Enzim pretvara bezbojni supstrat u obojenu ili fluorescentnu nerastvorljivu supstancu koja se taloži na mestu gde se nalazi monoklonalno ili poliklonalno antitelo, odnosno antigen.

Za lokalizaciju obojenog precipitata, a time i antiga, u preparatu tkiva koristi se običan svetlosni mikroskop. Imunohistohemijske tehnike su tek skoro uključene u protokole za procenjivanje reakcije tkiva na ugrađene materijale, koje omogućavaju kvantitativno i kvalitativno identifikaciju specifičnih ćelijskih i vanćelijskih komponenti matrice oko implantata.

Delovi označeni imunohistohemijom se uglavnom procenjuju kvalitativno. Nedavna pojava analize digitalnih slika je olakšala određivanje kvantitativnih karakteristika označenih elemenata. Na ovaj način se, npr., može proceniti broj T i B limfocita u blizini metalnih implantata, oko fibrozne kapsule, oko implantata u paraspinalnoj muskulaturi.

### ***In situ hibridizacija***

*In situ* hibridizacija je još jedna tehnika koja se služi principima libelizacije sličnim onima kod imunohistohemije, koja se uglavnom koristi da pokaže da ćelijski sintetišu određene proteine tako što pokazuju prisustvo RNK (mRNK). Ova metoda se služi libelizacijom (bilo sa supstrat ili radio izotopom) RNK ili DNK koje imaju nizove nukleotida komplementarne mRNK [19]. Stvaranje mRNK se može prikazati ili audiografijom ili enzimskom supstrat reakcijom. Oba metoda omogućavaju da se stvaranje proteina prati kompjuterskim slikama analize.

### ***Transmisiona elektronska mikroskopija***

Transmisiona elektronska mikroskopija (TEM) omogućava ispitivanje ultrastrukture ćelija na interfejsu implantata. Međutim, zbog poteškoća u pripremanju ultratankih sekcija ( $\leq 100$  nm), ova tehnika se retko koristi [19]. Nedavna proučavanja koja se služe jon tankim metodama i tehnikama ultramikrotomije su otkrila važne karakteristike određenih odnosa biomaterijal-tkivo. Uz pomoć TEM-a i korišćenjem antitela koja su povezana sa česticama zlata ili enzimskim supstratima, može se vršiti imunolokalizacija određenih proteina. TEM ima još prednosti u slučaju kad su metode elementarnih analiza povezane sa mikroskopom. Analize energetski disperzivnim X zracima (EDX) i opadajuća elektronska spektroskopija (EELS) omogućavaju elementarne analize tkiva oko implantata [19]. Oni omogućavaju da se odrede: (1) supstance ispuštene iz materijala; i (2) lokacije čestica ili elemenata unutar ćelijske ili vanćelijske matrice [19].

### ***Skenirajuća elektronska mikroskopija***

Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM) se koristi za uočavanje tkiva oko implantata u mnogim *in vivo* uzorcima. Za SEM se tkivo priprema tako što se ukršteno seče makazama ili noževima ili friz-frakture (*freeze-fracture*) tehnikama [19]. Integritet interfejsa tkivo-implantat zavisi od prirode tkiva i upotrebljenih procedura fiksacije i dehidracije. Skupljanje tkiva, usled procedure, može biti prednost u određivanju karakteristika interfejsa tkivo-implantat, jer otkriva površinu tkiva iznad implantata.

Skorija istraživanja su pokazala važnost imidžinga pomoću rasejanih elektrona u otkrivanju određenih svojstava mineralizovanih tkiva i keramičkih implantata.

tata (kalcijum fosfata) [19]. Razlika u gustini minerala omogućava razliku između kosti i implantata i olakšava digitalizovane analize kvantitativnih oblasti kostiju oko određenih vrsta implantata.

### ***Biohemija***

Metaboličke karakteristike tkiva oko implantata, pogotovo njihova reakcija i moguće upale, se utvrđuju uz pomoć biohemijskih metoda. Radioimuno tehnika može se utvrditi nivo određenih posrednika koji izazivaju upale, kao što su prostaglandin E<sub>2</sub> i neki interleukini (IL-1, IL-6) u tkivu oko implantata. Međutim, ova metoda ima svoja ograničenja, jer je količina potrebnog tkiva u slučajevima kad je nivo ovih citokina i eikosanoida koji izazivaju upale vrlo mali. Zato je potrebna komplementarna metoda izolovanja ćelija iz peri-implantata tkiva [19]. Nivoima medijatora koji izazivaju upalu u određenom tkivu može se pristupiti nakon više vremena. Ovaj metod ima prednost jer pruža informaciju o metaboličkom ponašanju ćelija u peri-implantatnom tkivu.

### ***Mehanička testiranja***

Korisno je testirati određena mehanička svojstva materijala ukoliko njegova namena ima određena mehanička opterećenja. Testovi mogu biti naročito važni kada je potrebno odrediti snagu i popustljivost određenih interfejsa kost-implantat, kako bi se utvrdila efikasnost zaštitnih slojeva koji se upotrebljavaju kao dodaci ortopedskim pomagalima ili zubnim implantatima. Kao provera, npr. cilindrične šipke test materijala se transkortikalno ugrađuju kroz lateralni deo pseće butne kosti.

Testovi opterećenja se vrše kako bi se izračunala međupovršinska tangencijalna čvrstoća time što se opterećenje deli kako bi kortikalna površina prekinula sa radom [19]. Međutim, ovaj pristup ima izvesnih ograničenja. Većina ortopedskih implantata se pre nalazi u kanceloznoj nego u kortikalnoj kosti. Kancelozna kost ima manju gustinu, snagu i sposobnost modulacije od kortikalne. Pored toga, pošto testovi opterećenja stvaraju neujednačenu podelu tangencijalnog napona u kostima, problematično je proceniti međupovršinsku tangencijalnu čvrstoću. Analize stresa pokazuju da testovi torzije stvaraju najujednačeniju distribuciju stresa u okolnoj kosti i stoga su se pokazali kao najbolji metod ukoliko se rezultati testiranja mogu međusobno upoređivati [19].

### **8.2.5 Kriterijumi za utvrđivanje prihvatljivosti reakcije tkiva**

*In vivo* istraživanje kompatibilnosti tkiva zahteva upotrebu određenog kriterijuma za određivanje prihvatljivosti reakcije tkiva u zavisnosti od namene materijala [19]. Uredaj se smatra biokompatibilnim samo u kontekstu kriterijuma koji se koristi da bi se utvrdila prihvatljivost reakcije tkiva. Zato svako istraživanje koje sadrži *in vivo* ogled kompatibilnosti tkiva mora da obezbedi radnu definiciju biokompatibilnosti. Biomaterijali i uređaji koji se ugrađuju u kost mogu postati dodatak

regenerativnom kostnom tkivu i da se zbog toga smatraju kompatibilnim sa regeneracijom kosti. Međutim, promene na kosti oko uređaja, sa neto gubitkom kostne mase (tj. osteopenija) mogu dovesti do procene da materijal ili uređaj nisu kompatibilni sa normalnim prepravkama kosti. U situacijama kada je implantat okružen fibroznim tkivom, očekuje se pojava makrofaga na površini materijala kao reakcija na mrtvi prostor koji stvara implantat.

Tkivo u obliku sinovija, koje se stvara, može se smatrati prihvatljivom reakcijom na hemijsku kompatibilnost materijala, ali debljina fibrozne kapsule oko implantata je sumnjiva, zbog čega su nužne odgovarajuće negativne kontrole. Pokazalo se da najadekvatnija poređenja pružaju kontrole koje izazivaju najmanju negativnu reakciju domaćina [19].

Mora se obratiti posebna pažnja na ekstrapolaciju rezultata iz životinjskih uzoraka i ljudskih organizama. Životinjski uzorci ne pružaju uvek istu reakciju tkiva kao u ljudi zbog različite biologije i anatomije ove dve vrste.

## 8.3 TESTIRANJE INTERAKCIJA MATERIJALA U KRVI

Na hiljade naprava/implantata, izrađenih od sintetičkih materijala ili obrađenih prirodnih materijala, svakodnevno dolazi u kontakt sa sastojcima krvi. Zato je testiranje interakcije biomaterijala i krvi posebno značajno, jer prvi kontakt biomaterijala, kao i njegova sudsreda, zavise od njihove interakcije. No, nije pravilo ako su materijali iz nekog uređaja kompatibilni sa sastojcima krvi da će i uređaj napravljen od tih materijala biti takođe kompatibilan s krvi, jer reakcija organizma obuhvata, osim interakcije ćelija i tkiva sa biomaterijalima (Gl. 3), i imunološke reakcije (Gl. 5) i koagulaciju krvi (Gl. 6).

### 8.3.1 Kompatibilnost između biomaterijala i krvi

Nažalost, još uvek ne postoji zvanično opšteprihvaćena lista standardizovanih testova za procenu kompatibilnosti krvi sa biomaterijalima. Samim izvođenjem testa iz takve liste moglo bi se potvrditi da je određeni materijal „kompatibilan sa krvi“ ili „nekompatibilan sa krvi“ [48]. S obzirom da su interakcije između materijala i krvi {[*blood-materials interactions* (BMI)] testovi} složene, postoji osnovni sistem procedura koje se moraju izvršiti kako bi se otkrilo šta testovi interakcije krvi u stvari mere.

Prema BMI testovima, „kompatibilnost krvi“ se može definisati kao *svojstvo materijala ili uređaja koje im dozvoljava da funkcionišu u kontaktu sa krvi, bez izazivanja negativne reakcije* [48]. Nažalost, ova jednostavna definicija ne pruža pravi uvid u to šta označava materijal kompatibilan sa krvi. Korisnije definicije postaju sve složenije, upravo stoga što postoji mnogo mehanizama u telu koji su u mogućnosti da reaguju na dešavanja u krvi (Tabl. 8.2) [48]. Materijal koji, možda, neće izazvati reakciju jednog mehanizma, može izazvati burnu reakciju nekog drugog.

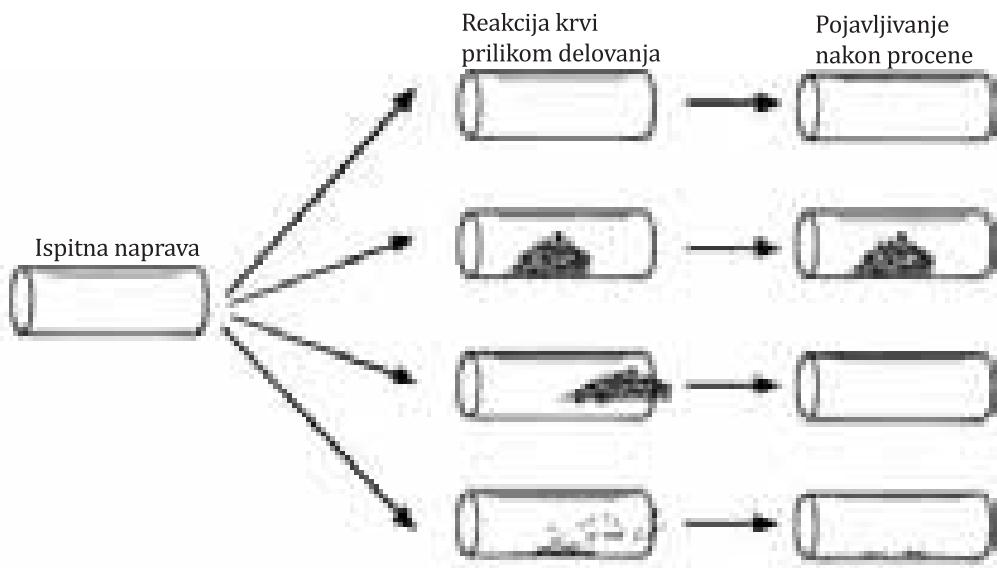
*Tabela 8.2 Važni faktori za sticanje i postupanje sa eksperimentima krvi kod BMI [48]; modifikovano.*

BMI faktori	
Vrsta donatorove krvi.	Antikoagulacija.
Zdravstveno stanje krvi donatora.	Lekovi i anestetici prisutni u krvi.
Reaktivnost donatorove krvi (individualne fiziološke razlike).	Oštećenja krvi izazvana izvođenjem centifugiranja i separacije.
Vremenski razmak između vađenja krvi i BMI eksperimenta.	Oštećenja krvi nastala pri kontaktu sa stranom površinom pre BMI eksperimenta (špricem, iglom, kesicama za krv, itd.).
Kontrola uboda prilikom vađenja krvi.	Oštećenja krvi izazvana kontaktom s vazduhom.
Temperatura (za skladištenje i testiranje krvi).	Oštećenja krvi izazvana pumpanjem i recirkulacijom.

Kompatibilnost krvi se može tumačiti i iz drugog ugla, posmatrajući materijal koji nije kompatibilan sa krvi, odnosno koji je *trombogeni materijal*. Takav materijal bi izazvao specifičnu negativnu reakciju u kontaktu sa krvi: stvaranje tromba sastavljenog od različitih krvnih elemenata [49], razgradnju embolusa (otkačeni trombi), uništenje cirkulacije krvnih elemenata, aktivaciju sistema komplementa ili imunoloških puteva. Osnovni cilj je da materijali koji dolaze u kontakt s krvi imaju što manje nepoželjne reakcije krvi.

Mnogi uređaji i materijali se koriste na ljudima zbog lečenja ili pomoći u lečenju različitih poremećaja ili oboljenja. U bolničkim uslovima najčešće se upotrebljavaju: (1) ekstrakorporalne pumpe oksigenatora (mašina za srce i pluća), koja se koristi pri mnogim hirurškim zahvatima; (2) aparat za hemodijalizu, koji se sastoji od šupljeg vlaknastog hemodijalizera koji zamenjuje rad bubrega; (3) kateteri za krv i manipulaciju krvnim sudovima (npr. angioplastika); (4) uređaji koji pomažu u radu srca (vodiči srčanog ritma ili pejsmeker, trajno ugrađeni veštački srčani zalisci, bajpas vaskularni kalemi) [48].

Karakteristike mnogih postojećih naprava nisu sasvim optimalne. Tako, npr. produženi kardiopulmonalni bajpas i oksigenacija membarane mogu izazvati ozbiljno krvavljenje [50,51]. Mehaničke srčane proteze ponekad izazivaju emboliju mozga i time moždani udar [51]. Sintetički vaskularni kalemi su se lošije pokazali od kalema napravljenih od prirodnih arterija i vena; kvar kalema zbog tromboze može dovesti do ishemije (nedostatka krvi i time kiseonika) i smrti nizvodnih tkiva, a kalemi malog prečnika (manje od 4 mm) se još uvek ne mogu sasvim bezbedno napraviti. Neki uređaji su „bezbedni“ samo uz dodatak antikoagulantnih lekova (oksigentaori, srčane proteze, hemodijalizeri). Prepravke uređaja koje će umanjiti negativne posledice BMI i time eliminisati potrebu za antikoagulantnom terapijom bi trebalo da budu i zdravstveno (da se smanji krvavljenje kao posledica upotrebe lekova) i finansijski dobri (lečenje nastalih komplikacija je skupo).



*SLIKA 8.3 Mogući scenario interakcija između krv i materijala, ograničene procene samo lokalnog formiranja tromba u fiksiranom vremenskom periodu: A. uređaj ostaje bez tromba; B. formiranje velikog tromba koji ostaje zakačen; C. formiranje velikog lokalnog tromba koji se odvaja (embolija); D. površina je veoma reaktivna na krv, ali nataloženi materijal se brzo uklanja mikroembolijom ili lizom. Pregled naprave C i D može dovesti do pogrešnog zaključka da su ove površine krvno kompatibilne [48].*

Za neke primene ne postoje dostupni uređaji koji mogu adekvatno da ispunе namenu (zbog negativne BMI), čak i uz dodatak antitrombotičkih lekova. Zbog toga postoji potreba za uređajima koji mogu da se bezbedno dugoročno koriste, uključujući oksigenaciju kod bolesti disajnih organa i srčanih mana (veštačkog srca ili srčanih proteza), kao i intravaskularna merenja fizioloških parametara ( $O_2$ ,  $CO_2$ , pH), ili da primenjuju manje vaskularne kalemove (prečnika 5 mm) kao stentove za rekonstrukciju bolesnih arterija i vena [50].

### 8.3.2 Trombogenost

Trombogene reakcije na materijal ili uređaj se mogu podeliti u dve grupe [19,52]. Prvo, kao što samo ime govori, trombogeni uređaj može izazvati akumulaciju različitih krvnih elemenata koji su, poželjno, koncentrisani lokalno u zavisnosti od njihove koncentracije u cirkulaciji krvi (formiranje tromba). Kardiovaskularne naprave mogu takođe pokazati oblasti poremećenog toka ili stanja koja vode ka stvaranju lokalnih krvnih ugrušaka ili diseminovane intravaskularne koagulacije (DIK) ili koagulacije celokupne krvi. Lokalne posledice ugrožavaju funkcionalnost naprave, kao što je prenos krvi kroz veštačke krvne sudove, kretanje srčanih proteza, razmena gasa kroz oksigenator i uklanjanje produkta metabolizma kroz

membrane dijalizatora. Ove lokalne krvne reakcije mogu, takođe, izazvati posledice i u drugim delovima organizma domaćina, tj. sistemske posledice. Tromb se može otkačiti sa površine (embolija), krenuti nizvodno, izazvati začepljenje krvnog suda odgovarajuć veličine i ugroziti protok krvi na mestu oko začepljenja.

Stalne naprave mogu izazvati mirno uništenje, oštećenje ili „potrošnju“ krvnih elementata i naj taj način smanjiti njihovu koncentraciju u krvi (npr. mehaničko uništavanje eritrocita srčanim zalistcima izaziva anemiju ili gubitak trombocita zbog stalnog stvaranja tromba), a kao posledicu toga i porast količine plazme i medijatora koje ti elementi krvi ispuštaju (npr. hemoglobin, faktor 4 trombocita) [48].

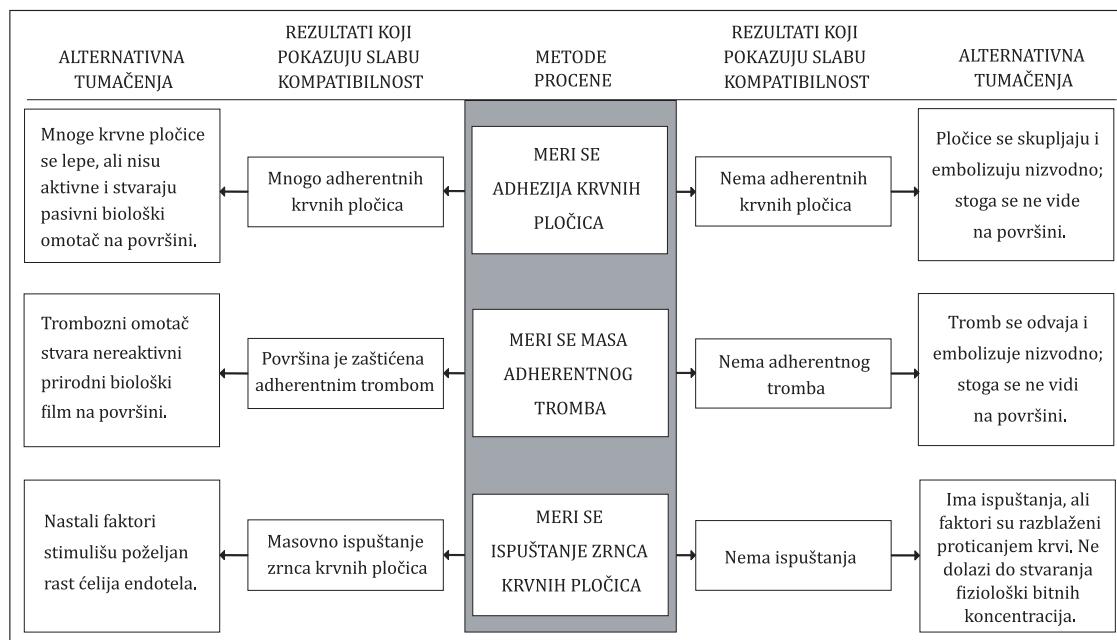
Ćelije krvi takođe mogu sekretovati i medijatore koji izazivaju upale i menjaju tonus krvnih sudova (npr., iz trombocita, leukocita, monocita). Ti ćelijski proizvodi mogu izazvati interakcije između krvi i površine (posebno endotela) koje utiču na hemodinamičnost i funkcionisanje organa i na drugim mestima. Stoga se može dati šira definicija „*trombogenosti, koja predstavlja stepen do kojeg neka naprava, koja se koristi u svojoj pravoj nameni, izaziva negativne reakcije po ćelije, tkiva, organe ili organizam*“. Pošto veštačke površine biomaterijala utiču na krv, prihvatljiva kompatibilna (netrombogena) naprava bi mogla biti definisana kao ona koja ne stvara ni lokalne, ni sistemske negativne posledice ili štetnost po zdravlje u organizmu domaćina. Međutim, ne postoji opšte slaganje o tome koji materijali su krvno kompatibilni, pa nema ni njihove zvanične liste.

Uprkos svim naporima, još uvek nije ustanovljena krvna kompatibilnost specifičnih materijala za primenu određene naprave, zbog toga što: (1) različiti tipovi naprava u upotrebi mogu izazvati složene geometrije krovotoka, koje iz dana u dan evoluiraju; (2) postoji veliki, složeni, dinamički i ne potpuno razumljiv broj mogućih reakcija krvi; i (3) veoma je teško izmeriti trombogenost naprave (klinički bitnu trombozu ili sistemske posledice) sistematski, bilo kod životinja, bilo kod ljudi [48, 53].

Mnogi testovi koji navodno mere kompatibilnost krvi, ustvari, procenjuju interakcije između materijala i krvi. Alternativna tumačenja se mogu primeniti na podatke dobijene testiranjem kompatibilnosti krvi (Sl. 8.3), što se dalje objašnjava (Sl. 8.4) [48].

Ova alternativna tumačenja često poništavaju zaključke koje bismo inače izvukli iz ovih testova. Zbog tačnosti, koristićemo termin „procenjivanje BMI“, kao podsetnik ovog poglavlja, umesto termina „kompatibilnost krvi“ [48]. Na osnovu karakteristika procene materijala (tj. ono što se zaista meri), naučnici koji proučavaju biomaterijale, povezuju značaj posmatranih događaja (BMI) sa krvnom kompatibilnošću materijala ili naprave.

Da bi se ova veza racionalno ostvarila, potrebno je solidno znanje o fizičkim i biološkim mehanizmima interakcija između krvi i materijala. Tačnije, BMI su interakcije (povratne i nepovratne) između površine i krvnih ostataka, proteina i ćelija (adsorpcija, apsorpcija, adhezija, denaturacija, aktivacija i širenje) koje nastaju usled određenog vremena izloženosti, krvnog sastava i protoka krvi. Pošto svaka od ovih varijabli utiče na BMI, uglavnom ne možemo: (1) da ekstrapoliramo rezultate dobijene jednim nizom testova na drugi niz testova; (2) da izvšimo



*SLIKA 8.4 Alternativni scenario koji se može primeniti na tumačenje rezultata testiranja interakcija između krvi i materijala [48]*

kratkoročne testove da bismo predvideli dugoročne rezultate; (3) da predvidimo *in vivo* performanse naprave na osnovu BMI testiranja materijala po sebi u idelanim geometrijama krvotoka [48].

Pomenuti predlozi navode na zaključak da nijedan materijal ne može jednostavno biti „krvno kompatibilan“ ili „netrombogen“, jer ovo testiranje najviše zavisi od test sistema ili upotrebe konfiguracije. U stvari, u slučajevima inertnog protoka krvi ili staze, većina, ako ne i svi polimerni materijali mogu doprineti lokalizovanom zgrušavanju krvi i tako postati trombogeni. To je zbog toga što sintetički materijali, osim endotela (koji oblaže sve krvne sudove), ne mogu aktivno da zakoče trombozu ili zgrušavanje, tako što direktno stvaraju i ispuštaju inhibitore ili sprečavaju stvaranje supstanci koje stopiraju zgrušavanje.

### 8.3.3 Važna razmatranja BMI testiranja

Faktori koji stvaraju predispoziciju za koagulaciju krvi i formiranje tromba čine Virhovljevu trijadu (Sl. 8.5): (1) površina (povreda endotela krvnog suda); (2) tok (poremećen krvotok); i (3) krv (hiperkoagulabilnost krvi) [48, 54].

Ovo testiranje je i dalje važeće i pruža okvir za formalnije upoznavanje sa važnim varijablama bilo kog sistema koji služi za BMI testiranje. Kao što je opisano, svaka od ovih varijabli može znatno uticati na rezultate i tumačenje BMI testiranja i rangiranje krvno kompatibilnih materijala na osnovu datog testa (Tabl. 8.2) [48].

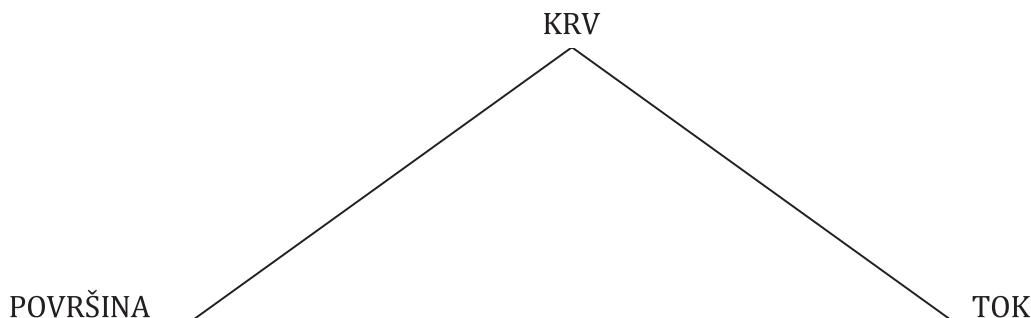
### 8.3.4 Faktori koji utiču na svojstva krvi

Izvori i metode postupanja sa krvi mogu imati značajne posledice na BMI. Krv, uzeta od ljudi i različitih vrsta životinja, može se koristiti *in vitro* i *in vivo*, sa i bez prisustva antikoagulanasa. Na reaktivnost krvi, do određenog stepena, utiču postupanja u *in vitro* uslovima, proporcija površina/zapremina krvi u vantelesnim tokovima i upotreba pumpi za recirkulaciju krvi.

Biohemija krvi svake životinje je drukčija, adekvatno vrsti [55]. Krv naročito može varirati u zavisnosti od koncentracije i funkcionalnosti krvnih proteina i ćelija koje učestvuju u zgrušavanju, trombozi i fibrinolizi (Gl. 6). Veličina krvnih elemenata se takođe razlikuje. Iako je poželjno koristiti ljudsku krv za BMI testiranje, u nekim eksperimentima je to nemoguće. Postoji i velika briga o zdravstvenom stanju kod eksperimenata sa ljudskom krvi, pa se za *in vitro* i *in vivo* oglede češće koriste životinje. Nažalost, većina ogleda upotrebljava samo jedan životinjski uzorak ili jedan izvor krvi.

Bilo je nekoliko uporednih analiza između reakcija ljudske i životinjske krvi kod BMI testiranja. U mnogim slučajevima, pokazala se velika razlika između reakcija ljudske i životinjske krvi, što se mora uzeti u obzir kod tumačenja eksperimentalnih rezultata. Na primer, početna adhezija trombocita na veštačkoj površini je niska kod ljudi i nekih primata, velika kod pasa, zečeva i pacova [48, 55]. Kod implantacije hroničnih uređaja koji dolaze u dodir sa krvi (npr. vaskularni kalemi) postoji velika razlika između ljudi i drugih životinja u pogledu namene uređaja i inkorporacije okolnog tkiva, koji se tumače kao razlike u vremenskom toku BMI. Stoga, rezultati dobijeni testiranjem životinja moraju se obazrivo tumačiti ukoliko želimo da izvedemo značajne zaključke za ljude. Istraživanja na primatima, koji su hematološki slični ljudima, verovatno će pružiti klinički važnije rezultate od testiranja na drugim životinjskim vrstama. Međutim, odnosi između BMI ljudi i primata nisu uspostavljeni kod mnogih uzoraka i njihovu primenu je potrebno tumačiti sa rezervom.

*In vitro* testiranje, uglavnom, zahteva primenu antikoagulanata u krvi, što može imati ozbiljne posledice na BMI. *In vivo* testiranje i upotreba vantelesnih eksperimentalnih sistema se takođe vrlo često izvodi zajedno sa koagulacijom. Dva



SLIKA 8.5 Virchovljeva (Virchow, 1856) trijada: (1) površina (endotel krvnog suda); (2) tok (krvotok); i (3) krv (koagulabilnost krvi) [48, 54]; modifikovano.

koagulanta koja se najčešće upotrebljavaju su *natrijum citrat*, koji oslobađa jone kalcijuma, neophodne za određene reakcije trombocita i koagulaciju proteina, i *heparin*, prirodni polisaharid koji se koristi za blokiranje koagulacije tromba (Gl. 6). Oba ova koagulanta mogu znatno uticati na BMI: uklanjanje  $\text{Ca}^{2+}$  može smanjiti reakcije između trombocita i površine i uticati na sposobnost stvaranja tromba, kao što je heparinizacija *in vivo* (npr. oksigenatori, dijalizeri).

Krv počinje da se menja onog trenutka kad se izvadi iz tela. Može postati aktivirana ili manje aktivna (inertna) na više načina, čak i u prisustvu delotvornih antikoagulanata. Stoga, procena BMI u prisustvu krvi stare nekoliko sati, postaje beznačajna. Ukoliko se upotrebe prečišćene krvne komponente ili ćelije (npr. trombociti, fibrinogen), moraju se izvršiti testovi kako bismo bili sigurni da će njihovo funkcionisanje ostati normalno.

### 8.3.5 Posledice krvotoka

Krvotok kontroliše stopu transporta (uz pomoć difuzije i kondukcije) ćelija i proteina u blizini veštačkih površina i tromba. Dok, fiziološki, date sile krvnog tangencijalnog napona ne uništavaju, niti aktiviraju trombocite direktno, mogu da isteraju masu njih i ugrušaka koji se mogu zlepiti bilo gde nizvodno ili otploviti (embolija) u udaljene delove krvotoka. Difuzija trombocita u krvotoku i njihovo rano vezivanje za površinu može porasti od 50 do 100 jedinica u prisustvu eritrocita, koji ubrzavaju kretanje trombocita duž paralelnih tokova [48]. Pri većoj sili tangencijalnog napona, eritrociti mogu doprineti nastanku hemijskih reakcija koje izazivaju reaktivnost trombocita [48].

Primećeno je da kod arterijskog krvotoka (veće stope napona), trombi koji se formiraju *in vivo*, mogu imati uglavnom trombocite (*beli trombi*), dok trombi koji se formiraju kod venskog krvotoka (manja stopa napona), uglavnom sadrže eritrocite u fibrinoj mreži (*crveni trombi*) [48,56]. Na proces stvaranja trombocita ne utiče davanje heparina u normalnim antikoagulantnim količinama (tj. arterijska tromboza je otporna na heparin), dok na većinu jakih aktivatora trombocita utiče heparin. Dok na arterijsku trombozu u maloj meri utiče heparin, drugi inhibitori trombina je optužno blokiraju.

Stvaranje fibrina, usled akcije trombina ili fibrinogena, je takođe važno za stvaranje i stabilizaciju tromba zbog toga što: (1) fibrinolitički enzimi umanjuju stvaranje tromba; i (2) arterijski trombi se često sastoje od promenljivih slojeva trombocita i fibrina [50]. Trombin je ključni pokretač akumulacije trombocita i fibrina ka površini i kod veće i kod manje stope stresa. Trombi se mogu razlikovati po izgledu, jer se u uslovima velikog protoka, trombin i prethodnici prokoagulantnih enzima (faktor Xa) rastvaraju sprečavajući fazu stvaranja ugrušaka i blokiranje eritrocita.

Stvaranje tromba zahteva transport trombocita i koagulaciju proteina na površini biomaterijala. Polimerizacija fibrina, te lokalna aktivacija trombocita i regutacija ka rastućim trombima, zahteva pretvaranje jednog tromba u drugi, krajnji produkt niza koagulacionih reakcija koje takođe katalizuju trombociti i može se

pojačati ili zakočiti raznim povratnim mehanizmima (Gl. 6). Krvotok reguliše svaki stepen reakcije tako da se u uslovima slabog venskog protoka, stvara velika količina fibrina, pa se čini da su trombi zgrušali čitavu krv sa velikim brojem eritrocita, dok u uslovima velikog arterijskog protoka, trombociti, stabilizovani manjim količinama fibrina, mogu da obuhvate veći deo cele mase tromba [50].

### **8.3.6 Svojstva biomaterijala i naprava**

Kad dođu u kontakt s krvi, većina, ako ne i sve veštačke površine, prvo dobiju omotač adsorbovanih proteina čiji sastav i masa variraju u skladu s vremenom i tipom supstrata površine (Gl. 3). Ovaj sloj je posrednik između sledećeg vezivanja trombocita i drugih krvnih ćelija koji može dovesti do formiranja agregata i tromba. Odnos između svojstava materijala, proteinskog omotača i sklonosti materijala da akumulira trombe nije baš razumljiv. U slučajevima niskog krvnog tangencijalnog napona, sposobnost negativno punjenih površina (kao što je staklo) da izazove unutrašnju koagulaciju (uz pomoć XII faktora) može dovesti do stvaranja belih tromba, a dalje i do uklanjanja trombocita i stvaranje fibrinskih (crvenih) tromba. U drugim slučajevima, dostupnost adhezionih proteina na površini, kao što je fibrogen, može biti važna za regulisanje vezivanja trombocita [48].

Kod zgrušane krvi, početno vezivanje trombocita za razne površine može se uporediti i ograničiti delimičnim slojem trombocita, što navodi na to da su svojstva površine „nevažna“ za ranu adheziju trombocita. U odsustvu antikoagulanata, početno vezivanje trombocita varira, ali to nije u velikoj meri povezano sa svojstvima supstrata površine. Uspostavljena je veza između reakcije krvi i svojstva površine, kao što je hidrofilnost, hidrofobija, polarnost, kontaktni ugao, vlažnost i kritična napetost površine [48]. Pokazalo se da ovi parametri nisu dovoljni da bi se predviđele performanse uređaja, čak i u idealnim uslovima, zbog složenosti pojave koja se proučava, ograničenog broja životinja uzoraka (Sl. 8.3), a u nekim slučajevima i zbog neadekvatne karakterizacije površina materijala (Gl. 3).

Mikroskopski posmatrano, sve nesavršenosti površine, naprsline, vazdušni procepi ili dr., mogu indukovati stvaranje tromba u odsustvu heparina. Mnogi uređaji koji imaju mikroskopski ravne površine (vaskularni kalemovi) dobro funkcionišu ukoliko omotač tromba koji se stvara nije mnogo debeo da bi ometao funkcionisanje naprave [48].

### **8.3.7 Vreme interakcije**

Kod kratke i kod duge BMI, mogu nastati različiti procesi. Test u kome naprava dolazi u kontakt s krvi na svega nekoliko sekundi ili minuta neće dati rezultate koji će biti značajni za napravu koja se koristi u kontaktu satima ili danima, ili za onu koja je trajno ugrađena. Zato su kratkoročni testovi (malo više od sata) dobri za utvrđivanje kliničke upotrebe naprave koja može izazvati akutnu, ozbiljnu trombogenu reakciju.

Priroda BMI se može neprestano menjati tokom čitavog perioda izlaganja napravi. Jedino odstupanje od ovog pravila su hronični implantati koji nisu prekriveni tkivom (srčani ventil, podupirači, arterijske i venske skretnice), koji mogu da utiču na krvne elemente po konstantnim stopama, npr., nepromenljiva stopa trošenja trombocita [48].

### 8.3.8 Procena BMI

Procena BMI se odvija putem *in vitro* i *in vivo* testiranja na životinjama koji služe za utvrđivanje BMI. Pritom je karakterizacija svojstava materijala veoma važna za tumačenje ovih testova (Tabl. 8.2) [48].

#### ***In vitro testovi***

*In vitro* BMI testovi podrazumevaju stavljanje krvi ili plazme u posudu koja je napravljena od test materijala ili puštanje krvi da recirkuliše kroz rupu putem koje test materijal dolazi u kontakt s krvi pod definisanim režimom proticanja koji stimuliše fiziološke uslove toka. Ovi testovi obično kratko traju i na njih mnogo utiču izvori krvi, metode rukovanja i upotreba antikoagulanata. Stoga, *in vitro* testovi, uglavnom, ne mogu da predvide dugoročne posledice na BMI, kao ni ishod u *in vivo* testovima, ili da nam pomognu u odabiru materijala za određene naprave. Međutim, oni su korisni za utvrđivanje materijala koji izazivaju velike reakcije krvi. Testovi koji testiraju vreme potpunog stvaranja krvnog ugruška i varijacije, obuhvataju stavljanje krvi bez antikoagulanata (ili krvi koja ima natrijum citrat koji kasnije oslobođa kalcijum) u posude sa test materijalom, u kojima se posmatra za koje vreme se krv zgruša [48].

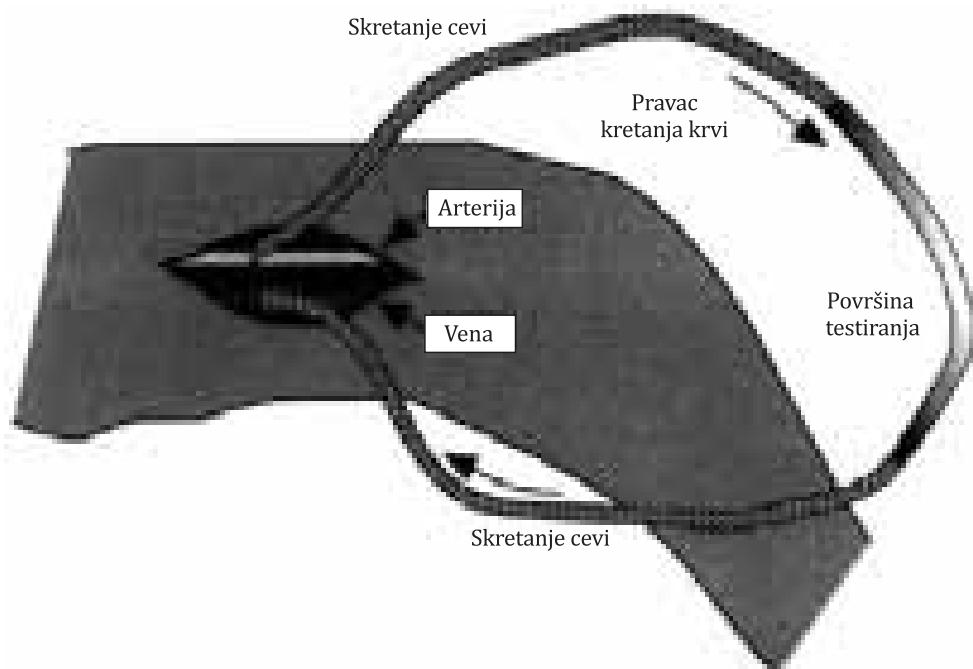
Recirkulacija heparizovane krvi kroz cevčice i materijale može dovesti do uništavanja trombocita kod visoko trombogenih materijala i do ispuštanja plazme ili proteina iz njih. Stoga, ova i slične metode mogu identifikovati materijale koji izazivaju brzu akumulaciju trombocita *in vivo* i zbog toga postaju neadekvatni za pravljenje određenih naprava, kao što su vaskularni kalemovi malih prečnika ili provodnici krvi. Ovi i *in vitro* ogledi koji proučavaju zgrušavanje krvi se smatraju preliminarnim testovima za utvrđivanje trombogenosti materijala. U većini slučajeva za testiranje veštačkih površina koristi se termin „*proći test*“ [48]. Pošto su male razlike u rezultatima uglavnom beznačajne da bi pokazale performanse materijala u stvarnoj upotrebi, ovi testovi nisu dobri za utvrđivanje najboljih svojstava materijala. Zbog toga su neophodni *in vivo* testovi.

#### ***In vivo testovi***

Izvršeno je mnogo ogleda u kojima su test materijali u obliku prstenova, cevčica i parčića na duže vreme ubaćeni u arterije i vene eksperimentalnih životinja [32]. Za većinu ovih testova postavlja se pitanje kolika je važnost kod upotrebe biomaterijala kod ljudi i to zbog toga što: (1) vreme i tip merenja mogu biti takvi da se ne

prepoznaju važne reakcije krvi, jer merenje stvaranja velikih tromba može, posebno, dovesti do netačnih zaključaka o stvaranju lokalnih tromba (Sl. 8.3) i ne pruža pravi uvid u sistemske posledice tromboze kao što je embolija ili trošenje krvnih elemenata; (2) kod češće testiranih životinja (pasa) rezultati krvi se često razlikuju od rezulta ta kod ljudi i kvantitativno i kvalitativno; (3) hemodinamika (stanje krvotoka) uzorka se ne može kontrolisati ili meriti; (4) mogu nastati različite povrede krvnih sudova ili tkiva koje opet mogu izazavati stvaranje lokalnih tromba i spoljašnju koagulaciju [48]. Stoga, *in vivo* testiranje idealnih geometrijskih oblika (pre nego samih naprava) može pružiti uvid u izbor materijala koji će se koristiti u ljudi.

Kod životinja se testira BMI i stavljanjem arteriovenskih (A-V) (Sl. 8.6) ili arterioarterijskih (A-A) cevčica, tj. cevastih provodnika krvi, između arterija i vena, odnosno između arterija i arterija [48]. A-V cevčice se su stavljane kod različitih životinja: babuna, pasa, svinja i zečeva [48]. Čim se postave, cevčice su delotvorne (nezačepljene) dug vremenski period bez upotrebe antikoagulanata. Test materijali ili naprave se jednostavno ubacuju kao produžni delovi ili između ulaznog i izlaznog dela cevčica. Ovi sistemi imaju svoje prednosti: (1) krvotok se lako kontroliše i meri; (2) mogu se upotrebiti prirodna ili krv bez antikoagulanata; i (3) može su utvrditi i kratkoročna i dugoročna BMI kao i lokalne sistemke posledice [48]. Kod babuna, koji su hematološki slični ljudima, reakcije krvi na cevaste biomaterijale i vaskularne kalemove se mogu kvantitativno uporediti u odnosu na: (1) lokalizovanu akumulaciju tromba; (2) potrošnju trombocita i fibrinogena koji cirkulišu; (3)



*SLIKA 8.6 Prikaz arterijskovenске cevčice (A-V) postavljene između butne arterije i vene (na nozi) testirane životinje. Materijali koji se testiraju (u ovom slučaju cevaste naprave) su umetnuti između gornjeg i donjeg segmenta cevčice [48].*

nivo faktora plazme koje pločice i koagulacioni proteini ispuštaju tokom tromboze; i (4) emboliju mikrotromba ka donjim delovima krvotoka [48].

Ovi testovi sa primatima su se pokazali konzistentnim sa onim što je primećeno i u ljudi, a to je da neki najčešće upotrebljavani polimeri (politetrafluoretilen, polietilen, polivinil hlorid, silikonski kaučuk) ili neki vaskularni kalemovi (politetrafluoretilen) nisu trombogeni kod vantelesnih sistema i arterija [48]. Stoga, rezultati kod testiranja modela cevčica kod viših životinjskih vrsta, mogu predvideti BMI u ljudi ukoliko se primene u sličnim uslovima proticanja (laminaran jednodirektni protok sa stopom arterijskog tangencijalnog napona) [48].

S obzirom da vantelesne cevčice isključuju modulaciju posledica po krvne sudove i povrede tkiva, rezultati ovih testiranja su manje važni za ponašanje naprava koje se hirurški ubacuju i za reakcije koje mogu nastati interakcijom sa zidom krvnih sudova i sa samom krvi (npr. srčani ventili, kalemovi, kateteri i senzori) [48].

### ***In vivo procena naprava***

S obzirom da su reakcije krvi na testirane materijale veoma složene i ne uvek predvidljive, čak i u idelanim uslovima testiranja na životinjama, neophodno je izvršiti klinička testiranja funkcionalnosti naprava zbog bezbednosti i efikasnosti (Tabl. 8.3) [48].

Naprave sa relativno malim površinama i sa relativno kratkim vremenom izlaganja (sati ili dani) obuhvataju katetere, navodene žice, senzore i neke komponente vantelesnih sistema [48]. Osnovni problem kod ovih naprava je stvaranje tromba koji bi mogli da utiču na funkcionalnost naprave (npr. da izazovu kvar krvnih senzora), na začepljenje krvnih sudova (kateteri) i na spontano stvaranje embolije ili uništavanje tkiva pri izvlačenju površine uređaja iz tela (npr. izvlačenje katetera), na izazivanje začepljenja udaljenih krvnih sudova i na ishemiju tkiva. Naprave sa većim površinama i kratkim vremenom izlaganja (dijalizeri) i složeni sistemi (oksigenatori sa pumpanjem), mogu izazvati i: (1) trošenje ćelija krvi i proteina (npr., trombocita i faktora koagulacije); (2) upale imunskog sistema putem aktivacije proteina komplementa i leukocita; i (3) nefunkcionalnost organa usled hemodinamičkih, hematoloških i zapaljenskih reakcija [48].

Mehaničke naprave koje se koriste na duže vremenske periode (srčani uređaji, vantelesni oksigenatori membrane) mogu izazvati ozbiljne sistemske posledice i nefunkcionalnost organa, što može izazvati ozbiljne zdravstvene probleme u ljudi. Ostali dugoročni implantati (kalemovi, srčani ventili, stentovi) mogu se poboljšati produžavanjem njihovog roka trajanja i operativnosti i umanjivanjem frekvencije fenomena embolije (npr. udari) i potrebama za upotrebom antitromboličkih lekova.

Stvaranje tromba možemo direktno i indirektno testirati i kod kratkoročnih i kod dugoročnih naprava. Indirektno testiranje podrazumeva trošenje ćelija i proteina iz krvi koji se konzumiraju tokom stvaranja tromba i pojavljivanje proteina u plazmi, takođe, tokom stvaranja tromba (npr. fibrinopeptid A, faktor trombocita 4). Direktno testiranje krvotoka, geometrije toka i veličine začepljenja krvotoka se može postići uz pomoć sofisticiranih metoda, kao što su angiografija, ultrazvučno snimanje (ultrasonografija) i magnetna rezonanca. Naprave, uklonjene iz tela, mo-

raju se vizuelno pregledati kako bi se utvrdilo da li je tromb formiran na nekom posebnom mestu ili na nekom materijalu.

*Tabela 8.3 Reakcije krvi na materijale i njihova procena [48]*

Sistem	Reakcije krvi	Procena <sup>1</sup>
Naprava/ materijal	Tromboza	Direktna vizuelna i histološka procena, neinvazivno snimanje (angiografija, ultrazvuk, radioizotopi, magnetna rezonanca), dokaz disfunkcije uređaja.
	Tromboembolija	Otkrivanje embolusa (ultrazvukom, laserom); dokaz organ/ud ishemije, udara.
Trombociti	Trošenje	Povećano nestajanje radioizotopski obeleženih ćelija; smanjen broj trombocita.
	Disfunkcija <sup>2</sup>	Smanjena agregacija trombocita <i>in vitro</i> ; produženo vreme krvavljenja.
	Aktivacija	Povećan nivo u plazmi trombocitnog faktora 4 i β-tromboglobulina; oštećenja membrane trombocita (npr., pomoću <i>flow cytometry</i> -je).
Eritrociti <sup>2</sup>	Destrukcija	Smanjen broj eritrocita; povećan hemoglobin u plazmi.
Leukociti <sup>2</sup>	Potrošnja/ aktivacija	Smanjen broj leukocita; povećani enzimi leukocita u plazmi (npr., elastaza neutrofila).
Koagulacioni faktori	Potrošnja <sup>2</sup>	Smanjen u plazmi fibrinogen, faktor V, faktor VIII.
	Stvaranje tromba	Povećan nivo u plazmi protrombin fragmenta 1.2 i trombin: antitrombin III kompleksa.
	Stvaranje fibrina	Povećan nivo u plazmi fibrinopeptida A.
	Disfunkcija <sup>2</sup>	Produceno vreme koagulacije plazme.
Fibrinolitički proteini	Potrošnja <sup>2</sup>	Smanjen nivo u plazmi plazminogena.
	Stvaranje plazmina	Povećan nivo u plazmi plazmin / antiplazmin kompleksa.
	Fibrinoliza	Povećan nivo u plazmi D-dimera fragmenta fibrina.
Komplementni proteini <sup>2</sup>	Aktivacija	Povećan nivo u plazmi proteina komplementa C5 i C3b.

**Skraćenice i objašnjenja:** <sup>1</sup>Radioimunoeseji [*radioimmunoassays* (RIA)] i enzim-vezani imunoeseji [*enzyme-linked immunoassays* (ELISA)] ne moraju biti upotrebljivi za otkrivanje neljudskih proteinâ. <sup>2</sup>Testovi koji mogu biti posebno važni za dugotrajne i/ili uređaje velikih površina.

Embolija u krvotoku se može otkriti uz pomoć ultrazvuka i lasera, mada ove tehnike nisu još uvek u široj upotrebi. Formiranje tromba i uništavanje trombocita usled implantacije akutnih ili hroničnih naprava, može se odrediti kvantitativno, merenjem veka trombocita foto kamerama ili radioizotopski obeleženih krvnih elemenata [48]. Važno je naglasiti da se tromboza pojavljuje dinamički, tako da se trombi neprestano stvaraju i rastvaraju, a kvarenje naprave je u stvari neravnoteža

između ovih procesa. Stariji trombi se mogu prepoznati enzimskim i litičkim mehanizmima leukocita. Povrede tkiva su početne posledice implantacije uređaja, potom slede tromboza i reakcije krvi na strana tela, pa površina dugoročnih implantata biva prekrivena vrstama stabilnih ćelija (npr. urastanje vaskularnih endotelnih i glatkih mišićnih ćelija u i oko vaskularnih kalemova), ili se, pak, mogu izdvojiti materijali iz krvi (npr. kompaktni fibrin) [48].

Nešto više o složenosti BMI testiranja se može pronaći u Ratnerovoј Detaljnoj diskusiji o karakterizaciji materijala za primenu biomaterijala (1984, 1993b), a o samom BMI testiranju može se pronaći i u skorijoj publikaciji Odeljenja za uredanje i tehnologiju američkog Nacionalnog instituta za srce, pluća i krv u okviru Nacionalnog instituta zdravlja [48].

## 8.4 ŽIVOTINJSKI MODELI

Ostala poglavlja ove knjige se bave različitim tehnikama istraživanja koje se koriste za proučavanje biomaterijala koji dolaze u dodir sa živim tkivom bilo *in vivo* ili *in vitro*. Ključne stavke u izboru i uspehu ovih tehnika obuhvataju: (1) zakonske i humane procedure postupanja sa laboratorijskim životinjama; (2) različite životinjske vrste za utvrđivanje raznih fizioloških crta i reakcija; (3) regulatorna i naučna razmatranja u hierarhiji prekliničkog testiranja koje prethodi kliničkom testiranju na ljudima.

### 8.4.1 Odgovorna upotreba životinja

Pre nego što se pristupi eksperimentisanju na životinjskim uzorcima radi testiranja biomaterijala, istraživači i sponzorske institucije moraju da prouče svoje odgovornosti u skladu sa međunarodnim, državnim i lokalnim zakonima i odredbama. S obzirom na sve veću političku i javnu zainteresovanost za temu upotrebe životinja u eksperimentima, sve laboratorije koje vrše testove na životinjama moraju da potvrde da njihovi programi priznaju i poštuju zakone o humanom postupanju i upotrebi životinja, koje sprovode stručno obučena lica. Važnost ove teme se ističe u davno donetoj (1990) rezoluciji Američkog udruženja za napredne nauke [*American Association for the Advancement of Science* (AAAS)] [57].

Državni i lokalni zakoni, takođe, mogu da utiču na istraživačke programe nad životinjama. Ovi zakoni, uglavnom, trebalo bi da obuhvataju dozvole i restrikcije o upotrebi životinja u eksperimentalne svrhe. Trebalo bi da sadrže osnovna uputstva i predloge [57]: (1) koristiti abiotičke ili *in vitro* uzorke kad god je to moguće; u slučajevima kad je potrebno koristiti žive uzorke, postarati se da se upotrebi najmanji broj životinja i na sve načine svede izlaganje životinja nelagodnostima na minimum u skladu sa određenom namenom; (2) ponašanje prema svim laboratorijskim životnjama mora biti humano i u skladu sa primenjivim zakonima i odredbama (upotreba adekvatnih mera fizičkog ograničavanja, anestezije, analgezije i eutanazije koje ne ometaju rezultate eksperimenta); (3) održavanje prostorije

u kojima životinje borave trebalo bi biti u skladu sa standardima zakonskih agencija (obuka osoblja i formiranje unutrašnjih grupa za nadzor koje će se postarati da sve bude u skladu sa zadatim standardima); (4) potrebno je aktivno konsultovati tehničku i naučnu literaturu kako bi se sprečilo nepotrebno ponavljanje eksperimenta i bilo sigurno da se koristi najadekvatniji uzorak (životinjski ili neživotinjski) za postizanje odgovarajućeg istraživačkog cilja.

#### **8.4.2 Razmatranja o vrstama životinjskih uzoraka**

Postoji mnoštvo pitanja u pogledu izbora specifičnog uzorka životinja koji je potreban za određeno testiranje. Kod uopštenog testiranja kardiovaskularnih uređaja, npr., zbog specifičnosti varijacije krvnih materijala i interakcija među vrstama, nastalo je niz publikacija. Izdati su i drugi komparativni radovi o razlikama u koagulaciji krvi među životinjama, i uzgajanim i neuzgajanim linijama u okviru iste vrste.

#### **8.4.3 Hijerarhije u testiranjima**

Pošto se potvrdi da je neki bimaterijal ili medicinska naprava efikasna u uslovima koji ne podrazumevaju testiranje na ljudskim subjektima (tj. *in vitro*, *ex vivo* ili na životinjama) sledi program bezbednosnih mera koji obuhvata nekoliko komplikovanih faza. Hijerarhija testiranja, koja počinje *in vitro* sistemima i nastavlja *in situ* implantatima zahteva:

1. citotoksičnost ćelijskih kultura (ćelijska linija miša L929);
2. hemolizu (zečije ili ljudske krvi);
3. mutagenost (ljudske ili ćelije nekih sisara ili Ames bakteriološki test);
4. sistemsko ubrizgavanje (injekciju) akutne toksičnosti (kod miša);
5. senzitizaciju (kod zamorca);
6. pirogenost [limulus amebocitni lizat (LAL) ili kod zeca];
7. intrakutanu iritaciju (kod zeca);
8. intramuskularni implantat (kod pacova ili zeca);
9. krvnu kompatibilnost (kod pacova, psa, primata, itd.);
10. (10) dugoročni implantat (kod pacova) [57].

Pored *in vitro* i *in vivo* procenjivanja neke naprave, postoje i drugi parametri koje istraživač ili proivođač mora da poznaje. Podaci se moraju bazirati na karakterizaciji sirovih materijala, procesima proizvodnje i sterilizacije, pakovanju, skladištenju i stabilnosti finalnog proizvoda pre same implantacije. Konačna verzija naprave se koristi u zvaničnim ogledima i ostalim testovima. To pruža mogućnost da se probni uređaji ili njihovi delovi, koji su predati za probno testiranje, procene na pouzdan način uz najminimalniju upotrebu životinja.

Trebalo bi znati da je svrha bezbedonosnih testova novih naprava i biomaterijala na životinjama, pre svega, otkrivanje negativnih posledica. Stoga, toksičke reakcije pružaju korisne podatke zvaničnim institucijama koji će im pomoći da uoče moguće probleme kliničkih testiranja. S druge strane, prilikom procenjivanja nove naprave, nema potrebe povećati parametre izlaganja životinja (npr., veličinu naprave kojase upotrebljava kod životinja, trajanje tretmana, broj životinja) do ekstremnog nivoa, jer namerno izazivanje toksičnosti ne mora nužno dati bitne rezultate.

Na savremenom nivou čine se veliki naporci da se ozakoni svuda u svetu moguća zamena upotrebe životinja svih vrsta u eksperimentima sa drugim alternativnim metodama [58-64]. Alternative obuhvataju: (1) film i video; (2) modele, lutke, fantome ili simulatore; (3) multimedijalnu kompjutersku simulaciju; (4) etički opravdane kadavere životinja i tkiva; (5) klinički rad sa životinjama pacijentima i volonterima; (6) studentske eksperimente na sebi; (7) *in vitro* laboratorije; i (8) studije na terenu [58,64].

U svim postupcima alternative podrazumevaju, pored humanog postupanja stručno obučenih lica, i široku edukaciju o ovoj temi [59, 64], uz procenu alternativa u edukaciji [60,64] i prethodni izbor plana i programa [61,64], sa ozbiljnom podelom uloga za nastavnike i studente [62,64] i upoznavanjem sa filozofijom i praksom Internacionalne mreže za edukaciju ljudi [*International Network for Human Education (InterNICHE)*] [63,64].

U praktičnom smislu preporučuje se upotreba virtuelnih (kompjuterskih i drugih) umesto stvarnih laboratorijskih u eksperimentalnom izučavanju života uopšte [65], odnosno u bimedicinskoj edukaciji [66], bez mogućeg ubijanja životinja [67] ili, čak, bez njihove upotrebe uopšte u eksperimentu [68]. Potrebno je napraviti klijent donatorski program za obavljanje neophodne veterinarske medicinske edukacije o izboru alternativa za žrtvovanje zdrave životinje koji se slaže sa donatorskim programom dobavljača, kao što je Veterinarski fakultet Univerziteta u Tuftu [*Tufts University School of Veterinary Medicine (TUSVM)*] saglasno Ministarstvu poljoprivrede SAD [*United States Department of Agriculture (USDA)*] prema protokolima Komiteta za brigu o upotrebi životinja [*Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC)*] [57,69]. Studenti veterinarne moraju biti dovoljno dobro medicinski obrazovani da koriste i inovacije, kao što su obavezni da obave staž ili etički trening hirurgije [70], koristeći hirurške simulatore, kao i druge vrste alternativnih rešenja zamene za upotrebu eksperimentalnih životinja [71].

## **8.5 PITANJA ZA REKAPITULACIJU**

- 8.1 Zašto se vrši procena biomaterijala na mestu primene?
- 8.2 Koja vrsta testova je dovoljna za procenu biokompatibilnosti materijala?
- 8.3 Definisati šta je to toksični materijal?
- 8.4 Da li postoji zvanično opšteprihvaćena lista standardizovanih testova za procenu kompatibilnosti krvi sa biomaterijalima?

- 8.5 Koji faktori čine Virhovljevu trijadu za predispoziciju za koagulaciju krvi i formiranje tromba?
- 8.6 Kako se vrši merenje veka trombocita?
- 8.7 Šta sve može indukovati stvaranje tromba u odsustvu heparina?
- 8.8 U hijerarhiji testiranja, koja počinje *in vitro* sistemima i nastavlja *in situ* implantatima, kod kojih opitnih životinja se zahteva dugoročni implantat?
- 8.9 Šta je svrha bezbednosnih testova novih naprava i biomaterijala na životnjama?
- 8.10 U eksperimentalnom izučavanju životnih funkcija uopšte, da li se preporučuje upotreba virtuelnih (kompjuterskih i drugih) ili stvarnih laboratorijskih?

## 8.6 LITERATURA

1. W. G. Brodbeck, J. Patel, G. Voskerician, E. Christenson, M.S. Shive, Y. Nakayama, T. Matsuda, N.P. Ziats, J.M. Anderson, Biomaterial adherent macrophage apoptosis is increased by hydrophilic and anionic substrates *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:16 (2002) 10287-10292.
2. B.D. Ratner, Background Concepts, in: B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.3.1.
3. E.C. TePas, D.T. Umetsu, Immunology and Allergy, in: R.E. Behrman, R.M. Kliegman, *Nelson Essentials of Pediatrics*, 4th Ed. (W.B. Saunders Company, Philadelphia, 2002), Sect. 8.
4. B.D. Ratner, Introduction, in: B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 1th Ed. (Academic Press, San Diego, 1996), Sect. 2.5.1.
5. S.J. Northup, *In Vitro Assessment of Tissue Compatibility*, in: B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 1th Ed. (Academic Press, San Diego, 1996), Sect. 2.5.2.
6. D.E. Till, R.C. Reid, P.S. Schwartz, K.R. Sidman, J.R. Valentine, R.H. Whelan, Plasticizer migration from polyvinyl chloride film to solvents and foods. *Food. Chem. Toxicol.* 20 (1982): 95-104.
7. H.P. Rang, M.M. Dale, J.M. Ritter, P.K. Moore, Drug elimination and pharmacokinetics, in: *Pharmacology*, 5th Ed. (Churchill Livingstone, Edinburgh, 2003), Sect. 8.
8. T.D. Pollard, W.C. Earnshaw, General Principles of Cellular Organization, in: *Cell Biology*, 1st Ed. Revised reprint. (Saunders/Elsevier Science, Philadelphia, 2004), Sect. 1.
9. J.M. Anderson, Inflammation, Wound Healing, and the Foreign-Body Response, in: B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.4.2.
10. G. Giebisch, E. Windhager, Transport of urea, Glucose, Phosphate, Calcium, Magnesium, and Organic Solutes, in: W.F. Boron, E.L. Boulpaep (eds.), *Medical physiology: a cellular and molecular approach*, Updated-edition. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 6.35.

11. W.H. Hardikar, F.J. Suchy, Hepatobiliary Function, in: W.F. Boron, E.L. Boulpaep (eds.), *Medical physiology: a cellular and molecular approach*, Updated-edition. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 7.45.
12. W.F. Boron, Acid-Base Physiology, in: W.F. Boron, E.L. Boulpaep (eds.), *Medical physiology: a cellular and molecular approach*, Updated-edition. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 5.27.
13. M. Hasiwa, K. Kullmann, S. von Aulock, C. Klein, T. Hartung, An in vitro pyrogen safety test for immune-stimulating components on surfaces. *Biomaterials* 28(7) (2007) 1367-1375.
14. K. Müller, J.N. Skepper, M. Posfai, R. Trivedi, S. Howarth, C. Corot, E. Lancelot, P.W. Thompson, A.P. Brown, J.H. Gillard, Effect of ultrasmall superparamagnetic iron oxide nanoparticles (Ferumoxtran-10) on human monocyte-macrophages in vitro. *Biomaterials* 28(9) (2007) 1629-1642.
15. Y. Yang, X. Chen, F. Ding, P. Zhang, J. Liu, X. Gu, Biocompatibility evaluation of silk fibroin with peripheral nerve tissues and cells in vitro. *Biomaterials* 28(9) (2007) 1643-1652.
16. J.R. Jones, O. Tsigkou, E.E. Coates, M.M. Stevens, J.M. Polak, L.L. Hench, Extracellular matrix formation and mineralization on a phosphate-free porous bioactive glass scaffold using primary human osteoblast (HOB) cells. *Biomaterials* 28(9) (2007) 1653-1663.
17. H.P. Rang, M.M. Dale, J.M. Ritter, P.K. Moore, Basic Principles of Chemotherapy, in: *Pharmacology*, 5th Ed. (Churchill Livingstone/Elsevier Science, Edinburgh, 2003), Sect. 5.44.
18. K. Park, S.K. Lee, D.H. Son, S.A. Park, K. Kim, H.W. Chang, E.-j. Jeong, R.-W. Park, I.-S. Kim, I.C. Kwon, Y. Byun, S.Y. Kim, The attenuation of experimental lung metastasis by a bile acid acylated-heparin derivative. *Biomaterials* 28(16) (2007) 2667-2676.
19. M. Spector, P.A. Lalor, In Vivo Assessment of Tissue Compatibility, in: B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 1th Ed. (Academic Press, San Diego, 1996), Sect. 2.5.3.
20. W. G. Brodbeck, J. Patel, G. Voskerician, E. Christenson, M.S. Shive, Y. Nakayama, T. Matsuda, N.P. Ziats, J.M. Anderson, Biomaterial adherent macrophage apoptosis is increased by hydrophilic and anionic substrates *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:16 (2002) 10287-10292.
21. B.D. Ratner, Background Concepts, in: B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.3.1.
22. D.E. Ingber, Mechanical signaling and the cellular response to extracellular matrix in angiogenesis and cardiovascular physiology. *Circ. Res.* 91 (2002) 877-887.
23. F.J. Schoen, R.N. Mitchell, Tissue, the Extracellular Matrix, and Cell-Biomaterial Interactions, in: B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.3.4.
24. Y. Diebold, M. Jarrín, V. Sáez, E.L.S. Carvalho, M. Orea, M. Calonge, B. Seijo, M.J. Alonso, Ocular drug delivery by liposome-chitosan nanoparticle complexes (LCS-NP). *Biomaterials* 28(8) (2007) 1553-1564.
25. B.M. Baker, R.L. Mauck, The effect of nanofiber alignment on the maturation of engineered meniscus constructs. *Biomaterials* 28 (11) (2007) 1967-1977.

26. T.A. Horbett, The Role of Adsorbed Proteins in Tissue Response to Biomaterials, in: B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.3.2.
27. L.V. McIntire, S.G. Eskin, A. Yee, Mechanical Forces on Cells, in: B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.3.5.
28. D.J., Dandy, D.J. Edwards, Basic Science in Orthopaedics, in: *Essential Orthopaedics and Trauma*, 4th Ed. (Churchill Livingstone, Edinburgh, 2003), Sect. 1.4.
29. I. Ichim, Q. Li, W. Li, M.V. Swain, J. Kieser, Modelling of fracture behaviour in biomaterials. *Biomaterials* 28(7) (2007) 1317-1326.
30. M.C. Kruyt, W.J.A. Dhert, F.C. Oner, C.A. van Blitterswijk, A.J. Verbout, J.D. de Bruijn, Analysis of ectopic and orthotopic bone formation in cell-based tissue-engineered constructs in goats. *Biomaterials* 28(10) (2007) 1798-1805.
31. K. Yamamoto, N. Tomita, Y. Fukuda, S. Suzuki, N. Igarashi, T. Suguro, Y. Tamada, Time-dependent changes in adhesive force between chondrocytes and silk fibroin substrate. *Biomaterials* 28(10) (2007) 1838-1846.
32. F.J. Schoen, Introduction, in: B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.4.1.
33. H. Hatakeyama, A. Kikuchi, M. Yamato, T. Okano, Bio-functionalized thermoresponsive interfaces facilitating cell adhesion and proliferation. *Biomaterials* 27(29) (2006) 5069-5078.
34. J.-E.W. Ahlfors, K.L. Billiar, Biomechanical and biochemical characteristics of a human fibroblast-produced and remodeled matrix. *Biomaterials* 28(13) (2007) 2183-2191.
35. Z. Yun, Q. Lin, A.J. Giaccia Adaptive myogenesis under hypoxia. *Mol. Cell. Biol.* 25(8) (2005) 3040-3055.
36. X. Li, L. Zhu, X. Chen, M. Fan, Effects of hypoxia on proliferation and differentiation of myoblasts. *Med. Hypotheses*. (2007) Mar 27.
37. K. Garkhal, S. Verma, K. Tikoo, N. Kumar, Surface modified poly(L-lactide-co-epsilon-caprolactone) microspheres as scaffold for tissue engineering. *J. Biomed. Mater. Res. A*. (2007) Feb 26.
38. C.-W. Lin, L.-J. Chen, P.-L. Lee, C.-I Lee, J.-C. Lin, J.-J. Chiu, The inhibition of TNF- $\alpha$ -induced E-selectin expression in endothelial cells via the JNK/NF- $\kappa$ B pathways by highly N-acetylated chitooligosaccharides. *Biomaterials* 28(7) (2007) 1355-1366.
39. H.-C. Wu, T.-W. Wang, P.-L. Kang, Y.-H. Tsuang, J.-S. Sun, F.-H. Lin, Coculture of endothelial and smooth muscle cells on a collagen membrane in the development of a small-diameter vascular graft. *Biomaterials* 28(7) (2007) 1385-1392.
40. S.H. Bhang, J.S. Lim, C.Y. Choi, Y.K. Kwon, B.S. Kim, The behavior of neural stem cells on biodegradable synthetic polymers. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 18(2) (2007) 223-239.
41. S.M. Richardson-Burns, J.L. Hendricks, B. Foster, L.K. Povlich, D.-H. Kim, D.C. Martin, Polymerization of the conducting polymer poly(3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT) around living neural cells. *Biomaterials* 28(8) (2007) 1539-1552.

42. M. Das, S. Patil, N. Bhargava, J.-F. Kang, L.M. Riedel, S. Seal, J.J. Hickman, Auto-catalytic ceria nanoparticles offer neuroprotection to adult rat spinal cord neurons. *Biomaterials* 28(10) (2007) 1918-1925.
43. L. Huang, J. Hu, L. Lang, X. Wang, P. Zhang, X. Jing, X. Wang, X. Chen, P.I. Lelkes, A.G. MacDiarmid, Y. Wei, Synthesis and characterization of electroactive and biodegradable ABA block copolymer of polylactide and aniline pentamer. *Biomaterials* 28(10) (2007) 1741-1751.
44. J.J. Jacobs, K.A. Roebuck, M. Archibeck, N.J., N.J. Hallab, T.T. Glant, Osteolysis: basic science. *Clin. Orthop.* 393 (2001) 71-77.
45. V. Kumar, A.K., Abbas, N. Fausto, Acute and Chronic Inflammation, in: V. Kumar, A.K., Abbas, N. Fausto (eds.), *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 7th Ed. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 1.2.
46. F.J. Schoen, Tumorigenesis and Biomaterials, in: B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.4.7.
47. H.P. Rang, M.M. Dale, J.M. Ritter, P.K. Moore, Method and measurement in pharmacology, in: *Pharmacology*, 5th Ed. (Churchill Livingstone, Edinburgh, 2003), Sect. 6.
48. S. Hanson, B.D. Ratner, Testing of Blood-Materials Interactions, in: B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 1th Ed. (Academic Press, San Diego, 1996), Sect. 2.5.4.
49. C.J. Pan, Z.Y. Shao, J.J. Tang, J. Wang, N. Huang, In vitro studies of platelet adhesion, activation, and protein adsorption on curcumin-eluting biodegradable stent materials. *J. Biomed. Mater. Res. A* (2007) Feb 26.
50. R.N. Michell, Hemodynamic Disorders, Thromboembolic Disease, and Shock, in: V. Kumar, A.K., Abbas, N. Fausto (eds.), *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*, 7th Ed. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 1.4.
51. D. Voet, J.G. Voet, Blood Clotting, in: *Biochemistry*, 3nd Ed. (John Wiley & Sons, New York, 2005), Sect. 35.1.
52. I. Andreis, Poremećaji zgrušavanja krvi, u: S. Gamulin, M. Marušić, Z. Kovač (urednici), *Patofiziologija*. Šesto, obnovljeno i izmijenjeno izdanje. (Medicinska naklada, Zagreb, 2005), Knjiga prva. Gl. 26. Odjeljak 26.3.
53. S.R. Hanson, Blood Coagulation and Blood-Materials Interactions, in: B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.4.6.
54. T.J. Mansen, K.L. McCance, Alterations of Leukocyte, Lymphoid, and hemostatic function, in: K.L. McCance, S.E. Huether (eds.), *Pathophysiology: The Biologic Basis for Disease in Adults and Children*. 5th Ed. (Elsevier/Mosby, St. Louis, 2006), Sect. 2.8.27.
55. B.M. Mitruka, H.M. Rawnsley, Clinical Biochemical and Hematological Reference Values in Normal Experimental Animals. (Masson Publishing USA, Inc., New York, 1977).
56. G. Matfin, C.M. Porth, Disorders of Cardiac Function, in: C.M. Porth (ed.), *Essentials of Pathophysiology: Concepts of Altered Health States*, 2nd Ed. (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007), Sect. 5.18.

57. B.H. Vale, J.E. Willson, S.M. Niemi, Animal Models, in: B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schloo, J.E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 1th Ed. (Academic Press, San Diego, 1996), Sect. 2.5.5.
58. N. Jukes, M. Chiuia, Types of alternative and their pedagogical impact, in: *From guinea pig to computer mouse: alternative methods for a progressive, human education*, 2nd Ed, revised and expanded. [International Network for Human Education (InterNICHE), Leicester, 2003], Part a. Sect. 1.
59. N. Jukes, M. Chiuia, The broader impact of humane education, in: *From guinea pig to computer mouse: alternative methods for a progressive, human education*, 2nd Ed, revised and expanded. [International Network for Human Education (InterNICHE), Leicester, 2003], Part a. Sect. 2.
60. J. Balcombe, Assessment of alternatives in education, in: N. Jukes, M. Chiuia, *From guinea pig to computer mouse: alternative methods for a progressive, human education*, 2nd Ed, revised and expanded. [International Network for Human Education (InterNICHE), Leicester, 2003], Part a. Sect. 3.
61. L.M. Rasmussen, Curricular design: Choosing and planning a humane approach to life science education, in: N. Jukes, M. Chiuia, *From guinea pig to computer mouse: alternative methods for a progressive, human education*, 2nd Ed, revised and expanded. [International Network for Human Education (InterNICHE), Leicester, 2003], Part a. Sect. 4.
62. N. Jukes, M. Chiuia, Conscientious objection: Roles and responsibilities for teachers and students, in: *From guinea pig to computer mouse: alternative methods for a progressive, human education*, 2nd Ed, revised and expanded. [International Network for Human Education (InterNICHE), Leicester, 2003], Part a. Sect. 5.
63. N. Jukes, M. Chiuia, InterNICHE: Philosophy and practice, in: *From guinea pig to computer mouse: alternative methods for a progressive, human education*, 2nd Ed, revised and expanded. [International Network for Human Education (InterNICHE), Leicester, 2003], Part a. Sect. 6.
64. InterNICHE Award – 2006: 2006 Humane Education Award. <http://www.interniche.org/award/2006award.htm>
65. H.A. Braun, Virtual versus real laboratories in life-science education: Concepts and experiences, in: N. Jukes, M. Chiuia, *From guinea pig to computer mouse: alternative methods for a progressive, human education*, 2nd Ed, revised and expanded. [International Network for Human Education (InterNICHE), Leicester, 2003], Part b. Sect. 1.
66. H. van Wilgenburg, Implementation of computer-based alternatives in biomedical education, in: N. Jukes, M. Chiuia, *From guinea pig to computer mouse: alternative methods for a progressive, human education*, 2nd Ed, revised and expanded. [International Network for Human Education (InterNICHE), Leicester, 2003], Part b. Sect. 2.
67. M. Makarchuk, Teaching physiology is possible without killing, in: N. Jukes, M. Chiuia, *From guinea pig to computer mouse: alternative methods for a progressive, human education*, 2nd Ed, revised and expanded. [International Network for Human Education (InterNICHE), Leicester, 2003], Part b. Sect. 3.
68. G.C. Scroop, Research project practicals for undergraduates in the biological sciences: Learning problem-solving strategies without animal experimentation. in: N. Jukes, M. Chiuia, *From guinea pig to computer mouse: alternative methods for a progressive, hu-*

- man education*, 2nd Ed, revised and expanded. [International Network for Human Education (InterNICHE), Leicester, 2003], Part b. Sect. 4.
- 69. A.M. Kumar, Client donation program to meet the needs of veterinary medical education: Alternatives to healthy animal sacrifice, in: N. Jukes, M. Chiuia, *From guinea pig to computer mouse: alternative methods for a progressive, human education*, 2nd Ed, revised and expanded. [International Network for Human Education (InterNICHE), Leicester, 2003], Part b. Sect. 5.
  - 70. D.D. Smeak, Ethical surgery training for veterinary students, in: N. Jukes, M. Chiuia, *From guinea pig to computer mouse: alternative methods for a progressive, human education*, 2nd Ed, revised and expanded. [International Network for Human Education (InterNICHE), Leicester, 2003], Part b. Sect. 6.
  - 71. L.M. Rasmussen, R.A. Robinson, G.R. Johnston, S.D. Johnston, A pedagogically sound, innovative, and humane plan for veterinary medical education, in: N. Jukes, M. Chiuia, *From guinea pig to computer mouse: alternative methods for a progressive, human education*, 2nd Ed, revised and expanded. [International Network for Human Education (InterNICHE), Leicester, 2003], Part b. Sect. 7.

---

## DEGRADACIJA BIOMATERIJALA U BIOLOŠKOM OKRUŽENJU<sup>1</sup>

Biološko okruženje svakog implantata se uobičajeno neprijateljski ponaša kao prema svakoj organizmu stranoj supstanci, težeći da ga neutrališe i što pre eliminiše, što može da dovede do brzog ili postepenog razaranja mnogih materijala. Površno gledajući, može se pomisliti da će neutralna pH (7,35-7,45) sredina, mala količina soli i umerena temperatura ljudskog tela stvoriti blago nedegradabilno okruženje [1-5]. Međutim, mnogi specijalni mehanizmi tela deluju na implantate, vršeći njihovu degradaciju ili razgradnju.

U vlažnim, jonskim sredinama, kakve su telesne tečnosti, koje mogu biti elektrohemski aktivne prema metalima i plastificirajuće (omekšavajuće) prema polimerima, zajedno sa kontinualnim ili cikličkim naprezanjem kojima su izloženi mnogi biomaterijali, paralelno se odvija proces razgradnje i istezanja materijala. Aktiviraju se opšti i specifični biološki mehanizmi. Dolazi do adsorpcije proteina na materijale, što može povećati nivo korozije metala. Ćelije izlučuju snažne oksidanse i enzime koji su usmereni ka razlaganju organizmu stranih supstanci. Ovi prodirujući degradacioni agensi se obično koncentrišu između ćelija i materijala, gde najefikasnije deluju nerazblaženi od okolne vlažne sredine.

Postoji mnoštvo raznih načina i sinergističkih puteva kojima se vrši biološka razgradnja implantata. Tako, pukotine kao posledica naprezanja stvaraju nova reaktivna površinska mesta. Nabreknuća i vodeni kanali na sličan način mogu povećati broj reaktivnih mesta. Degradacioni produkti mogu promeniti lokalnu pH vrednost, stimulišući tako dalje reakcije. Hidroliza polimera može generisati nove hidrofilne vrste, što vodi nabreknuću polimera i stvaranju razarajućih vrsta u masi polimera [6]. Pukotine takođe mogu biti i mesta za početak kalcifikacije.

Biodegradacija je termin koji se koristi u raznim kontekstima. Može se koristiti za reakcije koje se dešavaju u minutu, ili tokom godina. Može se projektovati tako da se desi na određenom mestu u određeno vreme posle implantacije, ili može biti neočekivano dugotrajan posledični proces pruzrokovan slabom aktivnošću bi-

---

<sup>1</sup>Ovo poglavље napisali su Drago Đorđević i Dejan Raković.

ološke sredine. Vremenom materijali za implantate mogu postati rastvorljivi, mrviti se; postati nalik na gumu ili pak kruti posle izvesnog vremena [7]. Produkti razaranja mogu biti otrovni po telo, a mogu biti projektovani i tako da vrše funkciju lečenja. Razaranje se obično javlja kod metala, polimera, keramika i kompozitnih materijala. Prema tome, biodegradaciju možemo smatrati kao vrlo uopšteno široko polje proučavanja i sa punim pravom zahtevati veliku pažnju naučnika.

## **9.1 HEMIJSKA I BIOHEMIJSKA DEGRADACIJA POLIMERA**

Biodegradacija je hemijsko razaranje materijala od strane živih organizama, koje vodi promenama fizičkih svojstava. To je pojam širokog opsega, počevši od razlaganja ekološkog otpada izazvanog mikroorganizmima, pa sve do samoprouzrokovanih pogoršanja svojstava materijala u medicinskim uređajima. Ipak, to je i precizan termin, koji govori da su potrebni određeni biološki procesi koji prouzrokuju takve promene.

### **9.1.1 Degradacioni procesi polimera**

Polimerne komponente ugradnih naprava (implantata) su uglavnom pouzdane u svom predviđenom roku trajanja. Pažljivim izborom važnih prekliničkih testova celokupnog sastava, proizvedenih komponenti i naprave većinom se obezbeđuje funkcionalnost i trajnost. Ali, ubrzano starenje, životinjski implantati, kao i prognoze upotrebe, ne mogu predvideti sve promenljive komponente koje mogu prouzrokovati prevremeno pogoršanje funkcionisanja. Krajnji cilj merenja prihvatljivosti materijala za medicinsku upotrebu je njegova funkcionalnost u predviđenom životnom veku naprave, konstatovana u neposrednom nadzoru nad radom implantata nakon ugrađivanja. Tako, nijedan polimer nije potpuno nepropustljiv za hemijske procese i mehaničke akcije u telu. Uopšteno gledano, polimerni biomaterijali se razgrađuju, jer odbrambeni sistemi tela stalno napadaju biomaterijale, bilo direktno, bilo indirektno, preko drugih sistemskih komponenti ili spoljnih faktora.

Mnogobrojne operacije se primenjuju na polimere između momenta proizvodnje i upotrebe u ljudskom telu (Tabl. 9.1) [8]. Lista mehanizama fizičkih i hemijskih kvarova, koji se mogu desiti je podugačka, bilo pojedinačno ili udruženo u raznim fazama istorije polimera (Tabl. 9.2) [8]. Čak i obrada materijala pre implantacije može predodrediti stabilno ili nestabilno ponašanje u krajnjoj primeni. Važan primer degradacije biomaterijala uzrokovan obradom pre implantiranja je sterilizacija  $\gamma$ -zracima ultra-teških molekula polietilena korišćenog u protezi za koleno [8]. Proces generiše slobodne grupe atoma u materijalu, koji reaguju sa kiseonikom i proizvode neželjene oksidacione produkte. Lančano spajanje i razdvajanje sa kiseonikom može uzrokovati, u periodu od par meseci do par godina, gubitak čvrstoće i žilavosti, kao i skraćenje roka upotrebe. Zbog toga je od izuzetne važnosti da odgovarajući rigorozni procesi i protokoli budu ispunjeni za sve operacije.

**TABELA 9.1 Tipične operacije na polimernom materijalu sa ubrizgavajućim kalupom [8]; modifikovano.**

Vrsta	Karakteristika		
Polimer	sinteza	presovanje	oblikovanje u pilule
Tablete	pakovanje	skladištenje	prevoz, sušenje
Komponente	ubrizgavanje kalupa	formiranje kalupa	čišćenje, pregled, pakovanje, skladištenje
Naprava	sklapanje, skladištenje (pre-sterilizacija), čišćenje, pregled, pakovanje	skladištenje (upakovanih materijala), sterilizacija, skladištenje (sterilnog materijala)	dostava, skladištenje (pre-implantno), implantacija, rad u telu

Po implantaciji naprave događaju se adsorbcijski i apsorpcioni procesi. Polimerne površine u kontaktu sa tečnostima u ljudskom telu istovremeno adsorbuju proteinske komponente, a masa počinje da apsorbuje rastvorljive komponente, kao što su voda, proteini i lipidi. Ćelijski elementi se zatim zakače na površine i iniciraju hemijske procese. Sa biostabilnim komponentama, ovo kompleksno uzajamno dejstvo faktora ima male funkcionalne posledice. Pri ravnotežnoj apsorbaciji tečnosti mogu se desiti neke polimerne plastifikacije, uzrokujući dimenzione i mehaničke promene. Za one polimere izložene hemijskoj degradaciji *in vivo*, nema mnogo izveštaja sa sveobuhvatnim objašnjenjem višestepenog procesa i interakcija koje obuhvata svaki mehanizam uključen u sve degradacione procese. Eksplisitne analize, donekle, i, povremeno, metabolička izračunavanja koriste se da bi se izvele jednačine hemijske reakcije. Analize hemijske degradacije polimera skoro uvek uključuju ili hidrolizu ili oksidaciju kao vitalnu komponentu procesa.

### 9.1.2 Hidrolitička biodegradacija

#### *Strukture hidrolabilnih polimera*

Hidroliza predstavlja odvajanje prijemčivih molekula iz funkcionalnih grupa putem reakcije sa vodom. Može biti ubrzana pomoću kiselina, baza, soli ili enzima. To je proces u jednom koraku u kome je brzina lančanog odvajanja proporcionalna brzini pokretanja reakcije. Prijemčivost polimera za hidrolizu je rezultat njegove hemijske strukture, morfologije, dimenzija i okoline u ljudskom telu.

Hidrolitičke reakcije ne uključuju jetrine (hepatičke) mikrosomalne enzime, ali se dešavaju u plazmi i u mnogim tkivima. Estarske i (manje) amidne veze su osetljive i prijemčive za hidrolizu [6].

U uobičajenoj kategoriji hidrolabilnih polimernih biomaterijala, funkcionalne grupe se sastoje iz ugljenično vezanih heterolančanih elemenata: O, N, i S [8]. Primeri uključuju organske soli, amide i karbonate [8]. Drugi polimeri

sadrže grupe kao što su etri, acetili, nitriti, fosfati, aktivni metili, ili, pak, hidrolize pod specijalnim uslovima.

*TABELA 9.2 Mehanizmi koji vode degradaciji svojstava polimera [8]; modifikovano*

Fizički	Hemski
Sorpcija (dekompresija)	Termoliza
Izvijanje, nabreknuće	Nasilno cepanje
Omekšavanje	Depolimerizacija
Razlaganje	Oksidacija
Mineralizacija	Hemiska
Izvlačenje	Termooksidacija*
Kristalizacija	Solvoliza
Dekristalizacija	Hidroliza
Lom usled napinjanja	Alkoholiza
Lom usled iscrpljenosti	Aminoliza
Lom usled udarca	Fotoliza
	Vidljivom svetlošću
	Ultra-ljubičastom svetlošću
	Radioliza
	$\gamma$ -zracima
	X-zracima
	Elektronskim snopom
	Nasilna reakcija izazvana prelamanjem

\*Neki degradativni procesi mogu predstavljati kombinaciju dva ili više individualnih mehanizama

Grupe koje su obično vrlo stabilne na hidrolizu su: (1) hidrokarbon (npr., polietilen, polipropilen, polistiren); (2) halokarbon (npr., politetrafluoroetilen, polihlorotrifluoroetilen, polivinilidin hlorid); (3) dimetilsilosan; i (4) sulfon [8].

Brzina hidrolize teži povećanju sa: (1) visokom srazmerom hidrolizabilnih grupa u glavnom lancu ili na krajevima lanca; (2) drugim polarnim grupama koje pojačavaju hidrofilnost; (3) malom kristalnošću; (4) niskom ili zanemarljivom relativnom gustinom; (5) velikom izloženom površinom prema udaru; i (6) mehaničkim prelamanjem [8].

Šupljikave hidrolizabilne strukture posebno su izložene gubitku karakteristika zbog njihove velike površine. Faktori koji teže da potisnu hidrolizu uključuju hidrofobne funkcionalne grupe (npr., hidrokarbon ili fluorokarbon), ukrštajući visoku kristalnost uslovljenu lančanim redosledom, termalno otpuštanje ili orijentaciju, malu napetost i skladan oblik. Međutim, dok molekulska težina linearnih po-

limera nema veliki efekat na brzinu degradacije, pogoršanja fizičkih osobina mogu se desiti sa zakašnjenjem, za dati broj lančanih cepanja kod polimera sa relativno teškim molekulima [8]. Pogoršanje svojstava izazvano lančanim cepanjem je više izraženo u polimerima sa slabim intermolekularnim vezama.

### **Domaćinom-izazvani hidrolizni procesi**

Ljudsko telo je uglavnom visoko kontrolisana sredina za hemijske reakcije. Tokom ravnotežnog stanja, okolina većine implantata se održava izotermnom ( $36\text{--}37^{\circ}\text{C}$ ), neutralnom ( $\text{pH} \sim 7,4 \pm 0,05$ ), sterilnom, fotozaštićenom i u konstantnom vlažnom stanju [4]. Po *in vitro* standardima, ovi uslovi su se pokazali blagim. Međutim, kompleksne interakcije humoralnih i ćelijskih komponenti telesnih tečnosti koje uključuju aktivatore, receptore, akceleratore, itd., uzrokuju agresivna reagovanja prema bilo kakvom stranom telu tokom procesa adhezije, hemijske reakcije, partikularnog prenosa i neutralisanja ili izbacivanja iz organizma.

Može se razmotriti nekoliko scenarija koji vode hidrolizi u telu domaćina. Prvo, potpuno neutralna voda je sposobna za hidrolizu izvesnih polimera (npr., poliglikolna kiselina) prilično velikom brzinom. Međutim, ovaj jednostavni mehanizam teško može biti značajan u polimernim kompozitima odabranim za dugotrajnu *in vivo* biostabilnost. Sledеće, jonsko – katalizovana hidroliza nudi pogodan scenario za telesne tečnosti. Vanćelijske tečnosti sadrže jone, kao što su  $\text{H}^+$ ,  $\text{OH}^-$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ . Organske kiseline, proteini, lipidi, lipoproteini, itd., takođe, cirkulišu kao rastvorljive ili koloidne komponente.

Dokazano je da su pojedini joni (npr.  $\text{PO}_4^{3-}$ ) efektivni hidrolizni katalizatori, i da poboljšavaju, npr. brzinu reakcije poliestara za nekoliko stepeni jačine [8]. Jonska ubrzanja mogu biti sa površinskim efektom ili kombinovana sa površinsko-masenim efektom, zavisno od hidrofilnosti polimera. Vrlo hidrofobni polimeri (npr. oni koji sadrže manje od 2% zasićene vodene pare) apsorbuju zanemarljivo male količine jona [8]. S druge strane, hidrogelovi, koji mogu apsorbovati veliku količinu vode (više od 15% po jedinici mere) su u suštini "rešetasti", i dozvoljavaju velikom broju jona da budu apsorbovani kao posledica hidrolize putem kiseline, baza ili sonih kataliza [8].

Lokalizovane pH promene u neposrednoj okolini implantiranih uređaja, koje se uglavnom dešavaju tokom akutnih upala ili infekcija, mogu da uzrokuju katalizno poboljšanje brzine hidrolize. Organske komponente, kao što su lipoproteini, koji cirkulišu u krvotoku ili vanćelijskim tečnostima, su sposobne da prenose katalitične neorganske jone u polimernu masu putem slabo definisanih mehanizama.

Enzimi generalno imaju klasične katalitičke funkcije, snižavanjem aktivizacione energije i sledstvenim ubrzavanjem biohemijske reakcije (putem jonskih transfera), pri čemu se po završetku katalize ne menjaju. Pošto enzimi funkcionišu i u vanćelijskim tečnostima, oni se vrlo efektno prenose na podlogu mete preko direktnog ćelijskog kontakta (npr. tokom fagocitoze). Hidrolizni enzimi ili hidrolaze (npr. enzimi proteina, organskih soli, lipida i glukoze) su dobili ime po molekularnim strukturama na koje utiču. To su ćelijski dobijeni proteini koji se ponašaju kao visoko efektivni katalizatori u cepanjima vodenolabilnih funkcionalnih grupa.

Enzimi sadrže molekularne lančane strukture i izgrađuju oblike koji dozvoljavaju „prepoznavanje“ lančanih sekvenci (receptora) na biopolimerima. Pri tome se formiraju kompleksi između segmenata enzima i biopolimerne osnove, što uzrokuje povećanje brzine cepanja polimernih veza. Zbog manjka prepoznavajućih sekvenci u poređenju sa osetljivim prirodnim polimerima, većina sintetičkih polimera su otporniji na enzymsku degradaciju. Ipak, uporedne studije su pokazale izvesna povećanja brzina hidrolize korišćenjem enzima, a posebno korišćenjem sintetičkih poliestera i poliamida. Ispostavilo se da enzimi mogu da prepoznaju i interreaguju sa strukturalnim delovima polimera, ili, preciznije, sa polimerima obloženim serumskim proteinima, inicirajući njihove katalitičke (ubrzavajuće) akcije *in vivo* [8]. Tako, implantirane naprave koje su u stalnom pokretu u odnosu na susedno tkivo mogu da izazovu upale, podstičući oslobođanje enzima usled fagocitoze [9].

Nove kolagen-bazirane matrice imaju centralnu važnost u tkivnom remodeliranju i funkciji. Slično tome, kolagen-bazirani biomaterijali se koriste u tkivnom inženjeringu, a degradacija kolagenog skeleta sa udruženom ćelijskom infiltracijom, fagocitozom i stvaranjem novog ekstracelularnog matriksa (ECM) kritična je za procenu *in vitro* vremena efekata na kolagen matriks remodelirajuće procese [9]. Sličan efekat ćelijske aktivnosti ispoljava se duž denaturisanog (povreda-zavisnog) kolagena u remodeliranju tkiva *in vivo*, koji ima značajan uticaj na tkivnu regeneraciju oko biomaterijala [9].

### **Hidroliza: predklinička i klinička iskustva**

**Poliestri.** Tokom proteklih decenija, bilo je više izveštaja o dugoročnoj degeneraciji naprava *in vivo*, zahvaljujući lomu vlakana i rastezanju biostabilnog uređaja od jakog, fleksibilnog polimera, polietilen tereftalata, koji se koristi za vakularne proteze velikog prečnika, arterijske zatrpe, ušivanje srčanih zalistaka... [8]. Uzroci oštećenja bili su strukturalni defekti, proizvodne tehnike, procedure rukovanja i hidrolitičke degradacije [8]. Slično se ponašaju i alifatski poliestri, koji su uglavnom namenjeni za korišćenje kao biodegradabilni polimeri, sa polikaprolaktonom, npr. izloženom značajnom smanjenju molekularne mase ispoljenom u 80-90% padu relativne viskoznosti tokom 120 nedelja ispitivanja implantata [8].

**Poliester uretani.** Prvi zvanično korišćeni implantati od poliuretana, koji datiraju još iz 1950-tih, bili su izrađeni od penastih mešavina umreženih aromatičnih poliesternih uretana [8]. Njihovo korišćenje u plastičnoj hirurgiji i rekonstruktivnoj ortopediji u početku je dalo obećavajuće rezultate. Akutna zapaljenja bila su retka. Rast tkiva izazivao je stvaranje tankih fibroznih kapsula. Međutim, tokom meseci korišćenja, oni su se razarali i postajali iverasti, izazivajući nepovoljne hronične efekte. Za fokuse početne degradacije implantata podvrgnutih hidrolizi, smatrane su meke komponente poliadipatnih estarskih mekih segmenata [8]. U poređenju s tim, analogni polieterni uretani vrlo su otporni na hidrolizu, iako su više prijemčivi na oksidaciju (videti deo oksidacione biodegradacije). Da li takav hidrolitički degradirani poliester uretana naknadno proizvodi znatne količine aromatskih amina (derivata amonijaka, potencijalno kancerogenih) preko hidrolize uretana *in vivo* još je nerazjašnjeno pitanje [8].

*Poliamidi.* Najlon 6 (polikaproamid) i najlon 6,6 (poli-heksametilen adipamid) sadrže hidrolizabilne amide, kao i proteini. Ovi sintetički polimeri mogu apsorbovati 9-11% vode, po masi, u fazi zasićenja [8]. Predvidljivo je da oni degradiraju putem katalizacije jonske površine i masene hidrolize [8]. Tako, hidroliza putem enzimskih ubrzanja (katalize) vodi habanju površine. Primer poliamidne degradacije od posebnog značaja uključuje *in vivo* fragmentaciju kraja niti najlona 6 korišćenog u intrauterinom kontraceptivnom uređaju. Ova nit se sastoji od najlona 6 obloženog multifilamentima najlona 6. Kombinacija apsorpcije tečnosti (>10%) i hidrolize zaslužna je za stvaranje pukotina u okolnom tkivu. Naprsli slojevi navodno obezbeđuju put kojim bakterija putuje iz vagine u matericu, što rezultuje jakom karličnom upalom [8].

Degradacija poliarilamida za ortopediju (poliamidi sa ojačanim vlaknima iz *m*-ksililen diaminske i adipične kiseline), je takođe pokazana u studijama implantata u zečevima [8].

Poliamidi sa dugim alifatskim hidrokarbonskim lančanim segmentima (npr. polidodekanamid) hidrolitički su stabilniji u odnosu na najlone sa kraćim lancem i u skladu sa time degradiraju sporije *in vivo*.

*Polialkilcianoakrilati.* Ova klasa polimera, korišćena kao vezivno tkivo, je vredna pažnje kao redak slučaj u kome su ugljenične veze ispresecane hidrolizom [8]. Ovo se dešava jer je metilen (-CH<sub>2</sub>-) hidrogen u polimeru jako elektronski induktivno aktiviran susednim grupama. Oblikovanje vezivnih polimera iz monomera započinje u procesu narastanja podloge, sa adsorpcijom vode u prijanjajućem sloju, u dovoljnoj meri da pokrene reakciju.

Katalizatori za ravnotežne procese deluju obrnuto, kao i za ubrzane reakcije. Zato voda udružena sa tkivom može da izazove hidrolizu polalkilcianoakrilata putem „inverzne Knoevenagelove“ reakcije [8]. Uz više baznih stanja (kao što je ukazano u *in vitro* studijama ćelija i implantata) enzimski procesi će biti mnogo efektivniji. U životinjskim implantatima, metil cianakrilat pojačano degradira u toku 4-6 meseci. Viši alkil (npr. butil) homolozi (jedinjenja koja se razlikuju od sledećeg u nizu samo po jednoj konstantnoj vrednosti) degradiraju sporije nego metil homolozi i manje su citotoksični [8].

### **9.1.3 Oksidaciona biodegradacija**

#### *Oksidacioni reaktivni mehanizmi i polimerne strukture*

Mada se dosta zna o strukturama i reakcionim produktima polimera, podložnim oksidacionoj biodegradaciji, potrvda pojedinačnih procesa u reakciji još uvek nije analitički demonstrirana. Ipak, mehaničke interferencije moguće su uz opsežno poznavanje fiziologije oksidacionih procesa i polimerne oksidacije *in vitro*. Polimerni oksidacioni proces može biti u skladu sa homoliznom lančanom reakcijom ili heteroliznim mehanizmom. Detektovani su uzorci karbonila, hidroksila i produkti lančanog cepanja [8]. Najčešća mesta za početni oksidacioni napad, sadržana u homolitičnom ili heterolitičnom putu, jesu ona koja dozvoljavaju odvajanje atoma ili jona i obezbeđuju rezonantnu stabilnost rezultantne grupe atoma ili jona

[8]. Peroksil, karbonil i ostali atomski posrednici su stabilisani sličnim rezonantnim delokalizacijama elektrona iz elemenata C, O, H ili N [8].

Dve glavne kategorije oksidacione biodegradacije, prema izvoru započinjanja procesa, jesu:

- (1) neposredna oksidacija od strane domaćina; i
- (2) napravom izazvana ili spoljašnjom okolinom-posredovana oksidacija [8].

#### **9.1.4 Direktna oksidacija od strane domaćina**

Direktna oksidacija u tkivu domaćina se odvija tako što samogenerisani molekularni uzorci direktno na polimeru pospešuju oksidacione procese ili utiču na njih. Takvi reaktivni molekuli potiču iz aktivisanih fagocita koji reaguju na povredu i svojstva stranog tela na mestu implantacije. Ove ćelije, koje vode poreklo iz kostne srži i nastanjuju vaskularni sistem i vezivna tkiva, javljaju se u dva oblika, kao: (1) mikrofagi {neutrofili [polimorfnouklearni leukociti (PMN)]}; i (2) makrofagi [mononuklearni leukociti (monociti)]. Monociti iz krvi kasnije se mogu promeniti u tkivu u makrofage i multinuklearne gigantske ćelije stranog tela.

Mnogo radova je u toku na rasvetljavanju redosleda događaja koji vode fagocitnoj oksidaciji biomaterijala [10-13]. Određeni bitni procesi u toku lečenja rana u prisustvu biološki dobijenih stranih tela, kao što su bakterije i paraziti, pokazuju određene povezanosti sa implantatima.

Neutrofili, odgovarajući na hemijske posrednike na mestu rane, organizuju moćan, ali kratkotrajan hemijski napad u toku prvih par dana posle povređivanja [14]. Hemijski prijemčivi materijali mogu biti pogodjeni, ako su u strogoj blizini mesta povrede. Aktivirane ćelije makrofagi se kasnije umnožavaju i opadaju tokom sledećih dana na benignoj rani, ili tokom nedelja, ako se "stimulatori", kao što su otrovi i sitne čestice, pojave na mestu rane [14]. Njihovi fuzioni produkti, gigantske multinuklearne ćelije, mogu da prežive od par meseci do par godina na površini implantata [14]. Makrofagi, takođe ostaju u kolagenim kapsulama još određeni period.

Makrofagi i mikrofagi (PMN) metabolizuju kiseonik da bi formirali superoksidni anjon ( $O_2^-$ ). Ovaj međuproizvod može biti podvrgnut transformaciji u još moćniji oksidans ili, što je jasno, može inicirati homoliznu reakciju na polimeru. Sveprisutni peroksidni enzim, superoksid dismutaza (SOD), može ubrzati konverziju superoksid-a u hidrogen-peroksid ( $H_2O_2$ ), koji u prisustvu mieloperoksidaze (MPO), dobijene iz PMN-a biva pretvoren u hipohlornu kiselinu (HOCl) [15]. Moćni oksidant biomaterijala, hipohlorit, može efikasno da oksiduje slobodne amine (npr. u proteinima) do hloramina, koji mogu obavljati ulogu dugoživećeg izvora hlorognog oksidansa [15]. Hipohlorit može da oksidiše i druge zamenjene nitrogenne funkcionalne grupe (amide, ureu, uretane, itd.) sa lančanim cepanjem tih grupa.

Makrofagi u suštini ne sadrže MPO, tako da njihov  $H_2O_2$  ne može biti konvertovan u HOCl. Međutim, iz PMN-a dobijena MPO može se sigurno vezati na površinu stranog tela, gde služi kao katalizatorski rezervoar za produkciju HOCl iz makrofaga ili gigantskih ćelija. Ako se slobodni jon  $Fe^{2+}$ , koji je uglavnom prisutan u zanemarljivim količinama u telu domaćina, otpusti na mesto implantacije putem hemolize

ili druge povrede, veže se za  $H_2O_2$  i stvara  $Fe^{3+}$  i moćne oksidišuće hidroksilne grupe putem Haber – Weiss-ovog ciklusa [8].

Radikalne i jonske grupe međuproizvoda HOCl mogu da iniciraju oksidaciju biomaterijala, dok leukocitni fagocitni proces koristi endogenu MPO katalizu iz HOCl [8]. Uopšteno gledano, MPO može doći iz ćelije kao i iz okoline. Međutim, s obzirom da strano telo i posle nekoliko nedelja ostaje implantirano i održavano, onda uzaludan pokušaj fagocitoze ugrađenog uređaja obezbeđuje prolongirano otpuštanje hemiklijena u biomaterijal. Ovaj fenomen, nazvan *egzocitoza*, odigrava se tokom meseci, pa i godina, i rezultuje uglavnom stvaranjem gigantskih multinuklearnih ćelija fuzijom makrofaga, što može doprineti dugotrajnoj hemijskoj degradaciji polimera.

Proces oksidacije izazvan od strane fagocita je rezultat oksida proizvedenih u odgovoru na strano telo, a ne direktnih receptor-ligand kataliza putem oksidnih enzima. Pokušaji da se izvrši degradacija oksidno podložnih polimera putem direktnog kontakta sa oksidišućim enzimom su uglavnom bili neuspešni [8]. Makrofagi posreduju i u drugim procesima, kao što je formiranje fibrozne kapsule oko uređaja. Njihovo otpuštanje ćelijskih regulišućih faktora simulira ekspoloziju stvaranja fibroblasta koji popunjavaju mesto ugradnje implantata i proizvode kolagenu ovojnicu.

### 9.1.5 Pukotine usled naprezanja

Bitna kategorija samoizazvanih biodegradacija sa oksidnim komponentama je stvaranje pukotina (naprslina) usled naprezanja koje se manifestuje u polietar-metan elastomerima. Ovo se razlikuje od klasičnog stvaranja pukotina usled naprezanja [*environmental stress cracking (ESC)*], koji sadrži osetljiv materijal na kritičnom nivou naprezanja u medijumu koji može da se širi, ali se ne rastvara, u polimeru.

Klasični ESC nije praćen značajnom hemijskom degradacijom. Umesto toga, pukotine usled naprezanja poliuretana su okarakterisane površinskim udarima na polimer i hemijskim promenama uzrokovanim relativno specifičnim *in vivo* ili *in vitro* oksidacionim uslovima. Uslovi bitni u stvaranju pukotina usled napregnuća nekih polietarnih uretanskih kompozita prikazani su u Tabl. 9.3 [8].

**TABELA 9.3 Karakteristike polieternih uretana sa naprsnućima *in vivo* [8]; modifikovano.**

Karakteristike
Komponente su sadržale rezidualne procese i/ili dejstvo mehaničkog naprezanja/istegnuća.
Komponente su bile izložene medijumu od plodnih ćelijskih i vanćelijskih komponenti.
Polimeri su imali oksidno podložne (alifatski etar) grupe.
Analiza polimera pokazala je površinske produkte oksidacije.

Skorije informacije o stvaranju pukotina usled naprezanja na polietarnim uretanima i polieternim uretanskim ureama su pružile uvide koji mogu biti važeći



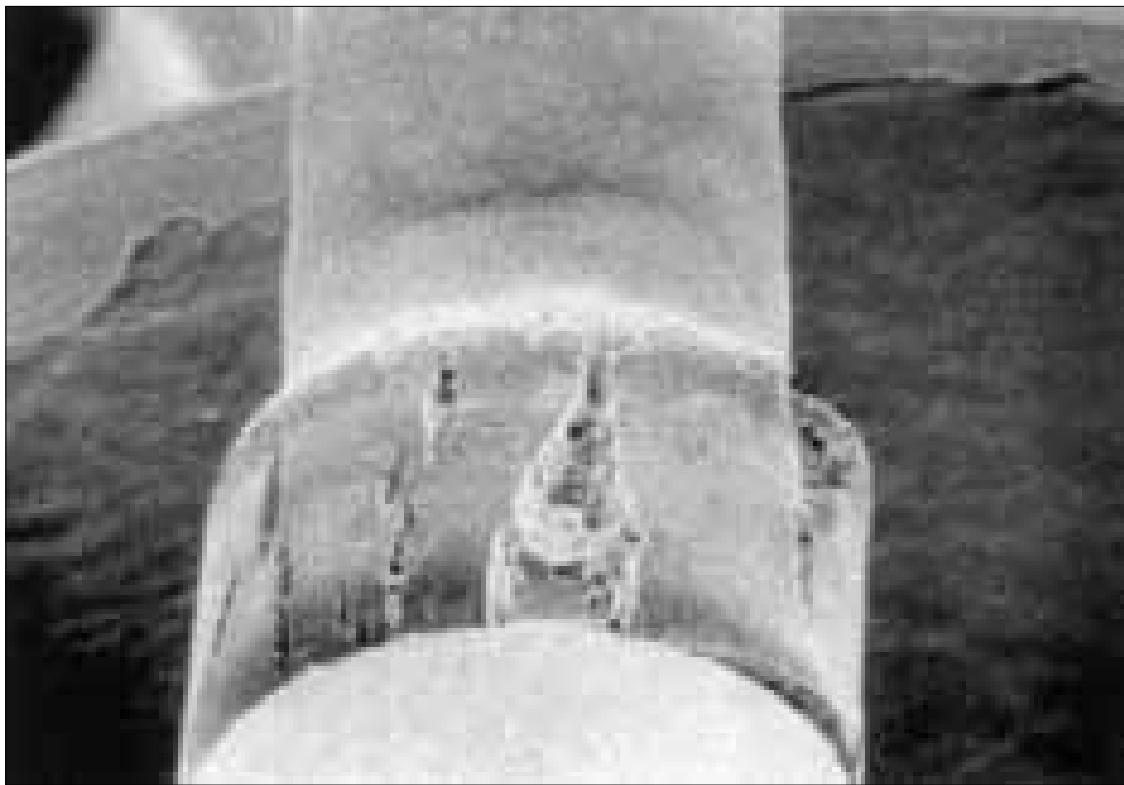
Slika 9.1 Srčani pejsmejker sa poliuretanskim provodnikom, krajevima i konektorima [8]

za te i druge kompozite koji mogu biti oksidisani (npr. polipropilen, polietilen) [8]. Polietarni uretani koji su otporni na hidrolizu *in vivo*, koriste se kao spojnice, izolatori, krajevi i sredstva za lepljenje sa srčane pejsmejkere i neurološke simulatore (Sl. 9.1) [8]. Oni su se pokazali kao veoma pouzdani u dugotrajnim kliničkim aplikacijama još od 1975. god. [8].

Određene polietar-uretanske spojnice su pokazale površinska naprsnuća u svojoj izolaciji posle vremena boravka *in vivo* u rasponu od par meseci do godina. Ova naprsnuća su direktno povezana sa učestanošću i dubinom preko količine rezidualnog naprezanja (Sl. 9.2 i 9.3) i etarnim (mekim segmentom) sadržajem poliuretana [8].

Morfološki gledano, naprsline se ređaju u pravilnom redosledu uglavnom normalne na vektore sila, sa vrlo grubim zidovima, povremeno sa „veznim vlaknima“ koja povezuju otvore, označavajući pre rastegljive nego krte pukotine. Infracrvna analiza pokazuje da se oksidacija ne pokazuje primetno u masi, već samo na površini, gde je rasprostranjen gubitak etarne funkcionalnosti ( $1110/\text{cm}^{-1}$ ) i pojačana apsorpcija u posmatranim hidroksilnim i karbonalnim regijama [8].

U prvobitnoj studiji [16], postavljene su poliuretanske cevi u kavezne propustljive za tečnosti i ćelije pod naponom (što znači pod jakim početnim naprezanjem, koje se kasnije smanjivalo), i implantirane u pacove. U određenim slučajevima, protivupalni steroidi ili citotoksični polimeri su koimplantirani u kavezu. Implantati starosti do 15 nedelja uzeti su za analizu. Jedini prenapregnuti uzorci koji su naprsli bili su oni koji se nisu nalazili u kavezu sa koimplantatima (Sl. 9.3).

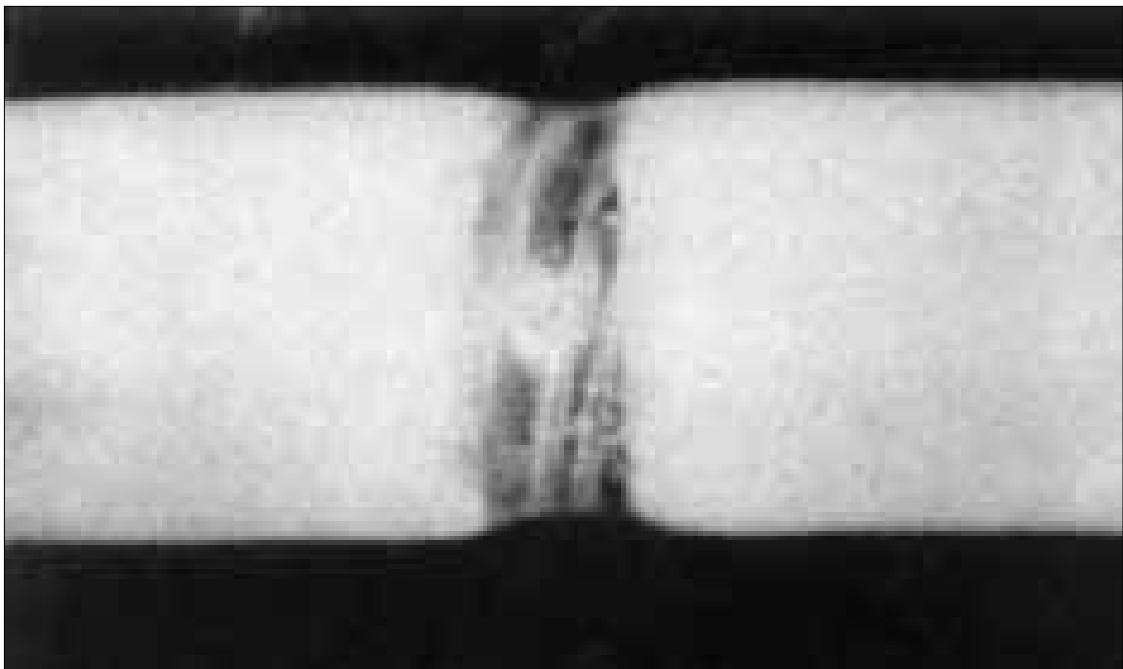


*SLIKA 9.2 Peletan 2463-80A cev sa primenjenim jakim radijalnim naprezanjem pokazuje totalni proboj [8]*

[8]. Zaključeno je da adherentne ćelije uzrokuju prskanje usled naprezanja, a ćelij-ska nekroza ili deaktivacija inhibiše indukciju naprsnuća.

Kasnije su žive fagocitne ćelije označene kao uzrok započinjanja stvaranja pukotina *in vivo* [17]. Po uklanjanju adherentnih gigantskih ćelija, posle implantacije krivog polietarnog uretanskog urea filma u žičani kavez do 10 nedelja trajanja, izloženi „otisci“ su pokazali lokalizovane naprsline na površini, u opsegu od nekoliko mikrona u dubinu i širinu. Susedne oblasti u polimeru, koje su bile lišene prijanjajućih ćelija, nisu naprsle. Zahvaljujući relativno malim naprslinama u im-plantiranom filmu, rasprostiranje dubokih pukotina nije posmatrano.

Prvobitne *in vitro* studije istegnutih i neistegnutih polietarnih uretanskih filmova [18] koje koriste okside, enzime, itd., imale su tendenciju da dupliraju broj *in vivo* naprslina usled naprezanja. Iako su pokazane neke površinske hemijske degradacije sa produktima sličnim onima koji su viđeni *in vivo*, morfologija naprslina usled naprezanja nije bila blisko podešena *in vitro* sve do nedavno, u dve studije. Test koji je uključivao potapanje naprsle polietarne uretanske cevčice u medijum od staklene vune, hidrogen peroksida i kobalt hlorida izaziva naprsline u duploj meri od onih izazvanih *in vivo*, ali sa povećanjem brzine i do sedam puta [19]. U drugoj studiji, uporedivi šabloni naprslina su dobijeni kada su se primerci naprslih cevčica u pacovima uporedili sa onima dobijenih u PMN-a pri uzbajanju [20]. Povrh



Slika 9.3 Peletan 2363-80A cev pokazuje „premaz“ tokom stresa od čvrstog podvezivanja [8]

toga, ova studija otkrila je razliku u hemijskoj degradaciji proizvoda sa vremenom implantiranja koje je u korelaciji sa proizvodima od oksida generisanih primarno putem PMN-a ( $\text{HOCl}$ ) i makrofaga ( $\text{ONOO}^-$ ). Blagovremeno (ranije) implantiranje, aktivirani PMN-i i  $\text{HOCl}$  uzrokovali su unapređenje u smanjenju uretansko oksigenog istezanja krajeva, dok je kasnija implantacija i  $\text{ONOO}^-$  izazivala selektivni gubitak istezanja krajeva u alifatskom etru [20].

Posmatrano zajedno, prethodno pomenuta istraživanja se sastoje iz dvofaznog mehanizma za pukotine usled napregnuća *in vivo*. Ova pretpostavka, još uvek neproverena, je objekat istraživanja. U prvoj fazi, površinska oksidacija izaziva vrlo plitke, slabe mikropukotine. Druga faza uključuje širenje pukotina pri čemu specifične komponente telesne tečnosti deluju na formirane naprsline i povećavaju njihovu dubinu i širinu bez pobuđivanja glavnih primetnih masenih hemijskih reakcija. Ova pretpostavka pokazala je ponašanje polimera. Pucanje usled naprezanja je sledeće u poređenju sa drugim tipom degradacije, metal jon-indukovanom oksidacijom.

### Napravom ili okolinom posredovana oksidacija

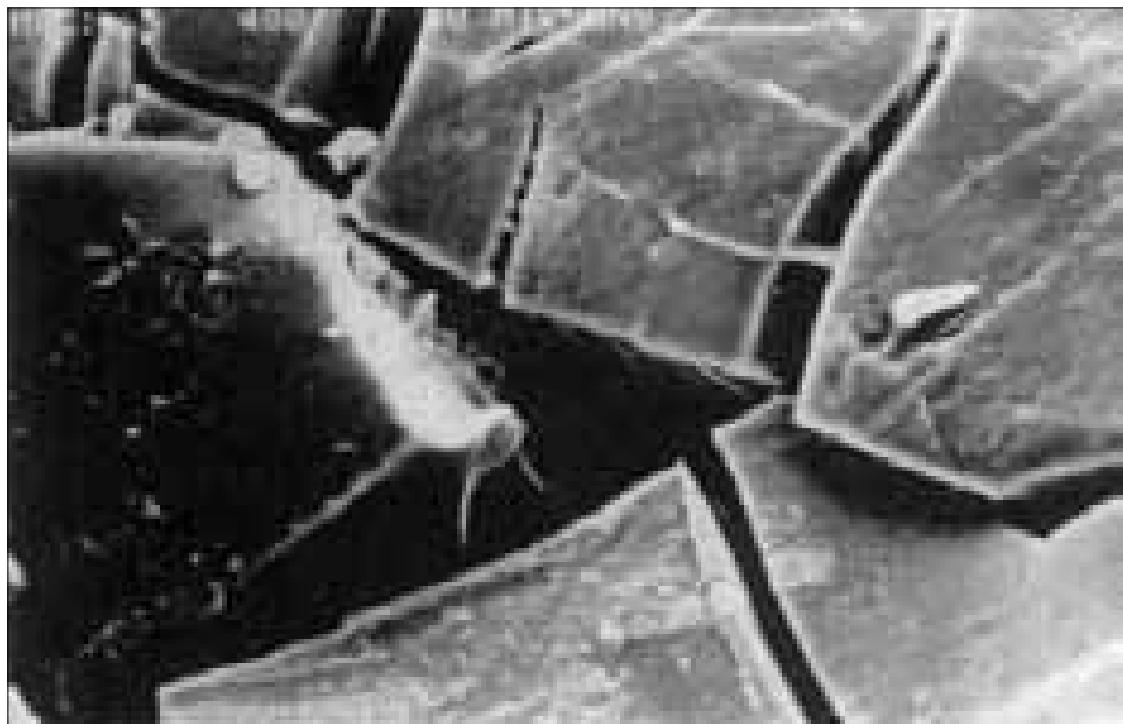
*Metal-jon izazvana oksidacija.* Proces oksidne degradacije koji je, do sada, bio klinički zabeležen samo za polieterne uretanske izolovane provodnike, zahteva, kao i naprsline usled naprezanja, vrlo specifične uslove. Varijable koje to omogućuju, kao i morfologija naprsnica su dosta različiti od pukotina usled naprezanja, iako su oksidni degradacioni proizvodi slični. Biodegradacija implantiranih uređaja putem stvaranja pukotina usled naprezanja se uvek dešava na polimernim površi-

nama izloženim čelijama, i daje karakteristične hrapavo-zidne procepe (nagovestaj lomova usled istezanja) orijentisane normalno na vektor naprezanja (Sl. 9.2 i 9.3) [79]. Metal-jonski izazvana oksidacija se dešava na unutrašnjim površinama ugrađenih izolatora blizu zardalih metalnih komponenti i njihovih zahvaćenih korozionih produkata. Ravnomerne naprsline na zidovima i mikroskopski slučajna orijentacija pukotina je nagovestaj lomljenja (Sl. 9.4 i 9.5) [20].

Makroskopski, šema naprslina koja prati konfiguraciju metalnih komponenti može biti prisutna (Sl. 9.6) [20]. Proizvodi degradacije koji mogu biti pronađeni dublje u masi nego oni stvoreni tokom pucanja usled naprezanja, su opet nagovestaji krtih pucanja.

Fenomen nazvan *metal-jonsko izazvana oksidacija* potvrđen je u *in vitro* studijama u kojima je polietarni uretan ostavljan u metal-jonskim rastvorima različitih standardnih oksidacionih mogućnosti. Iznad oksidacionog potencijala od oko +0,77 hemijska degradacija bila je snažna. Ispod te vrednosti oksidacionog potencijala videne su promene u polimeru koje su karakteristika jednostavne plastifikacije (Tabl. 9.4) [20]. Ova tehnika je pokazala i da je metal-jonska oksidacija proporcionalna koncentraciji etra u poliuretanu (Tabl. 9.5) [20].

Uticaj raznih metala pri oksidaciji *in vitro* i *in vivo* takođe je proučavan. Različiti metalni delovi krajeva provodnika su zatopljeni u polietarnu uretansku (*Dow Pellethane 2363-80A*) olovnu cevčicu i potopljeni u 3%  $H_2O_2$  temperature 37°C na period do 6 meseci ili implantirani u zečeve na period do 2 godine [20]. Obe tehn-



*Slika 9.4 Prikaz slučajnog obrasca pukotine žičane izolacije Peletan 2363-80A uzrokovane metal-jonski indukovanim oksidacijom [20]*



Slika 9.5 Ravnomerno naprsli zidove nagoveštavaju naprsline kao posledicu metal-jonski uzrokovane oksidacije [20]

ke rezultovale su korozijom metala i degradiranjem površine cevčice, u određenim uslovima, posle 30 dana. *In vivo*, interakcije telesnih tečnosti sa Co i njegovim legurama, naročito, rezultovalo je oksidnim pucanjem polimera.

Metal-jonski izazvan oksidacioni proces očigledno uključuje koroziju metalnih delova putem njihovih jona i kasniju oksidaciju polimera. U radnim uređajima, jon metala može biti formiran putem vezivanja molekula, galvanske korozije, hemijske ili biohemijske oksidacije [20]. Zauzvrat, ovi joni metala razvijaju oksidacione potencijale koji mogu biti dosta pojačani u telesnim tečnostima, preko njihovih standardnih polućelijskih potencijala. Kao jaki oksidanti, oni stvaraju međuproizvode ili napadaju polimer ne bi li započeli lančanu reakciju [20]. Metal-jonski izazvana oksidacija je, zbog toga, rezultat visoko složenih interakcija uređaja, polimera i tela. Najnovija istraživanja su pokazala da postoji korespondencija između elektronske aktivnosti oksida metala i adhezivnih sila adsorpcije biomaterijala [21]. Da bi metal – jonska oksidacija trebalo da bude mogućnost u implantiranim uređajima, nekoliko pristupa su mogući u kontroli ovog problema. Međutim, oni nisu univerzalno primenljivi, i trebalo bi biti ugrađeni jedino ako bi funkcionalnost i biokompatibilnost bile sačuvane.

Potencijalno korisne tehnike uključuju korišćenje metala otpornih na koroziju, „teranje“ korozivnih jona dalje od prijemčivih polimera, izolaciju metala i polimera od rastvora elektrolita, ugradnju odgovarajućih antioksidanata, kao i korišćenje polimera otpornih na oksidaciju ako je moguće.



Slika 9.6 Deo pukotine na unutrašnjem lumenu polietarne uretanske izolacione žice pratećeg namotaja kod metal-jonski uzrokovane oksidacije ( $\times 100$ ) [20]

Razvijeni su poliuretanski elastomeri sa pojačanom stabilnošću na oksidaciju. To su podeljeni etri i bez-esterni polimeri sa nekonvencionalnim mekim delovima, koji uključuju, npr., hidrogenizovani polibutadien, polidimetilsilosan, polikarbonat i dimerizovane derivate masnih kiselina. U testovima implantata oni su pokazali smanjenu tendenciju za stvaranje pukotina usled naprezanja, a neki od njih su pokazali veliki otpor prema metal-jonskoj oksidaciji *in vitro*.

#### **Oksidna degradacija uzrokovana spoljnom sredinom**

Pod vrlo ograničenim okolnostima telo može da stvara elektromagnetno zračenje, koje može da utiče na ispravnost implantiranih polimera.

Rožnjača i beonjača u oku, npr., kao i površinski slojevi kože, propuštaju dugotalasno (320-400 nm) UV-A zračenje. Apsorpcija UV zračenja uzrokuje eksitaciju elektrona što može dovesti do foto-oksidne degradacije. Ovaj proces je nagovešten u lomu polipropilenskih komponenti očnih sočiva. Fotokatalitička degradacija raznih organskih sastojaka u  $TiO_2$  nanoporoznim film elektrodama je potvrđena i najnovijim istraživanjima [22].

U maksilofacialnim egzo- i, vrlo verovatno, endoprotezama, elastomeri mogu podneti neželjene promene u boji i fizičkim osobinama kao posledicu izloženosti prirodnom zračenju sunčeve svetlosti. Antioksiđi i ultraljubičasti apsorberi obezbeđuju ograničenu zaštitu aromatičnih polietara ili poliesternih uretana [20].

Polimeri koji se pažljivo biraju za upotrebu u implantiranim uređajima uglavnom efektivno služe u svom predviđenom veku trajanja, ako su pravilno obrađeni i ako su odnosi uređaj-materijal-domaćin odgovarajuće podešeni.

*Tabela 9.4 Efekti metal-jonskog oksidacionog potencijala na osobinama Polietaruretana (Pellethane 2363-80A)\* [20]*

Vodeni rastvor	Standardni okidacioni potencijali	Promene u snazi istezanja (%)	Promene u izduženju
PtCl <sub>2</sub>	Ca +1.2	-87	-77
AgNO <sub>3</sub>	+0.799	-54	-42
FeCl <sub>3</sub>	+0.771	-79	-10
Cu <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	+0.521	-6	+11
Cu <sub>2</sub> (OAc) <sub>2</sub>	+0.153	-11	+22
Ni(OAc) <sub>2</sub>	-0.250	-5	+13
Co(OAc) <sub>2</sub>	-2.277	+1	+13

\*Uslovi: 0.1 M rastvori/90°C/35 dana nasuprot starosnih kontrola u dejonizovanoj vodi, ASTM (D-1708) mikroistegljivih uzoraka; uzorci su testirani mokri.

U određenim okolnostima, dešavaju se nenamerne hidrolizne ili oksidne degradacije. Ovo može biti uzrokovano putem direktnog napada od strane domaćina ili preko posredne naprave ili spoljašnje sredine. Za podložne polimere, trebalo bi preduzeti zaštitne mere da bi se obezbedila produžena efikanost, iako će novi, biodegradacijski otporni polimeri, koji su na vidiku, zahtevati manji stepen zaštite. Znanja o biodegradacionim mehanizmima i praktičan rad na odgovarajućim protivmerama će pospešiti stalni rast u sastavljanju i korišćenju polimera kao implatabilnih biomaterijala.

*Tabela 9.5 Efekti etarnog sadržaja polietarnih uretana na prijemčivost metal-jon izazvane oksidacije\* [20]*

Polieteruretani	Politerni sadržaj	Promene u snazi istezanja (%)	Promene u izduženju
Pellethane 2363-80A	Visok	-54	-42
Pellethane 2363-55D	Nizak	-23	-10
Model podeljenog poliuretana	Nema	+9	+3

\*Uslovi: 0.1 M AgNO<sub>3</sub>/90°C/35 dana nasuprot starosnih kontrola u dejonizovanoj vodi, ASTM (D-1708) mikroistegljivih uzoraka.

## 9.2 RAZGRAĐUJUĆI UTICAJ BIOLOŠKE SREDINE NA METALE I KERAMIKU

Okolina kojoj su biomaterijali izloženi tokom duge upotrebe (unutrašnjosti tela) može se opisati kao voden medijum koji sadrži različite anjone, katjone, organske supstance i razloženi kiseonik. Anjoni su uglavnom joni  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ , i  $\text{HCO}_3^-$ . Primarni katjoni su  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , i  $\text{Mg}^{2+}$ , ali sa manjim količinama mnogih drugih. Među organskim supstancama nalaze se i vrste sa niskom molekulskom težinom, kao i polimerna jedinjenja sa relativno velikom molekulskom težinom. Negativan logaritam koncentracije vodonikovih jona (pH) ovog zatvorenog sistema je 7,35-7,45, a temperatura je konstantna, oko 36,0-37,0°C [16,17].

Na osnovu postojećih saznanja o stabilnosti materijala u različitim sredinama, možemo predvideti da bi metali, kao generička grupa, trebalo da budu relativno podložni koroziji u ovoj biološkoj sredini, dok bi podložnost keramike trebalo da varira, zavisno od rastvorljivosti. Ovo se poklapa sa eksperimentalnim opažanjima i kliničkim iskustvom, pošto je poznato da svi osim metala koji su najotporniji na koroziju trpe značajan i razarajući napad odbrane domaćina tokom produžene implantacije. Čak i najplemenitiji metali i oni koji su najjače pasivizirani (tj. prirodno zaštićeni sopstvenim slojem oksida), ipak, pokazuju određeni stepen interakcije.

Postoje određene vrste keramike koje imaju kombinaciju delimično jonskih i delimično kovalentnih veza, koje su dovoljno stabilne da se odupru razgradnji unutar ove sredine, poput čiste jednostavne oksidne keramike, i druge kod kojih se određene veze lako raskidaju u vodenom rastvoru tako da se materijal razloži, kao kod određenih kalcijumovih fosfata.

Izbor materijala nije samo pitanje stabilnosti, jer mehanička i fizička svojstva mogu biti od velikog značaja. Međutim, pošto je korozija površinski fenomen, moguće je optimizovati otpornost na koroziju praćenjem ili tretmanom površine, umesto manipulacijom masene hemije. Ovo pruža mogućnost za razvijanje dovoljne otpornosti na koroziju kod materijala sa odličnim ukupnim mehaničkim i fizičkim svojstvima. Zato se plemeniti metali poput Au i Pt retko koriste za strukturne primene (pored stomatoloških) zbog svojih inferiornih mehaničkih svojstava, iako imaju odličnu otpornost na koroziju; umesto njih, legure osnovnih metala sa pasiviranim ili zaštićenim površinama nude bolja ukupna svojstva.

Mehaničke naprave se ne koriste obavezno u uslovima u kojima nema mehaničkih opterećenja, a većina od onih koji koriste metale ili keramiku su strukturno jaki. Dobro je poznato da mehaničko opterećenje igra veoma važnu ulogu u procesima korozije i razgradivanja, time što pojačava postojeće efekte i pokreće nove, što se mora uzeti u obzir.

Ne može se očekivati da će biološka sredina biti konstantna. Unutar ukupnih karakteristika koje su ranije opisane postoje varijacije (u odnosu na vreme, lokaciju, aktivnost, zdravstveni status, itd.) u nivoima  $\text{O}_2$ , dostupnosti slobodnih radikalima i čelijske aktivnosti, koje sve mogu uzrokovati varijacije u korozivnoj prirodi sredine. Što je najvažnije, korozija nije obavezno progresivna homogena reakcija sa nultom kinetikom. Procesi korozije mogu biti u stanju mirovanja, pa potom postati aktivni,

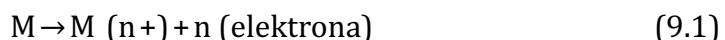
ili mogu biti aktivni, a potom postati pasivni i lokalizovani, sa prolaznim kolebanjima u uslovima koji igraju ulogu u ovim varijacijama.

Efekti korozije i razgrađivanja mogu biti dvostruki. Prvi, i u konvencionalnom metalurškom smislu najočigledniji problem može dovesti do gubitka strukturnog integriteta materijala, zapremine i funkcije. To može biti neželjeno, kao u slučaju mnogih dugoročnih proteza, ili željeno, kao kod uređaja zamišljenih za kratkoročnu funkciju (npr. keramike za sisteme ispuštanja lekova) ili tamo gde se materijal tokom procesa razgrađivanja zamenjuje tkivom, kao kod keramičkih zamena za kosti. Međutim, pored ovoga, i što je obično mnogo važnije kod biomaterijala, kada dođu u kontakt sa tkivom, proizvodi korozije ili degradacije mogu imati značajan kontrolni efekat na to tkivo. Verovatno je proces korozije najvažniji posredni odgovor tkiva na materijale, čije proizvode reakcije i brzinu njihovog stvaranja bilo bi poželjno znati.

## 9.2.1 Korozija metala

### *Osnovni principi*

Najbitniji oblik korozije vezan za metalne biomaterijale je vodena korozija. Do nje dolazi kada se na metalnoj površini u vodenom elektrolitu odvijaju elektrohemiske reakcije. Uvek dolazi do dve reakcije: anodna reakcija, kojom se dobijaju joni metala, npr., oksidacijom metala do njegove soli:



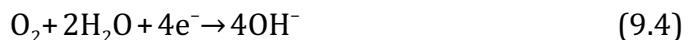
i katodna reakcija, u kojoj se troše elektroni koji su dobijeni prethodnom reakcijom. Tačna katodna reakcija će zavisiti od prirode elektrolita, ali dve najvažnije reakcije u vodenim sredinama su redukcija vodonika:



i redukcija rastvorenog kiseonika:



u kiselim rastvorima ili:



u neutralnim ili baznim rastvorima [23].

U svim korozivnim procesima, brzina anodne ili reakcije oksidacije mora biti jednaka brzini katodne ili reakcije redukcije. Ovo je osnovni princip elektrohemiske korozije metala. On takođe objašnjava kako varijacije u lokalnoj sredini, bilo uticajem na anodnu ili katodnu reakciju, mogu uticati na ukupnu brzinu korozije. Ukupan proces korozije se može zaustaviti sprečavanjem bilo koje od ovih reakcija.

Sa tačke gledišta termodinamike, prvo razmotrimo anodnu razgradnju čistog metala izolovanog u rastvoru svoje soli. Metal se sastoji od pozitivnih jona blisko okruženih slobodnim elektronima. Kada se metal stavi u rastvor, doći će do

ukupnog razlaganja metalnih jona, jer je Gibsova slobodna energija ( $\Delta G$ ) za reakciju razlaganja manja od one za reakciju zamene. Tako metal dobija ukupno negativno nanelektrisanje, čime se pozitivnim jonima otežava napuštanje površine i povećava  $\Delta G$  za reakciju razlaganja. Doći će se do tačke na kojoj će  $\Delta G$  za reakciju razlaganja biti jednaka  $\Delta G$  za reakciju zamene. U toj tački dolazi do dinamičke ravnoteže, kao i do razlike u potencijalima duž nanelektrisanog duplog omotača koji okružuje metal. Razlika u potencijalima će biti karakteristična za određeni metal i može se meriti u odnosu na standardnu referentnu elektrodu. Kada se to učini u odnosu na standarnu vodoničnu elektrodu u 1 N rastvoru njegove soli na 25 °C, ona se definiše kao standardni potencijal elektrode za dati metal (Tabl. 9.6) [23].

Položaj metala u elektrohemiskom nizu prvenstveno pokazuje redosled kojim metali izmeštaju jedan drugog u jedinjenjima, ali predstavlja i opšti vodič kroz reaktivnost u vodenim rastvorima. Oni na vrhu su plemeniti, relativno nereaktivni metali, dok su oni na dnu reaktivniji. Ovo je prva smernica ka otpornosti na koroziju, ali, kao što će se videti, postoje velike poteškoće vezane za upotrebu i interpretaciju reakcija iz ove jednostavne analize.

Sada pogledajmo primer sistema u kom se metal nalazi u vodenom rastvoru koji ne sadrži njegove jone. U ovoj situaciji, potencijal elektrode u ravnoteži (npr. kada je brzina anodne reakcije jednaka brzini katodne reakcije) biće pomaknut od standardnog potencijala elektrode i može se definisati Nerstovom jednačinom:

$$E = E_0 + (RT/nF \ln(a_{\text{anode}} / a_{\text{katode}})) \quad (9.5)$$

gde je  $E_0$  standardni potencijal elektrode,  $RT/F$  konstanta,  $n$  broj prenesenih elektrona i  $a$  aktivnost anodnih i katodnih reaktanata. Pri malim koncentracijama, aktivnost može biti približna koncentraciji. U takvoj situaciji, postoji ukupno razlaganje metala i doći će do strujanja. Pri ravnoteži, brzina razlaganja metala je jednaka brzini katodne reakcije, a brzina reakcije je direktno proporcionalna gustoći struje po Faradejevom zakonu; prema tome:

$$i_{\text{anodna}} = i_{\text{katodna}} = i_{\text{korozija}} \quad (9.6)$$

i Nerstova jednačina se može izmeniti

$$E - E_0 = \pm B \ln(i_{\text{korozije}} / i_0) \quad (9.7)$$

gde je  $B$  konstanta, a  $i_0$  gustina struje razmene, koja je definisana kao gustina anodne (ili katodne) struje na standardnom potencijalu elektrode. Gustina struje je struji merena u amperima, normalizovana na površinski prostor metala.

Ovi uslovi predstavljaju pogodne modele za mehanizme korozije, ali nisu mnogo realni. U ovoj situaciji sa homogenim čistim metalom koji postoji unutar nepromenljive sredine, dostiže se ravnoteža u kojoj više ne dolazi do daljih pomeranja jona. Znači, proces korozije se odvija samo prolazno, ali efektivno prestaje kada se dostigne ova ravnoteža. U stvarnosti obično nemamo ni potpuno homogene površine ni rastvore, niti potpunu izolaciju metala od ostalih delova sredine, i ova ravnoteža se lako narušava. Ukoliko dođe do uslova u kojima je ravnoteža promenjena, metal je polarizovan. Postoji nekoliko načina na koje može doći do ovoga. Dva glavna faktora kontrolišu ponašanje metala u ovom pogledu i određuju količinu re-

TABELA 9.6 Elektrohemski niz [23]

Metal	Potencijal (V)
Zlato	1.43
Platina	1.20
Živa	0.80
Srebro	0.79
Bakar	0.34
Vodonik	0.00
Olovo	-0.13
Kalaj	-0.14
Molibden	-0.20
Nikl	-0.25
Kobalt	-0.28
Kadmijum	-0.40
Gvožđe	-0.44
Hrom	-0.73
Cink	-0.76
Aluminijum	-1.33
Titan	-1.63
Magnezijum	-2.03
Natrijum	-2.71
Litijum	-3.05

izolovane jedna od druge, ali ako dođu u električni kontakt, elektroni će se kretati od metala sa većim potencijalom u pokušaju da izjednače potencijale dve elektrode. Time će ravnoteža biti narušena, i uzrokovati trajnu i ubrzani koroziju aktivnijeg metala (anodno razlaganje) i štititi manje aktivan (katodna zaštita).

Do galvanske korozije može doći kad god se dva različita metala stave u kontakt sa elektrolitom. To se često vidi kod složenih hirurških implantata sa više komponenti. Da bi do toga došlo, nije neophodno da komponente budu makroskopske, monolitne elektrode, i isti efekat se može videti kada unutar jedne legure imamo različite mikrostrukturne odlike. U praksi, regionalne varijacije u potencijalu elektrode na površini legure su odgovorne za najveći deo ukupne korozije površine do koje dolazi u metalnim komponentama.

Mnoge od često korišćenih hirurških legura sadrže visoko reaktivne metale (npr. one sa visokim potencijalima negativne elektrode), kakvi su Ti, Al, i Cr. Zbog te visoke reaktivnosti, oni apsorbuju O<sub>2</sub> pri početnoj izloženosti atmosferi. Ova početna faza oksidacije ostavlja neprobojan sloj oksida čvrsto spojen sa površinom

alne korozije. Prvi se tiče pokretačke sile trajne korozije (npr., razloga zbog kojih je ravnoteža narušena i prirode polarizacije), dok se drugi tiče sposobnosti metala da odgovori na tu pokretačku silu. Očigledno je da će, ako se nagomilavajući pozitivni joni metala u okolnim medijima ili nagomilavajući elektroni u metalu uklone, neto ravnoteža između razlaganja i zameće jona biti poremećena. Ravnoteža se uspostavlja baš zbog razlike u naponima, pa ako se drugi naruši, narušiće se i prvi. Rezultat će biti trajno razlaganje, dok sistem pokušava da dostigne ravnotežu – drugim rečima, održava se korozija. Elektronski odvodni kanal u kontaktu sa metalnim ili dinamičkim medijumom će ovo postići.

Proces galvanske korozije se može koristiti za demonstraciju ovog efekta. Uzmimo za primer jedan homogeni čisti metal A koji postoji unutar elektrolita (Sl. 9.7) [23]. Metal će razviti sopstveni potencijal, V<sub>A</sub>, u odnosu na elektrolit. Ukoliko se u isti elektrolit ubaci različita metalna elektroda, B, koja nije u kontaktu sa A, ona će razviti sopstveni potencijal, V<sub>B</sub>. Ukoliko V<sub>A</sub> nije jednak V<sub>B</sub>, doći će do razlike u brojevima prekomernih slobodnih elektrona u svakom od njih. To neće imati nikakvog efekta ukoliko su elektrode A i B

metala. Svi ostali oblici korozije mogu biti zaustavljeni, jer se sloj oksida ponaša kao zaštitna barijera, koja pasivizira metal. Ipak, moguće je veštački pojačati sloj oksida kako bi se dobila bolja otpornost na koroziju.

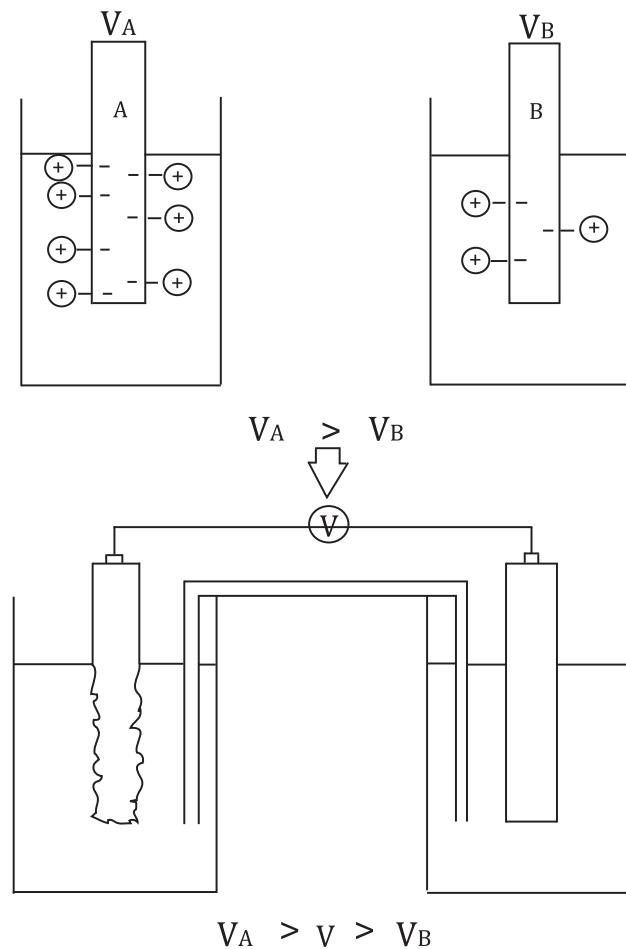
Sažeto, osnovni principi korozije određuju tri glavne stavke. Prvo, teoretski, otpornost na koroziju se može predvideti pomoću standardnih potencijala elektroda. To objašnjava plemenitost određenih metala i znatnu reaktivnost drugih, ali nije korisno za predviđanje pojave korozije većine sistema legura u praksi. Drugo, nezavisno od standardnih potencijala elektroda, otpornost na koroziju, koju imaju mnogi metali, određuje njihova sposobnost da se pasivizuju slojem oksida koji štiti metal što ga prekriva. Treće, na procese korozije u praksi utiču varijacije u mikrostrukturnim odlikama površine i u okolini koja ometa ravnotežu prenosa nanelektrisanja.

### **9.2.2 Uticaj biološke sredine na koroziju metala**

Normalno bi bilo prepostaviti da prisustvo bioloških makromolekula neće uzrokovati potpuno nov mehanizam korozije. Ipak, oni mogu uticati na brzinu korozije tako što će na neki način ometati anodne ili katodne reakcije o kojima je bilo reči. Postoje četiri načina na koja može doći do toga [23]. *Prvo*, biološki molekuli mogu da naruše ravnotežu reakcija korozije trošenjem jednog od proizvoda anodne ili katodne reakcije. Proteini se mogu vezati, npr., za jone metala i odneti ih dalje od površine implantata. Time će ravnoteža duž nanelektrisanog duplog sloja biti narušena, i biće omogućeno dalje razlaganje metala, odnosno time će se smanjiti  $\Delta G$  za reakciju razlaganja. *Drugo*, stabilnost oksidnog sloja zavisi od potencijala elektrode i pH vrednosti rastvora. Proteini često imaju uloge prenošenja elektrona, i time mogu da utiču na potencijal elektrode, a bakterije mogu izmeniti pH vrednost lokalne sredine stvaranjem kiselih metabolita. *Treće*, stabilnost oksidnog sloja takođe zavisi od dostupnosti  $O_2$ . Adsorpcija proteina na površinu materijala može da ograniči širenje  $O_2$  ka određenim regionima površine. To može uzrokovati prethodnu koroziju regiona koji nemaju dovoljno  $O_2$  i dovesti do razgradnje pasivnog sloja. *Četvrto*, katodna reakcija često rezultuje formiranjem  $H_2$ , kao što je rečeno. U zatvorenoj sredini, nagonjavanje  $H_2$  najčešće sprečava katodnu reakciju i time ograničava proces korozije. Ako se  $H_2$  eliminiše, aktivna korozija se može nastaviti. Bakterije u blizini implantata mogu iskoristiti  $H_2$  i tako igrati ključnu ulogu u procesu korozije [24].

Postoji dovoljno dokaza u korist pretpostavke prema kojoj prisustvo proteina može uticati na brzinu korozije nekih metala. Analiza količine korozije kroz gubitak težine ili hemijska analiza elektrolita su pokazale značajne efekte prisustva relativno malih koncentracija proteina. Ovi efekti su varirali od povećanja od nekoliko puta za neke metale pod određenim, a do lakog smanjenja, pod drugim okonostima.

Proteini se adsorbuju na metalne površine i adsorbirana količina se razlikuje za različite metale, ali metali se i vezuju za proteine, i transportuju dalje od lokalnog regiona kao kompleks protein-metal i sistemski šire po telu. Prema tome, verovatno je da će proteini uticati na reakcije korozije do kojih dolazi po implanti-



*Slika 9.7 Kada se stvori električni kontakt između elektroda A i B, elektroda B se ponaša kao odvodni kanal za elektrone, time rušeći ravnotežu i uzrokujući kontinualno razlaganje elektrode A [23]*

ranju metala, iako trenutno nema direktnih dokaza koji objašnjavaju mehanizam te interakcije [25].

### 9.2.3 Korozija i kontrola korozije metala u biološkoj sredini

Potreba za suođenjem korozije na minimum je najveći faktor u izboru metala i legura za korišćenje u telu. Usvojena su dva opšta pristupa.

*Prvi pristup* uključuje upotrebu plemenitih metala, odnosno onih metala i njihovih legura za koje elektrohemisna svojstva pokazuju odličnu otpornost na koroziju. Primeri ovih metala su Au, Ag i grupa platinastih metala. Zbog cene i relativno loših mehaničkih svojstava, oni se ne koriste za velike strukturne primene, mada je potrebno napomenuti da su Au i njegove legure u širokoj primeni u stomatologiji;

Ag se ponekad koristi zbog svojih antibakterijskih svojstava; a grupa platinastih metala (Pt, Pd, Ir, Rh) se koristi u elektrodama.

*Drugi pristup* uključuje upotrebu pasiviziranih metala. Od veoma pasiviziranih elemenata (Al, Cr, Ti), Al se ne može koristiti u biomedicinske svrhe zbog problema toksičnosti. Hrom je veoma efikasno zaštićen, ali se ne može koristiti u velikim količinama. Međutim, on je u širokoj primeni u legurama, posebno u nerđajućem čeliku i legurama na bazi Co-Cr, gde se obično smatra da nivo iznad 12% daje dobru otpornost na koroziju, a oko 18% odličnu [23]. Titan je u ovom pogledu najbolji; koristi se kao čist metal ili kao glavni sastojak legura.

Iako su ovi metali i legure izabrani zbog svoje otpornosti na koroziju, do korozije će ipak doći kada se implantiraju u telo. Dve bitne činjenice se moraju imati u vidu.

*Prvo*, bilo da su plemeniti ili pasivizirani, svi metali trpe postepeno uklanjanje jona sa površine, uglavnom zbog lokalnih i vremenskih varijacija u mikrostrukturi i okolini. To ne mora obavezno biti trajno, i brzina se vremenom može povećavati i smanjivati, ali metalni joni će biti ispuštani u okolinu. Ovo je posebno bitno kod biomaterijala, jer je baš efekat ovih potencijalno toksičnih ili štetnih jona najvažnija posledica njihove upotrebe. Čak i kod jako pasiviziranih materijala, postoće konačni nivo difuzije jona kroz oksidni sloj, a moguće i razlaganje samog sloja. Dobro je poznato da se Ti iz Ti implantata postepeno ispušta u okolno tkivo.

*Drugo*, neki specifični mehanizmi korozije se mogu nadgraditi na ovo opšte ponašanje.

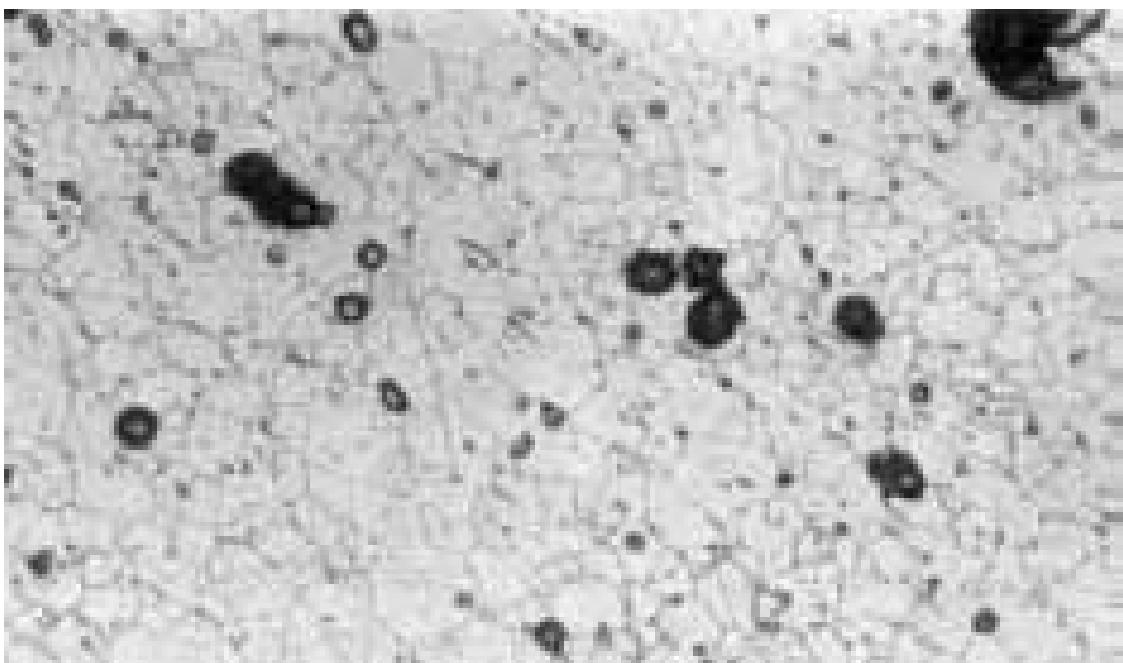
### **Tačkasta korozija**

Nerđajući čelik koji se koristi u uređajima za implantiranje se pasivizira hrom oksidom koji se formira na površini. Međutim, pokazalo se da u sredini sa fiziološkim rastvorom pokrećačka sila za ponovnu pasivizaciju površine nije visoka. Prema tome, ukoliko se pasivni sloj razloži, površina se neće ponovo pasivizirati i može doći do aktivne korozije.

Do lokalizovane korozije može doći kao rezultat nesavršenosti u oksidnom sloju, čime se dobijaju male oblasti na kojima se zaštitni sloj uklanja. Ove lokalizovane tačke će aktivno korodirati i na površini materijala će se pojaviti rupe. To može dovesti do velikog stepena lokalizovanog oštećenja, jer će te male površine sa aktivnom korozijom postati anoda, a cela preostala površina katoda. Pošto brzina anodne i katodne reakcije mora biti jednaka, sledi da će mala oblast na površini uzrokovati relativno veliku količinu razlaganja metala, i doći će do formiranja velikih rupa (Sl. 9.8) [23].

### **Pukotinska korozija**

Na oblast između matice šrafa za kost i udubljenja pločice za pričvršćivanje se može uticati i uslovima u pukotini koju stvara geometrija (Sl. 9.9) [23]. Ubrzana korozija može početi u pukotini ograničenim rasipanjem kiseonika u pukotinu. Na početku, do anodne i katodne reakcije dolazi uniformno preko površine, uključujući i unutrašnjost pukotine. Kako kiseonik nestaje iz pukotine, reakcija se ograničava



*Slika 9.8 Nagriženi metalografski mikrograf pokazuje tačkastu koroziju nerđajućeg čelika [23]*

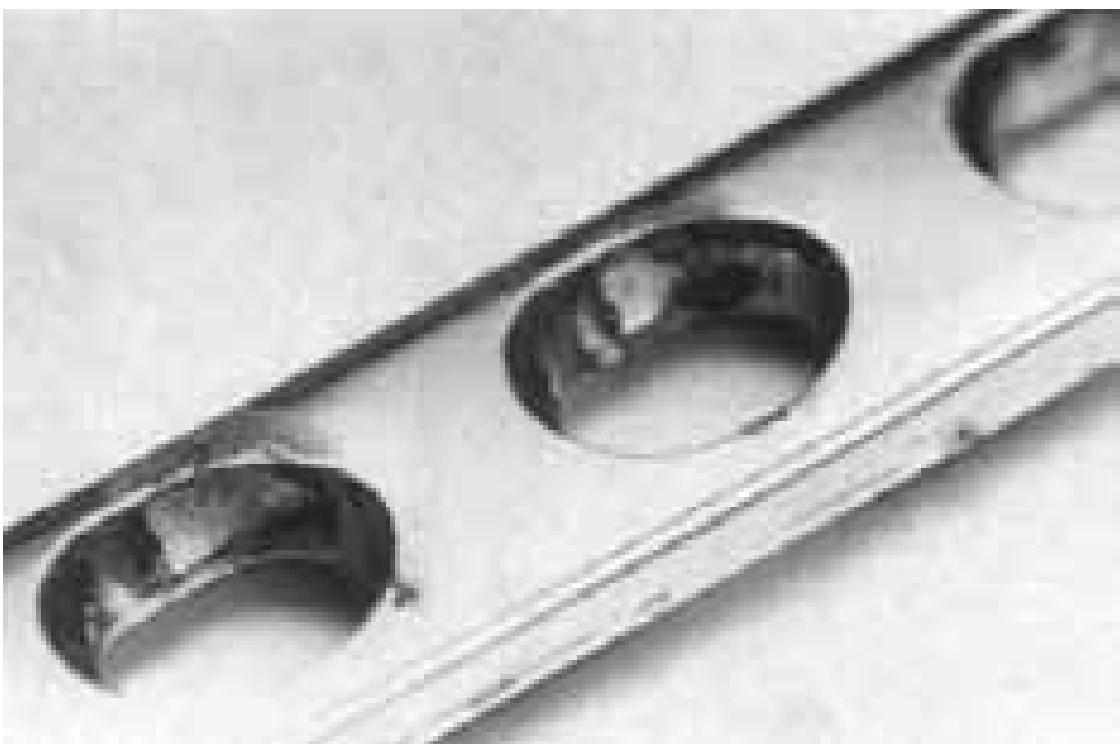
na metalnu oksidaciju koja je u ravnoteži sa katodnom reakcijom na ostatku površine. U vodenom rastvoru natrijum hlorida, nagomilavanje metalnih jona unutar pukotine uzrokuje priliv jona hlorida kako bi se izbalansirao napon formiranjem hlorida metala. U prisustvu vode, hlorid će se razložiti na svoj nerastvorljivi hidrok-sid i kiselinu. Ovo je proces koji se mnogo ubrzava, pošto smanjenje pH vrednosti uzrokuje dalju oksidaciju metala.

### ***Intergranularna korozija***

Kao što je već pomenuto, nerđajući čelik se oslanja na formiranje oksida hroma za pasiviranje površine. Ukoliko neke oblasti na leguri osiromaše hromom, što se može desiti ukoliko se karbidi formiraju na granicama kristala, regioni susedni granicama će osiromašiti hromom. Pasivnost površine je u tim regionima ugrožena i može doći do preferencijalne korozije (Sl. 9.10) [23]. Mada se ovaj problem može lako prevazići tretiranjem legura toplotom, ipak je primećen na izvađenim implantatima i može uzrokovati velike probleme jer će, kada započne, ova korozija brzo napredovati i može uzrokovati frakture na implantatu i ispustiti velike količine proizvoda korozije u tkivo.

### ***Stres korozivno lomljenje***

Stresna korozija je prikriveni oblik korozije, jer primenjeno opterećenje (pritisak) i korozivna sredina mogu raditi zajedno i uzrokovati potpuno zatajivanje komponente, kada ni opterećenje ni sredina ne bi predstavljali problem sami za sebe



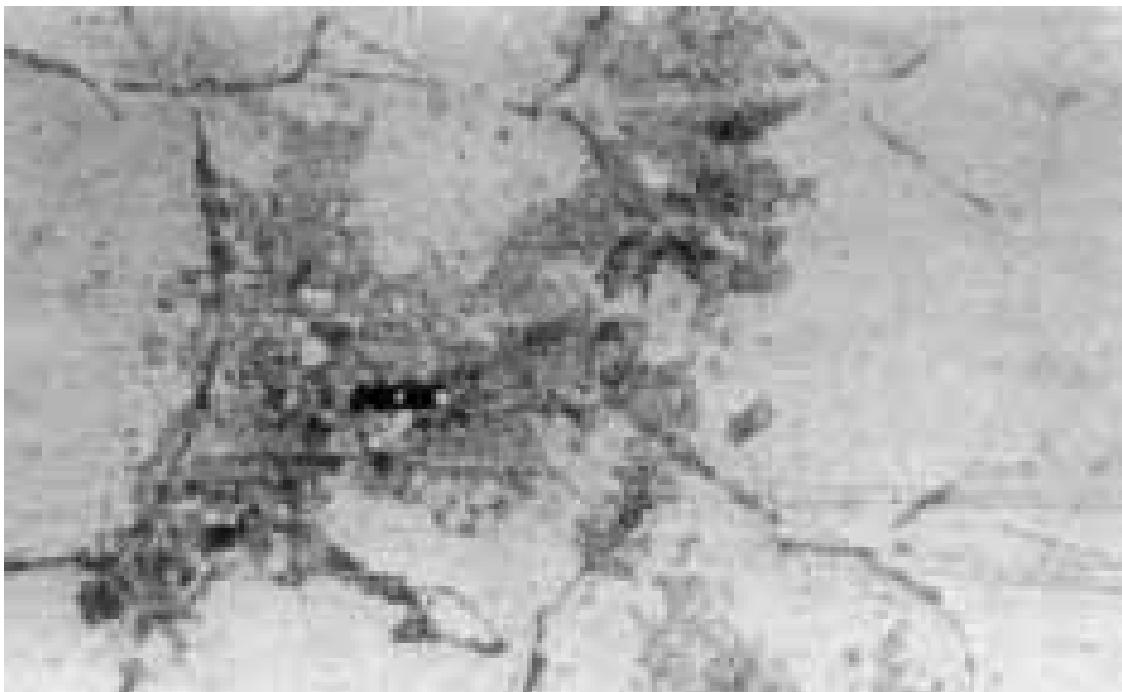
Slika 9.9 Pukotine pri koroziji u navojnim otvorima u pločici za pričvršćivanje [23]

[26]. Nivo opterećenja može biti veoma mali, možda čak i samo u tragovima, a korozija može započeti na mikroskopskom vrhu pukotine čija se ponovna pasivizacija ne izvrši brzo. Može doći do inkrementalnog rasta pukotine, što može uzrokovati frakturu implantata. Industrijske primene nerđajućeg čelika u slanim sredinama su pokazale prijemčivost na naponsku koroziju, koja prema tome predstavlja potencijalni uzrok zatajivanja implantiranih uređaja.

### ***Galvanska korozija***

Ukoliko se dva metala nezavisno stave u isti rastvor, svaki od njih će uspostaviti sopstveni potencijal elektrode u odnosu na rastvor. Ukoliko ta dva metala dođu u električni kontakt, između njih će biti uspostavljena razlika potencijala, a elektroni će prelaziti sa metala koji je više anodan na metal koji je više katodan. Time će ravnoteža biti narušena i doći će do trajnog procesa razlaganja metala koji je više anodan. Ovaj ubrzani proces korozije je galvanska korozija. Veoma je važna ukoliko se u implantatu koriste dve različite legure od koje reaktivnija može da korodira.

Kad god se nerđajući čelik koristi u paru sa nekom drugom legurom, on će pretrpeti galvansku koroziju. Ukoliko obe legure ostanu unutar svojih pasivnih regija prilikom ovakve upotrebe, dodatna korozija može biti minimalna. Neki modularni ortopedski sistemi se prave od legura Ti i legura na bazi Co zbog toga što bi obe tre-



Slika 9.10 Intergranularna korozija na nagriženom uzorku nerđajućeg čelika [23]

balu da ostanu pasivne. Do galvanske korozije može doći i na mikroskopskoj razmeri u multifaznim legurama u kojima faze imaju značajno različitu elektronegativnost.

#### 9.2.4 Keramička razgradnja

Brzina razgradnje keramike u telu može značajno varirati u odnosu na metale zbog toga što keramika može biti ili veoma otporna na koroziju ili vrlo rastvorljiva. Uopšteno gledano, trebalo bi očekivati da se vidi značajna otpornost na koroziju kod keramike i stakla [27]. Pošto se proces korozije kod metala sastoji od konverzije metala u keramičku strukturu (npr. metala u metalni oksid, hidroksid, hlorid, itd.) onda keramička struktura predstavlja stanje manje energije u kome bi trebalo da ima manje pokretačke sile za dalju strukturnu razgradnju. Međuatomske veze u keramici, pošto su uglavnom jonske, ali delimično kovalentne, predstavljaju jake usmerene veze i za njihovo prekidanje potrebna je velika količina energije. Kao što metalurzi znaju, potrebno je mnogo energije za vađenje metala Al iz rude  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , ali kao što smo videli, obrnut proces se lako odvija površinskom oksidacijom. Prema tome, trebalo bi očekivati da će keramika, poput  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{SiO}_2$ , i  $\text{TiN}$  biti stabilna pod normalnim uslovima. To se uočava i u kliničkoj praksi. Postoje ograničeni dokazi koji pokazuju da neke od ovih keramika (npr. polikristalni  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) pokazuju fenomen „starenja”, sa redukcijama u nekim od mehaničkih svojstava, ali značaj nije jasan [23].

Postoje mnoge keramičke strukture koje će se, iako su na vazduhu stabilne, u vodenim sredinama razložiti. Ovo se lako pokazuje razmatranjem klasične potpuno jonske keramičke strukture NaCl i njegovog razlaganja u vodi. Prema tome, moguće je, na osnovu hemijske strukture, identifikovati keramiku koja će se razložiti ili razgraditi u telu, i postoji mogućnosti za poizvodnju strukturalnih materijala sa kontrolisanom degradacijom.

Pošto svaki materijal koji se razgrađuje u telu oslobađa svoje činoce u tkivo, neophodno je izabrati anjone i katjone koji se trenutno i bezopasno uklapaju u metaboličke procese, gde se koriste ili eliminišu. Zbog toga se primarno koriste jedinjenja natrijuma, i posebno kalcijuma, uključujući i kalcijumove fosfate i karbonate.

Razgradnja ovakvih jedinjenja zavisi od hemijskog sastava i mikrostrukture. Tako, npr. trikalcijum fosfat  $[Ca_3(PO_4)_2]$  prilično se brzo razgrađuje, dok je kalcijum hidroksiapatit  $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$  relativno stabilan. Međutim, u okviru ovog opštег ponašanja, poroznost će uticati na brzinu, tako da će se potpuno gust metal polako razgrađivati, dok će mikroporozni materijal biti podložniji bržoj razgradnji.

Uopšteno gledano, brzina razlaganja u ovim keramičkim materijalima *in vivo* se može predvideti prema ponašanju u jednostavnom vodenom rastvoru. Međutim, u telu će postojati određene male razlike, posebno sa varijacijama u brzini razgradnje koja se može uočiti na različitim mestima implantacije. Moguće da je i ćelijska aktivnost, bilo fagocitozom ili ispuštanjem slobodnih radikala, odgovorna za te varijacije [27].

Između ekstrema stabilnosti i namerne degradacije stoji mala grupa materijala kod kojih može postojati ograničena aktivnost. To se posebno može videti kod određenih vrsta stakla i staklene keramike na bazi Ca, Si, Na, P i O, kod kojih postoji selektivno razlaganje površine ispuštanjem Ca i P, ali kod kojih reakcija potom staje, zbog stabilnog sloja bogatog  $SiO_2$  koji ostaje na površini [23]. To je od posebnog značaja zbog sposobnosti takvih površina da se vezuju sa kostima. Na osnovu ovog ponašanja, biokeramika se obično klasificiše u tri grupe: (1) inertna ili „skoro inertna“ keramika; (2) upijajuća keramika; i (3) keramika kontrolisane površinske reaktivnosti [23].

## 9.3 MEHANIČKO RASPADANJE U BIOLOŠKOJ SREDINI

Kontakt sa biološkim ili fiziološkim rastvorima uzrokuje razgradnju polimera, razlaganje keramike i koroziju metala, i ovaj efekat se može pojačati u prisustvu mehaničkih opterećenja.

### 9.3.1 Metali i keramike

Postoji više mehanizama kojima kombinacije biološke sredine i mehaničkih opterećenja mogu prouzrokovati ubrzano mehaničko raspadanje putem korozije, uključujući galvansku, stresnu, zamor i mikrobiološku, kao i razgradnju i koroziju koja je prouzrokovana opterećenjem [28]. Kombinovani efekat sredine i ovih opterećenja je mnogo veći od njihovih pojedinačnih efekata.

### **Galvanska korozija**

Savijena metalna šipka ili ploča ima različite elektrohemiske potencijale na različitim stranama prevoja. Unutrašnja strana može biti anodna u odnosu na spoljašnju, što dovodi do pojačane galvanske korozije. Do istog ovog fenomena dolazi pri povećavanju opterećenja kod teških uređaja, uključujući i greške u dizajnu kakve su oštiri uglovi; površinske greške kakve su ogrebotine, mane, kao i unutrašnje greške u materijalu, nesavršenosti i granični efekti. Opterećenja oblast materijala korodira ili se razgrađuje brže nego okolne oblasti pod manjim opterećenjem [29].

Galvanska korozija se može povećati zaostalim opterećenjima u metalnim delovima, prouzrokovanim obradom. Ukoliko velika tvrdoća ili čvrstoća hladno obrađenih materijala nije potrebna, obrađeni delovi se mogu kaliti kako bi se uklonila unutrašnja opterećenja.

### **Korozija zamora i habanja materijala**

Na površini većeg broja biološki stabilnih materijala može se napraviti pasivni i nerastvorljivi sloj koji će ih učiniti otpornijim na koroziju. Savijanje, opterećenje od zamora materijala, abrazija ili trošenje mogu trajno probijati ovaj pasivni sloj i metal koji se nalazi ispod njega izložiti uticaju sredine. Kada se to desi, materijal gubi veći deo svoje otpornosti na koroziju. U kombinaciji sa gubljenjem pasivnog sloja ide i anodno razlaganje na vrhu pukotine koja se širi, ukoliko je ima. Kada ovi mehanizmi rezultuju povećanom korozijom u sredini zamora, to se naziva *korozionim zamorom*. Statičko opterećenje može uzrokovati slično povećanje korozije i loma [30], koje se obično naziva *lom korozije* izazvan opterećenjem. Ovi efekti su znatno veći na višim temperaturama. Isto tako i relativno mali napori tipični za normalno habanje imaju značajan efekat na karakteristike korozije implantata testiranih u Ringerovom rastvoru. Količine jona koje su ispuštene sa površina legura Co i Cr i nerđajućeg čelika 316L su bile od 26 do 38 puta veće od onih koje su ispuštale polirane površine u istom rastvoru koje nisu bile pod opterećenjem [28]. Uz zamor metala u prisustvu agresivne sredine koja uzrokuje koroziju, ne postoji granica opterećenja (granica izdržljivosti) ispod koje pucanje izazvano korozijom neće nastupiti [28].

### **Mikrobiološka korozija**

Mikroorganizmi mogu uticati na koroziju nekih metala većim brojem mehanizama, od kojih se većina pojačava prisustvom mehaničkih opterećenja. Oni mogu izmeniti pH vrednost i sadržaj  $O_2$  u lokalnoj sredini, oslobađati korozivne metaboličke proizvode i uzrokovati fenomene depolarizacije [24]. *Thiobacillus*, rod bakterija koje oksidiraju  $S_2$ , proizvode kiseline, uključujući  $H_2SO_4$ . Same bakterije lako podnose jako kisele uslove, pa mogu da kolonizuju oblast koja sadrži  $S_2$  i uzrokuju pojačanu koroziju metala u blizini [28]. I gljivični mikroorganizmi *Clad osporium resinae* naseljavaju rezervoare sa gorivom u letelicama, proizvodeći gradjente koncentracije  $O_2$  uzrokujući koroziju [28]. Bakterija koja redukuje  $S_2$ , *De sulphovibro*, koristi  $H_2$  u redukciji sulfata [28]. Ukoliko je katodna reakcija korozije reakcija redukcije  $H_2$ , korišćenje  $H_2$  može da uzrokuje katodnu depolarizaciju i omogući nastavak korozije.

Mada se ovo ne smatra značajnim za medicinske uređaje koji se implantiraju, na neke stomatološke implantate mogu uticati fenomeni mikrobiološke korozije.

### ***Opterećenjem uvećana degradacija i korozija***

Cilj razvoja svakog novog biomaterijala, kao što su Ti-Au legura [29] ili druge Ti legure [30], jeste veća otpornost na koroziju, bolja biokompatibilnost, manja citotoksičnost, kao i bolja mehanička svojstva u odnosu na komercijalno čisti elemenat i njegova jedinjenja. Opterećenje dovodi materijal u stanje visoke energije i olakšava njegovu razgradnju i koroziju. Ovo važi za metale, polimere i keramiku. Materijal u neposrednoj blizini praznina, zona klizanja, dislokacija i granica kristala u metalima može trpeti veće opterećenje nego homogeni materijal unutar kristala. Ukoliko se primerci metala nagrizu, metal se primarno nagriza sa područja veće energije oko ovih nesavršenosti, čime se prave rupe koje se mogu vizuelno uočiti. Pod opterećenjem, određene dislokacije se pomeraju. Ukoliko se upotrebi niz opterećenja i nagrizanja, kretanje dislokacija može biti praćeno rezultujućim sekvencijalnim rupama formiranim na mestima dislokacija koje su nastale kao posledica nagrizanja [28]. Ova vrsta fenomena je takođe verovatno povezana sa pucanjem uzrokovanim opterećenjem sredine koje se može videti na polimerima. Ukoliko keramički materijal sadrži i amorfne i staklaste regije, kao i kristalaste regije ili usađene kristalite, energija favorizuje razlaganje amorfnih regija u odnosu na kristalaste regije [28].

Istraživanja su pokazala da efekat tri biokeramike u CaO-SiO<sub>2</sub>-MgO sistema imaju različito ponašanje u odnosu na *in vitro* degradaciju, bioaktivnost, i citokompatibilnost [31]. Degradacija je procenjivana kroz aktivacionu energiju oslobođanja Si jona iz keramika i njihovog gubitka težine u Tris-HCl puferima. Bioaktivnost keramika *in vitro* je merena pomoću analize sposobnosti formiranja apatita u simuliranoj telesnoj tečnosti. Citokompatibilnost je ocenjivana kroz morfologiju i proliferaciju osteoblasta. Rezultati su pokazali da aktivaciona energija Si jona se raširila i umnožila na tri keramička diska, a ćelijska proliferacija na diopsidu je postala mnogo očiglednija nego na dva ostala keramička diska.

### ***Efekti metalne korozije***

Pored očiglednog gubitka mehaničke snage implantata uzrokovanih korozijom, proizvodi korozije mogu imati i razne druge patofiziološke efekte. Preosetljivost na metale i alergijske reakcije na proizvode metalne korozije i otpatke od habanja su razlog za zabrinutost, posebno kod metala koji sadrže Ni i Cr [32]. Kada dođe do alergijskih reakcija, one mogu dovesti do lokalizovanih problema ili do sistematskih, poput dermatitisa. Oba ova problema obično zahtevaju uklanjanje implantata. Takođe je izražena zabrinutost da lokalizovano ispuštanje određenim metalnih jona (Cr, Ni, Co) i njihovih legura može prouzrokovati maligni tumor [33, 34]. Relativno mali broj slučajeva raka otkrivenih u vezi sa metalnim implantatima u poređenju sa velikim brojem samih implantata koji stoje ugrađeni tokom dužeg vremenskog perioda ukazuje na to da je ovaj efekat, ipak, mali. Metalna korozija i delovi otpadaka od habanja mogu pre uzrokovati druge nespecifične efekte.

### 9.3.2 Polimeri

Postoji nekoliko načina na koje biološka sredina povećava brzinu mehaničke razgradnje polimera. Među njima su pojačano habanje, oticanje, natapanje, ispučlost glazure pod uticajem opterećenja okoline, te mehanički efekti na kompatibilnost i kalcifikaciju krvi [28].

#### **Pojačano habanje u biološkim sredinama**

Uopšteno gledano, trenje se smanjuje, ali se habanje može pojačati kod mokrog klizajućeg habanja u odnosu na suvo klizajuće habanje za nepotpunjene polimere [28]. Obim habanja se, takođe, povećava u kompozitnim materijalima od ugljeničnih vlakana i onima koji su ojačani stakлом u odnosu na nepotpunjene polimere. Prisustvo tečnosti može trenutno ukloniti odpatke od habanja, čime će pojačati efekat sečenja/brazdanja/pucanja abrazivnih čestica na polimeru ili kompozitnom materijalu polimera [28]. U fiziološkoj sredini, čestice metala, keramike ili polimera koje se odvoje habanjem mogu se zaglaviti između dve pokretne površine, čime se uzrokuje habanje između tri tela koje obično uzrokuje znatno veće habanje od habanja između dva tela. Drugi mehanizmi za pojačano *in vivo* habanje su: pucanje pod uticajem opterećenja okoline, degradacija polimera, mikrostrukturni nedostaci i rastapanje.

Savremene studije habanja ukazuju da su na njega najotporniji hibridni biokompoziti sa boljom kombinacijom fizičkih svojstava (standard, čvrstina), kao i malim trenjem i velikom otpornosti prema habanju [35]. Međutim, mnogo veći problem je ispuštanje čestica otpadaka od habanja.

Stvaranje tih otpadaka je važan faktor, i zbog potencijala da otpaci od habanja dospeju u udaljene organe, pogotovo limfne žlezde u kojima akumulacija makrofaga koje sadrže čestice uzrokuje hronični limfadenitis zbog lokalnih fizioloških reakcija, kakve su zapaljenja, cititoksične i osteolitične reakcije [14, 25].

Velike količine mikronskih i submikronskih otpadaka od habanja većine materijala uzrokuju nespecifičnu osteolizu lokalne kosti [36]. Jedan od glavnih uzroka zatajivanja veštačkih kukova je popuštanje spoja između korena kuka i delimično resorbovane okolne kosti, što uzrokuje bol i čini zamenu kuka neophodnom. Ponekad može doći do pucanja butne kosti oslabljene osteolizom pod jakim opterećenjem, kada je neophodna zamena.

Prema tome, bitan kriterijum za izbor materijala za medicinske implantate je količina, veličina, oblik i sastav otpadaka od habanja, koji se mogu ispuštiti *in vivo*.

#### **Mehanički kvarovi nastali usled nabreknutosti i kvašenja**

U biološkoj sredini, polimeri apsorbuju komponente i iz okolne sredine i ispuštaju komponente iz polimera u okolinu. Apsorpcija hemikalija može dovesti do fizičkih promena u obliku uređaja, dovodeći do kvara različitim mehanizmima. U *in vivo* uslovima, kvašenje plastifikatora, stabilizatora, antioksidanata, pigmenata, lubrikanata, popunjivača, zaostalih monomera, katalizatora polimerizacije i drugih hemijskih dodataka iz plastike ili gume menjaju svojstva polimera i uzrokuju lokalne ili sistemske toksikološke probleme [37].

### ***Ispucalost, stvaranje pukotina i kidanje polimera izazvano opterećenjem sredine***

Kombinacija opterećenja i uslova sredine mogu zajednički delovati i uzrokovati neispravno funkcionisanje polimera. U ovim slučajevima, polimeri uglavnom prolaze kroz pucanje, stvaranje pukotina i kidanje polimera izazvano opterećenjem sredine [38]. Ispucalost se može opisati kao stvaranje unutrašnjih praznina sa potpornim vlaknima koji se prostiru preko praznina. Ovakvi defekti mogu ličiti na obične pukotine, ali se od njih razlikuju po potpornoj prirodi vlakana koja se prostiru preko ispucalih površina. Kako ovakve raspukline rastu, neka od vlakana na najširem delu raspukline pucaju i formira se obična pukotina. Pukotina tada može rasti i napredovati duž materijala, vodeći do kidanja ili neispravnosti elementa. Formiranje raspuklina zavisi od molekularne težine polimera [38]. Polimeri sa velikom molekularnom težinom formiraju raspukline koje mogu dovesti do pukotina, a kod polimera sa manjom molekularnom težinom formiranje pukotina se odvija direktno, bez formiranja materijala raspukline. Mešavina polimera male i velike molekularne težine brže puca od ekvivalentnog polimera srednje molekularne težine.

Faze ispucalosti, pucanja i kidanja usled opterećenja okoline se odvijaju na malim nivoima opterećenja za polimere koji su podložni tim efektima kada su u kontaktu sa agresivnom sredinom, specifičnom za svaki polimer. Opterećenja mogu biti spolja ili rezultat rezidualnih unutrašnjih opterećenja od obrade ili oblikovanja.

Polimeri mogu biti otporni na visoka opterećenja *in vitro* i biti usađeni *in vivo* vrlo dugo sa vrlo malo ili bez degradacije svojstava, a kada se u istoj sredini opterete, mogu se bukvalno raspasti usled pucanja izazvanog dejstvom okoline.

### ***Pucanje usled opterećenja sredine – poliuretanske sonde pejsmejkera***

Otkriveno je da neke poliuretanske sonde za srčane pejsmejkere prerano propadaju. Oštećena izolacija dovodi do brzog trošenja baterija i neravnomernog ritma, što rezultuje obaveznom zamenom sistema pejsmejkera. Mnogo veće razgradivanje je primećeno kod fleksionih tačaka sondi u poređenju sa onima koje nisu pod istim mehaničkim opterećenjem. Međutim, velika većina istih sondi je duge vremenske periode pretrpela bez značajnije razgradnje. Iako je oštećenje sondi jasno uzrokovano pucanjem usled opterećenja sredine, vode se velike rasprave o tome koji aspekt sredine uzrokuje oštećenja (Tabl. 9.7) [38].

Tokom proizvodnje sondi za pejsmejkere, prave se rezidualna opterećenja koja su rastegljiva na spoljnoj površini, a kompresiona u srži. Smatra se da ova opterećenja, u kombinaciji sa opterećenjima primenjenim iz unutrašnje sredine организма, predstavljaju glavni faktor u pucanju usađenih sondi [38].

### ***Pucanje usled opterećenja sredine – polisulfon***

Drugi polimer koji je podložan pucanju usled opterećenja sredine je polisulfon, veoma čvrsta termoplastika koja se koristi u tehnici. Na polju medicine, polisulfon se koristi u proizvodnji respiratora, nebulizatora, pakovanju proteza, stomatoloških instrumenata i tacni sterilizatora. Predložen je za upotrebu kod *in vivo* biomedicinskih primena: za oblaganje i kao osnovni materijal za prototip kom-

pozitnih implantata kukova, kao porozni omotač za prototip metalnih ortopedskih implantata i za čvrsto kućište za veštačka srca [38].

*Tabela 9.7 Potencijalni faktori uključeni u nefunkcionalnost srčanog pejsmejkera [38]; modifikovano.*

Komponente naprezanja	Komponente okolne sredine	Osetljivost polimera
Preostalo naprezanje pri obradi	Napon (struja) korišćeni pri <i>pacing-u</i>	Napad na etarne veze
Iskrivljenosti tokom umetanja	Oksidacija	Napad na poli(tetrametilen oksidne) blokove
Postimplantne oblasti smanjenja omotača	Enzimi	Silikon dodat da odoleva napadima
<i>In vivo</i> savijanja tokom funkcionsanja	Anjoni hlorida	
	Holesterol i lipidi	
	Hidrolizna cepanja	
	Ekstrakcija materijala sa malom molekulskom težinom	
	Metal-jon katalizovana degradacija	
	Auto-oksidacija koja uključuje metale	

Polisulfon se kida usled opterećenja okoline pri kontaktu sa mnogo različitim supstanci i trebalo bi ga koristiti samo sa nerastvaračima. Kada polisulfon mora biti u kontaktu sa posebnim rastvaračem, na predmet od polisulfona praktično ne smeju uticati ni spoljašnja ni unutrašnje opterećenja, kako bi se izbeglo pucanje usled opterećenja okoline [38].

### **Zaostali pritisak i uklanjanje pritsika kod uređaja**

Kod polimera kakav je polisulfon, efekat raspuklina i pucanja uzrokovani opterećenjem okoline se može umanjiti smanjenjem zaostalih pritisaka koji se delimično uzrokuju procesom oblikovanja. Pritisak se može ukloniti sa delova kaljenjem na temperaturi ispod temperature topljenja datog polimera. Nusproizvod procesa kaljenja može biti povećavanje kristalnosti polimera. Povećana kristalnost može biti ili korisna ili štetna svojstvima krajnjeg prozvoda. Međutim, kada poli(etilen tereftalat) (npr., *Dacron*, *Mylar*, *Cleartuf*) postane kristalniji, on gubi svoju providnost i dobar deo svoje ukupne rastegljivosti, što može biti važno za neke primene [38]. Efekti uklanjanja pritsika koje daje kaljenje se ponekad mogu dobiti i primenom rastvarača koji pospešuju povećanje, bar, površinske kristalnosti polimera.

### **Efekti savijanja na kompatibilnost i kalcifikaciju krvi**

Kalcifikacije dijafragmi veštačkih srčanih pumpi nastaju prvenstveno u onim oblastima dijafragmi koje se savijaju. Kalcifikovana mesta poliuretana i biološkog tkiva srčanih zalistaka se dešavaju *in vivo* na opterećenim mestima. Nesavijeni delovi ovih uređaja pokazuju vrlo malo ili potpuno odsustvo kalcifikacije. Kako kalcifikovana mesta srčanih zalistaka postaju kruća, može doći do: (1) gubitka funkcija (nemogućnosti zalistka da se otvori ili zatvori zbog kalcifikovanih naslaga); (2) mehaničkog kvara elastomera zbog velikih lokalnih opterećenja, abrazije, razgradnje površine i polimera uzrokovane kalcifikacijom; ili (3) nukleacije formacije tromba kalcifikovanim naslagama [38]. *In vivo* savijanje biomaterijala može imati i direktnе negativne efekte na otpornost od tromboze koju imaju polimeri [39].

## **9.4 PATOLOŠKA KALCIFIKACIJA BIOMATERIJALA**

Kvar nekog kliničkog uređaja, naročito u kardiovaskularnom sistemu (KVS), je često prouzrokovao formiranjem tačkastih naslaga kalcijum fosfata ili drugog njegovog jedinjenja u procesu koji se naziva kalcifikacija ili mineralizacija. Mada se nagomilavanje mineralnih soli kalcijuma pojavljuje kao prirodan proces u kostima i Zubima, biomaterijali koje sadrže medicinski uređaji nisu predviđeni da se kalcifikuju, jer mineralne naslage mogu da ometaju njihovo funkcionisanje. Prema tome, kalcifikacija biomaterijala je abnormalna ili patološka. Patološka kalcifikacija može biti distrofiska i metastazna.

Distrofiska kalcifikacija je nagomilavanje kalcijumovih soli u oštećenim ili obolelim tkivima ili biomaterijalima osobe sa normalnim metabolizmom kalcijuma. Nasuprot ovome, metastazna kalcifikacija je nagomilavanje kalcijumovih soli, u prethodno normalnim tkivima, kao posledica poremećenog metabolizma minerala (često podignut nivo kalcijuma u krvi). Distrofiska i metastazna kalcifikacija mogu da deluju ujedno; u prisustvu abnormalnog metabolizma minerala povećana kalcifikacija je povezana sa biomaterijalima ili povređenim tkivima.

Kalcifikacija biomaterijala može da zahvati razne proteze ugrađene u KVS unutar vezivnih tkiva, ili na drugim mestima (Tabl. 8.11) [40]. Distrofiska kalcifikacija sreće se, npr., kao: degeneracija bioproteze ili homografta zamenjenog srčanog zalistka, kalcifikacija u pumpama krvi korišćenim kao pomoć srcu, mineralizacija kontraceptivnih sredstava koja se ugrađuju unutar materice, začepljenje urinarne proteze, nagomilavanje minerala u okviru mekih kontaktnih sočiva [40].

Kalcifikacija je povezana i sa sintetičkim i sa biološki proizvedenim biomaterijalima. Kasna faza minerala većine kalcifikacija biomaterijala ima slabo kristališani kalcijum fosfat, poznatiji kao apatit, koji je povezan sa kalcijum hidroksi-apatitom  $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ , mineralom koji obezbeđuje tvrdoću kostiju.

Određivanje mineralizacije biomaterijala uključuje faktore vezane za metabolizam pacijenta kao i strukturu i hemijske osobine implantata [40]. Mineralizacija biomaterijala je uglavnom ubrzana na mestima velikih mehaničkih deformacija, kao što su tačke savijanja u KVS uređajima. Kalcifikacija može biti ubrzana i u

slučaju infekcije implantata [40]. Od posebne važnosti je da kalcifikacija može da se pojavi na površini implantata (*spoljašnja kalcifikacija*), na mestima gde je u vezi sa pričvršćenim tkivom ili ćelijama, ili unutar struktturnih komponenti (*unutrašnja kalcifikacija*). Osnovni mehanizam patološke kalcifikacije ima mnogo sličanosti sa normalnom mineralizacijom kostiju.

#### 9.4.1 Kalcifikacija proteza i naprava

##### **Kalcifikacija bioproteza srčanih zalistaka**

Promena usled kalcifikacije bioproteze srčanog zalistka prethodno tretiranog glutaraldehydom (Sl. 9.11) (glutaraldehyd – organsko jedinjenje koje služi za dezinfekciju) je najznačajniji primer klinički značajne disfunkcije medicinskog uređaja zbog kalcifikacije biomaterijala [40]. Bioproteze izrađene na osnovu otiska koje sadrže glutaraldehyd (npr. ukršteni), proizvedene od svinjskog aortnog zalistka ili slični izumi od goveđeg perikardijalnog tkiva, ugrađeni su u stotine hiljada pacijenata još od 1971. godine [40]. Međutim, više od polovine ovakvih zalistaka ugrađenih u pacijente su propali za 12-15 godina. Skoro svi zalistci u obliku bioproteza izvađeni pri ponovljenoj operaciji su ili pocepani ili su otvrdli ili oboje, kao rezultat unutrašnje kalcifikacije. Ubrzana akumulacija minerala koja dovodi do kvara zalistka za manje od 4 godine je skoro ujednačena kod dece sa bioprotezom u adolescentnom i preadolescentnom dobu [40]. Kalcifikacija je najizraženija u savitljivom području lukova, tačkama sa najvećim radnim naprezanjem zalistaka.

*Tabela 9.8 Proteze i naprave na koje utiče kalcifikacija biomaterijala [40]; modifikovano.*

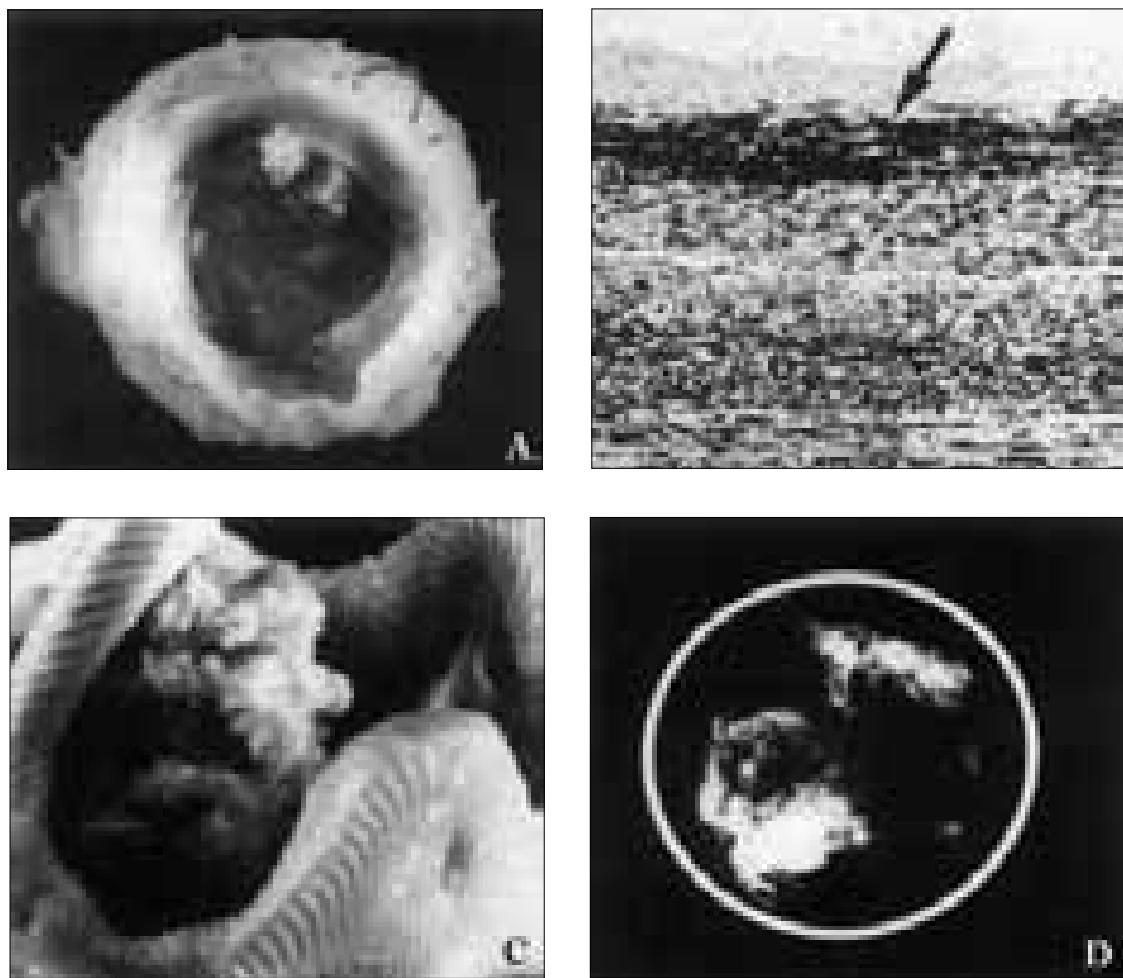
Biomaterijal	Konfiguracija	Rezultat
Glutaraldehydno pripremljen svinjski srčani zalistak ili goveđa srčana kesa Poliuretan	Proteza srčanog zalistka	Zagušenje zalistka ili nesposobnost rada
Poliuretan	Srčani ventrikularni pomocići sistemski mehuri	Nefunkcionalnost usled zapušenja ili procurivanja
Homograft aorte Sintetički kalem	Vaskularni kalem	Smetnje u kalemu ili zapušenje
Hidrogel	Meka kontaktna sočiva	Zamućenje
Silikonska guma ili poliuretan koji sadrži bakar ili druge agense	Unutar-materični kontraceptivni uređaji	Kontrola trudnoće neuspela zbog nefunkcionalnosti ili rasprskavanja
Silikonska guma ili poliuretan	Mokraćne proteze	Inkontinencija i/ili infekcija

Homografski zalistci su zalistci koji su izvađeni iz osobe koja je umrla, a zatim sterilisani, često dodatno konzervirani, i ugrađeni u drugu osobu. Ljudski presađe-

ni zalistci se široko koriste na klinikama poslednjih 30 godinama u rekonstruktivnoj hirurgiji urođenih srčanih mana ili usled stečenih bolesti zalistaka aorte, ili kao srčani kanali kod uklonjenog zalistka. Presađeni zalistak aorte je okružen aortnim sinusom. Mnogi homografti, bilo da sadrže ili ne sadrže zalistak (da bi zamenili veliki krvni sud), trpe kalcifikaciju i/ili degeneraciju zida aorte. Kalcifikacija pre-sađenih delova se primećuje bez obzira na korišćeni tip sterilizacione procedure. Kalcifikacija homografa aorte može da dovede do kvara proteze kao rezultat bilo disfunkcije zalistka ili zadebljanja aortnog zida usled nagomilavanja minerala.

### **Kalcifikacija polimernih mehurova u pumpama krvi**

Nagomilavanje kalcifikovanih kristala na savitljivim površinama mehurova ograničava radni vek pumpi krvi sastavljenih od poliuretana i korišćenih kao ven-



*Slika 9.11 Kalcifikovana klinička svinjska bioproteza srčanog zalistka uklonjena zbog jake kalcifikacije stvara suženje: (A) unutrašnja površina zalistka; (B) spoljašnja površina zalistka; (C) uvećanje velikog kalcifikacionog čvora oguljenog na površini; (D) radiografija srčanog zalistka prikazuje neprovidene, gусте kalcifikujuće naslage [40].*

trikularni pomoćni sistem ili potpuno veštačko srce. Do sada, kalcifikacija je primenjena samo kod eksperimentalnih životinja. Krutost prouzrokovana nagomilavanjem minerala može da dovede do pogoršanja karakteristika pumpe ili zalistaka usled gubitka savitljivosti mehura ili pojave pukotina, ili oboje. Kalcifikacija pumpe krvi, bez obzira na tip upotrebljenog poliuretana, uglavnom dominira duž savitljivih delova dijafragme, na spoju koji prekriva dijafragmu, ili na savitljivim delovima potiskivača kod pumpe ravnog tipa ili cilindrične dijafragme, nagoveštavajući da mehanički faktor ima važnu ulogu.

Kalcifikacija komponenti pumpe krvi može biti unutrašnja i spoljašnja. Kalcifikovani talog je često povezan sa mikroskopskim defektima površine, koji možda nastaju pri proizvodnji mehura ili su rezultat okolnih poremećaja ili mehaničkih efekata, dovodeći do naprnsnuća. Postoji hipoteza koja kaže da ovi površinski i unutrašnji defekti mogu da posluže kao potencijalna mesta za nagomilavanje kalcifikacija na glatkim polimernim površinama, ali ovo nije još uvek dokazano [40]. Ukoliko dođe do kalcifikacije izumrlih krvnih ćelija i njihovih unutarćelijskih komponenti na ovim mikroskopskim udubljenjima, to se naziva *spoljašnja kalcifikacija*. Međutim, kalcifikacija se javlja i ispod površine u odsustvu defekata (čisto unutrašnja) ili unutar sloja nagomilanih proteina i ćelija (pseudointima) na površini koju dodiruje krv (spoljašnja).

### ***Kalcifikacija unutarmateričnih kontraceptivnih naprava***

Kalcifikacija unutarmateričnih (intrauterinih) kontraceptivnih naprava doveđi do odvajanja ili do popuštanja u kontraceptivnoj funkciji. Nagomilavanje kalcifikovanih nasлага na napravama koje sadrže Cu može da spreči oslobađanje jona bakra ( $Cu^{2+}$ ) i tako da smanji efikasnost, s obzirom na to da je oslobađanje  $Cu^{2+}$  potrebno da bi se sprečilo začeće. Slično ovome, naslage kalcijuma koje reaguju sa aktivnom materijom mogu da budu problem kod kontraceptivnih sistema sa oslobađanjem hormona. Studije na izvađenim kontraceptivnim napravama, korišćenjem elektronskog mikroskopa povezanog sa mikroskopom sa X-zracima, pokazale su da skoro svi ispitivani uzorci imaju različite količine nagomilanog kalcijuma [40]. Kontraceptivne naprave koje su funkcionisale duži period imaju veće naslage, mada je manje nagomilavanje kod naprava koje oslobađaju hormone za sprečavanje začeće.

### ***Kalcifikacija mekih kontaktnih sočiva***

Naslage kalcijum fosfata (potiču od kalcijuma iz suza) dovode do zamućenja mekih kontaktnih sočiva, koja su napravljena od poli-2-hidroksietimetilakrilata [*poly-2-hydroxyethylmethylacrylate* (HEMA)] [40]. Kalcifikovane naslage rastu progresivno sa vremenom i skoro je nemoguće otkloniti ih bez uništavanja sočiva. Kalcifikacija mekih sočiva je često povezana sa povišenim nivoom kalcijuma u suzama. Ne postoji materijal za meka sočiva koji je otporan, mada su se sočiva od poliglicerilmetil metakrilata pokazala boljim od HEMA mekih sočiva. Poboljšana procena stanja očnog sistema i oka može da pomogne u otkrivanju pacijenata sa rizikom od prevremenog propadanja sočiva, a poboljšanja u materijalima sočiva mogu da dovedu do materijala koji manje kalcifikuju.

### **Skorevanje na urinarnim protezama**

Povećana upotreba polimernih proteza u cilju sprečavanja urinarnog začepljenja ili nekontrolisanog mokrenja privukla je pažnju na učestalo formiranje mineralnih naslaga na površinama ovih naprava. Ovaj problem je razmatran na protezama implantiranim u urinarni kanal ili veštačkim urinarnim kanalom i kod muškaraca i kod žena. Taloženje može da dovede začepljenja urinarne naprave. Mineralna naslaga se sastoji ili od hidroksiapatita ili od struvita, jednog amonijum- i magnezijum-sadržavajućeg fosfatnog minerala [40]. Iako postoje neki dokazi da se naslage povećavaju u prisustvu bakterijskih infekcija ovo nije potvrđeno. Nasuprot tome, naslage mogu da učine implantat podložnim bakterijskoj infekciji.

### **9.4.2 Procenjivanje kalcifikacije biomaterijala**

Kalcifikovane naslage se ispituju kombinovanjem hemijskih i morfoloških tehnika. Morfološke tehnike pomažu ocrtavanju mikroskopskih i ultrastrukturnih (fina struktura nevidljiva optičkim mikroskopom) naslaga kalcijuma (Tabl. 9.9) [40], a hemijske tehnike služe da bi se identifikovali i izmerili mineralni konstituenti i minerali u kristalnoj fazi. Neke morfološke tehnike dozvoljavaju specifična tačkasta merenja.

*Tabela 9.9 Metode procene kalcifikacije [40]*

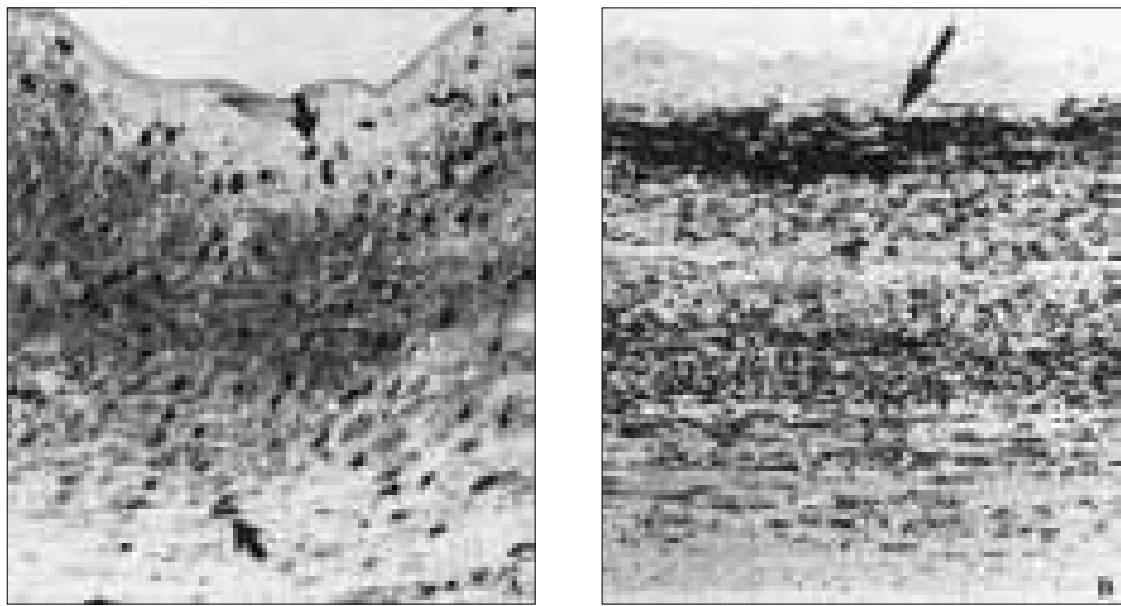
Tehnika	Priprema uzorka	Analitički rezultati
<i>Morfološke procedure</i>		
Pregled krupnog uzorka	Krupni uzorak	Celokupna morfologija
Radiografija	Krupni uzorak	Raspodela kalcifikacije
Svetlosna mikroskopija – <i>von Koss-a</i> ili alizarin crveno	Formalin ili fiksiran glutaraldehid	Mikroskopska raspodela kalcijuma
Transmisiona elektronska mikroskopija	Fiksiran glutaraldehid	Ultrastruktura minerala
Skenirajuća elektronska mikroskopija sa elektronskom mikrosondom	Fiksiran glutaraldehid	Elementalna lokalizacija
Spektroskopija sa gubitkom energije elektrona	Fiksiran ili zamrznuti glutaraldehid	Elementalna lokalizacija (najveća osetljivost)
<i>Hemijske procedure</i>		
Apsorpcija atoma	Pepeo ili hidrolizat kiseline	Masa $\text{Ca}^{2+}$
Analiza fosfatnim merenjem boja	Pepeo ili hidrolizat kiseline	Masa $\text{PO}_4^{3-}$
Difrakcija X-zraka	Prašak	Kristalna faza
Infracrvena spektroskopija	Prašak	Karbonatna mineralna faza

### Morfološka procena

Morfološka raspodela kalcifikacija se analizira pomoću brojnih dostupnih i već dobro utvrđenih tehnika koje idu od direktnog grubog ispitivanja ili snimanja X-zracima izvađene proteze do sofisticirane tehnike elektronske spektroskopije. Svaka od tehnika ima jedinstvene prednosti; kombinovanjem više različitih pristupa moguće je dobiti sveobuhvatno razumevanje strukture i sastava svakog tipa kalcifikacije.

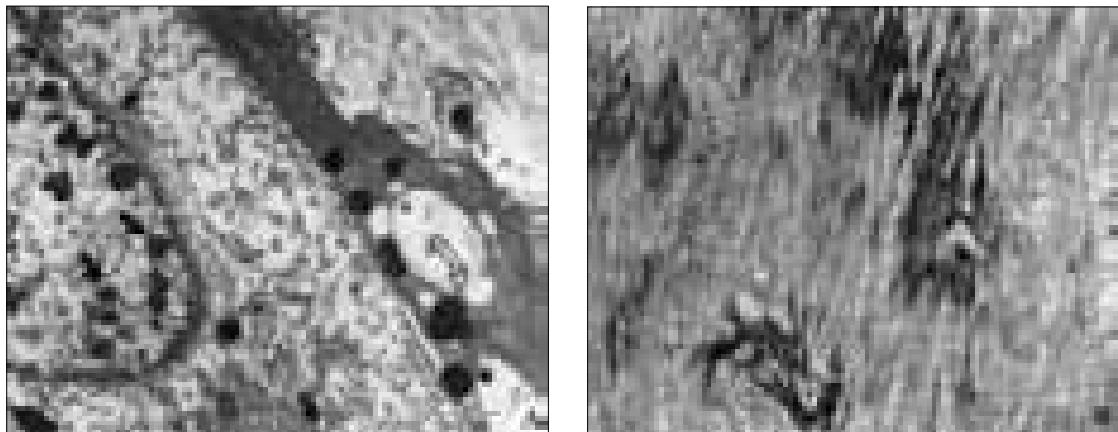
Tokom pažljivog ispitivanja, često pod mikroskopom male snage, X-zraci se koriste da bi se utvrdila distribucija minerala unutar izvađenih bioproteza srčanih zalistaka i pomoćnih ventrikularnih sistema. Tehnika obuhvata stavljanje izvađene proteze na ploču za snimanje X-zracima i izlaganje uzorka snopu X-zraka nivoa energije 35 keV tokom jednog minuta u posebnom uređaju za rendgensko snimanje malih uzoraka [40]. Mineralizacija se na snimcima vidi kao svetla površina.

Svetlosna mikroskopija kalcifikovanog tkiva se takođe često koristi. Identifikacija minerala se postiže upotrebor boja koje su specifične za kalcijum, odnosno fosfata, kao što su alizarin crvena (kalcijum) ili *fon Koss-a* (fosfati) (Sl. 9.12) [40]. Obe ove histološke boje su dostupne i mogu se lako primeniti na isečke parafinskih ili plastičnih ugrađenih tkiva. Ove boje su najkorisnije za potvrdu i karakterizaciju sumnjivih kalcifikovanih oblasti primećenih tokom rutinske tehnike bojenja hematoksilinom i eosinom.



*Slika 9.12 Svetlosni mikroskopski prikaz napredujuće kalcifikacije na eksperimentalnom tкиvu svinjskog srčanog zalistka implantiranog u pacove stare 3 nedelje, prikazan pojačanim bojama: (A) 72 časa posle implantacije vide se početne diskrette gomile (vidi strelice); (B) posle 21. dana vide se početne formacije čvorića (vidi strelicu). Oba uzorka obojena su pomoću von Koss-a boje (kalcijum fosfatna crna) (A) x 356, (B) x 190 [40].*

Tehnika elektronskog mikroskopa, obuhvata bombardovanje uzorka izuzetno dobro fokusiranim elektronskim zrakom, nudi više mogućnosti u karakterizaciji kalcifikacija KVS-a [41]. Skenirajući elektronski mikroskop, koji snima rasejanje elektronskog zraka unazad, može se povezati sa lokalizacijom hemijskih elemenata pomoću analize energetske disperzije X-zraka [*energy-dispersive X-ray analysis (EDXA)*], i tako omogućujući polukvantitativnu procenu lokalnog napredovanja naslaga kalcijuma i fosfata na specifičnim mestima. Analiza transmisionim elektronskim mikroskopom (Sl. 9.13) fine strukture kalcifikacija takođe olakšava razumevanje početnih tačaka kalcifikacijskih kristala [40]. Ovo se široko koristi za ispitivanje kalcifikacije veštačkih srčanih zalistaka.



*Slika 9.13 Transmisiona elektronska mikroskopija kalcifikacije eksperimentalnog svinjskog srčanog zalistka implantiranog potkožno u pacove stare 3 nedelje: (A) 48 sati posle implantacije vide se fokalne kalcifikovane naslage u jedru jedne od ćelija (tamne strelice) i citoplazmi dve ćelije (svetle strelice), n – nukleus (jedro), c – citoplazma; (B) 21. dan posle implantiranja vidi se kalcifikacija kolagena. Razmera je 2 μm. Ultratanki odeljci obojeni su pomoću uranil acetata i olovne kiseline [40]*

Elektronska mikrosonda ili, u poslednje vreme, spektroskopija energetskih gubitaka elektrona [*electron energy loss spectroscopy (EELS)*] su tehnike koje spajaju transmisionu elektronsku mikroskopiju sa visoko osjetljivom analizom hemijskih elemenata. Ove tehnike obezbeđuju najmoćnije načine za lokalizaciju strukture naslaga kalcijum fosfata.

Furijeova transformisana infracrvena slika [*Fourier transform infrared (FT-IR) imaging*] i mikrospektroskopija se intenzivno primenjuju za analizu zdravih i bolesnih tkiva. Prostorno uređeni detalji daju uvid u: molekularne promene u bolestima veziva ili kolagen-baziranih tkiva, osteoporozu, *osteogenesis imperfecta*, osteopetrozu i patološke kalcifikacije [42].

### **Hemijska procena**

Potrebno je izmeriti kalcijum i fosfor u kalcifikovanom biomaterijalu da bi se napravilo relevantno poređenje u smislu opasnosti naslaga i efikasnosti preven-

tivnih mera. Tehnike koje se koriste za ispitivanje veličine minerala, kao i za stepen razvoja minerala u kostima, mogu biti od koristiti i za biomaterijale. Uzorci za analizu minerala se najbolje pripremaju u obliku uniformnog praha bilo mlevenjem u tečnom azotu ili preciznim seckanjem smrznutih osušenih uzoraka. Kalcijum se meri upotrebom atomske absorpcione spektroskopije pomoću kiselinom hidroliziranih tkiva [40]. Praškasti uzorak zagrevan u peći je još jedan od načina pripreme izvađenog materijala za kalcijumovu i fosfatnu analizu. Fosfor, kao fosfat, se često meri upotrebom tehnike jedinjenja molibdenovih soli sa spektrofotometrijskom detekcijom [40].

Kristalisani kalcijum fosfat, kao što je hidroksiapatit, stvara prave mineralne naslage. Tip kristalisane forme kalcijum fosfata (mineralna faza) može se odrediti difrakcijom X-zracima. Praškasti uzorci su takođe pogodni za analizu mineralne faze pomoću difrakcije X-zracima. Analize praha koriste *Debye-Scherer* kameru, zahtevaju minimalnu količinu materijala i daju sliku difrakcije X-zracima rotiranjem uzorka u kapilarnoj cevi kroz snop X-zraka u prisustvu fotografске emulzije [40]. Uzorci se mogu analizirati i na prisustvo ugljenika u mineralnoj fazi upotrebom infracrvene spektroskopije [40].

#### **9.4.3 Pregled eksperimentalnih modela i patološke fiziologije**

##### ***Opšta razmatranja***

Uobičajena razmatranja različitih biomaterijala povezanih sa kalcifikacijama uključuju takve karakteristike kao što je mineralizacija ćelijskih membrana koje su još u formiranju, adsorbovanih i isušenih izumrlih ćelijskih membrana; pridruženo izbacivanje različitih proteina u kojima je vezan kalcijum; i vidljivi porast kalcifikacije usled mehaničkih uticaja. Sve ove karakteristike su uporedive sa aspektima mineralizacije kostiju. Ćelijska i membranska kalcifikacija mogu nastati u delu tela usled visoke koncentracije fosfora koji je normalno prisutan u ćelijskim membranama i nukleinskim kiselinama.

Ćelijska membrana sadrži visok nivo enzima, alkalnih fosfata, za koje se smatra da igraju ulogu u inicijaciji normalne mineralizacije kostiju. Proteini koji sadrže kalcijum imaju amino-kiseline koje sadrže kalcijum, kao što je  $\gamma$ -karboksiglutaminska kiselina ili amino-malonska kiselina, i prisutne su u kostima, kao i u patološkim kalcifikacijama i mogu, takođe, da uzmu ulogu u inicijaciji taloženja minerala [40]. Povećanje taloženja usled potresa može se pojaviti kao rezultat povrede ćelije i propijene membrane na mestima velikih naprezanja.

##### ***Kardiovaskularna kalcifikacija***

Napravljen je životinjski model radi istraživanja kalcifikacija bioproteze srčanih zalistaka, presađene aorte, pomoćnih srčanih uređaja i trolisnih krakih polimernih zalistaka (Tabl. 9.10) [40]. Eksperimentalni KVS implantati svakog od tipova imaju kalcifikacije. Troškovi i tehnička složenost postavljaju bitna ograničenja svim mod-

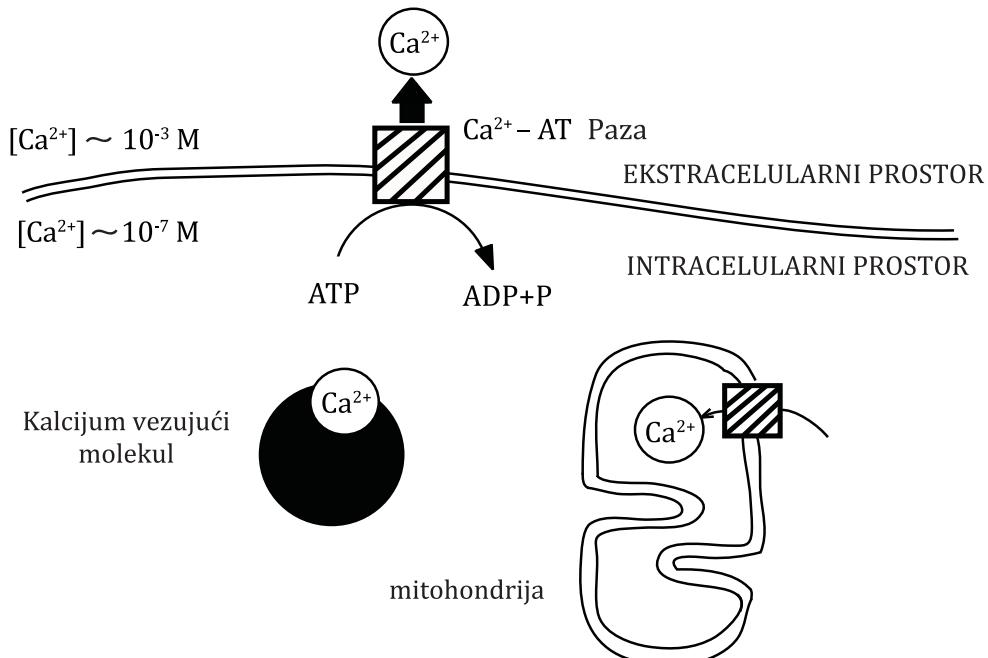
elima KVS-a, zato što ovi modeli sistema zahtevaju upotrebu velikih životinja kao što su ovce ili goveda, a ugradnja mora da se izvede korišćenjem složenih tehnika kao što je kardiopulmonalni bajpas. Ipak, kalcifikacija bioprotetičkih srčanih zalistaka se izvodi sa subdermalnim (ispod kože) modelima implantata na različitim vrstama, kao što su pacovi, zečevi i miševi. Subdermalni bioprotetički implantati pokazuju patološku kalcifikaciju uporedivu sa onom koja se sreće kod izvađenih implantata KVS-a, uz prednosti: (1) da je kalcifikacija upadljivo ubrzana; (2) da je model dovoljno ekonomičan, pa se može proučavati veliki broj uzoraka pod zadatim eksperimentalnim uslovima, čime se obezbeđuje kvantitativno statističko poređenje; i (3) da se uzorci brzo dobijaju od eksperimentalnih životinja i na taj način omogućava intenzivna obrada potrebna za sofisticirane morfološke analize [40]. Poliuretanska kalcifikacija se, takođe, proučava subdermalnim implantatima kod pacova, koji pokazuju kalcifikovane naslage uporedive sa onima u krvotoku.

*Tabela 9.10 Eksperimentalni modeli kalcifikacije [40]*

Tip	Sistem	Trajanje
Kalcifikacija bioproteze srčanog zalistka	Potkožna implantacija u pacovu Zamena srčanog zalistka u teletu ili ovci	3 nedelje 5 meseci
Kalcifikacija poliuretana	Implantacija veštačkog srca u teletu ili ovci Implantacija trolisnog polimernog srčanog zalistka u teletu ili ovci Potkožna implantacija u pacovu	5 meseci 5 meseci 2 meseca
Kalcifikacija hidrogela	Potkožna implantacija u pacovu	3 nedelje
Kalcifikacija kolagena	Potkožna implantacija u pacovu	3 nedelje
Urinarno skorevanje (enkrustacija)	<i>In vitro</i> inkubacija <i>In vivo</i> implantati u bešici (u pacova i zečeva)	Nekoliko sati – dana 10 nedelja

### ***Patologija kalcifikacija eksperimentalnih bioprotetičkih srčanih zalistaka***

Subdermalni i cirkulatorni implantati bioprotetičkih tkiva srčanih zalistaka u životinjskom modelu razjasnili su patofiziologiju kalcifikacije, koje se pojavljuju u značajnom kliničkom implatatornom sistemu. Kalcifikacija dva osnovna tipa biomaterijala korišćenih u bioprotezama, nazvani glutaraldehidom predtretirani svinjski aortni zalistci ili glutaraldehidom predtretirani goveđi perikard, praktično su identična. Kalcifikacija u bioprotetičkim srčanim zalistcima nastaje kao interakcija faktora domaćina i implantata. Najvažniji faktor domaćina je mlađe godište, uz značajniju kalcifikaciju kod nezrelih životinja. Najvažniji faktor implantata je predtretiranje glutaraldehidom bioprotetičkog tkiva. Prepostavlja se da posrednik



*Slika 9.14 Održavanje fiziološkog gradijenta slobodnog kalcijuma preko ćelijske membrane označava se kao energijski zavisan proces. Sa smrću ćelije ili disfunkcionalnošću membrane, formacija kalcijum fosfata može proistekti unutar ćelijskih struktura [40].*

poprečnog spajanja, glutaraldehid, stabiši i možda modifikuje fosforom bogate kalcifikovane strukture u bioprotetičkom tkivu. Ova mesta pokazuju sposobnost mineralizacije nakon implantacije kada se izlože visokom nivou kalcijuma ili vanćelijskoj tečnosti. Mineralizacija zavisi od osetljivog supstrata u blagoj sredini.

Ova mesta početne kalcifikacije su izumrle ćelije ili ostaci membrane (Sl. 9.14) [40]. Žive ćelije normalno održavaju unutarćelijski nivo kalcijuma koji je 10.000 puta manji nego u međućelijskoj tečnosti. Ćelije mogu da kalcifikuju nakon tretmana glutaraldehidom zato što posrednik poprečnog spajanja stabiši sve naslage fosfora, ali normalni mehanizam za izbacivanje kalcijuma nije moguć u tkivu tretiranim glutaraldehidom. Kasnije u procesu kalcifikacije, strukturni protein, kolagen, koji je rasprostranjen u bioprotetičkom tkivu, takođe kalcifikuje. Početne unutarstrukturne kalcifikacijske naslage konačno narastaju i spajaju se, što rezultuje velikim mineralisanim čvorićima koji prouzrokuju nepravilan rad proteze.

### **Mineralizacija urinarnih implantata: *in vitro* i *in vivo* sistemi modela kalcifikacije**

Eksperimentalni sistemi koji imitiraju skorevanje (enkrustaciju) urinarnih protetičkih implantata koriste *in vitro* sistem sa sintetičkom tečnošću koja ima pH faktor i mineralni sastav približan onom u ljudskom urinu ili bešične implantate u eksperimentalnim životinjama. Polimerna površina koja se testira postavlja se

u tok sintetičkog urina na 37°C i posmatra se formiranje mineralne kore (kruste). Sistem je posebno pogodan za pronalaženje mogućih poboljšanja protetičkih materijala koji mogu da spreče urinarno skorevanje. Iako je ovaj sistem tehnički napredniji zbog raznih pogodnosti i niske cene, pitanje *in vivo* fenomena je njegova velika mana. Implantati bešike napravljeni od polimernih materijala postavljenih u zečeve ili pacove, kao što su silikonski elastomeri, takođe formiraju koru [40].

### **Kalcifikacija hidrogela**

Subdermalni model u pacova se vrlo uspešno koristi za proučavanje kalcifikacije poli-hidroksi-eti-metaka-krilat hidrogela korišćenih u kontaktnim sočivima [40]. Kao i kod bioprotetičkih srčanih zalistaka, mlađe doba pospešuje mineralizaciju ovog sistema. Primećene su značajne razlike u brzini i količini kalcifikacije hidrogela između pacova u razvoju (6 sedmica starih) i odraslih pacova (> 12 sedmica starih) [40]. Početak kalcifikacije kod odraslih pacova je bio značajno odložen, a mlađi pacovi su imali naslage koje su značajno veće od onih kod odraslih životinja nakon istog perioda implantacije. Distribucija kalcifikovanih naslaga je bila ista kao ona zabeležena pri kalcifikaciji kontaktnih sočiva, što je najvažnije. Međutim, malo se zna o patogenezi ovog poremećaja.

### **Kalcifikacija kolagena**

Implantati koji sadrže kolagen su u širokoj upotrebi u hirurškoj primeni, kao što su proteze tetiva i hirurški apsorpcioni sunđeri. Kalcifikacija ovih tipova biomaterijala takođe dovodi u pitanje njihovu upotrebljivost zahvaljujući otvrdnjavanju tetiva izazvanim naslagama kalcijum fosfata. Kalcifikacija kolagenskih implantata se proučava korišćenjem subdermalnog modela u pacova, kao i drugih modela u drugih životinja [43]. Prethodni tretman implantata kolagenog sunđera napravljenog od prečišćenog kolagena sa glutaraldehidom ili formaldehidom ubrzava njihovu kalcifikaciju, mada stepen kalcifikacije ne utiče na stepen spajanja [43].

#### **9.4.4 Sprečavanje kalcifikacije**

Proučavane su tri strategije za sprečavanje kalcifikacija implantata od biomaterijala: (1) sistematska terapija sa antikalcifikacijskim preparatima; (2) lokalna terapija sa implantiranim uređajima za isporuku lekova; i (3) modifikacije biomaterijala, uklanjanjem kalcifikacijske komponente, dodavanjem spoljašnjih sredstava ili hemijskim izmenama [40]. Istraživanja određene antikalcifikacijske strategije moraju da pokažu ne samo efikasnost terapije već odsustvo neželjenih efekata. Neželjeni efekti u ovom okruženju mogu da uključe sistematsku ili lokalnu toksičnost, tendenciju ka trombozi, indukciju imunoloških efekata ili narušavanja, sa neposrednim progresivnim gubitkom mehaničkih osobina ili stabilnosti. Loša strana upotrebe antikalcifikacijskih lekova je sporedni efekat na kosti, koji smanjuje kalcijum fosfat u kostima. Sprečavanje sporednih efekata na kosti sa sprečavanjem kalcifikacije bioprotetičkih srčanih zalistaka se zasniva na modifikovanju

biomaterijala ili istovremenom implantiranju sistema za unošenje lekova spojenih sa protezama (Tabl. 9.11) [40].

*Tabela 9.11 Sprečavanje kalcifikacije biomaterijala [40]; modifikovano.*

Strategija	Primena	Mehanizam rada
Predtretman deterdžentom	Gluteraldehidno predtretirani biomaterijali	Modifikacije električnog naboja ili ekstrakcija fotolipida
Al <sup>3+</sup> ili Fe <sup>3+</sup> predtretman	Gluteraldehidno predtretirani biomaterijali	Ograničava rast mineralne faze
Aminodifosfonat ili etanhidroksidifosfonat kovalentno vezivanje	Gluteraldehidno predtretirani biomaterijali i poliuretani	Ograničava rast mineralne faze
Difosfonati (kontrolisano oslobođanje)	Svi implantati	Ograničava rast mineralne faze
Al <sup>3+</sup> (kontrolisano oslobođanje)	Svi implantati	Ograničava rast mineralne faze
Protamin predtretman	Gluteraldehidno predtretirani biomaterijali	Modifikacije električnog naboja

Bioproteza listova srčanih zalistaka prethodno tretirana deterdžentom sprečava kalcifikaciju i u subdermalnih implantata pacova i u implantata u krvotoku ovce [40]. Mehanizam delovanja ovog tipa smanjivanja nije uspostavljen, ali to može da bude zbog probijanja ili razdvajanja ćelija i ćelijskih ostataka koji doprinose razvoju kalcifikacijskih lezija. Fosfolipidi u ćelijskoj membrani, koji se smatraju za glavnu kalcifikacijsku komponentu, bivaju skoro potpuno uklonjeni umerenim tretmanom deterdžentom. Ipak, pri eksperimentalnom proučavanju, prethodno tretiranje deterdžentom se pokazalo da je samo trenutno efikasno u krvotoku, možda zbog ponovne apsorpcije fosforolipa iz krvi, koji tako naizgled samo odlaže početak kalcifikacije.

Prethodno je neophodno, ako je moguće, dijagnostikovati kalcifikaciju implantnog biomaterijala u određenim tkivnim strukturama ili organima [40].

Upotreba specifičnih antikalcifikacijskih lekova je još jedan važan pristup u sprečavanju kalcifikacije biomaterijala. Bisfosfonati (npr., alendronat, risedronat) su enzim-rezistentni lekovi analogni pirofosfatu, koji normalno inhibiše mineralizaciju kosti, kočeći formiranje hidroksiapatita *in vitro* i *in vivo* [44]. Međutim, efikasna sistemska terapija bisfosfonatima uvek rezultuje sporednim efektima na kosti sa povećanim rizikom od frakturna zbog redukovane kalcifikacije [45]. Ovo se dešava zbog sličnog mehanizma kalcifikacije bioprotetičkog tkiva i kostiju. Ipak, sistemski neželjeni efekti prouzrokovani bisfosfonatima se u potpunosti izbegavaju upotrebljom kontrolisanog oslobođanja polimera kao ko-implantata ili kovalentnim spajanjem jedinjenja kao što su aminobisfosfonat sa preostalom aldehidnim funkci-

jama sa glutaraldehid ukršteno povezanim bioprotetičkim tkivom [40]. Difosfonati kovalentno vezani sa poliuretanom takođe sprečavaju kalcifikaciju [40].

Još jedan potencijalno koristan pristup sprečavanju kalcifikacije uključuje upotrebu *specifičnih metalnih jona* koji su kalcifikacijski inhibitori. Prethodni tretman bioprotetičkih srčanih zalistaka sa  $\text{Al}^{3+}$  pokazao je da sprečava mineralizaciju implantata bez opštih sporednih efekata. Ovaj postupak je predložen nakon uočavanja da pacijenti sa bolestima bubrega koji su tretirani sa  $\text{Al}^{3+}$  u tragovima imaju nedovoljno kalcifikovane kosti [40]. Mehanizam delovanja  $\text{Al}^{3+}$  prema sprečavanju kalcifikacija se pokazao usmeren, bar u jednom delu, prema sprečavanju rasta kristala hidroksiapatita. Ostali metalni katjoni koji su pokazali inhibiciju prema kristalizaciji hidroksiapatita *in vitro*, kao što su  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Ga}^{3+}$  i  $\text{Cd}^{2+}$  mogu takođe biti korisni u sprečavanju kalcifikacije [40].

Modifikacija naelektrisanja goveđeg perikarda, prethodno tretiranog glutaraldehidom pomoću kovalentne veze *protamina*, takođe sprečava kalcifikaciju ovog biomaterijala u eksperimentima [40]. Protamin je veoma pozitivno naelektrisani protein, koji može stopirati kalcifikaciju odbijanjem  $\text{Ca}^{2+}$  jona, i time sprečiti formiranje kalcijum fosfata [40].

## 9.5 PITANJA ZA REKAPITULACIJU

- 9.1 Šta je biodegradacija?
- 9.2 Koje čelije vrše degradaciju biomaterijala u organizmu?
- 9.3 Od čega se sastoji degradacija biomaterijala?
- 9.4 Šta obuhvata mehaničko raspadanje u biološkoj sredini?
- 9.5 Koji materijali su najotporniji na habanje?
- 9.6 Da li prisustvo proteina može uticati na brzinu korozije nekih metala?
- 9.7 Postoji li granica opterećenja (izdržljivosti) ispod koje pucanje izazvano korozijom ne nastupa?
- 9.8 Da li se kalcifikacija biomaterijala može zaustaviti upotrebom lekova bez sporednih štetnih efekata po organizam?
- 9.10 Kako se sprečava kalcifikacija biomaterijala?

## 9.6 LITERATURA

1. T.M. Devlin, Eucaryotic cell structure, in: T.M. Devlin (ed.), *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations*, 5th Ed. (Wiley-Liss, New York, 2002), Sect. 1.2.
2. R.M. Schultz, M.N. Lieberman, Charge and Chemical Properties of Amino Acids and Proteins, in: T.M. Devlin (ed.), *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations*, 5th Ed. (Wiley-Liss, New York, 2002), Sect. 3.3.

3. J.L.York, Mechanism of Catalysis, in: T.M. Devlin (ed.), *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations*, 5th Ed. (Wiley-Liss, New York, 2002), Sect. 10.8.
4. T.M. Devlin, Normal Clinical Values: Blood, in: T.M. Devlin (ed.), *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations*, 5th Ed. (Wiley-Liss, New York, 2002), On The Inside of The Back Page.
5. T.M. Devlin, Normal Clinical Values: Urine, in: T.M. Devlin (ed.), *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations*, 5th Ed. (Wiley-Liss, New York, 2002), On The Inside of The Back Page.
6. H.P. Rang, M.M. Dale, J.M. Ritter, P.K. Moore, Drug elimination and pharmacokinetics, in: *Pharmacology*, 5th Ed. (Churchill Livingstone, Edinburgh, 2003), Sect. 1.8.
7. B.D. Ratner, Introduction, in: B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 1th Ed. (Academic Press, San Diego, 1996), Sect. 2.6.1.
8. A.J. Coury, Chemical and Biochemical Degradation of Polymers, in: B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 1th Ed. (Academic Press, San Diego, 1996), Sect. 2.6.2.
9. L.C. Abraham, J.F. Dice, K. Lee, D.L. Kaplan, Phagocytosis and remodeling of collagen matrices. *Experimental Cell Research.* 313(5) (2007) 1045-1055.
10. Garca-Alonso M.C., Saldana L., Valles G., Gonzalez-Carrasco J.L., Gonzalez-Cabrero J., Martnez M.E., Gil-Garay E., Munuera L., In vitro corrosion behaviour and osteoblast response of thermally oxidised Ti6Al4V alloy. *Biomaterials* 24(1) (2003) 19-26(8).
11. Escudero M.L., Munoz-Morris M.A., Garcia-Alonso M.C., Fernandez-Escalante E., In vitro evaluation of a  $\gamma$ -TiAl intermetallic for potential endoprosthetic applications. *Intermetallics* 12(3) (2004) 253-260(8).
12. Hiromoto S., Hanawa T., Asami K., Composition of surface oxide film of titanium with culturing murine fibroblasts L929. *Biomaterials* 25(6) (2004) 979-986(8).
13. Pezzotti G., Stress microscopy and confocal Raman imaging of load-bearing surfaces in artificial hip joints. *Exp. Rev. Med. Dev.* 4(2) (2007) 165-189(25).
14. J.M. Anderson, Inflammation, Wound Healing, and the Foreign-Body Response, in: B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.4.2.
15. V. Kumar, A.K., Abbas, N. Fausto, Acute and Chronic Inflammation, in: V. Kumar, A.K., Abbas, N. Fausto (eds.), *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 7th Ed. (Elsevier/Saunders, Philadelphia, 2005), Sect. 1.2.
16. Q. Zhao, M. Agger, M. Fitzpatrick, J. Anderson, A. Hiltner, P. Stokes, P. Urbanski, Cellular interactions with biomaterials: In vivo cracking of pre-stressed pellethane 2363-80A. *J. Biomed. Mater. Res.* 24 (1990) 621-637.
17. Q. Zhao, N. Toppan, J.M. Anderson, A. Hiltner, G. Lodoen, C.R. Payet, Foreign-body giant cells and polyurethane biostability: In vivo correlation of cell adhesion and surface cracking. *J. Biomed. Mater. Res.* 25 (1991) 177-183.
18. M. Bouvier, A.S. Chawla, L. Hindberg, In vitro degradation of a poly (ether urethane) by trypsin. *J. Biomed. Mater. Res.* 25 (1991) 773-789.

19. Q. Zhao, C. Casas-Bejar, P. Urbanski, K. Stokes, Glass wool-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/CoCl<sub>2</sub> for in vitro evaluation of biodegradative stress cracking in polyurethane elastomers. *J. Biomed. Mater. Res.* 29 (1995) 467-475.
20. K. Sutherland, J.R.II. Mahoney, A.J. Coury, J.W. Eaton, Degradation of biomaterials by phagocyte-derived oxidants. *J. Clin. Invest.* 92 (1993) 2360-2367.
21. A. Danilov, T. Tuukkanen, J. Tuukkanen, T. Jämsä, Biocompatibility-related surface characteristics of oxidized NiTi. *J. Biomed. Mater. Res. A.* (2007) Feb 26.
22. D. Jiang, S. Zhang, H. Zhao, Photocatalytic degradation characteristics of different organic compounds at TiO<sub>2</sub> nanoporous film electrodes with mixed anatase/rutile phases. *Environ. Sci. Techn.* 41(1) (2007) 303-308.
23. D.F. Williams, R.L. Williams, Degradative Effects of the Biological Environment on Metals and Ceramics, in: B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 1th Ed. (Academic Press, San Diego, 1996), Sect. 2.6.3.
24. M. Aviv, I. Berdichevsky, M. Zilberman, Gentamicin-loaded bioresorbable films for prevention of bacterial infections associated with orthopedic implants. *J. Biomed. Mater. Res. A.* (2007) Mar 5.
25. N.F. Steinmetz, G.P. Lomonossoff, D.J. Evans, Decoration of cowpea mosaic virus with multiple, redox-active, organometallic complexes. *Small.* 2(4) (2006) 530-533.
26. H.W. Kim, Biomedical nanocomposites of hydroxyapatite/polycaprolactone obtained by surfactant mediation. *Biomed. Mater. Res. A.* (2007) Mar 27.
27. M. Noda, J.C. Wataha, H. Kachi, J.B. Lewis, R.L. Messer, H. Sano, Radicals produced by blue-light-resin interactions alter the redox status of THP1 human monocytes. *J. Biomed. Mater. Res. A.* (2007) Mar 23.
28. C.R. McMillin, Mechanical Breakdown in the Biological Environment, in: B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 1th Ed. (Academic Press, San Diego, 1996), Sect. 2.6.4.
29. K.T. Oh, D.K. Kang, G.S. Choi, K.N. Kim, Cytocompatibility and electrochemical properties of Ti-Au alloys for biomedical applications. *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.* (2007) Mar 23.
30. M. Koike, P.E. Lockwood, J.C. Wataha, T. Okabe, Initial cytotoxicity of novel titanium alloys. *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.* (2007) Mar 23.
31. C. Wu, J. Chang, Degradation, bioactivity, and cytocompatibility of diopside, akermanite, and bredigite ceramics. *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.* (2007) Feb 22.
32. A. Hensten-Pettersen, N. Jacobsen, Systemic Toxicity and Hypersensitivity, in: B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.4.5.
33. K. Twite, Neoplasia: A Disorder of Cell Proliferation and Differentiation, in: C.M. Porth (ed.), *Essentials of Pathophysiology: Concepts of Altered Health States*, 2nd Ed. (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007), Sect. 1.5.
34. F.J. Schoen, Tumorogenesis and Biomaterials, in: B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd Ed. (Elsevier, Amsterdam, 2004), Sect. 2.4.7.

- 
35. S. Nath, S. Bodhak, B. Basu, Tribological investigation of novel HDPE-HAp-Al(2)O(3) hybrid biocomposites against steel under dry and simulated body fluid condition. *J. Biomed. Mater. Res. A.* (2007) Mar 30.
  36. F. Witte, H. Ulrich, C. Palm, E. Willbold, Biodegradable magnesium scaffolds: Part II: Peri-implant bone remodeling. *J. Biomed. Mater. Res. A.* (2007) Mar 27.
  37. S.H.Oh, S.G. Kang, E.S. Kim, S.H. Cho, J.H. Lee, Fabrication and characterization of hydrophilic poly(lactic-co-glycolic acid)/poly(vinyl alcohol) blend cell scaffolds by melt-molding particulate-leaching method. *Biomaterials.* 24(22) (2003) 4011-4021.
  38. R. Singha Roy, A. Mondal, A. Chanda, D. Basu, MK. Mitra, Sliding wear behavior of sub-micron-grained alumina in biological environment. *J. Biomed. Mater. Res. A.* (2007) Mar 16.
  39. S.W. Cho, O. Jeon, J.E. Lim, S.J. Gwak, S.S. Kim, C.Y. Choi, D.I. Kim, B.S. Kim, Preliminary experience with tissue engineering of a venous vascular patch by using bone marrow-derived cells and a hybrid biodegradable polymer scaffold. *J. Vasc. Surg.* 44(6) (2006) 1329-1340.
  40. Y. Pathak, F.J. Schoen, R.J. Levy, Pathologic Calcification of Biomaterials, in: B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 1th Ed. (Academic Press, San Diego, 1996), Sect. 2.6.5.
  41. B. Zywicka, A. Czarny, E. Zaczynska, J. Karaś, Activation of nuclear factor kappaB (NF-kappaB), induction of proinflammatory cytokines in vitro and evaluation of biocompatibility of the carbonate ceramic in vivo. *Polimery W. Medycynie* 36(3) (2006) 23-35.
  42. A. Boskey, N.P. Camacho, FT-IR imaging of native and tissue-engineered bone and cartilage. *Biomaterials* 28(15) (2007) 2465-2478.
  43. J.J. Yoo, J.E. Lee, H.J. Kim, S.J. Kim, J.H. Lim, S.J. Lee, J.I. Lee, Y.K. Lee, B.S. Lim, S.H. Rhee, Comparative in vitro and in vivo studies using a bioactive poly(epsilon-caprolactone)-organosiloxane nanohybrid containing calcium salt. *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.* (2007) Mar 23.
  44. B.D. Porter, A.S.P. Lin, A. Peister, D. Hutmacher, R.E. Guldberg, Noninvasive image analysis of 3D construct mineralization in a perfusion bioreactor. *Biomaterials* 28(15) (2007) 2525-2533.
  45. H.P. Rang, M.M. Dale, J.M. Ritter, P.K. Moore, Bone metabolism, in: *Pharmacology*, 5th Ed. (Churchill Livingstone, Edinburgh, 2003), Sect. 3.30.

**STRUKTURA,  
FIZIČKO-MEHANIČKA  
KARAKTERIZACIJA  
I MODELIRANJE  
BIOMATERIJALA I TKIVA**

..... →

**D E O**





# 10

## ELEKTRONSKA I PROSTORNA STRUKTURA BIOMATERIJALA<sup>1</sup>

Elektronska struktura atoma koji izgrađuju materijale određuje prirodu hemijskih veza u njima kao i prostornu uređenost njihove strukture, što sa svoje strane utiče na različita svojstva biomaterijala.

Nesavršenosti u prostornoj strukturi igraju suštinsku ulogu u razumevanju deformacije i mehaničkih karakteristika biomaterijala. Takođe, kretanje atoma, poznato kao difuzija, važno je za mnoge termičke tretmane i procese izrade biomaterijala i implantata.

U ovom poglavlju biće razmotrene hemijske veze u biomaterijalima, njihove nadmolekularne kristalne i nekristalne strukture i nesavršenosti [1–3], kao i molekularne strukture biopolimera [4–6].

### 10.1 HEMIJSKE VEZE I SVOJSTVA BIOMATERIJALA

Sve strukturne forme materijala posledica su hemijskih veza između atoma, jona ili molekula. Te veze su rezultat interakcije (međudejstva) valentnih elektrona susednih atoma.

Postoje elementi kod kojih su međuatomske interakcije veoma slabe, kao kod plemenitih gasova (Ne, Ar, ...), kod kojih su valentne elektronske ljske zasićene, jer sadrže po osam elektrona. Hemijske veze u ovakvim slučajevima su posledica dipolnih električnih interakcija, i veoma su slabog intenziteta.

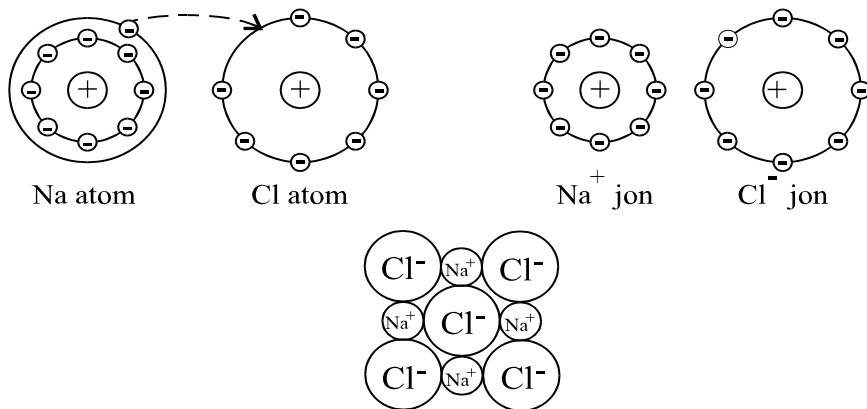
Većina elemenata nema pomenuto stabilno elektronsko stanje, pa se kod njih stabilnost poslednje elektronske orbitale može postići na jedan od sledećih načina: privlačenjem ili otpuštanjem jednog ili više valentnih elektrona, ili deobom jednog ili više valentnih elektrona sa susednim atomima. Ovakve veze su veoma jake i mogu se podeliti na jonske, kovalentne i metalne.

<sup>1</sup>Ovo poglavlje napisao je Dejan Raković.

Kod biomaterijala se po pravilu ne sreće samo jedan tip hemijske veze već više njih, od kojih jedan najčešće dominira. Otuda svojstva biomaterijala predstavljaju kombinaciju karakteristika dva ili više tipova veza.

**Jonske veze.** Ovaj tip veze uspostavlja se između elektropozitivnih (I-valentnih) i elektronegativnih (VII-valentnih) atoma, od kojih prvi predaju drugima jedan valentni elektron, čime nastaju stabilne elektronske konfiguracije pozitivnih i negativnih jona u kristalu.

Takva situacija je data za slučaj atoma natrijuma (Na) i hlorova (Cl) na Sl. 10.1, gde su prikazane njihove elektronske konfiguracije, kao i šematski raspored jona u kristalu. Ove veze su čisto elektrostatičke prirode, i omogućavaju da se suprotno nanelektrisani joni međusobno privlače, tako da je svaki pozitivan jon okružen negativnim, i obrnuto. Ovako uspostavljene veze nazivaju se nezasićenim, pošto elektrostatičke interakcije susednih jona ne isključuju dugodometne elektrostatičke interakcije daljih suseda.

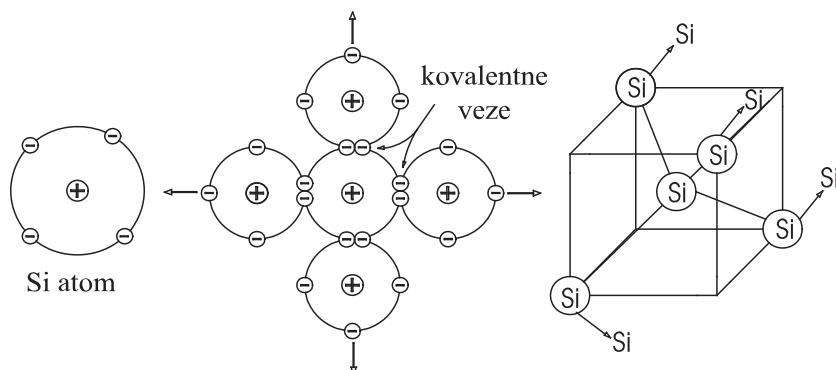


*SLIKA 10.1 Šematski prikaz obrazovanja jonskog kristala NaCl, predajom jednog valentnog elektrona Na atomu Cl, uz obrazovanje pozitivnog Na<sup>+</sup> jona i negativnog Cl<sup>-</sup> jona, sa stabilnim konfiguracijama od po 8 elektrona u poslednjim zauzetim elektronskim ljuskama.*

Kako nema slobodnih elektrona u jonskim kristalima, oni imaju izolaciona električna svojstva u čvrstom stanju, ali se u vodenim rastvorima ponašaju kao elektroliti pošto disosuju na pokretne pozitivne i negativne jone. Biomaterijali sa jonskim vezama imaju slabu sposobnost obrade deformacijom zbog narušavanja električne ravnoteže između susednih jona, koji se protive promeni prostornog rasporeda. Ovi biomaterijali su zato mahanički čvrsti i tvrdi, ali i krti pri jačim udarima.

**Kovalentne veze.** Nasuprot nezasićenim jonskim vezama, postoje i zasićene kovalentne veze između samo najbližih suseda. One su još i usmerene jer dejstvuju duž određenih pravaca u prostoru između atoma u kristalu. U ovakvim hemijskim vezama nijedan od pojedinačnih atoma nema potpuno popunjenu valentnu elektronsku ljusku, ali kroz formiranje zajedničkih valentnih parova svaki od atoma postiže stabilnu strukturu od osam valentnih elektrona.

Tipični primeri materijala sa kovalentnom vezom su ugljenik (u formi dijamanta, ali i u formi grafita, fulerena i nanotuba, v. Od. 10.4) i ostali IV-valentni elementi (silicijum, germanijum), kao i jedinjenja III-valentnih i V-valentnih elemenata (GaAs, ...). Na Sl. 10.2 prikazana je elektronska konfiguracija valentne ljske Si-atoma, šematski prikaz zajedničkih valentnih elektronskih parova u kovalentnim vezama između jednog Si-atoma i njegova četiri suseda, kao i prostorna raspodela usmerenih kovalentnih veza u vidu tetraedarske strukture (sa uglovima od  $109^{\circ} 28'$  između kovalentnih veza).



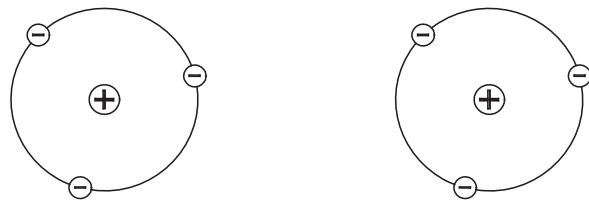
*SLIKA 10.2 Šematski prikaz obrazovanja kovalentnog kristala Si, deobom elektronskih parova (kovalentnih veza) između najbližih suseda, koji u prostoru imaju tetraedarsku raspodelu sa četiri suseda u rogljevima tetraedra i centralnim atomom u težištu tetraedra.*

Zbog usmerenosti, zasićenosti i jačine kovalentnih veza, biomaterijali sa jednostrukim kovalentnim  $\sigma$ -vezama imaju malu sposobnost obrade deformacijom, pa su zato mehanički čvrsti i tvrdi, ali i krti pri jačim udarima; izuzetak su termoplastični i elastomerni biopolimeri koji imaju veliku sposobnost obrade deformacijom. U čistom stanju biomaterijali sa jednostrukim kovalentnim  $\sigma$ -vezama slabo provode električnu struju, jer su svi valentni atomi čvrsto vezani između susednih atoma; međutim, materijali sa konjugovanim kovalentnim vezama (grafit, fulereni, nanotube, provodni polimeri) mogu dobro provoditi električnu struju zbog prisustva i slabo vezanih  $\pi$ -elektrona u dvostrukim kovalentnim vezama [7, 8].

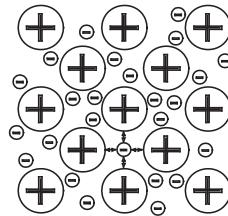
**Metalne veze.** Nasuprot biomaterijalima sa kovalentnom i jonskom vezom, biomaterijali sa metalnom vezom imaju dobru sposobnost obrade deformacijom, kao i električnu i toplotnu provodnost.

Ovo je rezultat prisustva oslobođenih valentnih elektrona, lako pokretnih između pozitivnih metalnih jona (Sl. 10.3), što je posledica nemogućnosti formiranja stabilnih spoljašnjih elektronskih ljski atoma ili jona na jedan od dva prethodna načina. Interakcija se ovde ostvaruje između sveukupnosti pozitivnih jona i negativnog elektronskog „gasa“, zbog čega su metalne veze nezasićene i neusmerene, kao i jonske.

Takvo ponašanje pokazuju čvrsta tela I-valentnih (Cu, Ag, ...), II-valentnih (Zn, ...) i III-valentnih (Al, ...) ali i nekih drugih elemenata (Fe, Ni, Co, Cr, Ti, Zr, ...) i njihovih legura.



**SLIKA 10.3** Formiranje metalnih veza delokalizovanjem valentnih elektrona, čime se formira elektronski „gas“ koji privlačnim električnim silama povezuje pozitivne jone u jaku metalnu strukturu.



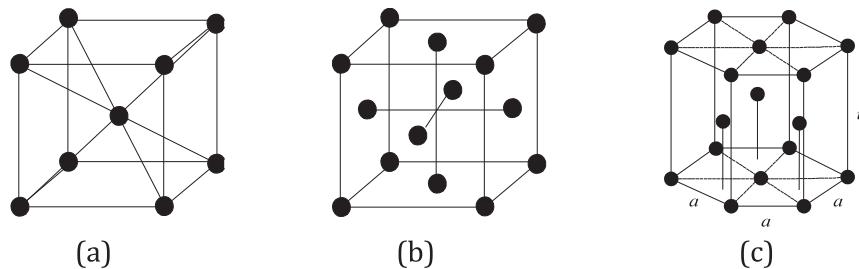
**Dipolne veze.** Ove tzv. sekundarne veze znatno su slabije od tri gore poglavljena tipa primarnih veza. Obično se javljaju kao veze između asimetričnih molekula, kod kojih je jedan kraj elektronegativniji a drugi elektropozitivniji. Pozitivni krajevi molekula imaju težnju da se vezuju za negativan kraj drugog molekula i obrazuju dipolnu vezu.

Ove veze su od značaja za mehanička i dielektrična svojstva termoplastičnih biopolimera, kao i elektrooptička i mehanička svojstva tečnih kristala.

## 10.2 NADMOLEKULARNE KRISTALNE STRUKTURE I NESAVRŠENOSTI

Pravilna geometrijska forma **monokristala** je posledica pravilne raspodele hemijskih veza između atoma, jona ili molekula u čvrstom stanju. Ovo je, s jedne strane, rezultat usmerenih hemijskih veza, tako raspoređenih u prostoru da se kovalentni kristal nalazi u energetski najstabilnijem stanju. Kod jonskih i metalnih kristala, kod kojih su hemijske veze neusmerene, prostorna struktura kristala je rezultat težnje ka najvećoj gustini pakovanja jonskih sfera. U prirodi može postojati 230 različitih nadmolekularnih monokristalnih struktura, mada sve nisu podjednako zastupljene [1–3].

Za većinu primena od posebnog značaja su biomaterijali koji kristališu po *kubičnom* kristalnom sistemu, a dva najznačajnija tipa kubične kristalne rešetke su prostorno centrirana i površinski centrirana kubična rešetka, čije su elementarne ćelije (njemanje zapremine do koje se može rastaviti kristal) prikazane na Sl. 10.4(a,b). Po *prostorno centriranoj* (ili *unutrašnje centriranoj*) kubičnoj rešetki (*UCKR*) kristališu neki metali ( $\alpha$ -Fe,  $\alpha$ -W,  $\alpha$ -Cr, Mo, V, Nb, Li, Na, K), kao i po *površinski centriranoj* (*PCKR*) rešetki ( $\gamma$ -Fe,  $\beta$ -Co,  $\beta$ -Ni, Al, Cu, Ag, Au, Pb, Pt, Ir), po kojoj kristališu i jonska I–VII jedinjenja (NaCl, KCl, AgCl, NaBr, KBr, AgBr, MgO, CaO, MgS). U ovom poslednjem slučaju kristalna rešetka može se predstaviti kao kombinacija

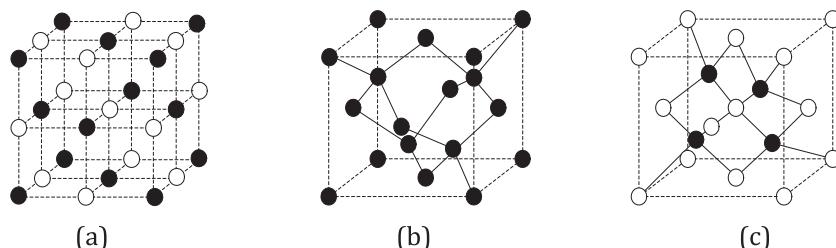


*SLIKA 10.4 Šematski prikaz rasporeda atoma u elementarnim čelijama: (a) prostorno centrirane kubične (UCKR), (b) površinski centrirane kubične (PCKR), (c) heksagonalne gusto pakovane (HGP) kristalne rešetke.*

dve površinski centrirane kubične podrešetke dva različita hemijska elementa, pomerene duž jedne kristalne ose za polovinu ivice elementarne čelije (Sl. 10.5a).

Neki elementi i mnoga jedinjenja kristališu po nešto složenijim tipovima kubičnih rešetki. *Dijamantska kubična rešetka* (Sl. 10.5b) je najznačajnija za elektrotehniku, jer po njoj kristališu IV-valentni elementi (Si, Ge, kao i C(dijamant)) i kovalentna III-V jedinjenja (GaAs, AlAs, InP, InSb, ...) i niskotemperaturske kristalne modifikacije jonsko-kovalentnih II-VI jedinjenja (CdTe, HgTe, CdS, ZnS, ...), pri čemu se u slučaju III-V i II-VI jedinjenja ova kristalna rešetka naziva *sfaleritnom* (Sl. 10.5c), i predstavlja kombinaciju dve podrešetke različitih hemijskih elemenata. Dijamantska i sfaleritna kristalna rešetka mogu se predstaviti kao kombinacija dve površinski centrirane kubične kristalne rešetke, međusobno pomerene za četvrtinu prostorne dijagonale elementarne čelije. Na taj način, svaki atom (u centru tetraedra) sa svoja četiri najbliže suseda (u rogljevima tetraedra) obrazuje usmerene kovalentne veze pod tetraedarskim uglovima (oko 109°), kao što je prikazano na Sl. 10.2.

Jedna od najrasprostranjenijih nekubičnih kristalnih rešetki u prirodi je *heksagonalna gusto pakovana (HGP)* kristalna rešetka, Sl. 10.4(c), po kojoj kristališu neki važniji elementi (Ti,  $\alpha$ -Co,  $\alpha$ -Zr, Zn, Mg, Cd) i visokotemperaturske kristalne modifikacije jonsko-kovalentnih II-VI jedinjenja (CdTe, HgTe, CdS, ZnS, ...), pri čemu se u slučaju II-VI jedinjenja ova kristalna rešetka naziva *vurcitnom* i predstavlja



*SLIKA 10.5 Elementarne čelije (a) NaCl-tipa, (b) dijamantske i (c) sfaleritne kubične kristalne rešetke.*

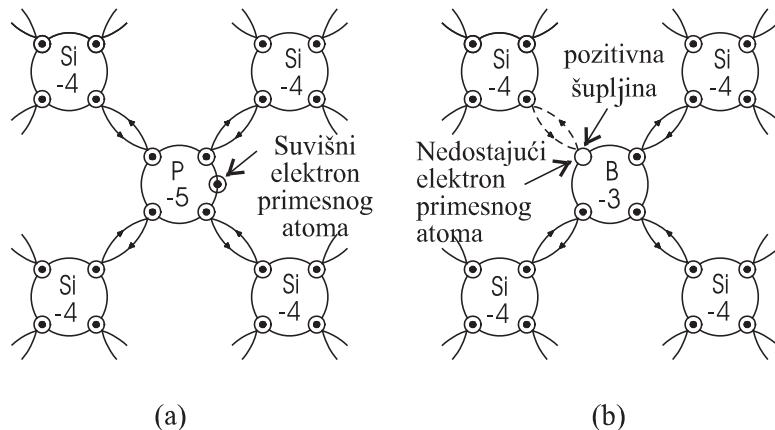
kombinaciju dve podrešetke različitih hemijskih elemenata, pomerene duž *c*-kristalne ose za polovinu ivice elementarne čelije.

U Zad. 10.1-2 izračunati su neki karakteristični parametri za PCKR rešetku aluminijuma i za dijamantsku rešetku silicijuma.

**Nesavršenosti kristala.** U uvodnom delu ovog odeljka, kristalni biomaterijali su posmatrani idealizovano, sa savršenom prostornom uređenošcu. Međutim, realni kristali sadrže nadmolekularne nesavršenosti (defekti) u svojoj strukturi, kako po hemijskom sastavu tako i po rasporedu atoma u prostoru.

Ako su nesavršenosti lokalizovane na nivou pojedinačnih atoma, u pitanju su tzv. **tačkaste** nesavršenosti. Postoji nekoliko tipova ovih nesavršenosti. *Vakancije* su prazna mesta u kristalu, na mestu nedostajućeg atoma. *Intersticijski defekti* nastaju kada atom zauzme mesto između regularno raspoređenih atoma u kristalu. Ustvari, vakancije i intersticijski tačkasti defekti često nastaju zajedno, kada atom napusti svoj ravnotežni položaj i zauzme neko međumesto između regularno raspoređenih atoma kristala. Postoje i primesne nesavršenosti, gde su atomi osnovnog biomaterijala zamenjeni atomima nekog drugog elementa. Atomi primesa mogu sa osnovnim kristalom obrazovati dva tipa *čvrstih rastvora* (v. Gl. 17): supstitucijski i intersticijski; u prvom slučaju atomi primesa nalaze se u čvorovima kristalne rešetke, a u drugom slučaju između čvorova.

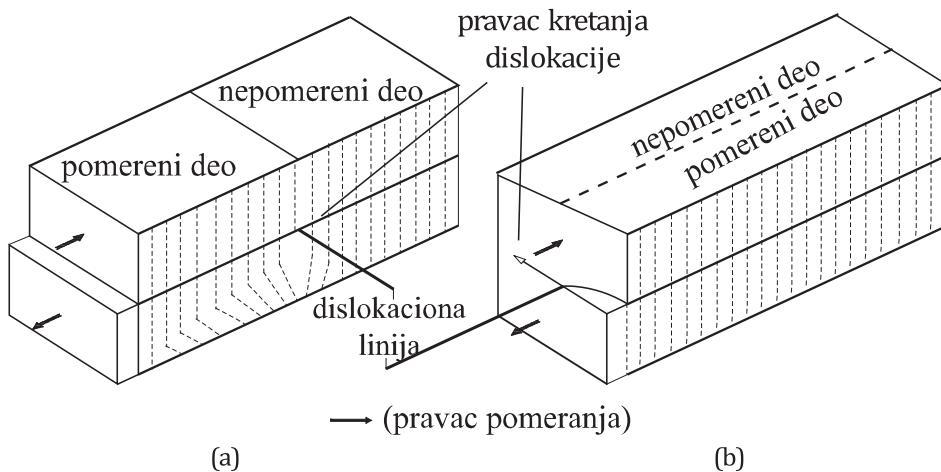
Supstitucijske primesne tačkaste nesavršenosti su posebno značajne za poluprovodničku tehnologiju, gde su pojedini atomi u npr. IV-valentnom silicijumu (Si), zamenjeni V-valentnim (najčešće fosfor, P) odnosno III-valentnim primesnim atomima (najčešće bor, B). Na Sl. 10.6(a,b) dat je šematski ravanski prikaz silicijuma sa primesnim III i V-valentnim atomima. Primesni V-valentni atom formira četiri kovalentne veze sa susednim Si-atomima, dok peti valentni elektron ostaje nesparen pa na sobnoj temperaturi lako napušta matični atom; zato se takva V-valentna primesa koja „daje“ slobodan elektron silicijumskom poluprovodničkom kristalu naziva donorom, dok se takvi materijali označavaju kao Si-poluprovodnici *n*-tipa. S



SLIKA 10.6 Šematski ravanski prikaz kristala silicijuma (Si) u kome je jedan atom Si zamjenjen: (a) V-valentnim fosforom (P); (b) III-valentnim borom (B).

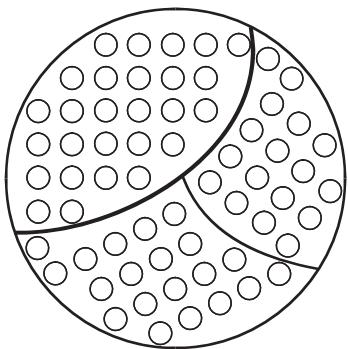
druge strane, primesni III-valentni atom formira tri kovalentne veze sa susednim Si-atomima, dok jedan Si-sused ostaje sa nesparenom kovalentnom vezom, pa da bi se ta veza sparila, III-valentni primesni atom lako privlači jedan valentni elektron sa daljeg suseda, gde ostaje nesparena kovalentna veza koja teži da se popuni valentnim elektronom sa nekog drugog suseda itd; zato se III-valentna primesa koja „prima“ valentni elektron od silicijumskog poluprovodničkog kristala naziva akceptorom, dok se takvi materijali označavaju kao Si-poluprovodnici *p*-tipa.

Osim nadmolekularnih tačkastih nesavršenosti postoje i **linijske** nesavršenosti, tzv. *dislokacije*, koje predstavljaju narušenja pravilne kristalne strukture duž neke linije koja se završava na površini kristala. Ova linija predstavlja granicu između pomerenog i nepomerenog područja kristala. Prema načinu postanka, postoje dva tipa ovih nesavršenosti: ivične i zavojne dislokacije, Sl. 10.7(a,b). Kod *ivične dislokacije* atomske ravni se mogu zamisliti kao stranice jedne knjige kod koje nedostaje polovina jedne stranice, pri čemu postoji težnja da se susedne stranice na mestu nedostajuće približe, kako bi ponovo uspostavile periodičnu strukturu kristala svuda osim u blizini dislokacione linije. S druge strane, *zavojna dislokacija* označava granicu koja nastaje klizanjem jednog dela kristala u odnosu na drugi, nepokretan deo.



SLIKA 10.7 Šematski prikaz (a) ivične i (b) zavojne dislokacije

Dislokacije pogoršavaju mehanička svojstva monokristala (kao i sposobnost tehnološke reproduktivnosti izrade poluprovodničkih integrisanih komponenata i integrisanih kola, jer primesni atom lakše i dublje prodire u kristal na mestima linijskih nesavršenosti). Ipak, treba istaći da je sposobnost plastične deformacije i oblikovanja metala posledica prisustva dislokacija, koje omogućavaju lakše pomeranje delova kristala i njegovu deformaciju pod dejstvom spoljašnje mehaničke sile (v. Gl. 17)! Ovo pomeranje se lakše postiže kroz gušće pakovane kristalne ravni, pa pošto ih PCKR kubična kristalna rešetka ima najviše, i pri tome su različite klase tih ravni veoma isprepletane, to omogućava istovremeno veliku plastičnost i žilavost biomaterijala sa ovim tipom kristalne rešetke; nasuprot tome, UCKR ih ima manje,



*SLIKA 10.8 Šematski prikaz strukture polikristala, sa različitom orijentacijom kristalnih zrna razdvojenih granicama zrna*

**polikristala**, koji se sastoji od mnogo monokristalnih zrna (dimenzija zrna stotinak međuatomskih rastojanja) različite orijentacije. Površine koje razdvajaju ta zrna nazivaju se *granicama zrna* (Sl. 10.8), i predstavljaju površinske nesavršenosti kristala, koje sprečavaju pomeranja dislokacija na velika rastojanja, čime povećavaju mehaničku čvrstoću metala.

Pri izradi polufabrikata, zavisno od temperaturske ili mehaničke obrade metalnog komada, dobija se biomaterijal *sitnozrnaste* ili *krupnozrnaste* polikristalne strukture. Sitnozrnasta struktura polikristala prouzrokuje povećanje zatezne čvrstoće i tvrdoće, a smanjuje žilavost i sposobnost plastične deformacije, u odnosu na biomaterijale sa krupnozrnastom strukturom.

Polikristalne strukture imaju značajnu biomedicinsku (implantantnu) primenu u metalnoj ili keramičkoj formi, v. Gl. 17, 18, 23 i 24 (a takođe su posebno važne za primenu mašinskih materijala, ali i za neke klase elektrotehničkih (provodnike, superprovodnike i magnetike), čije značajnije dimenzije u obliku raznih polufabrikata (limova, cevi, šipki, šina, raznih profila, žica, traka i sl.) nije moguće realizovati u monokristalnoj formi).

pa su biomaterijali sa takvim tipom rešetke jači i manje plastični.

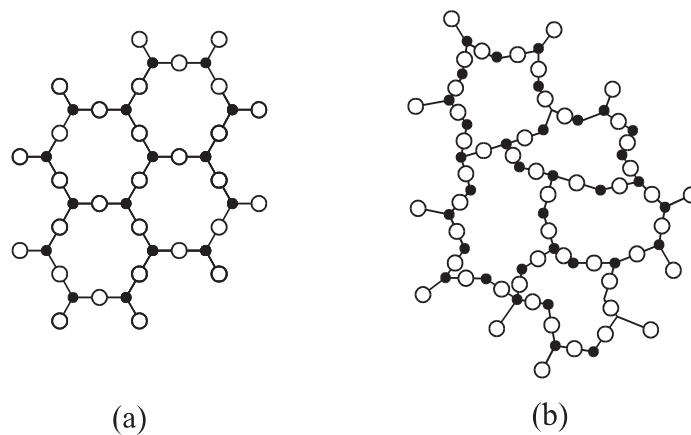
Za razliku od metala, gde su hemijske veze nezasićene i neusmerene i elektronski oblak pokretljiv (lako omogućujući zadržavanje lokalne elektroneutralnosti kristala i pri plastičnoj mehaničkoj deformaciji) dislokacije se teže kreću kroz jonske kristale (zbog otpora lokalnih elektrostatičkih sila jona) i kovalentne kristale (zbog zasićenih i usmerenih jednostrukih  $\sigma$ -valentnih veza), što ih čini krtim i nemogućim za obradu plastičnom deformacijom.

Postoje i **površinske** nesavršenosti, karakteristične za polikristalne nadmolekularne strukture. Naime, monokristalni biometali sa dislokacijama imali bi smanjenu čvrstoću i lakše bi se kidali, pa se zato metali izrađuju u obliku **polikristala**,

### 10.3 NADMOLEKULARNE NEKRISTALNE STRUKTURE

Nadmolekularne nekristalne strukture imaju amorfni materijali, tečni kristali, polimeri i, u širem smislu, kompoziti [1–3].

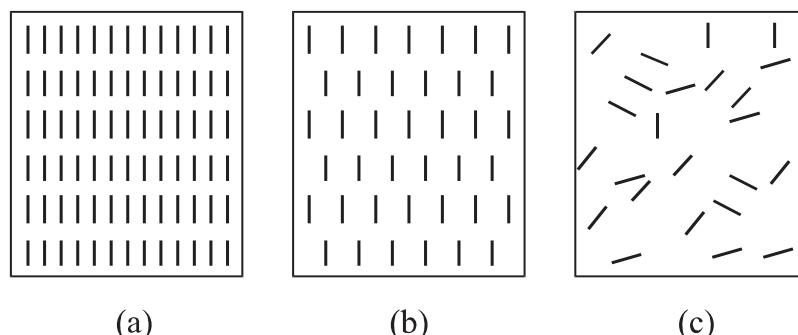
**Amorfni** materijali imaju nadmolekularnu strukturu čije je najbliže okruženje blisko onom u monokristalu odgovarajućeg sastava, ali je dalje okruženje veoma neuređeno (Sl. 10.9a,b). Zbog odsustva daljeg uređenja amorfni materijali su izotropni, tj. imaju ista fizička i hemijska svojstva u svim pravcima; osim toga, nemaju određenu temperaturu topljenja. Po svojstvima, amorfni materijali podsećaju na



SLIKA 10.9 Dvodimenzioni model (a) kristala i (b) amorfognog materijala

tečnosti, pa se često opisuju kao „pothlađene“ tečnosti. Zapravo, naglim očvršćavanjem iz tečne faze mogu nastati amorfne strukture nekih čvrstih materijala, sa „zamrznutim“ rasporedom atoma iz tečnog stanja. Tipični primjeri amorfnih materijala su stakla. Na primeru stakla uočava se da je amorfno stanje nestabilno u dužem vremenskom periodu, jer ono vremenom prelazi u polikristalno – kaže se da staklo „stari“. Međutim, ovaj proces može trajati godinama. Veoma značajna primena amorfnih materijala je u izradi bioaktivnih staklo-keramika i stakala, v. Gl. 18 (kao i kvarcnih ( $\text{SiO}_2$ ) optičkih vlakana u optičkim telekomunikacijama, zbog minimalnih gubitaka svetlosne energije u ovim optički homogenim materijalima).

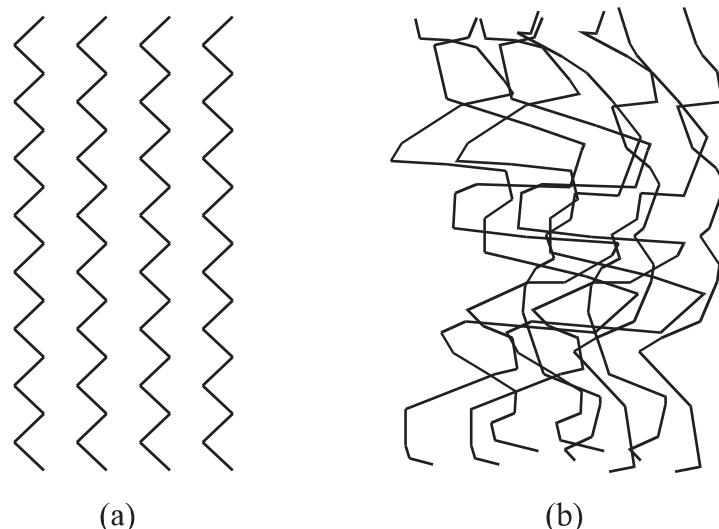
**Tečni kristali** su, u stvari, mnogobrojna stanja materije, čije je strukturno uređenje između tečnosti (fluidnost i viskoznost) i kristala (anizotropnost i postojjanost unutrašnje strukture). Tečni kristali se uglavnom javljaju u jedinjenjima čiji su molekuli po obliku vrlo nesimetrični, i pri povišenju temperature još uvek se drže bočnim vezama, obrazujući tečnokristalno stanje. Primer jednog tipa tečnokristalnog stanja prikazan je na Sl. 10.10b, gde su uporedno prikazane strukture kristalnog i tečnog stanja, Sl. 10.10a,c.



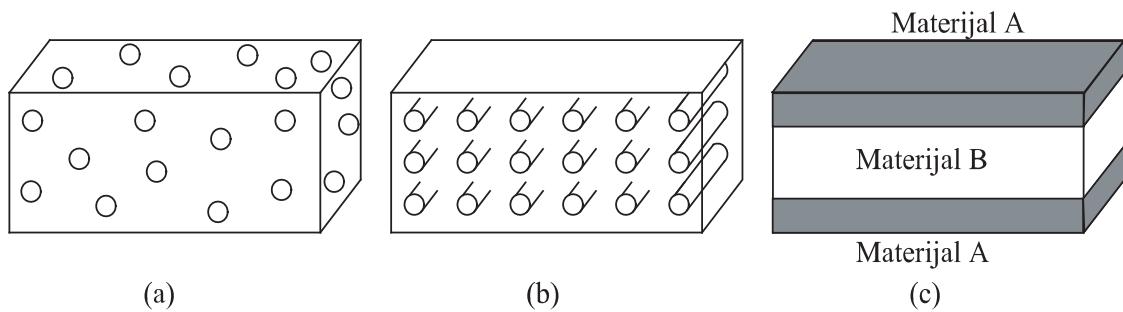
SLIKA 10.10 Stepeni uređenosti: (a) kristalno stanje - orientacija i periodičnost; (b) tečnokristalno (nematsko) stanje - orientacija bez periodičnosti; (c) izotropna tečnost - bez orientacije i periodičnosti

**Polimeri** se sastoje od dugolančanih molekula, koji se sintetizuju postupkom polimerizacije, udruživanjem velikog broja malih molekula. Zavisno od stepena uređenja dugolančanih makromolekula, polimeri mogu biti u kristalnom, amorfnom (u slučaju polimera ovo stanje naziva se staklastim), tečnokristalnom ili tečnom nadmolekularnom stanju (ono se u slučaju polimera naziva viskofluidnim), koja su već pomenuta. Međutim, za polimere je karakteristično i tzv. gumasto stanje, u kojem je polimerni materijal podložan izvanredno velikim elastičnim mehaničkim deformacijama (Sl. 10.11). Polimeri imaju veliku primenu u oblasti sintetičkih, biodegradativnih, bioderivatnih i kompozitnih biomaterijala i implantata, v. Gl. 19–24 (a dodajmo do neki polimeri u veoma rastegutom stanju mogu imati mehaničku čvrstoću uporedivu sa čelikom, uz višestruko manju težinu i cenu, što omogućava njihovu primenu kao izuzetno lakin i čvrstih konstrukcijskih materijala; osim toga, polimeri su izuzetno značajni elektrotehnički materijali pre svega zbog odličnih izolacionih svojstava, mada je poslednjih godina postignuta sinteza i provodnih polimera sa višestrukim potencijalnim mogućnostima nanoelektronske i optoelektronske primene).

**Kompoziti** se dobijaju kombinovanjem dva materijala, tako da se dobiju karakteristike koje nema nijedan od dva materijala pojedinačno. Po konstrukciji mogu biti čestični, vlaknasti ili slojeviti (Sl. 10.12a-c). Matrica u kompozitu ima veću plastičnost i žilavost, dok su čestice, vlakna ili pojedini slojevi povećane čvrstoće i tvrdoće. Na taj način, dobija se materijal velike čvrstoće, tvrdoće, plastičnosti i žilavosti, a ukoliko je matrica laka i male težine. Kompoziti mogu biti metal-metal, metal-keramika, metal-polimer, keramika-polimer, keramika-keramika ili polimer-polimer, zavisno od biomedicinskih (implantantnih) zahteva, v. Gl. 20, 24 (ili nekih drugih zahtevanih mehaničkih, temperaturskih, gabaritnih ili elektrotehničkih (superprovodnih) svojstava).



SLIKA 10.11 Idealizovani model dugolančanih molekula u gumastom polimernom stanju:  
(a) rastegnuti; (b) skupljeni.

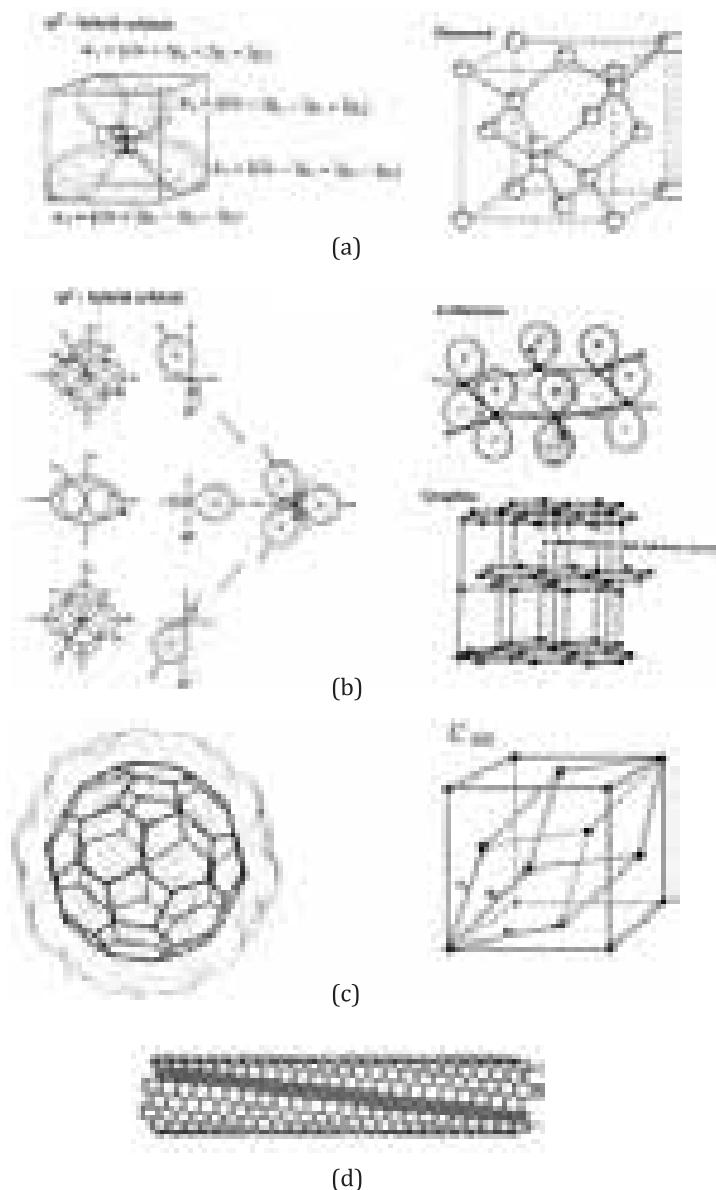


*SLIKA 10.12 Šematski prikaz struktura  
(a) čestičnih, (b) vlaknastih i (c) slojevitih kompozita.*

## 10.4 HIBRIDIZACIJA ATOMSKIH ORBITALA I STRUKTURNЕ FORMЕ UGLJENIKA

Dobro je poznato da osnovna elektronska konfiguracija atoma ugljenika  $[He]2s^22p_x2p_y$  ne može objasniti njegove četiri valentne veze kod dijamanta, kao ni tri valentne veze kod grafita, fulerena ili nanotuba, zbog nesimetričnih oblika talasnih funkcija valentnih elektrona [9,10]. Čak ni ugljenikovo pobuđeno stanje  $[He]2s2p_x2p_y2p_z$  ne može objasniti dijamantske četiri tetraedarski simetrične valentne veze. S druge strane, međusobna prostorna forma raspodele ugljenikovih valentnih veza u kristalu dijamanta (ili u molekulu metana,  $CH_4$ ) određena je teorijskim simetrijskim zahtevom da raspodela elektronske gustine ugljenikove 4 valentne elektronske talasne funkcije u prostoru zauzima takav raspored da sam petočlani klaster atoma najbližih suseda ima tetraedarske elemente prostorne simetrije, sa uglovima od  $109^\circ 28'$  između susednih valentnih veza. Ovaj zahtev može se ostvariti u kvantnoj hemiji molekula i kristala postupkom *sp<sup>3</sup>-hibridizacije* [9, 10], kojim se 4 valentne elektronske atomske orbitale (AO)  $2s$ ,  $2p_x$ ,  $2p_y$  i  $2p_z$  pobuđenog stanja atoma ugljenika – kombinuju u obliku 4 valentne elektronske molekulske orbitale (MO) predstavljene u simetrizovanoj formi linearne kombinacije atomskih orbitala (LCAO), koja odgovara tetraedarskoj simetriji **dijamantske** kristalne forme ugljenika (v. Sl. 10.13a).

Ugljenikovo pobuđeno stanje  $[He]2s2p_x2p_y2p_z$  ne može objasniti ni njegove tri simetrične valentne veze u ravanskoj heksagonalnoj simetriji grafitne kvalitativne višeslojne kristalne forme ugljenika. U tom slučaju je međusobna prostorna forma raspodele ugljenikovih valentnih veza u slojevima grafita (ili u molekulu benzena,  $C_6H_6$ ) određena teorijskim simetrijskim zahtevom da raspodela elektronske gustine ugljenikove 3 valentne elektronske talasne funkcije u prostoru zauzima takav raspored da sam četvoročlani klaster atoma najbližih suseda ima heksagonalne elemente ravanske simetrije, sa uglovima od  $120^\circ$  između susednih valentnih tzv.  $\sigma$ -veza. Ovaj zahtev se može ostvariti u kvantnoj hemiji molekula i kristala postupkom *sp<sup>2</sup>-hibridizacije* [9, 10], kojim se 3 valentne elektronske atomske



**SLIKA 10.13** Prikaz raspodele elektronske gustine talasnih funkcija valentnih orbitala kod četiri simetrizovane forme linearne kombinacije atomskih orbitala: (a)  $sp^3$ -hibridizacija (levo), koja odgovara prostornoj tetraedarskoj simetriji dijamantske kristalne forme ugljenika (desno); (b)  $sp^2$ -hibridizacija (levo), koja odgovara ravanskoj heksagonalnoj simetriji grafitne kvazidvodimenzione višeslojne kristalne forme ugljenika, kod koje su susedni grafitni slojevi slabo međupovezani nesparenim valentnim  $\pi$ -elektronima normalnim na ravan slojeva (desno); (c) modifikovana  $sp^2$ -hibridizacija (levo), koja odgovara prostornoj ikosaedarskoj simetriji molekula  $C_{60}$ , sastavljenog od 12 pentagona i 20 heksagona; u formi molekularnog kristala molekuli  $C_{60}$  obrazuju gusto pakovanu površinski centriranu kubičnu kristalnu rešetku (desno); (d) modifikovana  $sp^2$ -hibridizacija ugljenične nanotube, cevaste strukture koje se mogu definisati kao bešavni cilindrični slojevi grafita (sastavljeni od ugljeničnih heksagona), dužine znatno veće od prečnika nanotube. [Adaptirano iz Ref. 11, Ch.3]

orbitale (AO)  $2s$ ,  $2p_x$  i  $2p_y$  pobuđenog stanja atoma ugljenika – kombinuju u obliku 3 valentne elektronske molekulske orbitale (MO) predstavljene u simetrizovanoj formi linearne kombinacije atomskih orbitala (LCAO), koja odgovara heksagonalnoj ravanskoj simetriji **grafitne** kristalne forme ugljenika (v. Sl. 10.13b); četvrta, nesparena valentna  $2p_z$  orbitala formira  $\pi$ -elektrone normalne na grafitne slojeve, odnosno  $\sigma$ -veze, što obezbeđuje (slabu) međupovezanost grafitnih slojeva.

Kod **molekula  $C_{60}$** , treće kristalne forme ugljenika sa simetrijom zarubljenog ikosaedra, elektronska struktura je složena jer sadrži  $60 \times 4 = 240$  valentnih elektrona. Elektronska struktura molekula  $C_{60}$  bazirana je na  $sp^2$ -*hbridizaciji* modifikovanoj ikosaedarskom prostornom strukturom molekula [11,12], što uzrokuje i dodatnu interakciju između ovih valentnih elektrona i  $\pi$ -elektrona. U ovom slučaju postoje dva tipa karakterističnih valentnih veza:  $C_5-C_5$  u pentagonima (ima 12 takvih pentagona) i  $C_5-C_6$  duple veze u (preostalim) heksagonima (v. Sl. 10.13c). Raspodela elektronske gustine unutar molekula  $C_{60}$  je takva da u unutrašnjosti molekula postoji rupa u elektronskoj gustini; s druge strane, nesimetrična raspodela elektronske gustine po ugljeničnim vezama u pentagonima i heksagonima prouzrokuje i elektronske struje u njima (veće u pentagonima nego u heksagonima), koje određuju magnetna svojstva molekula  $C_{60}$ . U kristalnoj formi, molekuli  $C_{60}$  obrazuju molekularni kristal po principu gustog pakovanja, formirajući površinski centriranu kubičnu kristalnu rešetku (v. Sl. 10.13c).

Konačno, kod **nanotuba**, četvrte kristalne forme ugljenika, elektronska struktura je, slično molekulu  $C_{60}$ , bazirana je na modifikovanoj  $sp^2$ -*hbridizaciji*. Ugljenične nanotube su neobične cevaste strukture, nešto između fulerena i klasičnih ugljeničnih vlakana, koje se mogu definisati kao bešavni cilindrični slojevi grafita (sastavljeni od ugljeničnih heksagona), dužine toliko veće od prečnika da se mogu sa elektronske tačke gledišta tretirati kao jednodimenzionale (1D) strukture (v. Sl. 10.13d). Realne nanotube mogu se sastojati od jedne ili više helikoidalnih ljuški, koje se na svojim krajevima zatvaraju zahvaljujući prisustvu i ugljeničnih pentagona. Korak spiralizovanosti helikoidalnih ljuški može biti različit, što uz varijaciju prečnika ljuški ili njihovih intermolekularnih interakcija omogućava periodičnu promenu elektronske zonalne strukture nedopiranih nanotuba, od poluprovodničke do metaličke [7,13]. Ovakva svojstva, u kombinaciji sa velikom mehaničkom čvrstoćom, čini ih veoma atraktivnim materijalima za mnogobrojne primene.

## 10.5 MOLEKULARNE I NADMOLEKULARNE STRUKTURE BIOPOLIMERA

Molekularne i nadmolekularne strukture biopolimera biće ilustrovane na primeru najprostijeg sintetičkog polimera – polietilena [4, 5], v. Sl. 10.14.

**Primarna molekularna struktura** polimera određena je rasporedom karika (monomera jednog tipa, ili više različitih tipova) u polimernom lancu. Primer primarne strukture najprostijeg sintetičkog polimera, polietilena, dat je na Sl.

10.14(a). Primarna molekularna struktura polimera određena je jakim kovalentnim hemijskim vezama.

**Sekundarna molekularna struktura** polimera određena je prostornom konformacijom karika u lancu polimera. Može postojati više takvih konformacija jednog polimera, koje se različito nazivaju: *konformeri, rotameri, rotacioni izomeri*. Primer tri tipa konformerata polietilena prikazan je na Sl. 10.14(b) (zajedno sa potencijalnom energijom konformacije, zavisne od ugla rotacije susednih CH<sub>2</sub> karika oko zajedničke C-C veze), sa projekcijom hemijskih veza susednih karika na ravan normalnu na zajedničku C-C vezu u polimernom lancu. Uzorak realnog polimera je dinamička smeša svih mogućih tipova konformerata. Sastav smeše određen je razlikom energija konformerata  $\Delta E$  i temperaturom  $T$ , saglasno Maksvel-Bolcmanovoj raspodeli.

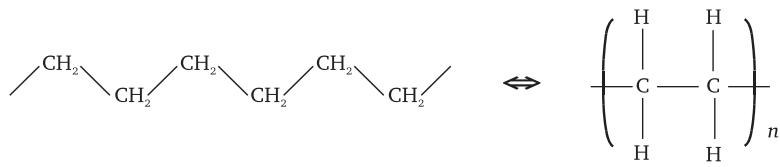
**Tercijarna molekularna struktura** polimera dobija se sklupčavanjem konformerata u manje (*klupko*) ili više (*globula*) kompaktnu formu (Sl. 10.14(c)), kao rezultat topotnih efekata i slabih hemijskih interakcija. U pitanju je kooperativni fazni prelaz, opisan zakonima statističke fizike (v. Zad. 10.3–5).

**Kvaternarna nadmolekularna struktura** polimera dobija se prostornim slaganjem tercijarnih struktura, po principu najgušćeg pakovanja (Sl. 10.14(d)), koji obezbeđuje minimum energije slabih međuglobularnih interakcija po jedinici zapremine takvog molekularnog kristala.

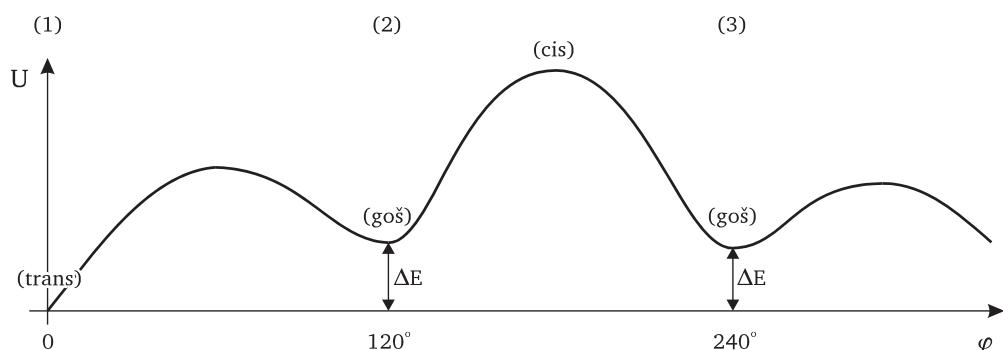
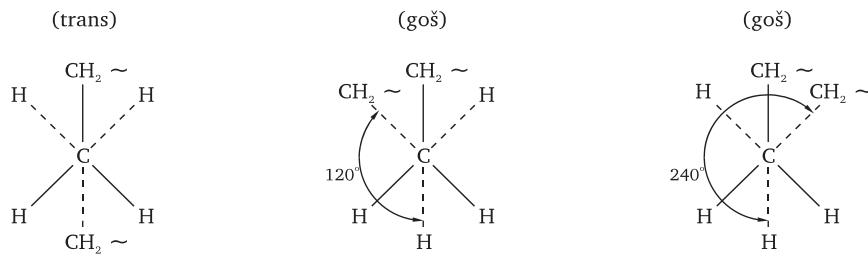
Svi tipovi struktura biopolimera su izuzetno značajni za molekularnu biologiju, odnosno složene procese u ćeliji i nadćelijskim strukturama, o čemu će još biti reči.

Primarna struktura je stabilizovana jakim hemijskim kovalentnim vezama između atoma, dok su više strukture, sekundarna, tercijarna i kvaternarna, određene slabim hemijskim vezama između atoma i molekula (vodonične, Van der Valsove). Za biologiju su posebno značajne *slabe hemijske veze*, jer omogućavaju brzo raskidanje i spajanje posredstvom bioloških katalizatora (enzima), koji snižavaju potencijalne energije barijera do reda topotnih energija ( $\sim kT$ ), za odgovarajuće biohemijske reakcije! Kao rezultat, sinteza biopolimera, molekulske težine i do 10<sup>9</sup>, može se odigrati za manje od 1 min.

**Struktura proteina.** Proteini (belančevine) su, uz nukleinske kiseline (DNK i RNK), najznačajniji biopolimeri. Najznačajniju ulogu igraju kao enzimi (fermenti), katalizatori svih biohemijskih reakcija u ćeliji (replikacija DNK, transkripcija teksta DNK u tekst mRNK, transkripcija tog teksta sa mRNK pri biosintezi proteina, regulacija genetske funkcije nukleinskih kiselina, regulacija povratne sprege u svim metaboličkim funkcijama u ćeliji), elektrohemskihs proresa (aktivni transport molekula i jona kroz ćelijsku membranu, i samim tim generisanje i rasprostranjenje nervnog impulsa), mehanohemijskih proresa (mišićnih kontrakcija, kao rezultat funkcije degradacije visokoenergetskog jedinjenja adenozintrifosfata (ATF) na adenozindifosfat (ADF) i fosfornu kiselinu (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), uz transformaciju hemijske energije ( $\Delta E = 30,7 \text{ kJ/mol}$  u mehanički rad), u akumulaciji hemijske energije (pri disanju, fotosintezi ...), gde se odigrava suprotan proces: ADF + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> +  $\Delta E$  " ATF), akumulaciji i prenosu kiseonika (mioglobin i hemoglobin), hormonskom delovanju



(a)



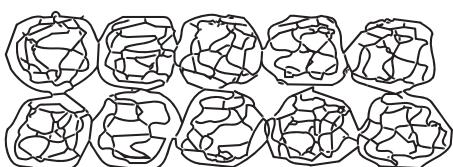
(b)



klupko



globula



(d)

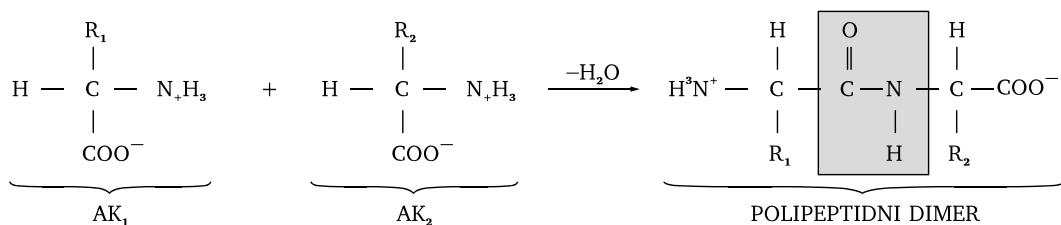
*SLIKA 10.14 Šematski prikaz tipova prostorne strukture biopolimera na primeru najprostijeg sintetičkog polimera, polietilena: (a) primarna (hemijska) struktura; (b) nekoliko tipova sekundarne (konformacione) strukture, sa projekcijom hemijskih veza (dve karike) na ravan normalnu na zajedničku C-C vezu u polimernom lancu (položaji bližih kovalentnih veza prikazani su punim linijama, a onih daljih isprekidanim), uz prikaz zavisnosti potencijalne energije konformacije od ugla rotacije susedne karike oko zajedničke C-C veze; (c) dva tipa tercijarne strukture (klupko i globula), nastalih kao rezultat topotnih efekata i slabih hemijskih interakcija; (d) kvaternarna struktura, nastala slaganjem tercijarnih, po principu najgušćeg pakovanja.*

(niskomolekularne belančevine, tzv. polipeptidi), antitelima (imunološki procesi:  $\gamma$ -globulini), gradivnim svojstvima (vezivna tkiva, koža, ...) [4–6].

Na Sl. 10.15 prikazane su hemijske formule **20** ubičajenih **aminokiselina**, zastupljenih u proteinima, koje se medusobno razlikuju po (uokvirenim) kiselinskim ostacima.

**Primarna molekularna struktura proteina**, sa osenčenim lancem *peptidnih veza*, preko kojih su spojene aminokiseline u proteinu, data je u jedno, segmentu na Sl. 10.16.

*Sinteza* proteinskog lanca odigrava se putem *polikondenzacije* amonokiselina  $AK_i$  ( $i = 1, 2, \dots, 20$ ), uz izdvajanje vode:



( $R_1$  i  $R_2$  su aminokiselinski ostaci kiselina  $AK_1$  i  $AK_2$ , respektivno).

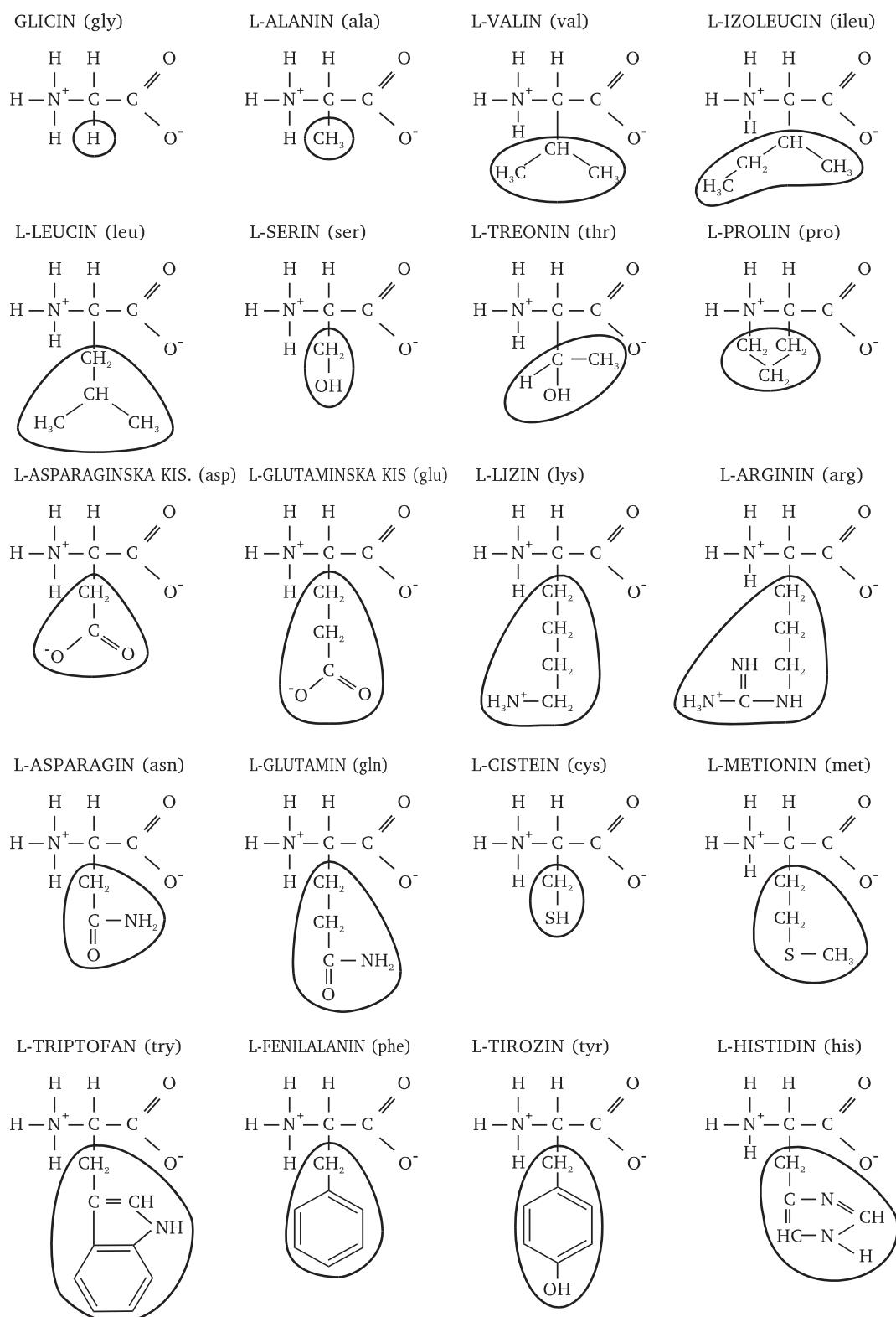
**Sekundarna molekularna struktura proteina**, odnosno njegova konformacija, određena je minimumom ukupne energije proteina, uključujući energiju unutarmolekularnih vodoničnih veza između vodonikovih (H) atoma iminovih (N-H) grupa i kiseonikovih (O) atoma karbonilnih (C=O) grupa:  $C=O \cdots H-N$ . Postoje *tri tipa sekundarne strukture*:  $\alpha$ -forma (Sl. 10.17(a)), *paralelna i antiparalelna*  $\beta$ -forma (Sl. 10.17(b,c)).

$\alpha$ -forma je jednodimenzionalni kristal oblika  *$\alpha$ -spirale*, u kojoj su vodonične veze obrazovane između C=O grupe date karike i N-H grupe četvrte prethodne karike! Peptidna veza svake karike ima planarnu strukturu.

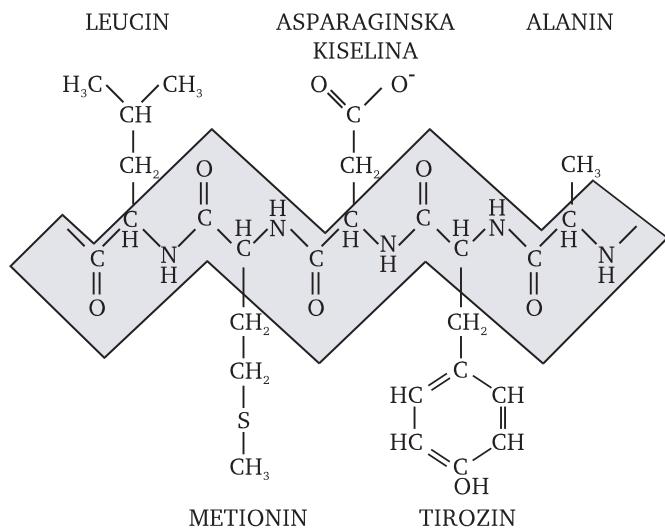
$\beta$ -forme predstavljanju dvodimenzionalni kristal, slojevite strukture ( *$\beta$ -slojevi*). Peptidne veze svakog lanca pri tome imaju planarnu strukturu.

**Tercijarna molekularna struktura proteina** dobija se sklupčavanjem sekundarne strukture  $\alpha$ - i  $\beta$ -formi, delimično razdvojenih neuređenim delovima koji poseduju povećanu gipkost. Sklupčavanje *globule* je dominantno posledica hidrofobnih interakcija (mada tome doprinose i kovalentne disulfidne veze cis-S-S-cis medu karikama jednog ili nekoliko lanaca (npr. u insulinu), Van der Valsove i vodonične veze). Hidrofobne interakcije su bazirane na tome što voda (polarni molekuli) odbija nepolarne kiselinske ostatke, dok privlači one polarne: kao rezultat, formira se globula sa nepolarnim ostacima u unutrašnjosti globule i polarnim na površini globule! Formiranje tercijarne strukture je *kooperativni proces* (v. Zad.10.6).

**Kvaternarna nadmolekularna struktura proteina** je nadmolekularni proteinski sistem, koji se sastoji iz nekog broja globula (npr. molekul hemoglobina ima 4 globule od dve vrste, a proteinska košuljica mozaičnog duvanskog virusa sastoji se od 2000 identičnih globula).



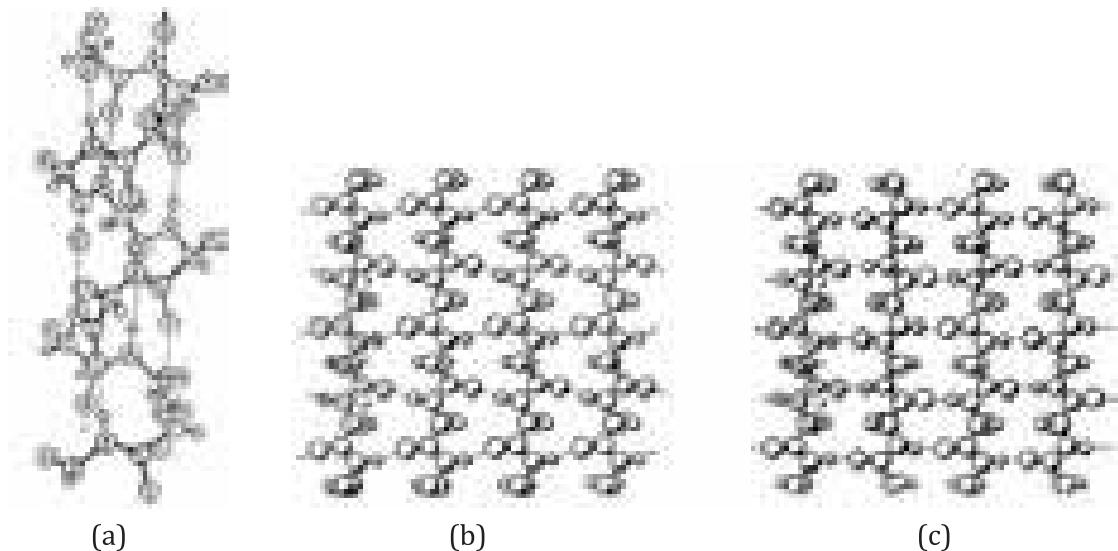
SLIKA 10.15 Dvadeset uobičajenih aminokiselina zastupljenih u proteinima.



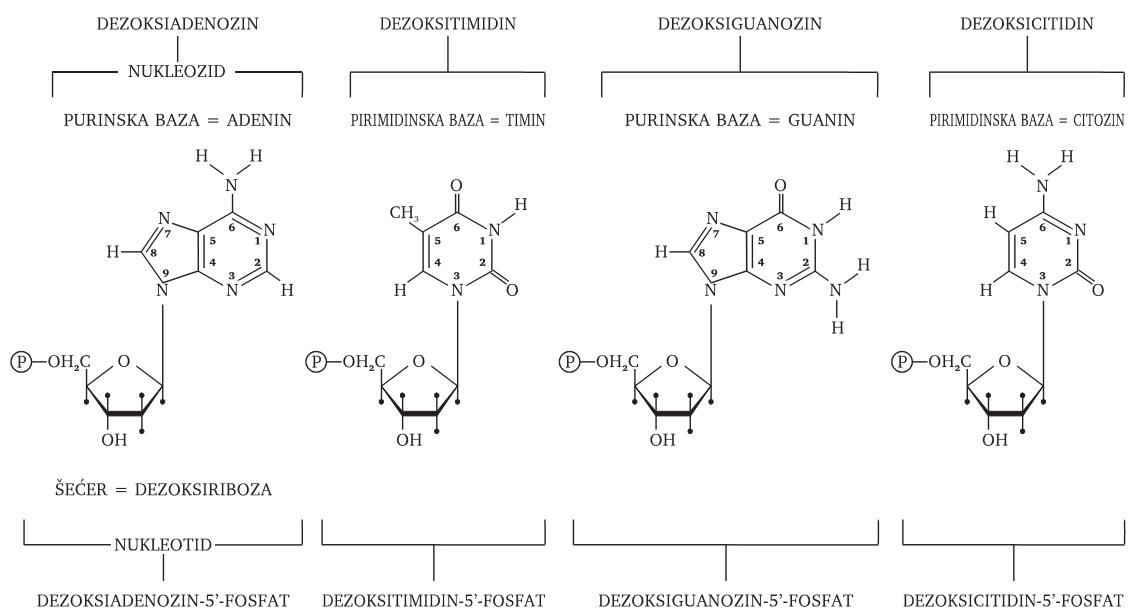
*SLIKA 10.16 Primarna struktura jednog segmenta proteina (sa osenčenim lancem peptidnih veza, preko kojih su spojene aminokiseline u proteinu).*

Karakter strukture proteina određen je geometrijskim svojstvima strukture prethodnog nivoa, silama interakcije njihovih elemenata, i interakcijom sa okolnom sredinom. Pojava hijerarhijski više strukture ostvaruje se automatski, kao rezultat *samoorganizacije* sistema.

**Biološka funkcionalnost proteina** određena je *tercijarnom i kvaternarnom struktururom*, tako da dva proteina različite primarne i sekundarne molekularne



SLIKA 10.17 Tri tipa sekundarne strukture proteina: (a)  $\alpha$ -forma ( $\alpha$ -spirala), i (b) paralelne i (c) antiparalelne  $\beta$ -forme ( $\beta$ -slojevi).



SLIKA 10.18 Glavni nukleotidi koji učestvuju u izgradnji DNK

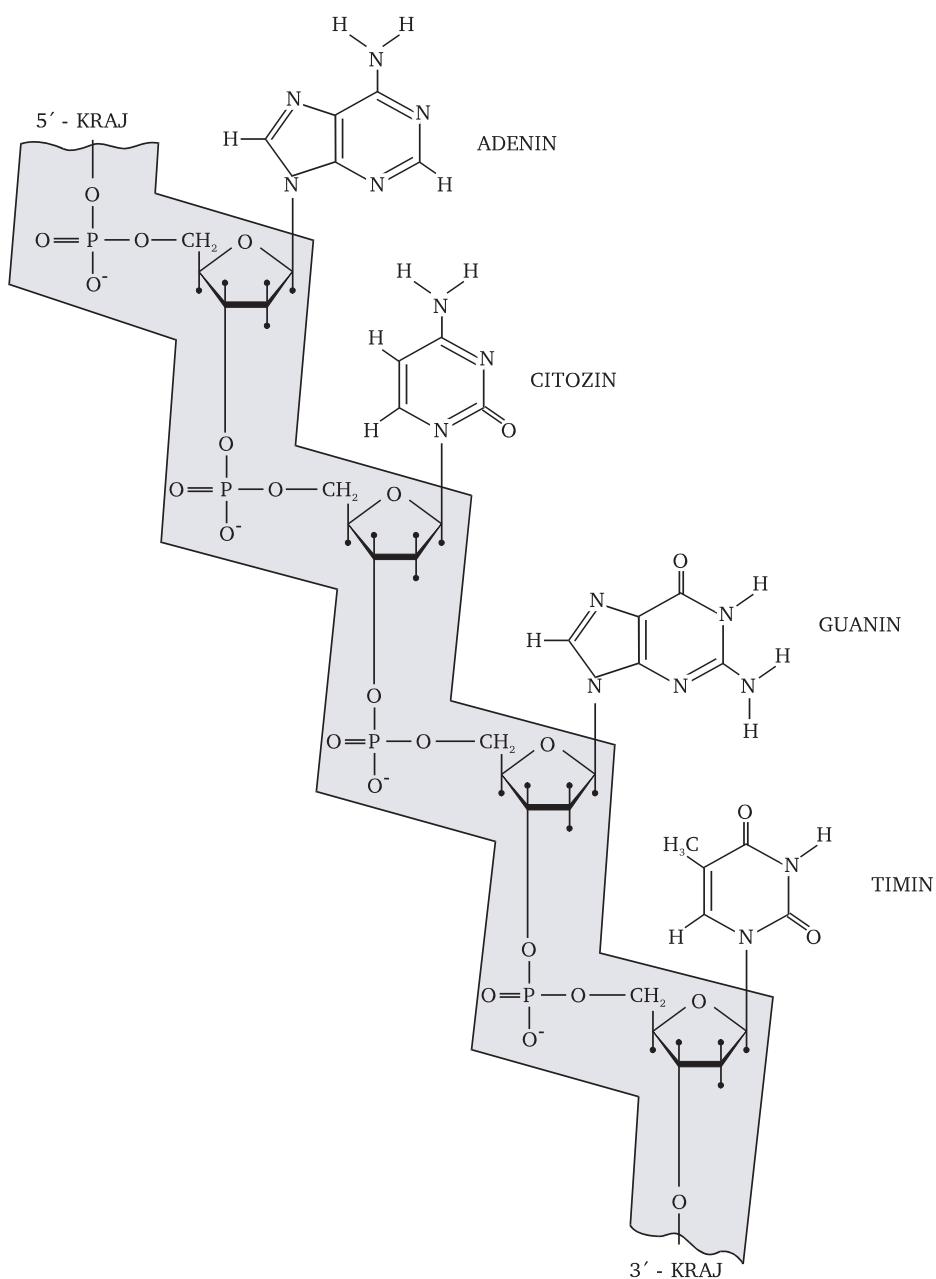
strukture, a slične tercijarne molekularne i kvaternarne nadmolekularne – mogu imati slične biološke funkcije! Ovo ukazuje da se ne odražavaju sve *mutacije* na programu funkcija proteina, odnosno na biohemiju ćelije!

Pored gore pomenutih *globularnih*, postoje i *fibrilarni* proteini, koji imaju vlaknastu tercijarnu molekularnu i kvaternarnu nadmolekularnu strukturu. Oni ne funkcionišu u rastvoru, već obrazuju nadmolekularne tkivne sisteme. Fibrilarna struktura ovih proteina rezultat je minimizacije konformacione energije, sa uračunatom stabilizujućom ulogom molekula vode sadržanih u njima.

**Struktura nukleinskih kiselina (DNK i RNK).** Nukleinske kiseline (DNK i RNK) jesu informacioni biopolimeri, koji regulišu nasledne (genetske) osobine. Geni su fragmenti D NK (kod nekih virusa, geni su fragmenti RNK), i oni programiraju sintezu proteina (belančevina) u ćeliji. Molekuli D NK su najveći u prirodi ( $M \sim 10^9$ ). Nukleinske kiseline imaju ‘zakonodavnu’ ulogu, a proteini ‘izvršnu’! Genetski kod određuje vezu između uzastopnosti nukleotida u D NK i informacionoj ili matričnoj RNK (mRNK) – i uzastopnosti aminokiselinskih ostataka u proteinskom lancu [4–6].

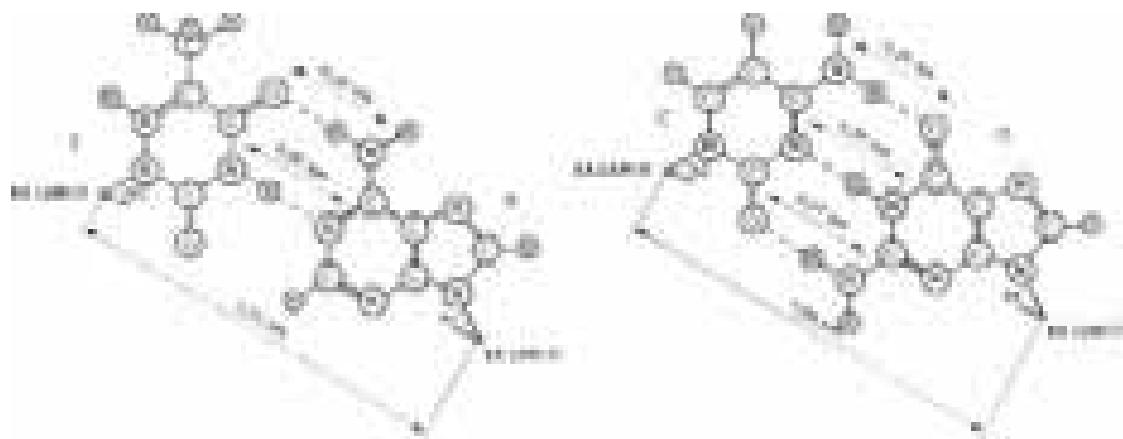
*Dezoksiribonukleinske kiseline (DNK)* sadrže četiri nukleotida, koji se nazivaju *dezoksiribonukleotidi*, s obzirom da nukleotidi D NK sadrže šećer *dezoksiribozu*. Specifični ostaci nukleotida su *purinske i pirimidinske baze* (po 2 od svake vrste): *adenin* (A) i *guanin* (G), i *timin* (T) i *citozin* (C), prikazani na Sl. 10.18.

*Ribonukleinske kiseline (RNK)* sadrže takođe četiri nukleotida, samo što umesto timina (T) sadrže *uracil* (U), koji u odnosu na timin ima H atom umesto metil ( $\text{CH}_3$ ) grupe pirimidinskog prstena. Osim toga, RNK sadrže šećer *ribozu* (za razliku od dezoksiriboze, sadrži dve susedne hidroksilne (OH) grupe umesto jedne, u petočlanom prstenu kiseline), pa se nukleotidi RNK nazivaju *ribonukleotidi*.



*SLIKA 10.19 Primarna molekularna struktura jednog polinukleotidnog lanca (sa osenčenim prikazom fosfodisterskih vezaka između nukleotida u lancu).*

**Primarna molekularna struktura jednog polinukleotidnog lanca DNK** prikazana je na Sl. 10.19, sa koje se vidi da su nukleotidi DNK povezani u lancu preko fosfatnih ( $\text{PO}_4^{2-}$ ) i hidroksilnih (OH) grupa, koje se nalaze na šećernim komponentama, tzv. *fosfodiestarskim vezama*. Sinteza polinukleotidnog lanca odigrava se polikondenzacijom nukleotida, uz izdvajanje vode.



*SLIKA 10.20 Votson-Krikovi parovi nukleotidnih baza ( $A \cdots T$  i  $G \cdots C$ ) u DNK, međusobno spojeni vodoničnim vezama*

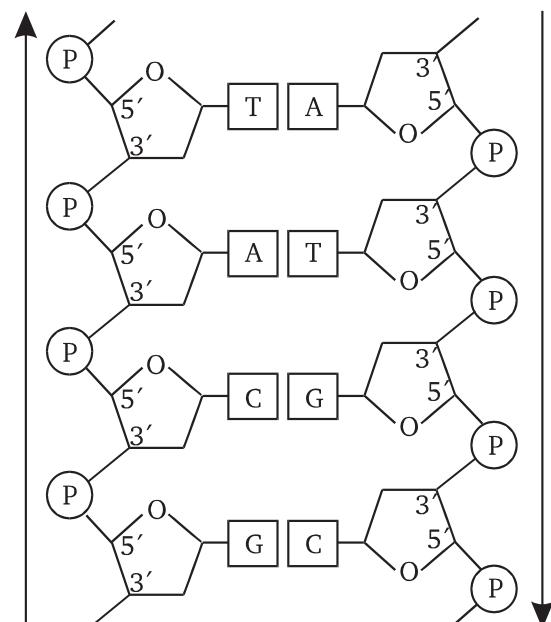
**Primarna molekularna struktura DNK** sastoji se od dva polinukleotidna lanca, koji su međusobno spojeni vodoničnim vezama izmedu specifičnih baza:  $A \cdots T$  i  $G \cdots C$  (tzv. Votson-Krikovi parovi), Sl. 10.20!

**Sekundarna molekularna struktura DNK** je dvolančana spirala, gde se dva polinukleotidna lanca uvijaju jedan oko drugog, spojeni vodoničnim vezama izmedu  $A \cdots T$  i  $G \cdots C$  parova susednih lanaca! DNK može kristalizati u različitim dvospiralnim formama: A, B i C forme. One se razlikuju prema geometrijskim parametrima spirala. Pri tome su lanci u dvolančanoj spirali antiparalelni (Sl. 10.21).

**Tercijarna molekularna struktura DNK** je u formi slabog klupka, pošto je krutost molekula DNK velika, dok **kvaternarna nadmolekularna struktura DNK** praktično i ne postoji.

Biološka funkcionalnost DNK je otuda određena primarnom i sekundarnom molekularnom strukturalom.

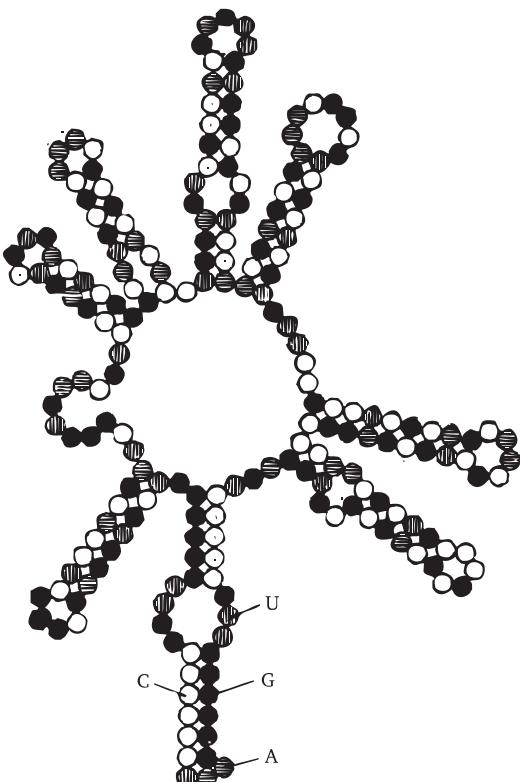
**Sekundarna molekularna struktura RNK**, koje predstavljaju jednolančane biopolimere, ima dvospiralne segmente (zbog tenden-



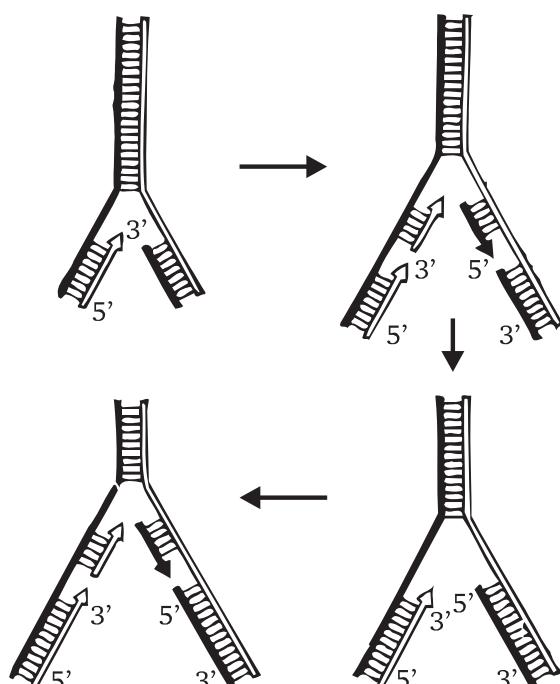
*SLIKA 10.21 Šema dvolančane DNK-spirale, sa antiparalelnim polinukleotidnim lancima u spirali, spojenim Votson-Krikovim arovinama nukleotidnih baza.*

cije sparivanja A···U i G···C baza), ali pošto ovde nema komplementarnih lanaca (kao kod DNK), to će postojati odnosi  $A/U \neq 1$  i  $G/C \neq 1$ , odnosno biće i petlji sa nesparenim delovima izuvijanog RNK-lanca (Sl. 10.22).

**Replikacija DNK** odigrava se pri deobi ćelija (mitozi), kada se genetski materijal ćelije udvostručuje. Mehanizam replikacije je tzv. *polukonzervativni*, pri kome dve DNK-spirale kćeri sadrže svaka po jedan novi i po jedan stari lanac, gde stari lanci služe kao *matrica* za sintezu novog komplementarnog lanca DNK. Ceo proces se odigrava uz katalitičko delovanje proteinskog enzima (fermenta) *polimeraze*, koji se pomera duž dvojne spirale DNK omogućujući sintezu. Šematski prikaz *modela polukonzervativne replikacije* DNK dat je na Sl. 10.23, koja objašnjava repliranje jednog lanca DNK u pravcu 5'"3', a drugog u pravcu 3'"5' – mada se, u suštini, kratki delići DNK uvek sintetišu u pravcu 5'"3'.



SLIKA 10.22 Šema sekundarne strukture RNK.



SLIKA 10.23 Šematski prikaz polukonzervativne replikacije DNK

## 10.6 PITANJA ZA REKAPITULACIJU

- 10.1 Kakvim hemijskim vezama su međusobno povezani atomi: (a) jednovalentnih, (b) dvovalentnih, (c) troivalentnih, (d) četvorovalentnih, (e) jednovalentnih i sedmovalentnih, (f) troivalentnih i petovalentnih elemenata?
- 10.2 Koje vrste hemijskih veza u materijalima obezbeđuju dobru kombinaciju čvrstoće i plastičnosti?
- 10.3 Po kom tipu kristalne rešetke kristališu: (1)  $\alpha$ -Fe, (b)  $\gamma$ -Fe, (c) Al, (d) Cu, (e) Si, (f) dijamant (C), (g) GaAs?
- 10.4 Kako se označavaju fizički ekvivalentne kristalne ravni?
- 10.5 Koje vrste kristalnih nesavršenosti su najznačajnije za: (a) mehanička svojstva metala, (b) električna svojstva poluprovodnika?
- 10.6 Koje vrste hemijskih elemenata se koriste za dopiranje silicijuma: (a) *n*-tipa, (b) *p*-tipa?
- 10.7 Kakvu prostornu strukturu imaju: (a) monokristali, (b) polikristali, (c) tečni kristali, (d) polimeri, (e) amorfni materijali, (f) kompoziti?
- 10.8 Kakva prostorna struktura metala poboljšava sposobnost njihove plastične deformacije?
- 10.9 Koji materijali imaju idealnu kombinaciju čvrstoće, tvrdoće, plastičnosti i žilavosti?
- 10.10 Navesti tipove hibridizacije atomskih orbitala i povezati ih sa strukturnim formama ugljenika.
- 10.11 Čime je određena: (a) primarna; (b) sekundarna; (c) tercijarna; (d) kvaternarna struktura biopolimera?
- 10.12 Koji tip strukture je pre svega odgovoran za biološku funkcionalnost proteina?
- 10.13 Navesti i objasniti primer kooperativnog strukturnog prelaza kod proteina.
- 10.14 Navesti osnovne gradivne jedinice: (a) proteina, (b) nukleinskih kiselina.
- 10.15 Kako se naziva povezanost uzastopnosti nukleotida u DNK i uzastopnosti aminokiselinskih ostataka u proteinskom lancu?
- 10.16 Kako su povezana dva polinukleotidna lanca u dvospiralnoj strukturi DNK?

## 10.7 LITERATURA

1. D. Rakovic, *Fizičke osnove i karakteristike elektrotehničkih materijala* (Elektrotehnicki fakultet / Akademска misao, Beograd, 1995 / 1997; 2000).
2. D. Raković, S. Krstić, Lj. Turković, *Savremeni materijali i tehnologije* (Grosknjiga, Beograd, 1997).
3. D. R. Askeland, *The Science and Engineering of Materials* (PWS-KENT, Boston, 1989).
4. D. Raković, *Osnovi biofizike* (Grosknjiga, Beograd, 1994; 1995; IASC&IEFPG, Beograd, 2008).
5. M. V. Voljvenshtein, *Biofizika* (Nauka, Moskva, 1981).

6. J. D. Watson, *Molecular Biology of the Gene* (Benjamin, New York, 1970), prevedeno i kod nas.
7. D. Raković, R. Kostić, M. Grujić, Novi kvazijednodimenzioni elektronski materijali: provodni polimeri i ugljenične nanotube, plenarno predavanje, Zbornik radova Yu-Polimeri 2002, Čačak, maj 2002, i tamošnje reference.
8. D. Raković, Structure and properties of conducting polymers, *Material Science Forum* 214 (1996) 139–146, i tamošnje reference.
9. L. A. Gribov, *Vvedenie v molekulyarnuyu spektroskopiyu* (Nauka, Moskva, 1976).
10. L. A. Gribov, S. P. Mushtakova, *Kvantovaya himiya* (Gardariki, Moskva, 1999).
11. Dj. Koruga, S. Hameroff, J. Withers, R. Loutfy, M. Sundaresan, *Fullerene C<sub>60</sub>: History, Physics, Nanobiology, Nanotechnology* (North-Holland, Amsterdam, 1993).
12. M. S. Dresselhaus, G. Dresselhaus, P. C. Eklund, *Science of Fullerenes and Carbon Nanotubes* (Academic Press, San Diego, 1996).
13. D. Raković, Pregled osnovnih metoda i tehnika karakterizacije fizičkih svojstava fuleren-a, *Fullerenes & Nanotubes Rev.* 1(2–3) (1997) 53–69, i tamošnje reference.

## FIZIČKA KARAKTERIZACIJA BIOMATERIJALA<sup>1</sup>

Fizika materijala, nužno je bazirana na kombinaciji teorijskih i eksperimentalnih metoda karakterizacije, odnosno kombinaciji proračuna različitih fizičkih modela i sukcesivnih eksperimentalnih testiranja – što posredno dovodi do širenja odgovarajućih naučnih saznanja kroz formiranje opšteprihvaćenih modela pojava u konkretnim materijalima, koji potom omogućavaju i njihovu tehnološku primenu.

Postojeće fizičke teorijske i eksperimentalne metode karakterizacije biomaterijala mogле bi se uslovno podeliti na karakterizaciju njihove molekulske težine i prostorne strukture [1-4].

*Molekulska težina* izgrađivačkih molekula biomaterijala određuje se metodom *masene spektroskopije*, mada se koriste i druge metode poput *osmometrije*, *viskozimetrije*, *sedimentacije u centrifugi*, i *rasejanja svetlosti* [2-4].

*Prostorna struktura* biomaterijala određuje se metodama *difrakcije* (rentgenska, neutronska, elektronska), *mikroskopije* (optička, elektronska, SPM) i *spektroskopije* (elektronske, vibracione, magnetne) [1-4].

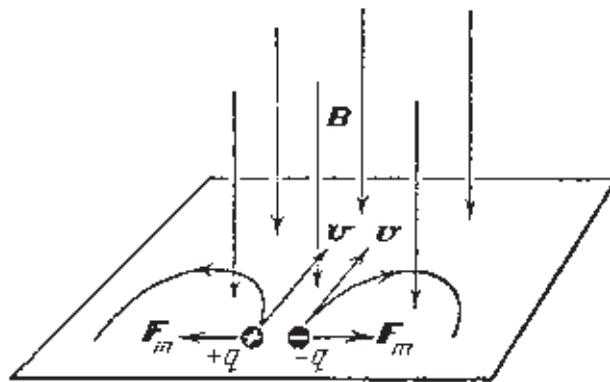
### 11.1 METODE KARAKTERIZACIJE MOLEKULSKE TEŽINE BIOMATERIJALA

**Masena spektroskopija** je zasnovana na određivanju specifičnog naieltrisanja ( $q/m$ ) jonizovanih biomolekula, merenjem na fotoluminiscentnom zaklonu položaja horizontalnog otklona ( $r = mv/qB$ ) jona poznate brzine ( $v$ ) u magnetnom polju ( $B$ ) normalnom na njihovu Lorencovu kružnu trajektoriju (Sl. 11.1).

**Osmometrija** je zasnovana na merenju osmotskog pritiska ( $p_{osm}$ ) rastvora biomaterijala. Odatle se može odrediti molekulska težina biomolekula ( $M$ ) iz Vant-Hofovog zakona:  $p_{osm}/C = RT/M$  ( $C$  je koncentracija rastvora u  $\text{g/cm}^3$ ).

**Viskozimetrija** je zasnovana na merenju viskoznosti rastvora ( $\eta$ ), viskoznosti čistog rastvarača ( $\eta_0$ ), i određivanju karakteristične viskoznosti rastvora bio-

<sup>1</sup>Ovo poglavlje napisali su Dejan Raković i Miroslav Dramićanim.



**SLIKA 11.1** Prikaz skretanja jona po kružnoj trajektoriji u masenom spektrografu, usled dejovanja Lorencove sile ( $F_m$ ).

materijala ( $[\eta] = \lim_{C \rightarrow 0} (\eta - \eta_0)/\eta_0 C$ ). Molekulska težina biomolekula određuje se iz relacije  $[\eta] = AM^a$ , gde se parametri  $a$  ( $0,5 \leq a \leq 1$ , zavisno od promočivosti klupka biomolekula) i  $A$  određuju drugim metodama.

**Sedimentacija u centrifugiji** sastoji se od taloženja biomolekula pod dejstvom centrifugalne sile u ultracentrifugiji (sa ekvivalentnim ubrzanjima  $\sim 350.000 g$ ). Kiveta sa rastvorom biomaterijala ima prozračne kristalne kvarcne zidove, što omogućava optičku registraciju brzine kretanja prelazne zone između čistog rastvarača i rastvora biomaterijala. Molekulska težina biomolekula dobija se iz Svedberrove formule:  $M = RTs/(1 - \rho_0/\rho_M)D$ , gde je  $D$  koeficijent difuzije biomolekula u rastvoru,  $\rho_M$  gustina biomolekula,  $\rho_0$  – gustina rastvarača,  $s$  koeficijent sedimentacije ( $s = (dx/dt)/\omega^2 x$ , gde je  $\omega$  ugaona brzina rotacije centrifuge, a  $x$  rastojanje prelazne zone od ose rotacije; koeficijent sedimentacije meri se u svedberzima (S):  $1S = 10^{-13} s$ ). Veličina  $s_0 = \lim_{C \rightarrow 0} s$  predstavlja karakteristiku datog biomolekula, i naziva se konstantom sedimentacije.

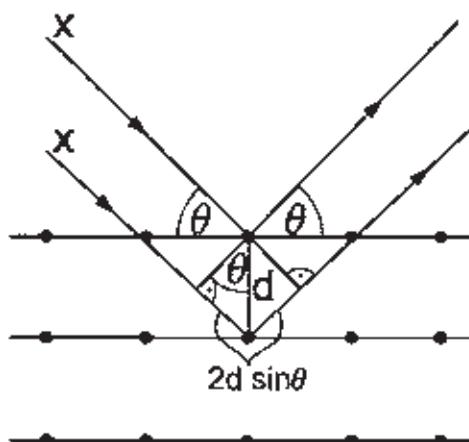
**Rasejanje svetlosti** u rastvoru biomaterijala zavisi od molekulske težine biomolekula. Zbog rasejanja, intenzivnost upadnog snopa ( $I_0$ ) slabi po zakonu  $I = I_0 e^{-\kappa l}$ , gde je  $l$  debljina sloja rastvora kroz koji prolazi svetlosni snop, a  $\kappa$  koeficijent mutnosti rastvora:  $\kappa = 8\pi HCM/3$  (gde je  $H = 4\pi^2 n_0^2 (dn/dC)^2 / N_A \lambda^4$ ; tu su  $n_0$  i  $n$  indeksi prelamanja rastvarača i rastvora, respektivno,  $C$  koncentracija rastvora,  $\lambda$  – talasna dužina svetlosti, a  $N_A$  Avogadrovo broj). Molekulska težina biomolekula ( $M$ ) određuje se iz koeficijenta mutnosti rastvora ( $\kappa$ ).

## 11.2 DIFRAKCIJONE METODE KARAKTERIZACIJE BIOMATERIJALA

Difrakcione metode (rentgenska, neutronska i elektronska difrakcija) najznačajnije su metode za struktturnu karakterizaciju biomaterijala u kristalnoj formi [1-3].

**Rentgenska difrakcija** koristi efekat difrakcije X-zraka ( $\lambda_x \sim 0,1\text{nm}$ ) na kristalnoj rešetki, gde se difrakcioni maksimumi ostvaruju pod uslovom da se rasejani zraci na kristalnim ravnima nalaze u fazi (v. Sl. 11.2), odakle sledi Bragov zakon:  $n\lambda = 2ds\sin\theta$  (gde je  $\lambda$  talasna dužina X-zraka,  $d$  rastojanje između kristalnih ravn na kojima se ostvaruje difrakcija,  $\theta$  difrakcioni ugao između pravca upadnog X-zraka i kristalne ravni pri kome se ostvaruje difrakcioni maksimum,  $n = 0, 1, 2, \dots$ ). Gornji Bragov uslov važi za proste kristalne strukture i može se iskoristiti za određivanje tipa i parametara kristalne rešetke kao i sačinioца linearног termičkog širenja ispitivanog materijala (v. Zad. 11.1-3). U slučaju složenih kristalnih struktura, sa višeatomskim bazisom od  $s$  različitih atoma u primitivnoj ćeliji, neophodno je uračunati i geometrijski strukturni faktor:  $S_K = \sum_j f_j \exp(iKd_j)$  (gde sumiranje ide po svim bazisnim atomima,  $j = 1, 2, \dots, s$ ; tu je  $f_j$  atomski form faktor  $j$ -tog atoma u bazišu,  $K$  vektor translacije recipročne rešetke, a  $d_j$  vektor položaja  $j$ -tog atoma bazisa primitivne ćelije) – koji modifikuje intenzivnost difrakcionih maksimuma (v. Zad. 11.4-5)! Na taj način moguće je odrediti raspodelu elektronske gustine u kristalu. Da bi za složene biopolimerne strukture problem bio jednoznačno rešen, vršeno je prisajedinjavanje težih atoma proteinima (tzv. Perucov metod izomorfne zamene), i na osnovu razlike izvornih i modifikovanih difraktograma određivana jednoznačno prostorna raspodela elektronske gustine mnogih proteina! Kod DNK – koje imaju dvospiralnu strukturu (ali ne i globularnu, pa ni kvaternarnu kristalnu strukturu), i čiji molekuli obrazuju parakristale od linijskih molekula (međusobno pomerenih i uvrnutih) – koristi se metod “probe i greške”, gde se teorijski izračunava difraktogram za razne modelne strukture i poređi sa eksperimentalnim, čime je dobijena dvospiralna struktura DNK!

**Neutronska difrakcija** koristi termalne neutrone male energije ( $E_n \sim 0,08 \text{ eV}$ ), koji imaju talasnu dužinu reda međuatomskih rastojanja u kristalu ( $\lambda_n = h/\sqrt{2m_n E_n} \sim 0,1 \text{ nm}$ , gde je  $h$  Plankova konstanta, a  $m_n$  – masa neutrona). Za razliku od difrakcije X-zraka, ona omogućava određivanje položaja atoma vodonika (H) na kojima se termalni neutroni intenzivno rasejavaju, što se uočava na neutron-



SLIKA 11.2 Šematski prikaz rentgenske difrakcije X-zraka u kristalu

skom difraktogramu. Neutronsko rasejanje je pogodno i za određivanje vodoničnih veza, što je od velikog značaja za biomaterijale.

**Elektronska difrakcija** koristi spore elektrone male energije ( $E_e \sim 150$  eV), koji imaju talasnu dužinu reda međuatomskih rastojanja u kristalu ( $\lambda_e \sim 0,1$  nm). Zbog svoje male energije i jakih kulonovskih odbojnih interakcija sa elektronskim omotačima atoma ispitivanog biomaterijala, spori elektroni prodiru plitko u uzorak, usled čega je njihova difrakciona slika skoro isključivo određena površinskim atomima kristalnog uzorka, pa se ova metoda koristi za karakterizaciju površine biomaterijala.

## 11.3 MIKROSKOPSKE METODE KARAKTERIZACIJE BIOMATERIJALA

Mikroskopske metode su od velikog značaja kako za karakterizaciju nadmolekularne morfološke strukture biomaterijala (optička i elektronska mikroskopija) [1, 5] tako i njihovih subatomskih detalja (mikroskopija skenirajućom probom) [1, 6].

**Optička mikroskopija** (koja se naziva i *metalografska mikroskopija*, detaljnije opisana u Od. 12.2) jedna je od najprostijih metoda za ispitivanje makroskopskih detalja prostorne strukture biomaterijala. Pošto je talasna dužina vidljivog zračenja  $\sim 10^2\text{--}10^3$  nm, to je zbog difrakcije njena moć razdvajanja ograničena na detalje strukture istog reda veličine, što već spada u domen ispitivanja makroskopskih defekata. Ova metoda je naročito pogodna za ispitivanje površinske strukture neprovidnih biomaterijala, kao i za izučavanje strukture u tečnokristalnim fazama, posebno ispitivanjem u polarizovanoj svetlosti.

**Elektronska mikroskopija** (SEM/TEM) koristi talasna svojstva elektrona, omogućavajući istraživanje detalja prostorne strukture i do nekoliko međuatomskih rastojanja. Najznačajnije varijante elektronske mikroskopije su *skenirajuća elektronska mikroskopija* i *transmisiona elektronska mikroskopija*.

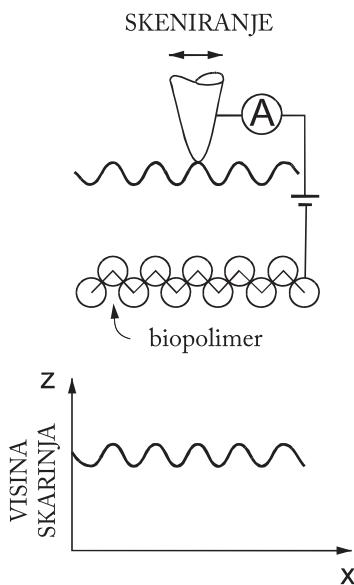
**Skenirajuća elektronska mikroskopija** (SEM) jedna je od najviše korišćenih metoda u karakterizaciji biomaterijala. SEM uređaji rade na uvećanjima od 10 do preko 300.000, a osim morfologije ispitivanog biomaterijala u mogućnosti su da pruže preciznu informaciju o hemijskom sastavu biomaterijala u blizini njegove površine. U tipičnom SEM eksperimentu generiše se snop elektrona fokusiran u fini spot prečnika približno 5 nm, sa energijama elektrona koje variraju od nekoliko stotina do 50.000 eV. Nakon što elektroni udare u ispitivanu površinu i prodru kroz nju, dolazi do emisije elektrona i fotona iz biomaterijala koji se skupljaju i detektuju pomoću katodne cevi. Kada primarni visokoenergetski elektroni interaguju sa materijalom dolazi do neelastičnog rasejanja sa elektronima u materijalu i do elastičnog rasejanja na jezgrima atoma. U slučaju neelastičnog rasejanja primarni elektroni predaju deo svoje energije elektronima u materijalu, čime se stvaraju uslovi za njihovu emisiju kao *sekundarnih elektrona* koji obično imaju energiju manju od 50 eV. Deo elastično rasejanih primarnih elektrona vraća se iz materijala kroz površinu prema katodnoj cevi kao *kontrarasejani elektroni* ('backscattered electrons'). Vero-

vatnoća kontrarasejanja povećava se sa atomskim brojem, što omogućava dobijanje kontrasta između regiona biomaterijala različitog sastava. SEM uređaji mogu da generišu različite slike u zavisnosti od toga da li se vrši detekcija sekundarnih ili kontrarasejanih elektrona. Tokom interakcije primarnih elektrona sa biomaterijalom dolazi i do izbacivanja elektrona iz elektronskih ljudskih atoma. Tako pobuđeni atomi deeksistuju se u osnovno stanje ili emisijom fotona karakterističnog X-zračenja ili emisijom Ožeovog elektrona. Detekcijom i analizom jedne od ovih emisija dobijaju se precizne informacije o hemijskom sastavu biomaterijala.

**Transmisiona elektronska mikroskopija** (TEM) ima izuzetno veliki opseg uvećanja od 50 do  $10^6$  i mogućnost dobijanja slike biomaterijala zajedno sa elektronskim difrakcionim podacima. U klasičnom TEM eksperimentu elektroni se ubrzavaju do energija od 100 keV ili više (do 1 MeV) i usmeravaju na tanak uzorak materijala (debljine manje od 200 nm). U zavisnosti od načina rasejanja elektrona u materijalu mogu se dobiti dve vrste informacija. Elastično rasejanje je odgovorno za nastanak difrakcionih slika, dok neelastično rasejanje elektrona na nehomogenostima u materijalu (granice zrna, dislokacije, defekti, prisustvo druge faze, ...) proizvodi lokalne prostorne varijacije u intenzitetu transmitovanog elektronskog snopa i omogućava dobijanje klasične elektronske transmisione slike biomaterijala. Velika uvećanja i rezolucija TEM uređaja posledica su izuzetno male efektivne talasne dužine elektrona. Pošto se talasna dužina elektrona smanjuje sa povećanjem napona ( $\lambda_e \sim U^{-1/2}$ ), moguće je ostvariti veoma visoke rezolucije sa visokonaponskim TEM uređajima (tako se kod uređaja koji rade na 400 kV ostvaruje rezolucija od 0,2 nm).

**Mikroskopija skenirajućom probom** (SPM) opšti je naziv kojim se definiše familija mikroskopskih tehnika zasnovanih na različitim interakcijama probe sa silama koje deluju na površini ispitivanog materijala. SPM je jedina mikroskopska metoda koja omogućava dobijanje trodimenzionalnih (topografskih) slika ispitivanog uzorka u realnom prostoru. Specifična je i po tome što omogućava prostorno lokalizovanu kombinovanu analizu strukture i svojstava materijala u jedinstvenom postupku. U zavisnosti od vrste korišćene probe i tipa interakcije sa površinom, razvijene su brojne podvarijante ove instrumentalne tehnike kojima se ispituju različita svojstva materijala lokalizovana na mikro- i nano-domenima. Prema datumu nastanka i obimu korišćenja, najznačajnije SPM tehnike su *skenirajuća tunelska mikroskopija* i *mikroskopija atomskih sila*.

**Skenirajuća tunelska mikroskopija** (STM) zasnovana je na kvantnomehaničkom fenomenu tuneliranja elektrona između vrha probe (za koji se uobičajeno koristi naziv *tip*) i površine ispitivanog materijala, a može se primeniti samo u slučajevima električno provodnih materijala. Kada se uspostavi napon  $U$  između tipa i površine uzorka, dolazi do promene oblika energetske barijere i do tuneliranja elektrona kroz barijeru. Rezultat tuneliranja je struja  $I$ , koja zavisi od rastojanja  $z$  između površine uzorka i tipa:  $I \propto \exp(-kz)$ , gde je  $k = \sqrt{2m(eU - E)}/h$  funkcija primjenjenog napona  $U$ ,  $m$  masa elektrona,  $e$  nanelektrisanje elektrona,  $E$  energija elektrona, a  $h$  Plankova konstanta. Struja tuneliranja eksponencijalno opada sa rastojanjem između tipa i površine materijala, pa smanjenje rastojanja za 0,1 nm povećava struju tuneliranja za jedan red veličine, što ukazuje na izuzetno ve-



*SLIKA 11.3 Šematski prikaz principa skenirajuće tunelske mikroskopije (STM)*

liku rezoluciju i primenljivost za strukturalna istraživanja na atomskom nivou. U tipičnom STM eksperimentu koristi se ekstremno oštar provodni tip (napravljen najčešće od W ili Pt-Ir legure), montiran na piezoelektrični element koji mu omogućava trodimenzionalno pomeranje iznad provodne površine koja se ispituje. Tip skenira površinu uzorka pri čemu se mehanizmom povratne sprege održava konstantnim strujom tuneliranja (Sl. 11.3) ili rastojanje između tipa i površine. Izmereni podaci (rastojanje ili struja) u raznim tačkama x-y ravni softverski se pretvaraju u trodimenzionalnu topografsku sliku površine. Osim za dobijanje visokorezolucionih prikaza površine materijala, STM tehnika se koristi i za lokalizovana merenja strujno-naponskih karakteristika površine radi određivanja energetskih stanja površine, što se naziva *skenirajuća tunelska spektroskopija* (STS).

**Mikroskopija atomskih sila** (AFM) razvijena je da bi se prevazišlo osnovno ograničenje STM, odnosno nemogućnost istraživanja

električno neprovodnih materijala. U ovom slučaju tip se montira na kraju lagane, veoma elastične i visokoreflektujuće pločice (kantiliver) pod uglom od  $90^\circ$ . AFM prati promenu nagiba kantilivera koji se menja pri paranju tipa po površini biomaterijala, čime se menja i ugao reflektovanog laserskog snopa usmerenog na kantiliver, što se takođe softverski pretvara u trodimenzionu sliku ispitivanog uzorka. Na malim rastojanjima između tipa i površine materijala, predominantan uticaj na vertikalno pomeranje tipa i savijanje kantilivera ima kratkodometna van der Valsova interakcija. Na većim rastojanjima kada je uticaj van der Valsovih sila zanemarljiv, dominantan uticaj imaju sile dužeg dometa, elektrostaticka i kapilarna. Moderni AFM uređaji koriste kantilivere izuzetno male mase čime je omogućena detekcija sila koje deluju na tip od  $\sim 10^{-18}$  N. AFM se veoma mnogo koristi i za lokalizovana merenja elastičnosti i viskoznosti površine materijala, određivanjem zavisnosti sile-rastojanje na izabranim mestima na površini biomaterijala.

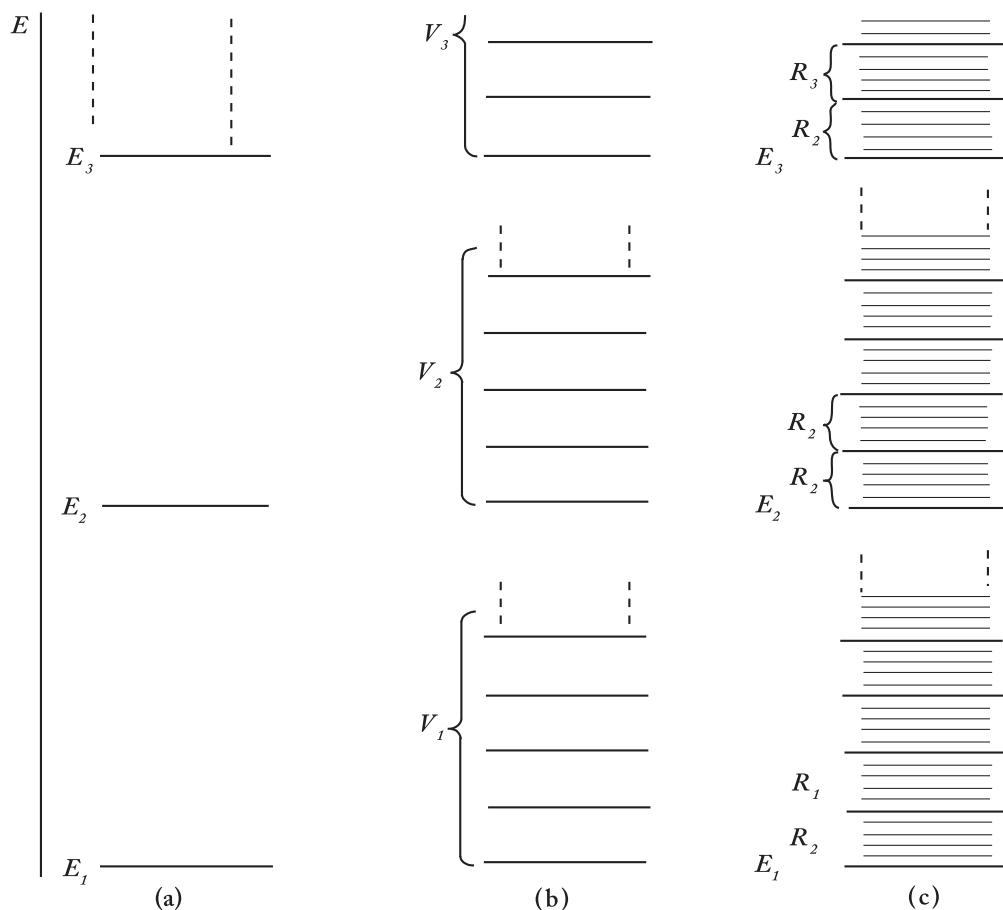
Postoje i druge SPM podvarijante, zasnovane na različitim interakcijama između tipa i podlage: mikroskopija elektrostatickim silama (EFM) određuje raspodelu nanelektrisanja na površini biomaterijala na osnovu lokalnih promena elektrostatickih sila koje deluju između tipa i površine, mikroskopija magnetnim silama (MFM) prati promene u magnetnoj interakciji između magnetnog tipa i površine magnetnog materijala, skenirajuća termalna mikroskopija (SThM) koristi tip funkcionalizovan u minijaturni termopar čijim se skeniranjem dobija visokorezoluciona temperaturska raspodela na ispitivanoj površini biomaterijala, skenirajuća kapacitivna mikroskopija (SCM) meri promenu električne kapacitivnosti između tipa i površine, a mikroskopija kelvinovom probom (KPM) koristi prostorno lokalizova-

na merenja hemijskog potencijala. Mnoge od pobrojanih metoda kombinuju se u specifične uređaje koji u jednom postupku (merenju) određuju visokorezolucionu topografiju površine materijala i daju prostorno lokalizovane vrednosti jednog ili više svojstava materijala.

## 11.4 SPEKTROSKOPSKE METODE KARAKTERIZACIJE BIOMATERIJALA

*Spektroskopske metode* omogućavaju određivanje položaja energetskih nivoa različitih eksitacija (elektronskih, vibracionih, rotacionih ili njihovih kombinacija) u ispitivanom uzorku; informacije koje se dobijaju od različitih eksitacija su komplementarne, dajući potpuniju sliku o strukturi ispitivanog biomaterijala [7, 8].

Hijerarhija položaja energetskih nivoa eksitacija izolovanih molekula prikazana je na Sl. 11.4, na kojoj se vidi da unutar svakog *elektronskog nivoa* (Sl. 11.4a) postoji struktura *vibracionih nivoa* (Sl. 11.4b), unutar kojih postoji i struktura *rotacionih nivoa* (Sl. 11.4c).



SLIKA 11.4 Šematski prikaz hijerarhije (a) elektronskih, (b) elektronsko-vibracionih i (c) elektronsko-vibraciono-rotacionih energetskih nivoa molekula.

Ovakva hijerarhija molekularnih energetskih nivoa različitih eksitacija ( $E_e : E_v : E_r \approx 1 : \gamma : \gamma^2$ , gde parametar  $\gamma = \sqrt{m_e/M}$  zavisi od odnosa masa elektrona  $m_e$  i jezgara  $M$ ) određuje i oblik tzv. *adijabatske aproksimacije* u njihovom izračunavanju: imajući u vidu mnogo veću inerciju vibracija jezgara i rotacija čitavih atomskih grupa unutar molekula, u *prvoj aproksimaciji* se posmatra kretanje elektrona u kулонovskom polju *nepokretnih jezgara* u molekulu, i rešavanjem *elektronske Šredingerove jednačine* određuju energije i talasne funkcije elektronskih nivoa. Ni ovaj postupak nije egzaktno rešiv, pa se u ovom koraku pribegava *različitim metodama aproksimacije* elektronskog hamiltonijana i predstavljanjem totalne višeeklektronske talasne funkcije molekula  $\Psi_e$  u obliku *Slejterovskih determinanti* (ili njihovih linearnih kombinacija) sa *molekulskim orbitalama* (MO) u formi *linearnih kombinacija atomskih orbitala* (LCAO). Ovi postupci pokrivaju širok krug *kvantnohemijaških metoda* [7, 9] (neinteragujućih elektrona, mešanja elektronskih konfiguracija, Hartree-Fok-Rutanov metod samosaglašenog polja, Hikelov MO metod, Parizer-Par-Poplov-a  $\pi$ -elektronska aproksimacija, CNDO, INDO i MINDO semiempirijske metode bez razdvajanja  $\sigma$  i  $\pi$  elektrona itd.), a osim njih postoje i *tehnike teorije višečestičnih sistema* preuzete iz teorije polja, nuklearne fizike i fizike čvrstog stanja [10]. *Intenzivnosti elektronskih prelaza* sa jednog na drugi nivo računaju se u tzv. *dipolnoj aproksimaciji*, pri čemu su *dozvoljeni prelazi* između višeeklektronskih konfiguracija sa promenom samo jedne jednoelektronske orbitale ali neizmenjenog totalnog spina, uz dodatna simetrijska ograničenja dozvoljenih prelaza saglasno odgovarajućim *pravilima selekcije* koja zavise od simetrije molekula i jednoelektronskih orbitala između kojih se ostvaruje *jednoelektronski prelaz bez promene spina* [7].

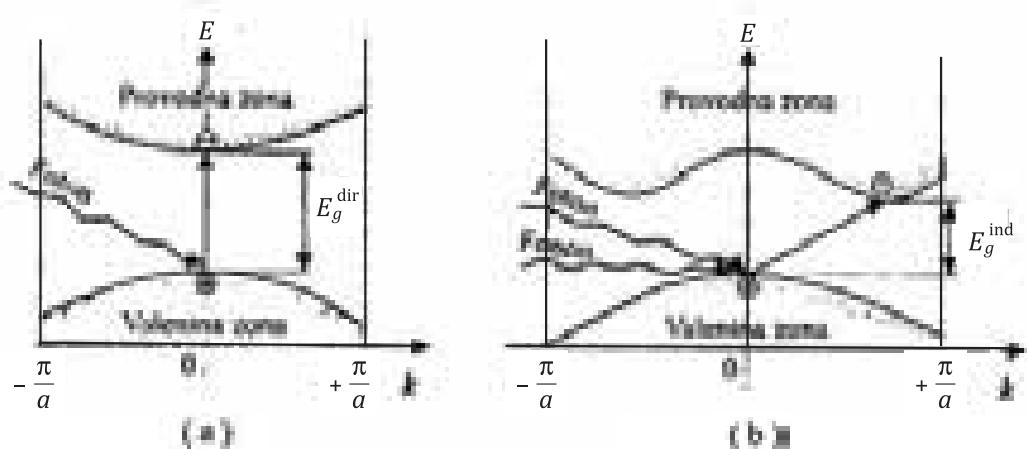
Deformišući molekul u širokom intervalu izmene relativnih položaja jezgara u sistemu tzv. *hemijaških koordinata* ( $q$ ), dobija se skup elektronskih nivoa  $E_{en}(q)$  koji opisuju glatke potencijalne hiperpovrši, koje figurišu kao potencijalne energije za *vibracionu Šredingerovu jednačinu* odgovarajućeg elektronskog nivoa ( $n = 1, 2, 3 \dots$ ). Ukoliko odgovarajuće potencijalne hiperpovrši molekula imaju dovoljno duboke minime, *harmonijsko kretanje jezgara* daje diskretni skup rešenja odgovarajućih elektronsko-vibracionih energetskih nivoa  $E_{en,vm}$  ( $n = 1, 2, 3, \dots; m = 1, 2, 3, \dots, 3N-6$ ), kao i odgovarajuće linearno nezavisne forme *vibracionih normalnih modova* ( $Q_{vm}$ ), koji u  $N$ -atomskom molekulu korespondiraju sa  $3N-6$  unutrašnjih vibracionih stepeni slobode, dok preostalih 6 stepeni slobode otpada na 3 translaciona i 3 rotaciona stepena slobode molekula kao celine. Sa stanovišta mehanizama interakcije i pravila selekcije *intenzivnosti fundamentalnih vibracionih prelaza* sa osnovnog na prvi pobuđeni vibracioni nivo (istog elektronskog nivoa), postoje *dve vrste vibracionih spektara: infracrvena apsorpcija* (fononima koji generišu *dipolni električni momenat* molekula) i *Ramanovo rasejanje* (fononima koji generišu *tenzor polarizabilnosti* molekula) [7, 8]. U oba slučaja su *najintenzivija* fundamentalna jednofononska pobuđenja, mada se mogu ostvarivati i *manje intenzivna* dvofononska i višefononska pobuđenja, sa svojim *pravilima selekcije*.

Deformišući molekul u širokom opsegu izmene uglova unutrašnjih rotacija ( $\varphi, \theta$ ) atomskih unutar-molekularnih grupa, dobija se skup elektronsko-vibracionih nivoa  $E_{en,vm}(\varphi, \theta)$  koji opisuju glatke potencijalne hiperpovrši, koje figurišu kao potencijalne energije za *rotacionu Šredingerovu jednačinu* odgovarajućeg elek-

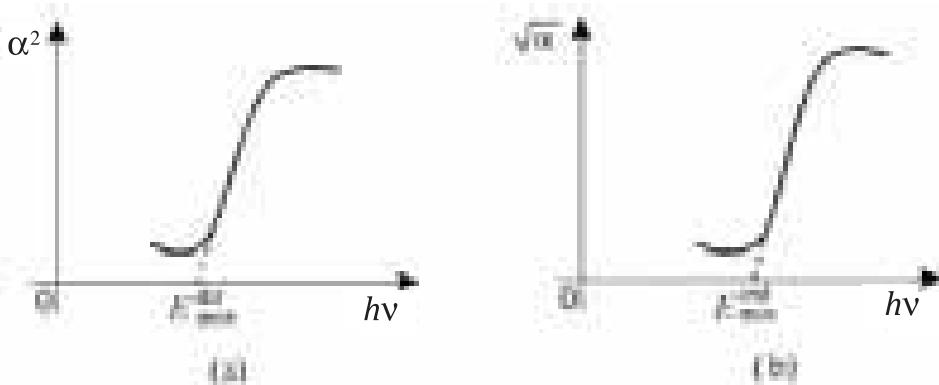
tronsko-vibracionog nivoa ( $n = 1, 2, 3, \dots; m = 1, 2, 3, \dots$ ), odakle se dobija diskretni skup rešenja odgovarajućih elektronsko-vibraciono-rotacionih energetskih nivoa  $E_{\text{en,vm,rl}}$  ( $n = 1, 2, 3, \dots; m = 1, 2, 3, \dots; l = 1, 2, 3, \dots$ ); i intenzivnosti rotacionih prelaza sa jednog na drugi nivo računaju se u *dipolnoj aproksimaciji*, uz odgovarajuća *pravila selekcije* [8]. Ipak, zbog nedovoljne monohromatičnosti današnjih optičkih uređaja ( $\sim 1 \text{ cm}^{-1}$ ), što po redu veličine daleko prevazilazi finu rotacionu strukturu spektralnih linija, *rotacioni spektri* nisu od većeg praktičnog značaja.

Dosadašnje razdvajanje elektronskih, vibracionih i rotacionih stepeni slobode je fizički opravdano u većini slučajeva. Međutim, u slučaju blisko raspoređenih (kvazidegenerisanih) elektronskih nivoa molekula, kada doprinosi energije vibracionog kretanja više nisu mali u odnosu na energetska razlike ovakvih elektronskih nivoa, adijabatska aproksimacija više nije opravdana i neophodno je uključivanje *elektronsko-vibracionih interakcija* (tzv. Jan-Telerov efekat [11]). Slično, za molekularnu biofiziku fermentativnih konformacionih promena u kontaktu sa odgovarajućim supstratom značajne su *elektronsko-konformacione interakcije* [2, 3, 12], sa pre-raspodelom energije elektronskih i vibracionih prelaza u energiju kretanja čitavih delova molekula fermentata koje dovode do promene njihove konformacije.

U *kondenzovanom stanju* nastalom zbližavanjem pojedinačnih molekula, uzorak se može posmatrati kao džinovski molekul sastavljen od velikog broja polaznih molekula. Na osnovu Paulijevog principa isključenja, više elektrona ne može zauzimati ista dozvoljena stanja, što prouzrokuje "cepanje" nivoa elektrona izolovanih molekula u skupove energetskih nivoa na bliskom energetskom rastojanju, tzv. *energetske zone*. Na Sl. 11.5 dat je šematski prikaz energetskih zona biomaterijala sa tzv. *direktnim* (Sl. 11.5a) i *indirektnim* (Sl. 11.5b) *energetskim procepom*, koji razdvaja dve dozvoljene zone, valentnu i provodnu [1]. Prikaz energetskih zona dat je u faznom prostoru zavisnosti energije elektrona ( $E_e$ ) u funkciji njegovog talasnog broja ( $k_e$ ), čije fizički neekivalentne vrednosti zbog prostorne periodičnosti kristala mogu ležati samo u granicama *prve Brilauenove zone* ( $-\pi/a < k = \pi/a$ , u jednodi-



SLIKA 11.5 Šematski prikaz (a) direktnih i (b) indirektnih međuzonskih elektronskih prelaza, kod biomaterijala sa direktnim, odnosno indirektnim procepom.



SLIKA 11.6 Određivanje veličine i tipa energetskog procepa biomaterijala iz položaja minimalnih energija (a) direktnog prelaza i (b) indirektnog prelaza:  $E_g = \min\{E_{\min}^{\text{dir}}, E_{\min}^{\text{ind}}\}$ .

menzionom slučaju kristala s periodom rešetke  $a$ , v. Zad. 11.6). Kod biomaterijala sa direktnim energetskim procepom elektron sa vrha valentne zone može apsorbujući foton (kvant elektromagnetskog polja) vidljive svetlosti energije  $E_g$  preći na dno provodne zone, sa zanemarljivom promenom talasnog broja u odnosu na dimenzije Briluenove zone ( $k_e = 2\pi/\lambda \sim 10^7 \text{ m}^{-1} \ll \pi/a \sim 10^{10} \text{ m}^{-1}$ ); međutim, u slučaju biomaterijala sa indirektnim procepom, za prelazak elektrona sa vrha valentne na dno provodne zone potrebna je, pored energije  $E_g$  apsorbovanog fotona, i značajna promena talasnog broja (i njemu proporcionalnog impulsa,  $p=\hbar k$ ) koju ne može imati foton vidljive svetlosti, već samo fonon (kvant vibracije kristalne rešetke, čije vrednosti talasnog broja mogu, poput elektronskih, ležati u granicama prve Briluenove zone), pa je u ovakvim prelazima neophodno, osim učešće elektrona i fona, i učešće fonona. Pošto je kod indirektnih prelaza neophodno dodatno učesće i fonona, to su biomaterijali sa indirektnim energetskim procepom optički sporiji i neefikasniji od onih sa direktnim.

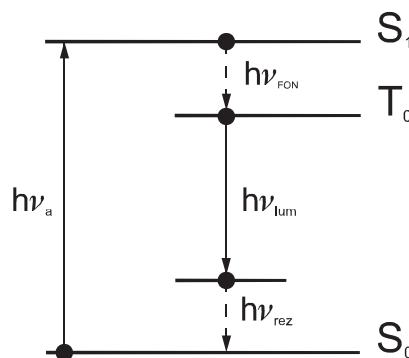
**Elektronska spektroskopija** bazirana je na merenju karakteristika elektronskih prelaza (energije, intenzivnosti, polarizacije ili vremena prelaza) u spektrima *rasejanja, apsorpcije, prelamanja i luminiscence* infracrvene, vidljive, ultraljubičaste ili rentgenske svetlosti od strane biomolekula u slobodnom ili kondenzovanom (čvrstom ili tečnom) stanju [2, 3, 7].

**Rasejanje svetlosti** (od vidljive do X-zraka) omogućava određivanje oblika i unutrašnje strukture biomolekula. Merenjem intenzivnosti rasejanog snopa ( $I_\theta$ ) pod uglom  $\theta$ , u odnosu na upadnu ( $I_0$ ), određuje se funkcija rasejanja ( $P_\theta = I_\theta/I_0$ ), koja se može i teorijski proračunati za razne geometrijske oblike (sféra, elipsoid, štap) i njihove međusobne prostorne rasporede – što je omogućilo određivanje tercijarne i kvaternarne strukture nekih proteina! Posebno značajno za biologiju je rasejanje *sinhrotronskog* (X) zračenja, koje ima izrazito visoku intenzivnost i kolimaciju snopa, što omogućava određivanje strukture i brzih strukturnih prelaza biopolimera! *Ramanovo* (infracrveno) rasejanje ima visoku rezoluciju, i omogućava određivanje strukture biomolekula sa hromoforima (tzv. rezonantno Ramanovo rasejanje)!

**Apsorpcioni spektri** mogu biti *elektronski* (ulraljubičasti i vidljivi delovi spektra) i *vibracioni* (infracrveni deo spektra). I jedni i drugi spektri, zbog prisustva karakterističnih apsorpcionih traka za različite atomske grupe, omogućavaju brzu identifikaciju karakterističnih delova primarne (i sekundarne) strukture biomolekula! Elektronski apsorpcioni spektri omogućavaju i detekciju rezonantne preraspodele energije pobuđenja hromoformnih grupa biomolekula (tzv. *eksitona* [13]), čiji energetski nivoi se rezonantno cepaju u eksitonsku zonu; zbog eksitonske interakcije dolazi i do preraspodele intenzivnosti elektronskih apsorpcionih traka – što je posebno osetljivo na strukturni prelaz spirala-klupko kod proteina!

U kondenzovanom stanju apsorpcioni spektri omogućavaju i određivanje veličine i vrste *energetskog procepa biomaterijala*, nalaženjem energije apsorpcionog praga upadne svetlosti (promenljive frekvencije) pri kojoj počinje njena intenzivna apsorpcija, koja karakteriše međuzonske elektronske prelaze u biomaterijalu. Teorijske analize pokazuju [1] da se minimalna energija direktnog prelaza ( $E_{\min}^{\text{dir}}$ ) dobija produžavanjem strmog dela zavisnosti kvadrata koeficijenta apsorpcije,  $\alpha^2(hv)$ , dok se minimalna energija indirektnog prelaza ( $E_{\min}^{\text{ind}}$ ) dobija produžavanjem strmog dela zavisnosti kvadratnog korena koeficijenta apsorpcije,  $\alpha^{1/2}(hv)$ , kako je to prikazano na Sl. 11.6(a.b). Energetski procep biomaterijala je po definiciji minimalna vrednost pomenute dve vrednosti:  $E_g = \min\{E_{\min}^{\text{dir}}, E_{\min}^{\text{ind}}\}$ .

**Luminescencija** se pokazuje kao informativna spektroskopija biomolekula, ne toliko po talasnoj dužini maksima traka, koliko po *intenzivnosti, polarizaciji i vremenu luminesciranja* (naknadnog svetlenja eksitiranog biomolekula,  $\sim 10^{-8}$ - $10^{-9}$  s, a ponekad i znatno duže). Luminescentno zračenje je polarizovano, čak i pri nepolarisanoj pobudnoj svetlosti. Naime, pri deeksitaciji biomolekula deo energije pobuđenja može se relaksirati i neradijativno (pobuđivanjem fonona, odnosno zagrevanjem kristala), dok su u daljoj luminescentnoj deeksitaciji biomolekula apsorbovana energija izračuje preko drugog elektronskog prelaza, koji u opštem slučaju ima neku drugu polarizaciju (odnosno pravac dipola elektronskog prelaza); takođe, deo energije može migrirati i zbog rezonantne interakcije biomolekula, koja se većava sa smanjenjem rastojanja između biomolekula (v. Sl. 11.7). Rezonantna preraspodela energije dovodi do promene strukture biomolekula, i do depolarizacije spektra luminescence; isto važi i za fazne strukturne prelaze biomolekula. Zato je



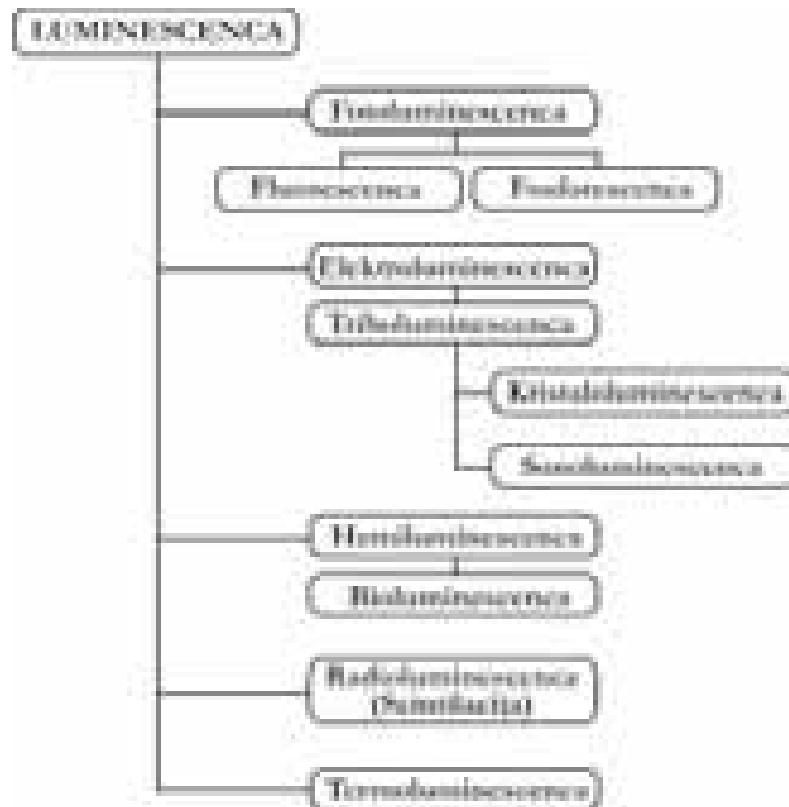
SLIKA 11.7 Uprošćena šema mogućih tipova prelaza pri luminescenci

luminescencija značajna za ispitivanje konformacione strukture i dinamike biomolekula sa luminoforima (luminescirajućim delovima biomolekula)!

U osnovi sve luminescentne tehnike se zasnivaju na detekciji i analizi emitovanog elektromagnetskog zračenja iz materijala, indukovanih spoljašnjom energetskom perturbacijom. U zavisnosti od načina na koji je izvršena energetska perturbacija luminescencija se može podeliti u više kategorija, od kojih su najznačajnije prikazane na Sl. 11.8 [14].

*Fotoluminescencija* se posebno ističe prema značaju i obimu korišćenja u karakterizaciji biomaterijala, i deli se na *fluorescenciju* (prelaz elektrona sa očuvanjem spina) i *fosforescenciju* (prelaz sa promenom spina). Pošto je za realizaciju fosforecentnih prelaza neophodna spin-orbitna interakcija za sprezanje elektronskih nivoa različitog spina, to je radijativno vreme za deeksitaciju fosforecentnim kanalom znatno duže ( $\sim 10^{-3}$  s) u poređenju sa fluorescentnim kanalom ( $\sim 10^{-9}$  s). Spektri fotoluminescence se koriste za karakterizaciju uzorka i u kondenzovanom stanju, gde se uočava i elektronska i vibraciona struktura spektralnih traka.

*Hemiluminescencija* počiva na hemijskoj reakciji u kojoj se gradi novo jedinjenje uz emisiju svetlosti. Mnoge hemijske reakcije proizvode i svetlost i toplotu – ali znatno je manji broj hemijskih reakcija u kojima se kao proizvod javlja emisija svetlosti bez oslobođanja toplote. Svetlost nastala u takvim reakcijama naziva se *hladna svetlosć*.



SLIKA 11.8 Klasifikacija najznačajnijih luminescentnih metoda [14]

*tlost*, a hemijska reakcija *hemiluminescentna reakcija*. Veliki broj hemiluminescentnih reakcija se javlja u živim organizmima i poznate su kao *bioluminescentne reakcije*.

*Elektroluminescencu* nastaje primenom elektromagnetskog polja, koje eksitira molekule materijala. *Triboluminescencu* je poseban vid elektroluminescence koji se javlja kada se materijal zagrebe, zgnjeći ili mehanički stresira na bilo koji drugi način, usled čega dolazi najpre do prostornog razdvajanja nai elektrisanja u materijalu, a posle određenog vremena i do rekombinacije uz emisiju fotona (svetlosti). Podtipovi triboluminescence su *kristaloluminescencu* koja se javlja u toku kristalizacije i *sonoluminescencu* koju izaziva zvuk.

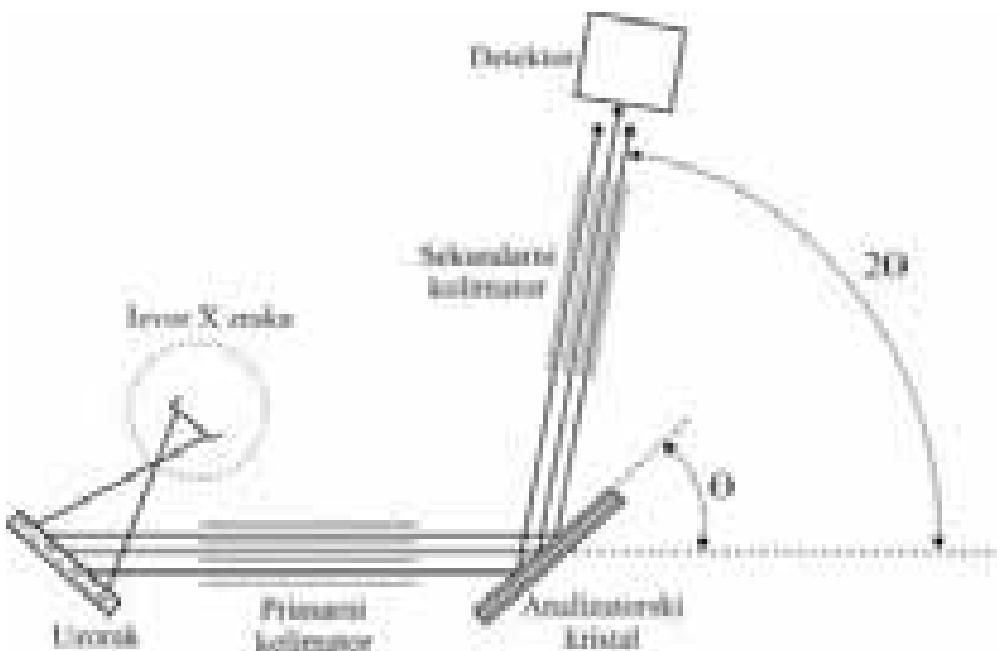
*Radioluminescencu (scintilacija)* javlja se usled eksitacije česticama visoke energije ili radijacijom. U zavisnosti od izvora eksitacije može se govoriti o  *$\alpha$ -luminescenci,  $\gamma$ -luminescenci i X-luminescenci*.

*Termoluminescencu* je emisija svetlosti iz biomaterijala izazvana zagrevanjem. Drugim rečima, toploplota oslobađa elektrone prethodno "zarobljene" u materijalu, nakon čega dolazi do emisije svetlosti usled deeksitacije.

**Fluorescencu X-zraka** (XRF) je od velikog značaja jer omogućava kvalitativno i kvantitativno određivanje sastava biomaterijala (identifikaciju elemenata i njihovog odnosa u biomaterijalu), čime je moguće odrediti sve elemente osim H, He i Li. XRF se zasniva na prethodnom pobuđivanju elektrona unutrašnjih luski primarnim X-zračenjem i potonjoj detekciji i analizi karakterističnih, sekundarnih X-zraka, emitovanih iz biomaterijala (fluorescentno zračenje) preraspodelom elektrona spoljašnjih luski [17-19], pošto kvadratni koren karakterističnih linija sekundarnih X-zraka zavisi linearno od atomskog broja elementa koji ih emituje (Mozljev zakon, 1913).

XRF aparatura se u osnovi sastoji od izvora primarnog X-zračenja (rentgenske cevi), analizatorskog kristala (kristalnog spektrometra) i detekcionog sistema (scintilacioni brojač), a po instrumentalnom konceptu predstavlja kombinaciju rentgenske difrakcije i fluorescence (v. Sl. 11.9). Primarni X-zraci se usmeravaju na ispitivani biomaterijal u kome izazivaju fluorescencu (emisiju) karakterističnih sekundarnih X-zraka, i posle prolaska kroz primarni kolimator dospevaju do analizatorskog kristala koji omogućava refleksiju samo jedne talasne dužine X-zraka na zadatom uglu (u skladu sa Bragovim zakonom), pa nakon prolaska kroz sekundarni kolimator dospevaju do detektora koji registruje intenzitet zračenja; u toku merenja analizatorski kristal rotira u istom smeru kao i detektor, ali sa polovinom njegove ugaone brzine, što omogućava dobijanje emisionog spektra sekundarnih X-zraka ispitivanog biomaterijala.

**$\gamma$ -rezonantna spektroskopija** (Mesbauerov efekat) sastoji se u rezonantnoj apsorpciji monohromatskih  $\gamma$ -zraka radioaktivnog atoma (najčešće izotop gvožđa,  $^{57}\text{Fe}$ ), odgovarajućim Fe-atomima u porfirinskim prstenovima biološki aktivnih centara proteina (*hemoglobin, mioglobin, citohrom, ...*), pri čemu se radioaktivni izvor  $\gamma$ -zraka kreće malom brzinom u odnosu na apsorber  $\gamma$ -zraka (čime se frekvencija  $\gamma$ -zraka malo menja zbog Doplerovog efekta). Pri nekoj frekvenciji dolazi do rezonantne apsorpcije  $\gamma$ -zraka, a ta je frekvencija za  $^{57}\text{Fe}$  (koje čini  $\sim 2,2\%$  od ukupnog gvožđa u biopolimeru) veoma osetljiva na atomsко okruženje – čime se i određuje elektronska struktura pomenutih *aktivnih proteinskih grupa*!



SLIKA 11.9 Šematski prikaz XRF eksperimentalne postavke

**Prelamanje i apsorpcija polarisane svetlosti** su posebno značajni za istraživanje biopolimera, jer oni poseduju *hiralnu strukturu* (nemaju ni centar ni ravni simetrije, odnosno njihov lik u ogledalu se ne poklapa sa njima samima). Pri prolasku *linijski polarisane* svetlosti (talasne dužine  $\lambda$ ) kroz sloj biopolimernog rastvora (debljine  $l$ ), ravan polarizacije rotira za kompleksni ugao

$$\bar{\varphi} = \frac{\pi}{\lambda} (n_L - n_D) / l - \frac{\pi}{\lambda} (\kappa_L - \kappa_D) / l$$

gde je  $\varphi = \frac{\pi}{\lambda} (n_L - n_D) / l$  – ugao rotacije ravni polarizacije ( $n_L$  i  $n_D$  su indeksi prelamanja za levo- i desno-cirkularno polarisanu svetlost), prikazan na Sl. 11.10, a  $\theta = \frac{\pi}{\lambda} (\kappa_L - \kappa_D)$  – kružni dihroizam ( $\kappa_L$  i  $\kappa_D$  su koeficijenti apsorpcije za levo- i desno-cirkularno polarisanu svetlost), koji ukazuje na stepen eliptične polarizacije (prethodno linearно polarisane svetlosti) u oblastima sopstvene apsorpcije biomolekula.

Biomolekuli imaju dvojaku hiralnost (monomera i spiralnog lanca), i pri izmeni konformacije može doći do znatne promene u  $\varphi$  i  $\theta$ , na šta je ovaj metod posebno osetljiv: na ovaj način određen je stepen spiralnosti mnogih proteina, DNK, RNK i njihovih kompleksa, poređenjem eksperimentalnih krivih  $\varphi(\lambda)$  i  $\theta(\lambda)$  sa teorijskim kvantnomehaničkim proračunima! Jedna varijanta prelamanja i apsorpcije polarisane svetlosti je Faradejev efekat u magnetnom polju (tzv. magnetna optička rotacija ( $\varphi_m$ ) i magnetni kružni dihroizam ( $\theta_m$ )), koji se pojavljuje i kod nehiralnih i kod hiralnih biopolimera; ovaj metod je posebno osetljiv u jakim magnetnim poljima.

ma, i njime se određuje konformaciona struktura biopolimera i njihovih kompleksa!

**Vibraciona spektroskopija** bazirana je na uporednom proračunu i merenju karakteristika vibracionih prelaza (energije, intenzivnosti, polarizacije) u međusobno komplementarnim spektrima rasejanja i apsorpcije infracvene svetlosti od strane biomolekula u slobodnom ili kondenzovanom (čvrstom ili tečnom) stanju; primenljiva je na biomolekularne strukture, ali i na nadmolekularno kondenzovano stanje u celiini, kako kristalno tako i nekristalno (kod koga su difrakcione metode od ograničenog značaja) [2, 3, 7, 8].

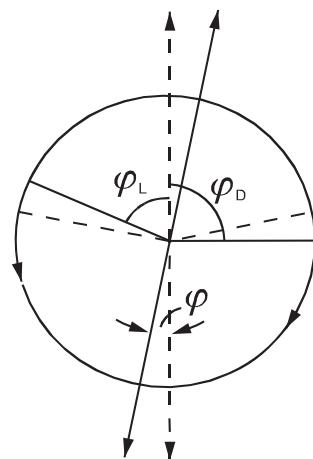
**Ramanovo rasejanje** ima visoku rezoluciju, i omogućava određivanje prostorne strukture, raspodele elektronske gustine, i elektronsko-vibracionih (elektron-fonon) interakcija kako kod biomolekula (posebno onih sa hromoforima, kod kojih se primenjuje rezonantno Ramanovo rasejanje, sa laserskom pobudom u domenu apsorpcije hromofora), tako i u nadmolekularnom kondenzovanom stanju.

**Apsorpcioni spekttri** zbog prisustva karakterističnih infracrvenih apsorpcionih traka atomske grupa, omogućavaju brzu identifikaciju karakterističnih delova molekularne primarne (i sekundarne) strukture biomolekula. U nadmolekularnom kondenzovanom stanju omogućavaju i određivanje veličine i vrste energetskog procepa biomaterijala malog energetskog procepa, a takođe i određivanje strukture vibracionih nivoa (i time prostorne strukture, raspodele elektronske gustine i elektron-fonon interakcija).

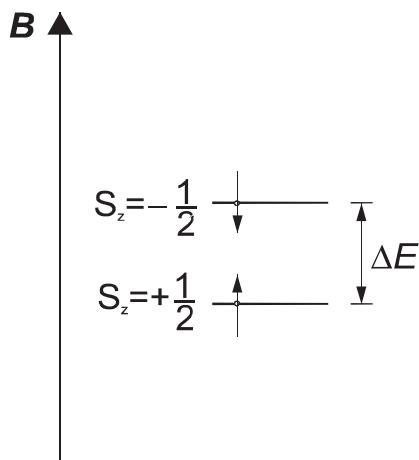
**Rotaciona spektroskopija** je od manjeg praktičnog značaja, zbog nedovoljne monohromatičnosti današnjih optičkih uređaja ( $\sim 1 \text{ cm}^{-1}$ ), što po redu veličine daleko prevazilazi finu rotacionu strukturu spektralnih linija [8, 12, 15].

Magnetna spektroskopija bazirana je na merenju rezonantnih apsorpcionih linija magnetnih dipola, i zbog velike osetljivosti magnetnih dipola na lokalno magnetno okruženje odgovarajuće metode nuklearne magnetne rezonance (NMR) i elektronske paramagnetske rezonance (EPR) imaju veliki značaj u karakterizaciji biomolekula [2, 3, 16].

**Nuklearna magnetna rezonanca** (NMR) ima ogromnu primenu na biomolekulama koji sadrže atome elemenata sa neščezavajućim totalnim momentom jezgra  $J$  (npr.  $^{31}\text{P}$  i  $^{13}\text{C}$ , čime je proučena dinamika izmene ATP pri kontrakciji mišića, što može biti od značaja i u kardiologiji; osim toga, izučena je i konformacija biomolekula, interakcija ferment-supstrat, antigen-antitelo, itd.). Princip NMR-spektroskopije je jednostavan: u stalnom magnetnom polju indukcije  $B$  dolazi do uklanjanja  $(2J+1)$ -strukture degeneracije spinskih nivoa jezgra, pri čemu je cepanje



SLIKA 11.10 Šematski prikaz rotacije ravni polarizacije svetlosti, kao rezultat prolaska linijski polarisane svetlosti kroz sloj rastvora hiralnog biomolekula



*SLIKA 11.11 Šematski prikaz cepanja spinskih nivoa kod EPR spektroskopije*

spinskih energetskih nivoa jednako  $\Delta E = g_n \mu_n B$ , gde je  $g_n$  nuklearni Landeov faktor, a  $\mu_n = e\hbar/2m_n$  nuklearni magneton ( $m_n$  je masa neutrona,  $e$  naelektrisanje elektrona, a  $\hbar = h/2\pi$ , gde je  $h$  Plankova konstanta). Ovo cepanje je moguće registrovati pomoću rezonantne apsorpcije fotona učestanosti  $\nu = g_n \mu_n B/h \sim 10^8$  Hz (za  $B \sim 10$  T). Magnetna indukcija  $B$  ne mora biti samo spoljašnja, već može biti uslovljena i dipolnim magnetnim momentom susednih jona u biomolekulu – što daje kvantitativnu informaciju o rasporedu i interakcijama atomskih jezgara biomolekula.

#### **Elektronska paramagnetska rezonanca**

(EPR) ima ogromnu primenu kod biomolekula sa slobodnim radikalima ili sa neparnim brojem elektrona, tako da je rezultujući spin atoma ili atomske grupe  $S = 1/2$ . U polju magnetne indukcije  $B$  ovaj spinski nivo se cepta na 2 energetska nivoa (v. Sl. 11.11), sa energijom cepanja  $\Delta E = g_e \mu_B B$ , gde je  $g_e$  elektronski Landeov faktor, a  $\mu_B = e\hbar/2m_e$  Borov magneton. To cepanje se registruje rezonantnom apsorpcijom fotona učestanosti  $\nu = g_e \mu_B B/h \sim 10^{11}$  Hz. I u ovom slučaju magnetna polja susednih jezgara utiču na cepanje linija i pojavu hiperfine strukture u EPR-spektru. EPR-spektroskopija primenjuje se za izučavanje fermentativnih procesa sa učešćem slobodnih radikala, strukture proteina sa metaloorganskim aktivnim centrima (hemoproteina), kao i uopšte biomolekula u koje se veštački ubacuju slobodni radikali (tzv. spinske mete)!

## **11.5 PITANJA ZA REKAPITULACIJU**

- 11.1 Kojim metodama se može odrediti molekulska težina molekula biomaterijala?
- 11.2 Kojom metodom se može odrediti struktura kristalne rešetke biomaterijala?
- 11.3 Kojom metodom se može odrediti položaj vodonikovih atoma u kristalnoj strukturi biomaterijala?
- 11.4 Kojom metodom se može odrediti površinska struktura biomaterijala sa subatomskom rezolucijom?
- 11.5 Koja metoda elektronske mikroskopije pokazuje najveći stepen rezolucije?
- 11.6 Koja aproksimacija omogućava pojavu hijerarhije položaja elektronskih, vibracionih i rotacionih energetskih nivoa?
- 11.7 Koja metoda omogućava najbržu identifikaciju karakterističnih delova primarne (i sekundarne) strukture biomolekula?
- 11.8 Koja metoda se pokazuje kao informativna spektroskopija biomolekula, ne toliko po talasnoj dužini maksimuma traka, koliko po intenzivnosti, polarizaciji i vremenu deeksitacije?

- 11.9 Koja metoda omogućava kvalitativno i kvantitativno određivanje sastava biomaterijala?
- 11.10 Koja metoda je posebno osetljiva na stepen spiralnosti biopolimera?
- 11.11 Kojim metodama se može odrediti prostorna struktura nekristalnih biomaterijala?
- 11.12 Kojim metodama se može odrediti lokalno okruženje biomolekula?

## 11.6 LITERATURA

1. D. Raković, *Fizičke osnove i karakteristike elektrotehničkih materijala* (Elektrotehnički fakultet / Akadembska misao, Beograd, 1995 / 1997; 2000), Gl.5.
2. D. Raković, *Osnovi biofizike* (Grosknjiga, Beograd, 1994; 1995, IASC&IEPG, Beograd, 2008), Gl.1.
3. M. V. Volkenstein, *Biofizika* (Nauka, Moskva, 1981).
4. D. Raković, Pregled osnovnih metoda i tehnika karakterizacije fizičkih svojstava fuleren-a, *Fullerenes & Nanotubes Rev.* 1(2-3) (1997) 53-69, i tamošnje reference.
5. D. Raković, S. Krstić, Lj. Turković, *Savremeni materijali i tehnologije* (Grosknjiga, Beograd, 1997).
6. J. Simić-Krstić, *Nanoskopija u biologiji* (Teos, Beograd, 2005).
7. L. A. Gribov, *Vvedenie v molekulyarnyyu spektroskopiyu* (Nauka, Moskva, 1976).
8. M. V. Volkenstein, L. A. Gribov, M. A. Elyashevich, B. I. Stepanov, *Kolebaniya molekul* (Nauka, Moskva, 1972).
9. L. A. Gribov, S. P. Mushtakova, *Kvantovaya himiya* (Gardariki, Moskva, 1999).
10. R. McWeeny, B. T. Pickup, Quantum theory of molecular structure, *Rep. Prog. Phys.* 43 (1980) 1065-1144.
11. H. Jahn, E. Teller, *Proc. Roy. Soc. A*161 (1937) 220.
12. L. A. Gribov, *Ot teorii spektrov k teorii himicheskikh prevraschenii* (URSS, Moskva, 2001).
13. U. Kozmidis-Luburić, B. Tošić, *Optička pobuđenja u materijalnim sredinama* (Univerzitet u Novom Sadu, 2000).
14. T. Dramićanin, *Komparativna analiza optičkih svojstava zdravog i malignog tkiva lumenescentnim spektroskopskim tehnikama* (Doktorska disertacija, Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu, 2006).
15. Dj. Koruga, S. Hameroff, J. Withers, R. Loutfy, M. Sundareshan, *Fullerene C<sub>60</sub>: History, Physics, Nanobiology, Nanotechnology* (North-Holland, Amsterdam, 1993).
16. C. Slichter, *Principles of Magnetic Resonance* (Harper & Row, New York, 1963).
17. L. S. Birks, *X-Ray Spectrochemical Analysis*, 2nd ed. (Wiley, New York, 1969).
18. E. P. Bertin, *Principles and Practice of X-Ray Spectrometric Analysis* (Plenum, New York, 1970).
19. R. Jenkins, *An Introduction to X-Ray Spectrometry* (Heyden, London, 1974).

# 12

## MEHANIČKA KARAKTERIZACIJA BIOMATERIJALA<sup>1</sup>

Da bi se izvršila selekcija biomaterijala za razne primene, potrebno je uskladiti mehanička svojstva materijala sa uslovima eksploracije biomedicinskih implantata i pribora. Prvi korak u procesu selekcije zahteva analizu primene, kako bi se odredile najvažnije karakteristike koje mora imati biomaterijal. Da li bi biomaterijal trebalo da bude čvrst, ili krut, ili plastičan? Da li će biti izložen naizmeničnoj primeni jake sile, trenutne udarne sile, pojačanom naprezanju, ili uslovima habanja? Pošto se odrede zahtevane karakteristike, može se izvršiti izbor odgovarajućeg materijala korišćenjem podataka datih u priručnicima.

Najopštija podela postupaka mehaničkih ispitivanja biomaterijala zasnovana je na karakteru promena koje se dešavaju u biomaterijalu tokom ispitivanja: *sa razaranjem i bez razaranja*.

U nastavku biće razmotreno nekoliko najznačajnijih metoda mehaničkih ispitivanja biomaterijala sa razaranjem i bez razaranja [1–4], dok će u zadacima ovog odeljka biti demonstrirana primena mernih karakteristika biomaterijala u dimenzionisanju projektovanih komponenti ili kontrolisanju procesa deformacije biomaterijala.

### 12.1 MEHANIČKA ISPITIVANJA SA RAZARANJEM

Kod *mehaničkih ispitivanja sa razaranjem* uzorka materijal biva razoren odnosno pretrpi osetne plastične deformacije, tako da se posle ispitivanja može upotrebiti samo kao sirovina za pretapanje. Ova vrsta ispitivanja je starijeg datuma, ali još uvek predstavlja osnovni način za određivanje mehaničkih svojstava materijala.

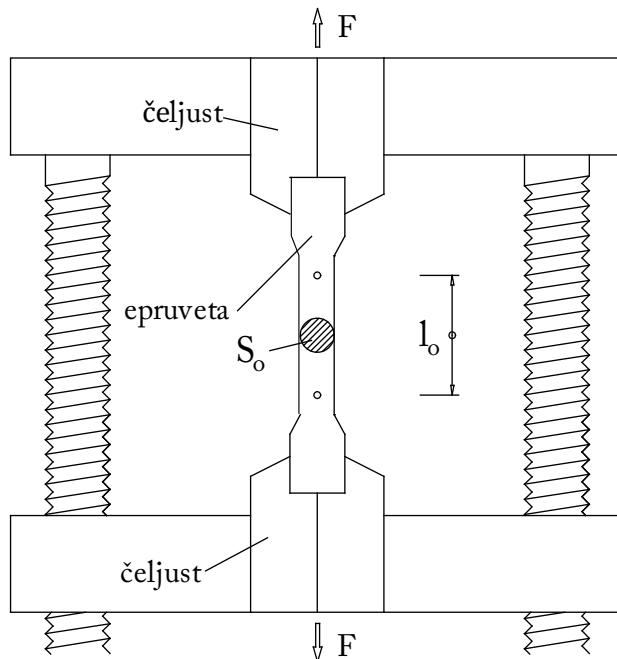
Ispitivanja sa razaranjem mogu se dodatno podeliti na: (1) *ispitivanja statičkim dejstvom sile*, (2) *ispitivanja dinamičkim dejstvom sile* i (3) *tehnološka ispitiva-*

<sup>1</sup>Ovo poglavje napisao je Dejan Raković.

nja [2]. Kod prve grupe ispitivanja (zatezanjem, utiskivanjem, puzanjem, savijanjem, izvijanjem, uvijanjem, smicanjem) predmet se podvrgava mirnom naprezanju koje se postepeno povećava tako da tokom celog ispitivanja ne dolazi do potresa ili udara. Kod druge grupe ispitivanja (utiskivanjem, udarom, zamaranjem) sila dejstvuje ili u obliku udara ili menjajući veličinu i smer na određeni način veliki broj puta u jedinici vremena. Treća grupa ispitivanja (dubokim izvlačenjem limova, savijanjem, naizmeničnim previjanjem, uvijanjem ili namotavanjem žice, kovanjem, sabijanjem, određivanjem prokaljivosti i sposobnosti lemljenja) ne daje brojne podatke o specifičnim svojstvima otpornosti biomaterijala, na osnovu kojih je mogućno proračunati dimenzije konstrukcionih delova, već se kod njih stvaraju uslovi vrlo slični onima kojima će ti delovi biti izloženi za vreme prerade i tokom same praktične primene.

**Ispitivanje zatezanjem.** Ovo je najkarakterističnije ispitivanje u grupi statičkih ispitivanja metala i najčešće se izvodi. Po JUS standardu C.A4.002 od 1958. godine epruveta (probni komad) za ispitivanje zatezanjem može biti kružnog, kvadratnog ili pravougaonog preseka, pri čemu odnos strana pravougaonika treba da bude najviše 4:1, osim za epruvete vađene iz limova i traka ispod 5 mm debljine, o čemu postoje posebni propisi.

Kidalica za ispitivanje zatezanjem šematski je prikazana na Sl. 12.1, zajedno sa epruvetom. Epruveta se sastoji od srednjeg dela manjeg poprečnog preseka, na kome se vrše posmatranja, i proširenih krajeva, koji se stavljuju u čeljusti mašine. Kidalica se aktivira podizanjem pokretnog jarma sa gornjom čeljusti, dok je donja čeljust vezana za nepokretno postolje mašine. Pri tome se tokom ispitivanja registruju zatežuća sila ( $F$ ) i trenutna merna dužina epruvete ( $l$ ).



SLIKA 12.1 Šematski prikaz kidalice sa epruvetom, za izvođenje ispitivanja zatezanjem

Međutim, zavisnost  $F(l)$  zavisi od dimenzija epruvete, pa zato ne predstavlja karakteristiku samog materijala. Rezultati jednog testa važiće za sve veličine i oblike epruveta datog materijala ako se umesto sile prikazuje tehnički napon ( $\sigma$ ), a umesto dužine jedinično izduženje ( $\varepsilon$ ):

$$\sigma \text{ (N/m}^2\text{)} = \frac{F}{S_0} \quad (12.1)$$

$$\varepsilon (\%) = \frac{l - l_0}{l_0} \cdot 100 \quad (12.2)$$

gde je  $S_0$  – prvobitni poprečni presek epruvete, a  $l_0$  – prvobitna merna dužina epruvete; jedinično izduženje se ponekad izražava i u (mm/mm), kada se koristi izraz (12.2) bez množenja sa faktorom 100. Pri tome treba imati u vidu da se iz praktičnih razloga ne radi sa stvarnim naponom, koji bi bilo teško registrovati pošto se poprečni presek tokom istezanja neprekidno menja.

Na taj način, tehnički napon karakteriše silu po jedinici poprečnog preseka epruvete, a jedinično izduženje promenu dužine epruvete po njenoj jediničnoj dužini – što su sve veličine svedene na jedinične dimenzije epruvete. Tehnički napon  $\sigma$  izražava se u (N/mm<sup>2</sup>), a jedinično izduženje  $\varepsilon$  u (mm/mm) ili u (%). Na Sl. 12.2 (a-c) dati su karakteristični dijagrami napon-jedinično izduženje za tri tipa materijala: *elastično-plastične* (meki čelik, aluminijum, mesing, bronza,...), *plastične* (barak,...) i *krte* (liveno gvožđe, volfram-karbid,...) materijale.

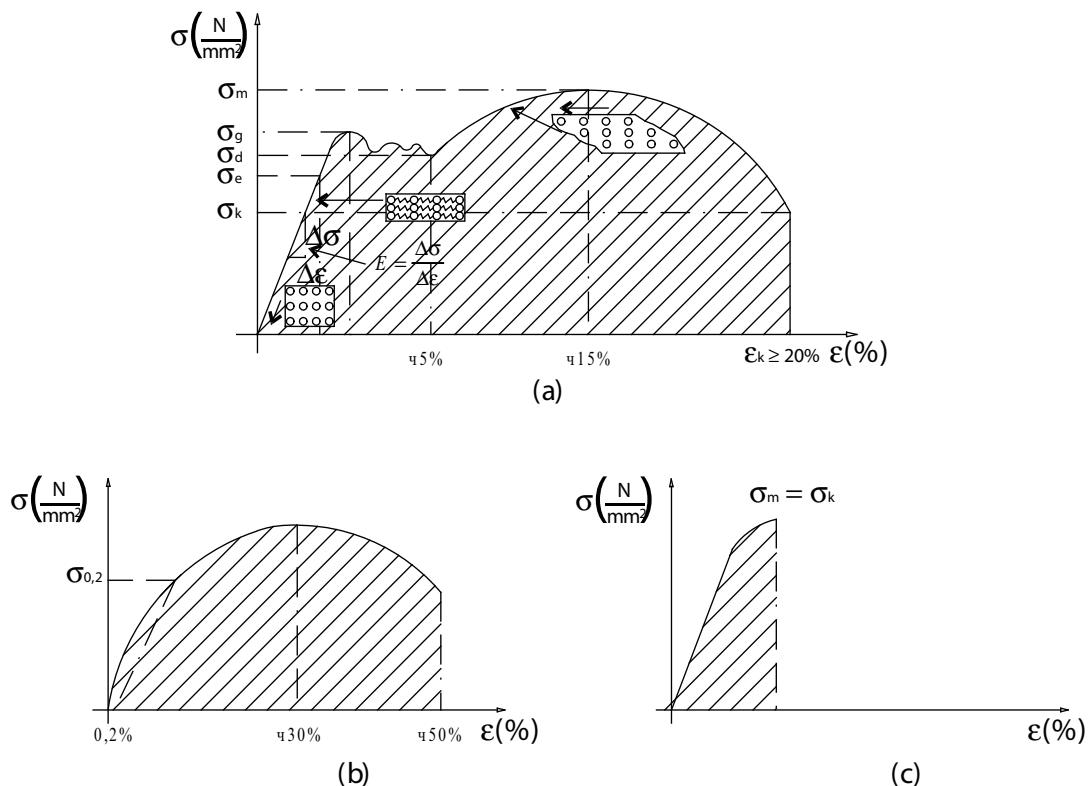
Na dijagramu napon-jedinično izduženje uočavaju se sledeće karakteristične veličine (Sl. 12.2):

(a) *Granica elastičnosti*,  $\sigma_e$  je napon koji razdvaja oblasti elastičnog ( $\sigma < \sigma_e$ ) i plastičnog ( $\sigma > \sigma_e$ ) ponašanja materijala. Ona se definiše i kao granica  $\sigma_{0,01}$  ili  $\sigma_{0,005}$ , koja određuje napon pri kome epruveta, posle prestanka dejstva spoljne sile, ima trajnu deformaciju od 0,01% odnosno 0,005%.<sup>2</sup>

Ako dizajniramo komponentu koja mora izdržavati silu tokom eksploracije, trebamo biti sigurni da se komponenta neće plastično deformisati. Zato se mora odabrati biomaterijal koji ima visoku granicu elastičnosti, ili moramo napraviti dovoljno robustnu komponentu da primenjena sila proizvede napon ispod granice elastičnosti. S druge strane, ako se izrađuju oblici ili komponente nekim procesom plastične deformacije, primenjeni napon mora prevazilaziti granicu elastičnosti da bi se proizvela stalna promena oblika biomaterijala.

(b) *Zatezna čvrstoća*,  $\sigma_m$ , je napon dobijen pri najvećoj primenjenoj sili, pa zato predstavlja maksimalni napon na krivoj  $\sigma(\varepsilon)$ . U mnogim materijalima deformacija nije ravnomerna: u nekom momentu jedna oblast se deformiše više od ostalih, kada nastaje veliko lokalno smanjenje u poprečnom preseku epruvete. Ta lokalno deformisana oblast naziva se *vrat*. Pošto poprečni presek postaje manji u tom momentu, dalje je potrebna manja sila za produžetak deformacije, i tehnički napon, računat prema prvobitnom poprečnom preseku  $S$ , će se smanjivati (naravno, realni

<sup>2</sup>Granica  $\sigma_{0,01}$  odnosno  $\sigma_{0,005}$ , određuje se iz preseka krive  $\sigma(\varepsilon)$  sa pravom paralelnom pocetnom delu krive, a pomerenom za 0,01% odnosno 0,005% od koordinatnog pocetka.



SLIKA 12.2 Dijagrami napon-jedinično izduženje za (a) elastično-plastične, (b) plastične i (c) krte materijale.

napon  $\sigma = F/S$ , računat prema trenutnom poprečnom preseku  $S$ , će se povećavati). Zatezna čvrstoća je napon pri kome počinje vrat u biomaterijalima.

Zatezna čvrstoća se obično daje u priručnicima za materijale, jer je laka za merenje; ona je korisna u poređenju ponašanja biomaterijala, i dozvoljava procenu drugih svojstava koje se teže mere. Međutim, zatezna čvrstoća je relativno nevažna za izbor ili izradu biomaterijala – jer je granica elastičnosti ta koja određuje da li će se biomaterijal deformisati ili ne!

(c) *Modul elastičnosti*, ili *Jungov modul*, se definiše kao nagib krive  $\sigma(\epsilon)$  u oblasti elastičnih deformacija ( $\sigma < \sigma_e$ ), Sl. 12.2(a):

$$E(\text{N/m}^2) = \frac{\sigma}{\epsilon} \quad (12.3)$$

Ova relacija naziva se i Hukov zakon. Modul elastičnosti je blisko povezan sa hemijskim međatomskim vezama u biomaterijalu, o kojima je diskutovano u Gl. 10. Veći nagib u dijagramu  $\sigma(\epsilon)$  označava da su potrebne jače sile za razdvajanje atoma i elastičnu deformaciju biomaterijala, odnosno da biomaterijal ima veći modul elastičnosti. Moduli elastičnosti su veći kod biomaterijala sa višim tačkamatopljenja.

Modul elastičnosti je mera *krutosti biomaterijala*. Krut biomaterijal, sa velikim modulom elastičnosti, zadržava svoju veličinu i oblik čak i pod elastičnim opterećenjem. U nekim primenama dozvoljavaju se vrlo male dimenzione toleranije, kada je neophodno koristiti krute biomaterijale. U suprotnom, veće promene dimenzija ovih elemenata dovele bi do povećanog trenja i habanja i njihovog konačnog oštećenja.

(d) *Plastičnost* je mera deformacije koju materijal može izdržati bez loma. Postoje dva načina da se definiše plastičnost. Jedan je *procentualno izduženje*, koji opisuje veličinu izduženja epruvete pred lom:

$$\varepsilon_k(\%) = \frac{l_k - l_0}{l_0} \cdot 100 \quad (12.4)$$

gde je  $l_k$  – konačna merna dužina epruvete posle loma. Drugi je *procentualno smanjenje poprečnog preseka*, koji opisuje količinu istanjenosti epruvete pred lom:

$$\frac{S_0 - l_k}{l_0} \cdot 100 \quad (12.5)$$

gde je  $S_k$  – konačni poprečni presek epruvete na mestu loma.

Plastičnost je važna i za projektante i za proizvođače komponenti od biomaterijala. Projektantima je važno da biomaterijal ima bar neku plastičnost, tako da se u slučaju prevelikog mehaničkog napona komponenta deformiše pre nego što se slomi. Proizvođači žele plastičan biomaterijal da bi mogli da izrade komplikovane oblike bez loma biomaterijala u toku proizvodnje.

(e) *Granica razvlačenja* ili *granica tečenja* je napon pri kome dolazi do znatnih plastičnih deformacija epruvete za male promene vrednosti sile.  $\sigma_g$  se zove gornja, a  $\sigma_d$  – donja granica razvlačenja ili tečenja, i definišu se za elastično-plastične materijale (v. Sl. 12.2a). Za razliku od njih, kod plastičnih materijala granica tečenja se po konvenciji uzima kao granica  $\sigma_{0,2}$ , određena stalnom deformacijom od 0,2% (Sl. 12.2b).<sup>3</sup>

Ispitivanja zatezanjem omogućuju ocenu mnogih mehaničkih svojstava ispitivanog biomaterijala: čvrstoće, krutosti, elastičnosti, plastičnosti, tvrdoće, žilavosti i krtosti.

**Čvrstoća** je utoliko veća ukoliko su veće granica elastičnosti ( $\sigma_e$ ) i zatezna čvrstoća ( $\sigma_m$ ), ali je značajniji pokazatelj  $\sigma_e$  (!) jer pri tom naponu još ne dolazi do plastične deformacije biomaterijala (za razliku od  $\sigma_m$  kada su deformacije izrazite). On određuje dozvoljene primenjene napone da ne dođe do trajne deformacije biomaterijala ( $\sigma < \sigma_e$ ), kao i potrebne napone za plastično oblikovanje biomaterijala ( $\sigma > \sigma_e$ ). Prvi uslov je bitan pri konstrukciji komponenti, a drugi pri njihovoj izradi (v. Zad. 12.1).

**Krutost** biomaterijala je karakterisana Jungovim modulom ( $E$ ), koji je utoliko veći ukoliko veće promene napona proizvode manja izduženja. Ona je značajna

<sup>3</sup>Granica  $\sigma_{0,2}$  određuje se iz preseka krive  $\sigma(\varepsilon)$  sa pravom paralelnom pocetnom delu krive  $\sigma(\varepsilon)$ , a pomerenom za 0,2% od koordinatnog pocetka.

karakteristika biomaterijala za izradu delova gde su dozvoljene male dimenzijsne tolerancije u toku eksploatacije.

**Elastičnost** biomaterijala (obrnuto srazmerna krutosti) je utoliko veća ukoliko je manje  $E$ , odnosno ukoliko je veće elastično jedinično izduženje,  $\varepsilon_e = (l_e - l_0) / l_0$ , pri kome se po prestanku delovanja spoljašnje sile biomaterijal vraća u prvobitno stanje bez deformacije. Elastičnost je bitna kod komponenti izloženih velikim naprezanjima.

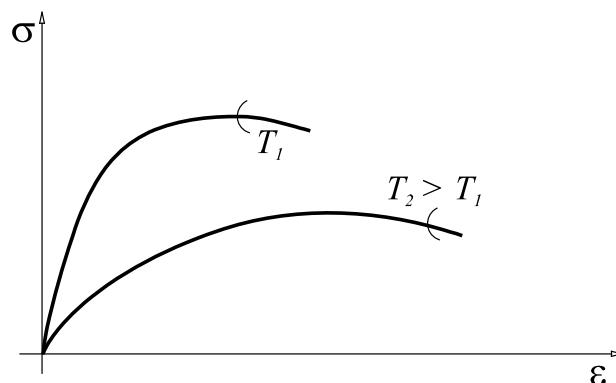
**Plastičnost** je utoliko veća ukoliko je veće konačno procentualno izduženje ( $\varepsilon_k$ ) ili procentualno smanjenje poprečnog preseka (v. Zad. 12.2). Ona je posebno značajna za proces izrade komponenti različitih oblika.

**Tvrdoća**, kao otpornost biomaterijala na utiskivanje nekog tvrđeg tela u njegovu površinu, direktno je srazmerna zateznoj čvrstoći biomaterijala ( $\sigma_m$ ). Ova svojstva posebno je značajna za površinu alata i mašinskih delova izloženih habanju. Postoje i specijalni testovi tvrdoće (v. Od. 12.2 i Zad. 12.5).

**Žilavost** biomaterijala, kao otpornost na udarna opterećenja, srazmerna je površini ispod krive  $\sigma(\varepsilon)$ . Biomaterijali koji imaju istovremeno veliku čvrstoću i plastičnost ispoljavaju dobru žilavost. Ovo svojstvo posebno je značajno za unutrašnjost delova izloženih dinamičkim opterećenjima. Postoji i specijalni dinamički test žilavosti (v. Od. 12.3).

**Krtost** (obrnuto srazmerna žilavosti) je posebno izrazito svojstvo biomaterijala kod kojih se poklapaju napon kidanja ( $\sigma_k$ ) i zatezna čvrstoća ( $\sigma_m$ ), Sl. 12.2(c). Ona je naročito karakteristična za keramike i poluprovodnike.

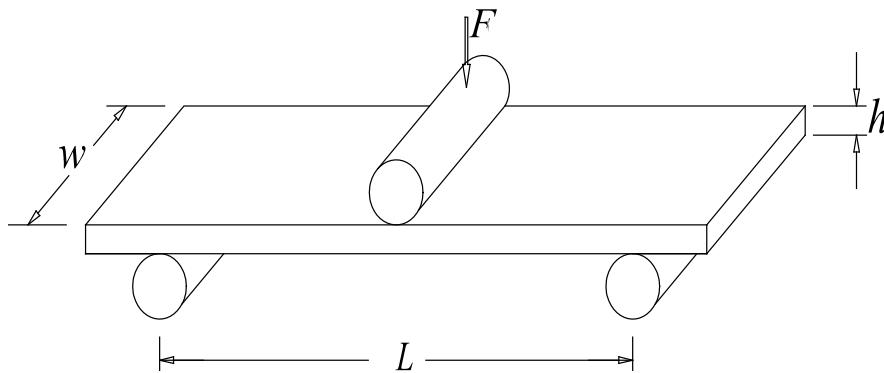
Treba istaći da postoji izrazita *temperaturska zavisnost* dijagrama napon-jedinično izduženje, prikazana na Sl. 12.3. Kao što se vidi, čvrstoća (karakterisana sa  $\sigma_e$ ), tvrdoća (srazmerna  $\sigma_m$ ), krtost (vezana za  $E$ ) i krtost (obrnuto srazmerna površini ispod krive  $\sigma(\varepsilon)$ ) opadaju sa povišenjem temperature, dok se plastičnost (srazmerna površini ispod krive  $\sigma(\varepsilon)$ ) povećava. Zato tehnolozi biomaterijala mogu da koriste taj efekat za deformaciju metala i metalnih legura na povišenoj temperaturi (poznatu kao *deformacija na toplo*), kako bi se iskoristila prednost veće plastičnosti i nižeg potrebnog napona za deformaciju.



SLIKA 12.3. Uticaj temperature na krivu napon-jedinično izduženje

**Ispitivanje savijanjem.** U mnogim krtim materijalima, posebno keramikama i kompozitnim biomaterijalima, pomenuto ispitivanje zatezanjem ne može se lako izvesti zbog prisustva površinskih pukotina, koje ubrzavaju pucanje pri takvom ispitivanju i unose pogrešne procene čvrstoće. Zato bi priprema epruveta od krtih biomaterijala mogla biti skupa. Jedan od načina da se minimiziraju ti problemi je *ispitivanje savijanjem* (Sl. 12.4). Primenom opterećenja na tri tačke i prouzrokujući savijanje, sila zatezanja se pojavljuje na donjoj strani sredine epruvete, gde i počinje lom. *Jačina pri savijanju ili modul preloma* ( $\sigma_s$ ), dati relacijom (12.6), koriste se za opis jačine krtih materijala (v. Zad. 12.3):

$$\sigma_s (\text{N/m}^2) = \frac{3FL}{2wh^2} \quad (12.6)$$



SLIKA 12.4 Šematski prikaz ispitivanja savijanjem,  
često korišćenog za ispitivanje čvrstoće krtih materijala

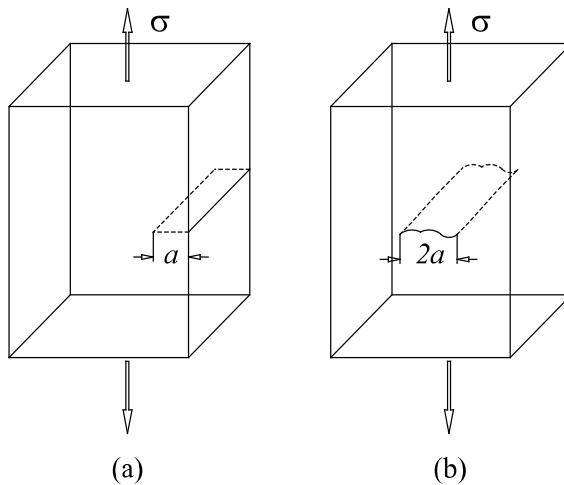
gde je  $F$  – primenjena sila,  $L$  – rastojanje između dva bočna oslonca,  $w$  – širina epruvete, a  $h$  – njena debljina.

Pošto pukotine teže da ostanu zatvorene pri sabijanju, delovi od krtih biomaterijala se obično tako projektuju da na njih deluju samo naponi sabijanja. Često se pokazuje da se krti biomaterijali lome pri znatno većim naponima savijanja nego pri naponima kidanja, dok su kod elastično-plastičnih i plastičnih biomaterijala (kao što su metali), ovi naponi skoro jednaki.

Jedan od načina za karakterizaciju čvrstoće materijala sa pukotinama je tzv. *mehanika loma*, koja u osnovi spada u ispitivanje zatezanjem (Sl. 12.5). Pri tome se izračunava faktor intenziteta napona

$$K (\text{N/m}^{3/2}) = F\sigma\sqrt{a\pi} \quad (12.7)$$

gde je  $f$  – geometrijski faktor uzorka i pukotine,  $\sigma$  – primenjeni napon, a  $a$  – veličina pukotine definisana na Sl. 12.5. Za debelu ploču je  $f \approx 1$ . Ako je  $K > K_c$ , gde je  $K_c$  – kritična prelomna žilavost koja predstavlja karakteristiku materijala, pukotina raste i materijal se kida. Ako se zna korišćeni napon  $\sigma$ , onda se može izabrati biomaterijal sa  $K_c$  takvim da je  $K < K_c$  za defektoskopski uočene pukotine, veličine  $a$  na površini ili  $2a$  u unutrašnjosti biomaterijala (v. Zad. 12.4). S druge strane, za dati



*SLIKA 12.5 Šematski prikaz epruveta sa (a) površinskim i (b) unutrašnjim pukotinama, za karakterizaciju mehanikom loma*

biomaterijal uočene veličine pukotina određuju maksimalni dozvoljeni napon  $\sigma_{\max}$  pri eksploraciji.

Plastičniji biomaterijali imaju veće  $K_c$ , jer apsorbuju energiju i otupljuju rast pukotine, za razliku od krtih biomaterijala koji imaju malo  $K_c$ , jer se teško deformišu pa je potrebna mala energija koja se u celini koristi za rast pukotine.

**Ispitivanje tvrdoće.** Pod tvrdoćom se podrazumeva otpor kojim se jedno telo suprotstavlja prodiranju drugog tvrđeg tela u njegovu površinu. Po JUS-u C.A4.003 od 1954. godine merilo tvrdoće je veličina otiska koji ostavlja utiskivač tačno određenog oblika i veličine, izrađen od naročitog tvrdog materijala, pod dejstvom određene sile, na površini ispitivanog materijala.

Ispitivanja tvrdoće se prema dejstvu sile dele na statička i dinamička. Kod *statičkih* postupaka sila kojom se utiskivač utiskuje ravnomerno raste do maksimalne vrednosti, dok se kod *dinamičkih* postupaka dejstvo sile ispoljava ili u obliku udara ili u vidu elastičnog odskoka utiskivača od ispitivane površine.

Tri najpoznatije statičke metode određivanja tvrdoće su *Brinelova*, *Vikersova* i *Rokvelova*. Kod prve dve, tvrdoća se definiše kao količnik iz sile  $F$  (u kp<sup>4</sup>) kojom je vršeno utiskivanje (okaljenom čeličnom kuglicom kod Brinelove, ili dijamantskom četvorostranom piramidom kod Vikersove metode) i površine otiska  $S$  (u mm<sup>2</sup>), i izražava se u Brinelovim (*HB*) i Vikersovim jedinicama (*HV*), dok je kod treće metode merilo veličine tvrdoće dubina otiska, koja se automatski meri i konvertuje u Rokvelovu meru tvrdoće (*HRB* ili *HRC*, zavisno da li je utiskivač okaljena čelična kuglica ili dijamantski konus).

Tri poznatije dinamičke metode određivanja tvrdoće su *Poldijeva*, *skleroskopska* i *duroskopska*. Kod prve se tvrdoća dobija upoređivanjem površina otisaka nastalih istom udarnom silom na ispitivanom materijalu i na etalonu poznate Bri-

<sup>4</sup>1 kp = 9,81 N.

nelove tvrdoće, dok je kod druge dve merilo veličine tvrdoće visina elastičnog odskoka laganog utiskivača u vidu tega, odnosno čekića.

Treba istaći da se dobijeni brojni podaci za tvrdoću ispitivanog materijala međusobno ne poklapaju, pošto se vrše pod različitim uslovima.

Uzorak za ispitivanje tvrdoće mora biti fino izbrušen, i tako postavljen da sa pravcem dejstva sile zaklapa prav ugao. Prilikom pripreme uzorka ne sme doći do njegovog pregrevanja ili deformacija u hladnom stanju, koji bi mogli da promene strukturu površinskog sloja.

U nastavku biće ukratko izloženi principi statičkih testova tvrdoće po Brinelu i Rokvelu.

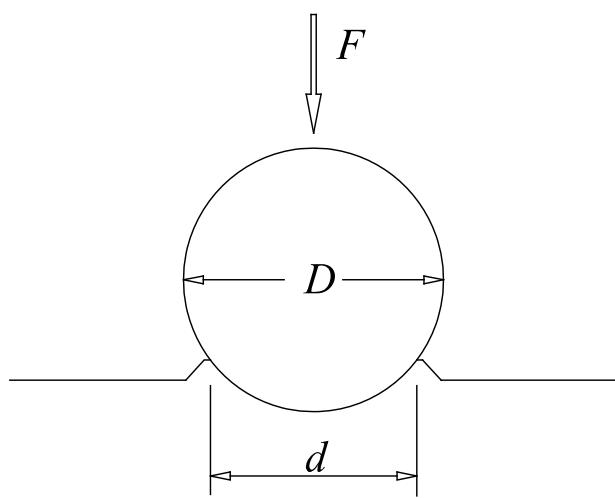
**Brinelov test.** Tvrdoća po Brinelu određuje se korišćenjem specijalnog aparata, sa utiskivačem u obliku kuglice od specijalnog okaljenog čelika. Prečnik utiskivača ( $D$ ) je obično 10,5 i 2,5 mm, a prema JUS C.A4.003 od 1962. godine može imati i neke druge vrednosti. Posle utiskivanja silom  $F$  utiskivač ostavlja u ispitivanom uzorku otisak u vidu kalote prečnika  $d$  (Sl. 12.6), pa se tvrdoća po Brinelu izračunava saglasno izrazu

$$HP(\text{kp/mm}^2) = \frac{F}{S} = \frac{2F}{\pi D(D - \sqrt{D^2 - d^2})} \quad (12.8)$$

Testovi tvrdoće se mnogo lakše izvode od ispitivanja zatezanjem, pa se često zatezna čvrstoća za čelik procenjuje na osnovu izmerene Brinelove tvrdoće (v. Zad. 12.5), saglasno empirijskoj relaciji

$$\sigma(\text{N/m}^2) = \frac{F}{S_0} \quad (12.9)$$

**Rokvelovi testovi.** Ispitivanje tvrdoće po Rokvelu se razlikuje od Brinelove (i Vikersove) metode, jer se kao merilo tvrdoće uzima dubina utiskivanja, a ne odnos između sile utiskivanja i površine otiska. Kao utiskivač kod Rokvel B metode koristi se specijalno okaljena čelična kuglica (prečnika 1/16 in  $\approx 1,5875$  mm), dok se kod Rokvel C metode koristi specijalni dijamantski konus (čije naspramne izvodnice zaklapaju ugao od  $120^\circ$ ) sa malo zaobljenim vrhom. Rokvelova ispitivanja tvrdoće izvode se u tri faze. Posle delovanja početne sile ( $F_0 = 10$  kp), koja služi da odstrani uticaj površinskih neravnina, njoj se dodaje glavna sila ( $F_1 = 140$  kp za Rokvel B metodu, odnosno  $F_1 = 90$  kp za Rokvel C metodu), kada dolazi do elastičnih i plastičnih deformacija



SLIKA 12.6 Šematski prikaz Brinelovog testa tvrdoće

koristi se specijalno okaljena čelična kuglica (prečnika 1/16 in  $\approx 1,5875$  mm), dok se kod Rokvel C metode koristi specijalni dijamantski konus (čije naspramne izvodnice zaklapaju ugao od  $120^\circ$ ) sa malo zaobljenim vrhom. Rokvelova ispitivanja tvrdoće izvode se u tri faze. Posle delovanja početne sile ( $F_0 = 10$  kp), koja služi da odstrani uticaj površinskih neravnina, njoj se dodaje glavna sila ( $F_1 = 140$  kp za Rokvel B metodu, odnosno  $F_1 = 90$  kp za Rokvel C metodu), kada dolazi do elastičnih i plastičnih deformacija

ispitivanog uzorka; da bi se elastične deformacije potpuno odstranile, u poslednjoj fazi se uklanja glavna sila tako da na utiskivač deluje samo preopterećenje ( $F_0$ ). Pokazivanje Rokvelovog aparata na jednoj od dve skale (unutrašnja crvena sa podeocima od 30 do 130 za Rokvel B, i spoljašnja crna sa podeocima od 0 do 100 za Rokvel C metodu), daje direktno vrednost tvrdoće po Rokvelu za ispitivani uzorak.

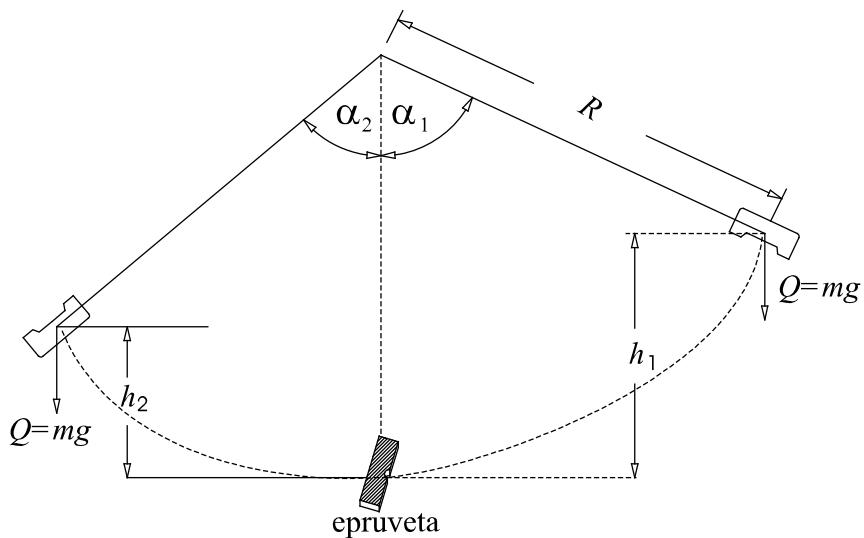
Tvrdoća je korelirana i sa *otpornošću na habanje*, odnosno eroziju, što je značajno za ležišta. Tipično, keramike su ekstremne tvrdoće, metali su osrednje tvrdoće (koja se može poboljšavati termičkim ili termohemijskim tretmanom njihove površine), dok su polimeri veoma meki.

**Ispitivanje žilavosti.** Žilavost je sposobnost materijala da se suprotstavi dejstvu udara.

Kada je materijal podvrgnut dejstvu udara, u kome je promena jediničnog izduženja krajne brza, tada može ispoljiti mnogo krtije ponašanje u odnosu na ono pokazano pri ispitivanju zatezanjem. Za ispitivanje žilavosti (odносно krtosti, koja je obrnuto srazmerna žilavosti) koristi se Šarpijev test (Sl. 12.7).

JUS C.A4.004 od 1954. godine daje podatke o ispitivanju žilavosti po Šarpijevoj metodi. Žilavost po Šarpiju definiše se kao rad koji je potrebno utrošiti po jedinici površine poprečnog preseka epruvete, iznad zareza, da bi se epruveta (kvadratnog poprečnog preseka, sa zarezom na sredini) slomila jednim udarom.

Šarpijev klatno dužine  $R$  ima na svome kraju teg mase  $m$  sa nožem na sredini. Ono se pre ispitivanja otkloni za izvesni ugao  $\alpha_1$  (odnosno na visinu  $h_1$ ) u odnosu na ravnotežni položaj i tada raspolaže sa potencijalnom energijom  $mgh_1 = mg(R - R \cos \alpha_1)$ . Pri udaru o epruvetu deo energije se utroši, a ostatak diže klatno do izvesne visine  $h_2$  (do otklona za ugao  $\alpha_2$ ), kada raspolaže potencijalnom energijom  $mgh_2 = mg(R - R \cos \alpha_2)$ . Tada je utrošeni rad na lomljenje epruvete jednak razlici potencijalnih energija pre i posle loma:



SLIKA 12.7 Šematski prikaz Šarpijevog testa žilavosti.

$$A(J) = mgh_1 - mgh_2 = mghR(\cos \alpha_1 - \cos \alpha_2) \quad (12.10)$$

Tada je *žilavost po Šarpiju*, definisana kao utrošeni rad po jediničnom poprečnom preseku epruvete, jednaka

$$\rho(\text{J/cm}^2) = \frac{A}{S_0} \quad (12.11)$$

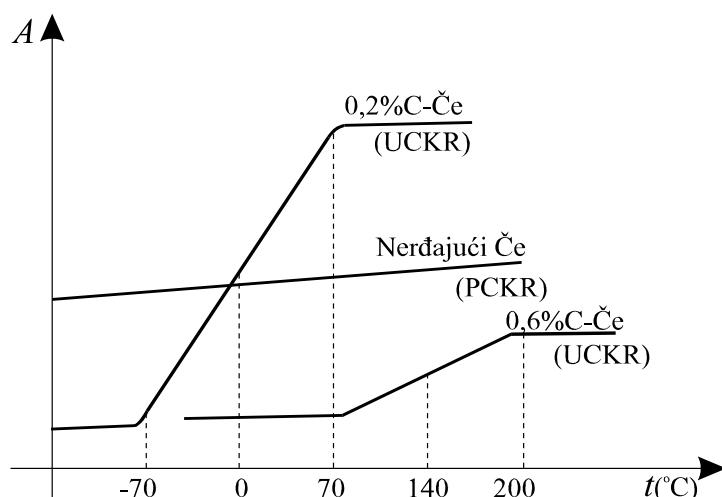
gde je  $S_0$  površina poprečnog preseka epruvete u  $\text{cm}^2$  na mestu zareza, pre loma.

Temperatura bitno utiče na žilavost metala i legura. Sa porastom temperature povećava se amplituda oscilovanja atoma oko ravnotežnih položaja, što ima za posledicu smanjenje čvrstoće i tvrdoće, a povećanje plastičnosti i žilavosti. Utvrđeno je da za niz materijala postoji kritična temperatura  $T_{kr}$ , ispod koje se žilavost jako smanjuje, a koja se zove temperatura krtog loma. Pojava krtog preloma javlja se naročito kod metala koji kristališu po zapreminski centriranoj kubičnoj rešetki (UCKR), dok je kod metala koji kristališu po površinski centriranoj kubičnoj rešetki (PCKR) smanjenje žilavosti sa sniženjem temperature znatno slabije izraženo (Sl. 12.8).

Pošto žilavost zavisi od temperature, prisustva i broja površinskih zareza i prskotina, debljine materijala itd., Šarpijev test se koristi uglavnom za poređenje i selekciju biomaterijala, ali ne i za proračun dimenzija komponenti.

Energija potrebna da slomi biomaterijal takođe odgovara površini ispod krive napon-jedinično izduženje. Zato biomaterijali koji imaju istovremeno veliku i čvrstoću i plastičnost – imaju i dobru žilavost.

Osim toga, metali i legure sa povećanom tvrdoćom imaju uvek osetno manju žilavost, što je posledica zaostalih unutrašnjih napona posle deformacije na hladno ili izdvajanja tvrdih (i krtih) faza pri naglom hlađenju legura. Sitnozrnaste struktu-

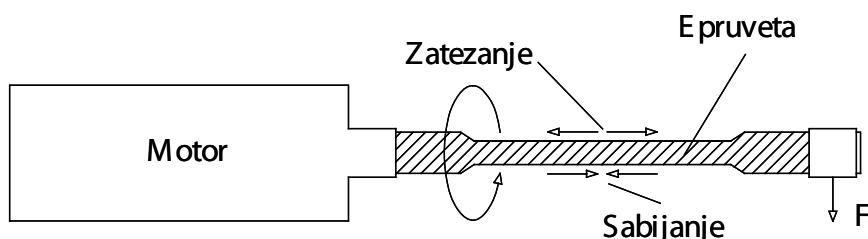


*SLIKA 12.8 Prikaz temperaturske zavisnosti žilavosti materijala koji kristališu po UCKR ili PCKR kubičnoj kristalnoj rešetki*

re su žilavije od krupnozrnastih, pošto je sloj krte faze kod sitnih zrna manje deblji nego kod krupnih zrna.

**Ispitivanje zamaranjem.** Pod zamaranjem se podrazumeva postepeno razaranje materijala usled ponavljuće primene napona manjeg od zatezne čvrstoće materijala. Taj periodični napon može biti rezultat rotacije, savijanja, ili čak vibracije. Mada je napon manji od zatezne čvrstoće, materijal može pući posle velikog broja primena napona.

Skica uobičajene aparature za ispitivanje zamaranjem data je na Sl. 12.9. Jedan kraj obrađene cilindrične epruvete pričvršćen je na rotacioni pogon motora, dok je drugi kraj opterećen konstantnim naponom nadole. Na gornji kraj epruvete u početku deluje sila zatezanja, a na donji sila pritiska. Posle rotacije epruvete za  $90^\circ$ , oblasti prethodno podvrgnute silama zatezanja i pritiskanja više nisu izložene nikakvim naponima, dok posle obrtaja za  $180^\circ$  deo materijala prvo bitno izložen zatezanju je pod pritiskom, i obrnuto. Tako napon u jednoj tački epruvete prolazi kroz kompletan ciklus od nultog napona do maksimalnog napona zatezanja, pa ponovo preko nultog napona do maksimalnog napona pritiskanja, i tako periodično mnogo puta.



SLIKA 12.9 Skica aparature za ispitivanje zamaranjem

Maksimalni napon zamaranja koji deluje na epruvetu je dat izrazom

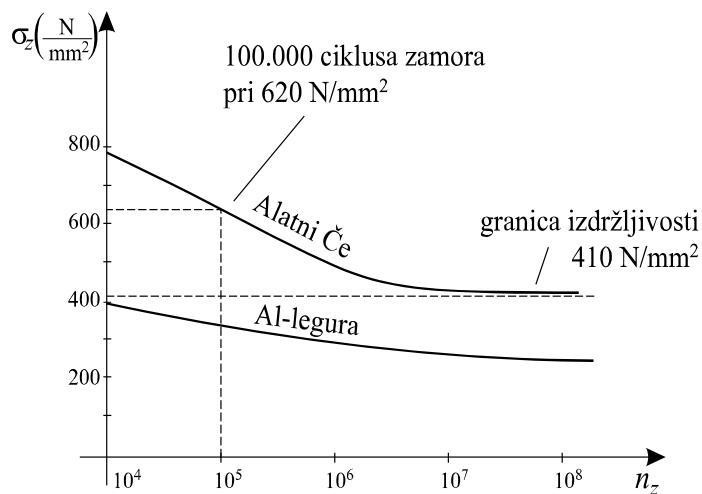
$$\sigma_z (\text{N/m}^2) = 10,18 \frac{Fl}{d^3} \quad (12.12)$$

gde je  $F$  – sila stalanog opterećenja,  $l$  – dužina epruvete, a  $d$  – njen prečnik.

Posle dovoljnog broja ciklusa, uzorak može pući. Obično se testira niz epruve pod različitim primenjenim naponima zamaranja, i crta se maksimalni napon zamaranja u funkciji broja ciklusa do preloma epruvete (Sl. 12.10).

Ispitivanje zamaranjem daje informaciju koliko dugo neki deo može izdržati maksimalna dozvoljena periodična opterećenja a da ne dođe do preloma (v. Zad. 12.6). Deo mora biti tako dimenzionisan da izdrži dati broj ciklusa zamora  $n_z$  radeći pri periodičnom opterećenju  $\sigma < \sigma_z$ .

Glavni kriterijum za dimenzionisanje komponente podvrgnute periodičnom opterećenju je granica izdržljivosti ( $\sigma_{z,\min}$ ), koja se definiše kao napon ispod koga ne dolazi do zamora za bilo koji broj ciklusa  $n_z$ . Na primer, za alatni čelik sa Sl. 12.10, da bi se sprečio njegov prelom neophodno je da primenjeni maksimalni napon zamaranja bude manji od granice izdržljivosti ovog čelika ( $410 \text{ N/mm}^2$ ).



SLIKA 12.10 Dijagram napon-broj ciklusa do prekida, u testu zamaranja za neke materijale

S druge strane, neki materijali kao što su Al-legure nemaju pravu granicu izdržljivosti. Za njih se definiše *čvrstoća zamaranja* kao napon ispod koga ne dolazi do zamora unutar nekog propisanog vremenskog perioda.

Otpornost na zamor je povezana sa čvrstoćom biomaterijala na površini. U mnogim legurama na bazi gvožđa, postoji empirijska relacija između granice izdržljivosti i zatezne čvrstoće:

$$\sigma_{z \min} = 0,5\sigma_m. \quad (12.13)$$

## 12.2 MEHANIČKA ISPITIVANJA BEZ RAZARANJA

Kod *mehaničkih ispitivanja bez razaranja* uzoraka (metodama metalografske mikroskopije i defektoskopije) [1, 2] materijal se ne razara, pa se ove metode mogu primeniti ne samo za određivanje strukturnih i mehaničkih karakteristika u raznim fazama proizvodnog procesa, već isto tako i za ispitivanje već ugrađenog biomaterijala. Ove metode nalaze u poslednje vreme sve veću primenu zahvaljujući svojoj brzini i tačnosti.

**Metalografska mikroskopija.** Metode metalografske (optičke) mikroskopije se pretežno primenjuju za određivanje polikristalnih i/ili višefaznih makroskopskih nesavršenosti u materijalu.

Ova ispitivanja se izvode pomoću metalografskog mikroskopa koji radi na principu odbijanja svetlosti sa nagrižene (prethodno ispolirane) reljefne površine, kako je to šematski ilustrovano na Sl. 12.11(a). Najčešće se u metalografiji koristi uvećanje 300–800 puta, mada se ponekad koristi uvećanje i do 2500 puta. Upadni zraci svetlosti udaraju vertikalno na površinu metala, odbijaju se od nje i preko sistema sočiva i prizmi dospevaju u posmatračevo oko. Zraci koji najdu na ravnu

površinu tj. na nenagrižena ili slabo nagrižena mesta, vraćaju se do posmatračevog oka dajući utisak svetlog polja. Suprotan utisak se stvara ako se radi o nagriženim i neravnim površinama: sa takvih površina zraci se manje ili više rasipaju i samo manji deo dospeva do posmatračevog oka dajući utisak sivog ili tamnog polja, kako je to prikazano na Sl. 12.11(b).

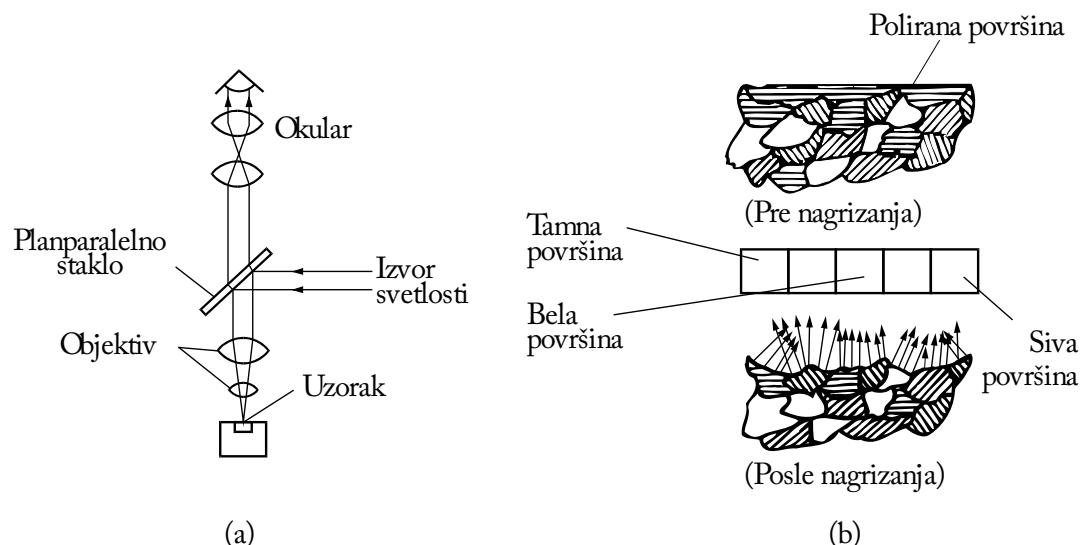
Pri tome je izuzetno značajna sama *priprema uzorka* za metalografsku mikroskopiju.

Priprema uzorka počinje *odsecanjem* na mašinama alatkama, uz intenzivno hlađenje, da se izbegne promena strukture materijala na povišenim temperaturama. Zatim se uzorci pripremaju brušenjem, poliranjem i nagrizanjem.

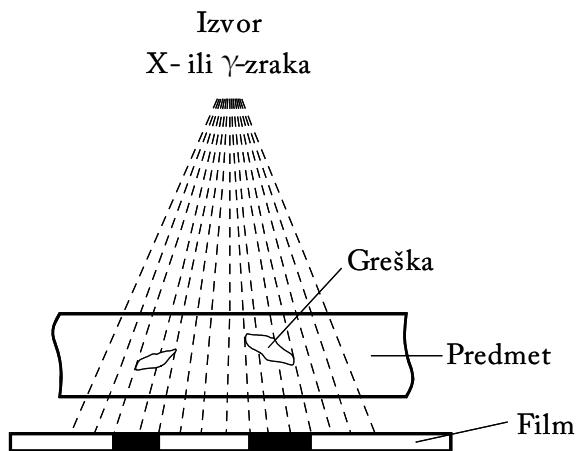
*Brušenje* treba da poravna što više površinu uzorka, najpre na točilu različite tvrdoće i finoće, a zatim brusnim papirom sve manje krupnoće zrna. Smer brušenja se stalno menja za ugao od  $90^\circ$  sve do nestanka tragova prethodnog brušenja.

*Poliranje* ima za cilj da odstrani sa površine uzorka pruge zaostale od završnog brušenja i da dâ površini ogledalasti metalni sjaj. Poliranje se izvodi diskovima obloženim filcom uz dodatak dijamantske paste. Posle poliranja uzorak se ispira destilovanom vodom, zatim alkoholom, i potom suši u struji toplog vazduha.

*Nagrizanje* je poslednja faza pripreme uzorka, koja dovodi do razvijanja površine podesnim hemijskim sredstvom, uz postizanje reljefne strukture. Izbor sredstava za nagrizanje zavisi od vrste materijala (za čelike i livena gvožđa koristi se nital, 5%-rastvor azotne kiseline u alkoholu). Polirani uzorak se potapa u sredstvo za nagrizanje i drži određeno vreme, zavisno od vrste materijala i posmatranog uvećanja mikroskopa. Sredstva za nagrizanje nejednakom brzinom rastvaraju različito orijentisana zrna polikristalne monofazne strukture, ili različite faze više-



SLIKA 12.11 Šematski prikaz (a) metalografskog mikroskopa i (b) uticaja nagriženosti površine na refleksiju svetlosti, uz ilustraciju mikroskopskih slika sa različitim stepenom osvetljenosti posmatrane površine.



SLIKA 12.12 Šematski prikaz radiografske defektoskopije

faznih legura (uslovljeno razlikom potencijala koja se stvara između različitih faza, tako da faza sa višim potencijalom brže prelazi u rastvor tokom nagrizanja). Posle nagrizanja uzorak se ponovo ispira destilovanom vodom, zatim alkoholom, i potom suši u struji toplog vazduha.

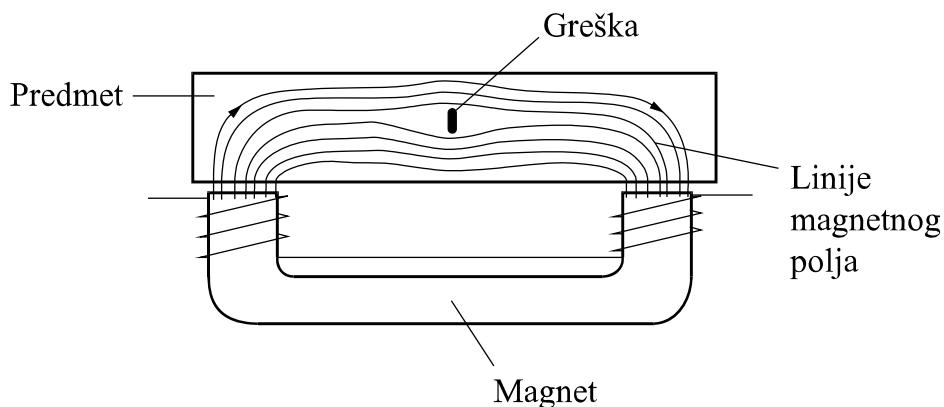
Metalografska mikroskopija je jedna od najrasprostranjenijih i najprostijih metoda za ispitivanje makroskopskih detalja prostorne strukture materijala. Pošto je talasna dužina vidljivog zračenja  $\sim 10^2\text{--}10^3$  nm, to je zbog difrakcije njena moć razdvajanja ograničena na detalje strukture istog reda veličine, što spada u domen *makroskopskih defekata*. Ova metoda je naročito pogodna za ispitivanje površinske strukture neprovidnih biomaterijala, kakvi su metali.

Za preciznije detalje prostorne strukture biomaterijala koriste se elektronska mikroskopija i skanirajuća tunelska mikroskopija, opisane u Od. 11.3.

**Defektoskopske metode.** Defektoskopske metode se koriste za otkrivanje makroskopskih unutrašnjih grešaka u materijalu, kao što su poroznost, uključci oksida, prskotine i dr. Veliko preim秉stvo ovih metoda je mogućnost korišćenja ne samo u laboratoriji već i u pogonima, naročito za kontrolu serijske proizvodnje metalnih komponenti.

Među defektoskopskim metodama najviše se koriste *radiografska, magnetna, fluoroscentna i ultrazvučna* defektoskopija.

**Radiografska defektoskopija** koristi efekat smanjene apsorpcije X-zraka ili  $\gamma$ -zraka u šupljinama ili prskotinama materijala, tako da će se na odgovarajućim mestima emulzije na razvijenom filmu (smeštenom iza ispitivanog uzorka) pojavljivati tamnija mesta, kao rezultat veće apsorpcije energije zračenja na tim mestima (Sl. 12.12). Kao izvor X-zraka koristi se rentgenska cev, a  $\gamma$ -zraka prirodni ili veštački radioaktivni izotopi ( $\text{Ir}^{192}$ ,  $\text{Cs}^{137}$ ,  $\text{Co}^{60}$ ,  $\text{Tl}^{170}$ ). Izotop se bira u zavisnosti od debljine uzorka i materijala koji se ispituje.

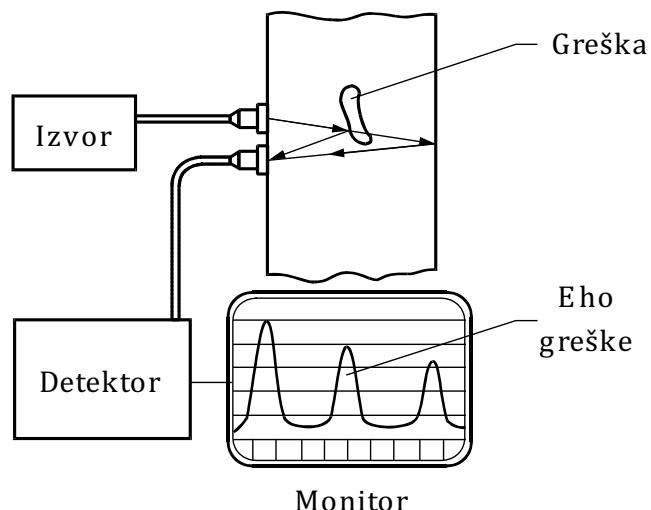


SLIKA 12.13 Šematski prikaz magnetne defektoskopije

**Magnetna defektoskopija** koristi se za ispitivanje prskotina u feromagnetskim predmetima, koji se stavljuju između polova elektromagneta. Linije magnetnog polja pri nailasku na prskotine skreću i zbijaju se oko tih defekata (Sl. 12.13), što se može uočiti golim okom posipanjem površine predmeta suspenzijom finog gvozdevnog praha. Za magnetisanje se koristi jednosmerna ili naizmenična struja.

**Fluoroscentna defektoskopija** je najjednostavnija defektoskopska metoda. Ispitivani predmet se premaže fluorescentnom tečnošću, koja treba lako da prodire u unutrašnjost prskotina i da zaostane u njima pri naknadnom brisanju površine. Ovako pripremljeni predmeti osvetljavaju se ultraljubičastim zracima, posle čega zaostala fluorescentna tečnost u prskotinama počinje da svetli, što omogućava lako uočavanje i vrlo sitnih prskotina.

**Ultrazvučna defektoskopija** koristi svojstvo slabijeg prostiranja ultrazvuka u prskotinama ispunjenim gasom, kao i refleksiju ultrazvučnih talasa od njih, što



SLIKA 12.14 Šematski prikaz ultrazvučne defektoskopije

se može detektovati na osnovu pojave eho-impulsa reflektovanog od prskotina u ispitivanom komadu (Sl. 12.14), koji se na katodnom oscilografu prikazuje na odgovarajućoj dubini komada.

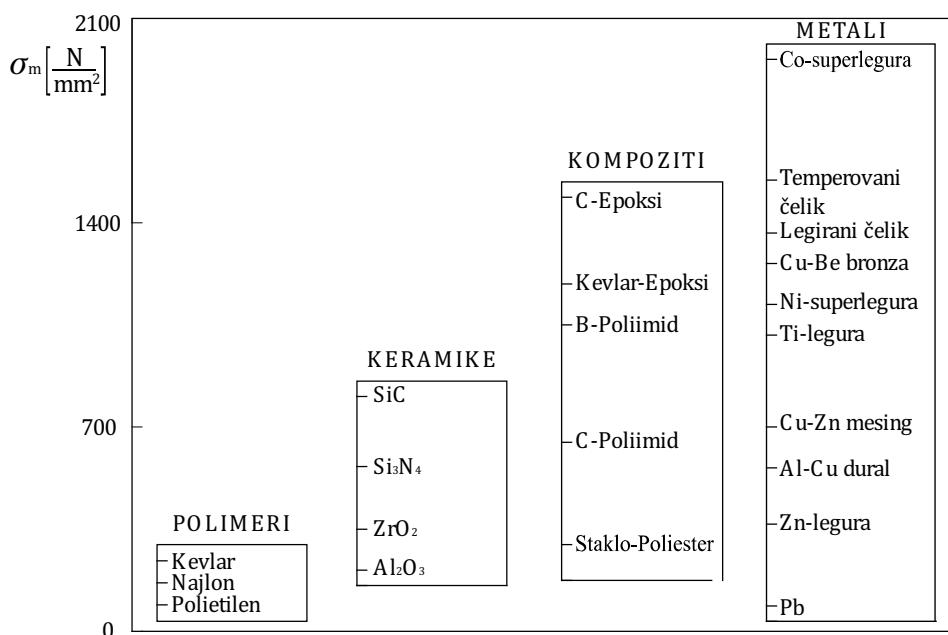
## 12.3 UPOREDNE MEHANIČKE KARAKTERISTIKE BIOMATERIJALA

Na Sl. 12.15 dat je uporedni prikaz *mehaničke čvrstoće* glavnih predstavnika *metala, kompozita, keramika i polimera* [1,4].

Iako najbolji metali imaju još uvek veću mehaničku čvrstoću od kompozita, zbog manje težine kompoziti imaju bolji odnos *zatezna čvrstoća-prema-gustini* (v. Tabl. 12.1) i zato predstavljaju biomaterijale budućnosti!

*TABELA 12.1 Odnos zatezna čvrstoća-prema-gustini ( $\sigma_m/\rho$ ) za neke materijale*

Materijal	$\sigma_m$ (N/mm <sup>2</sup> )	$\rho$ (g/cm <sup>3</sup> )	$\sigma_m/\rho$ (cm)
Polietilen	7	0,80	$0,08 \cdot 10^6$
Aluminijum (Al)	45	2,63	$0,18 \cdot 10^6$
Bakar (Cu)	210	8,58	$0,23 \cdot 10^6$
Niskougljenični čelik	400	7,51	$0,54 \cdot 10^6$
Titan (Ti)	250	4,29	$0,56 \cdot 10^6$
Alumina (Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	210	3,06	$0,67 \cdot 10^6$
Najlon	77	1,07	$0,72 \cdot 10^6$
Epoksi	100	1,34	$0,77 \cdot 10^6$
Visokougljenični čelik	630	7,51	$0,82 \cdot 10^6$
Silicijum nitrid (Si <sub>3</sub> N <sub>4</sub> )	490	3,06	$1,56 \cdot 10^6$
Temperovani legirani čelik	1500	7,51	$2,20 \cdot 10^6$
Temperovana Al-legura	600	2,63	$2,25 \cdot 10^6$
Ugljenik-ugljenik (C-C) kompozit	420	1,74	$2,35 \cdot 10^6$
Temperovana Ti-legura	1200	4,29	$2,71 \cdot 10^6$
Visokoistegnuti polietilen	240	0,80	$2,74 \cdot 10^6$
Kevlar-epoksi kompozit	1200	1,34	$8,95 \cdot 10^6$



SLIKA 12.15 Uporedni prikaz mehaničke čvrstoće važnijih metala, kompozita, keramika i polimera

## 12.4 PITANJA ZA REKAPITULACIJU

- 12.1 Koji je najznačajniji mehanički pokazatelj biomaterijala sa stanovišta eksploatacije, odnosno sposobnosti oblikovanja?
- 12.2 Koji je najznačajniji mehanički pokazatelj biomaterijala sa stanovišta dozvoljene male dimenzijske tolerancije u toku eksploatacije?
- 12.3 Koji je najznačajniji mehanički pokazatelj biomaterijala sa stanovišta konstrukcije i izloženosti velikim naprezanjima?
- 12.4 Koji je najznačajniji mehanički pokazatelj biomaterijala sa stanovišta plastičnosti?
- 12.5 Koji je najznačajniji mehanički pokazatelj biomaterijala sa stanovišta otpornosti na habanje?
- 12.6 Koji je najznačajniji mehanički pokazatelj biomaterijala sa stanovišta otpornosti na udarna opterećenja?
- 12.7 Koji je najznačajniji mehanički pokazatelj biomaterijala sa stanovišta otpornosti na naizmenična opterećenja?
- 12.8 Koji je najznačajniji mehanički pokazatelj biomaterijala sa stanovišta čvrstoće materijala sa pukotinama?
- 12.9 Da li dijagram napon-jedinično izduženje zavisi od dimenzija epruvete?

- 12.10 Kako se može indirektno proceniti zatezna čvrstoća čelika?
- 12.11 Koja metoda se pretežno primenjuje za određivanje polikristalnih i/ili višefaznih makroskopskih nesavršenosti u biomaterijalu.
- 12.12 Kojim metodama se mogu odrediti makroskopski defekti u strukturi biomaterijala?
- 12.13 Koji biomaterijali imaju najbolji odnos  $\sigma_m/\rho$ ?

## **12.5 LITERATURA**

1. D. Raković, S. Krstić, Lj. Turković, *Savremeni materijali i tehnologije* (Grosknjiga, Beograd, 1997).
2. Č. Petrović, *Priručnik za vežbe iz ispitivanja materijala* (Naučna knjiga, Beograd, 1990).
3. D. Raković, *Fizičke osnove i karakteristike elektrotehničkih materijala* (Elektrotehnički fakultet / Akademska misao, Beograd, 1995 / 1997; 2000).
4. D. R. Askeland, *The Science and Engineering of Materials* (PWS-KENT, Boston, 1989).

# 13

## MODELIRANJE BIOMATERIJALA I TKIVA<sup>1</sup>

U ovoj glavi se izlažu ukratko osnovni pojmovi mehanike neprekidnih sredina (kontinuuma) koji će dalje biti korišćeni. Date su definicije napona, deformacija, konstitutivnih relacija i predstavljen je princip virtualnog rada, koji predstavlja fundamentalni princip za izvođenje osnovnih relacija za solid u metodi konačnih elemenata. Zatim se izlažu ukratko osnovne jednačine konačnih elemenata u linearnoj i nelinearnoj oblasti. Kao primeri primene metode konačnih elemenata (MKE) pokazano je modeliranje bioimplantata kod kostiju, a zatim modeliranje bioloških membrana i mišića.

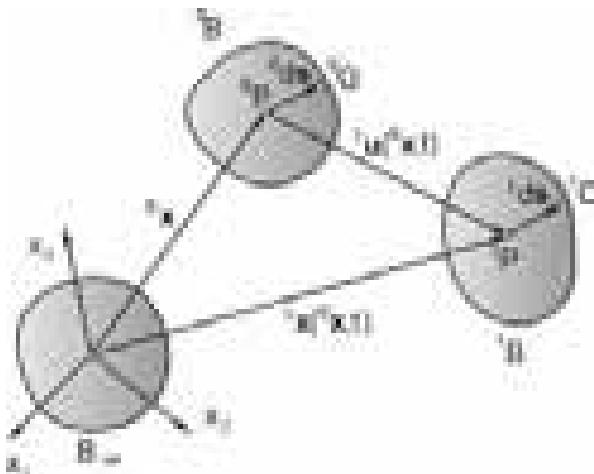
### 13.1 OSNOVE MEHANIKE NEPREKIDNIH SREDINA

Mehanika neprekidnih sredina, ili mehanika kontinuuma, deo je mehanike koji izučava opšte probleme kretanja i ravnoteže kontinualno raspoređenog skupa materijalnih tačaka, kontinuuma. Primeri kontinualno raspoređenog sistema materijalnih tačaka jesu čvrsta ili kruta tela, tečnosti ili gasovi. Osnovna pretpostavka mehanike kontinuuma jeste da je prostor kontinualno ispunjen materijom. Materijalna tačka kontinuuma predstavlja beskonačno mali deo neprekidno raspoređene materije čiji je položaj određen geometrijskom tačkom prostora. Na Sl. 13.1 pokazana je tačka P čiji je položaj u trenutku  $t$  određen vektorom položaja  $\mathbf{x}$ , dok je njen položaj u početnom trenutku  $t=0$  bio  $\mathbf{x}_0$ , sa koordinatama  $x_i$  i  $x_{i_0}$ .

### 13.2 JEDNAČINE MEHANIKE KONTINUUMA

**Napon.** Jedan od osnovnih ciljeva mehanike kontinuuma jeste određivanje intenziteta uzajamnog dejstva materijalnih tačaka unutar neprekidne sredine. Veli-

<sup>1</sup>Ovo poglavlje napisali su Nenad Filipović, Miloš Kojić, Boban Stojanović i Vladimir Ranković.



SLIKA 13.1 Kretanje kontinuuma i okolina materijalne tačke

čina koja opisuje meru tog uzajamnog dejstva materijalnih tačaka naziva se napon. Ovde ćemo definisati veličinu koja se zove mehanički napon (ili kraće napon). Posmatraćemo čvrsto (deformabilno) telo, mada su definicija napona i relacije koje ćemo navesti opšte i važe i za druge neprekidne sredine.

Polazimo od postavke da između delića tela postoje kohezione sile međusobnog dejstva koje su, u slučaju kada nema spoljašnjih dejstava na telo (mehaničkih, topotnih i drugih), u ravnoteži, a materijal nedeformisan. Smatramo da je tada telo neopterećeno i da se nalazi u neutralnom (početnom), nenapregnutom stanju. Međutim, usled spoljašnjih dejstava (na primer mehaničkih) javlja se poremećaj unutrašnjih sila, a telo se deformiše do trenutka kada se postigne ravnoteža unutrašnjih i spoljašnjih sila. Kao posledica postojanja unutrašnjih sila javlja se napon u materijalu koji se može definisati na sledeći način

Zamislimo da smo u okolini tačke  $P$  tela opterećenog silama  $\mathbf{F}_1, \dots, \mathbf{F}_n$  izdvojili element materijala površine  $S$ . Dejstvo materijala van površine  $S$  na posmatrani element prenosi se putem površinskih sila. Napon u tački  $P$  na površini čija je normala  $\mathbf{n}$  je

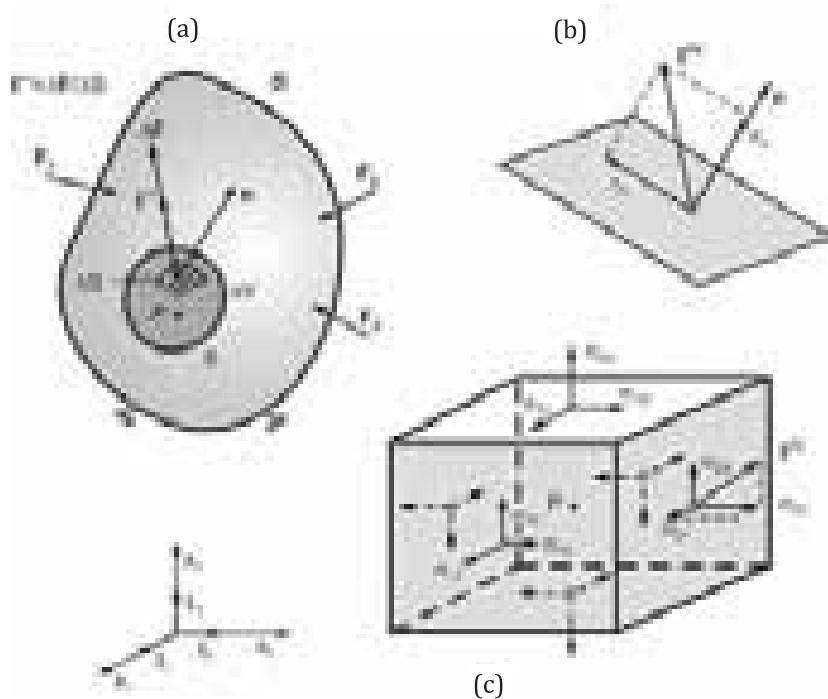
$$\mathbf{t}^{(n)} = \lim_{\Delta S \rightarrow 0} \frac{\Delta \mathbf{F}}{\Delta S} = \frac{d\mathbf{F}}{dS} \quad (13.1)$$

Vektor napona  $\mathbf{t}^{(n)}$  može se razložiti na normalnu i tangencijalnu komponentu  $\sigma_n$  i  $\tau_n$ ,

$$\mathbf{t}^{(n)} = \boldsymbol{\sigma}_n + \boldsymbol{\tau}_n \quad (13.2)$$

što je pokazano na Sl. 13.2a za površinu čija je normala  $\mathbf{n}$ .

Kako se u tački može postaviti bezbroj vektora  $\mathbf{n}$ , sledi da je stanje površinskih sila, ili naponsko stanje, u posmatranoj tački, određeno sa bezbroj vektora  $\mathbf{t}^{(n)}$ . Međutim, problem neodređenosti se rešava time što se uvodi koordinatni sistem, na primer Dekartov  $x_1, x_2, x_3$  na Sl. 13.2b, i naponi definišu za koordinatne ravnine.



SLIKA 13.2 Definisanje napona u tački P tela

Skup normalnih i smičućih napona čini devet vrednosti, devet funkcija koordinata tačke materijala, koje čine tenzor napona. Uobičajene oznake za komponente tenzora napona u Dekartovom sistemu  $x, y, z$  jesu

$$\sigma = \begin{bmatrix} \sigma_{xx} & \sigma_{xy} & \sigma_{xz} \\ \sigma_{yx} & \sigma_{yy} & \sigma_{yz} \\ \sigma_{zx} & \sigma_{zy} & \sigma_{zz} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \sigma_{11} & \sigma_{12} & \sigma_{13} \\ \sigma_{21} & \sigma_{22} & \sigma_{23} \\ \sigma_{31} & \sigma_{32} & \sigma_{33} \end{bmatrix} \quad (13.3)$$

Tenzor napona je simetričan, dakle  $\sigma_{ij}=\sigma_{ji}$ , što se dokazuje na osnovu uslova da zbir momenta sila koje deluju na materijalni element moraju biti jednaki nuli.

Vektor naponi na površini čija je normala  $\mathbf{n}$  jesu

$$\mathbf{t}^{(n)} = \mathbf{n}\sigma, \text{ odnosno } t_i^{(n)} = \sigma_{ji} n_j \quad (13.4)$$

Ova jednačina izražava Košijevu formulu koja se zasniva na ravnoteži materijalnog elementa. Ako se primene relacije za transformaciju vektora pri promeni koordinatnog sistema, može se doći do zakona transformacije komponenti napona pri promeni koordinatnog sistema:

$$\bar{\sigma} = \mathbf{T} \sigma \mathbf{T}^T, \text{ odnosno } \bar{\sigma}_{ij} = T_{ik} \sigma_{km} T_{jm} \quad (13.5)$$

gde  $\bar{\sigma}_{ij}$  predstavljaju komponente napona u zaokrenutom koordinatnom sistemu  $\bar{x}_i$ . Ovde su komponente matrice  $\mathbf{T}$  određene kosinusima uglova između osa koordinatnih sistema  $x_i$  i  $\bar{x}_i$ . tj.

$$T_{ik} = \cos(\bar{x}_i, x_k) \quad (13.6)$$

Promena komponenti napona prema relacijama (13.5) zove se *tenzorska transformacija*, pa se otuda i napon smatra tenzorskom veličinom. Ova tenzorska transformacija zasniva se na fizičkom uslovu ravnoteže elementa materijala (Košjeva formula).

Kao što smo gore rekli, pri rešavanju problema mehanike neprekidnih sredina uglavnom je potrebno, između ostalog, da se odredi naponsko polje izraženo skupom funkcija  $\sigma_{ij}(x_1, x_2, x_3)$ . Osnovne jednačine koje ove funkcije moraju zadovoljavati jesu *jednačine ravnoteže*. Njih izvodimo polazeći od ravnoteže površinskih i zapreminskih sila koje deluju na element oblika prikazanog na Sl. 13.3.

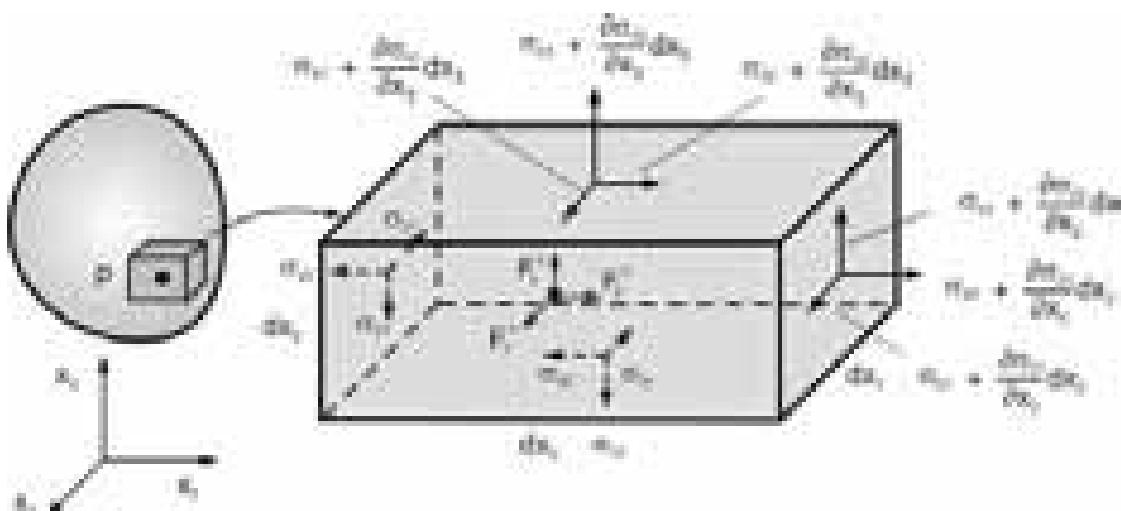
Rezultat je da sledeće tri jednačine moraju biti zadovoljene u svakoj tački materijala:

$$\frac{\partial \sigma_{1i}}{\partial x_1} + \frac{\partial \sigma_{2i}}{\partial x_2} + \frac{\partial \sigma_{3i}}{\partial x_3} + F_i^V = 0, \text{ odnosno } \frac{\partial \sigma_{ji}}{\partial x_j} + F_i^V = 0 \quad i, j = 1, 2, 3 \quad (13.7)$$

pri čemu ponovljeni indeks 'j' znači sabiranje.

Deformacija je mehanička veličina kojom se definiše stanje deformisanosti materijala (neprekidne sredine). Postoje različite definicije deformacije. Uglavnom, može se izvršiti osnovna podela deformacija na male i velike, shodno intenzitetu deformisanja materijala.

Definišimo prvo male deformacije. Razlikuju se, po svojoj prirodi, dve vrste deformacija: normalna (linijska) i smičuća (ugaona). Normalna deformacija u pravcu ose  $x$  u tački A materijala, po definiciji, jeste odnos priraštaja dužine pravog linijskog elementa  $d(ds)$  prema njegovoj početnoj dužini  $ds$ . Ako je linijski element pre deformacije bio u pravcu ose  $x$ , onda je deformacija  $e_{xx}$  jednaka



SLIKA 13.3 Uz izvođenje jednačine ravnoteže

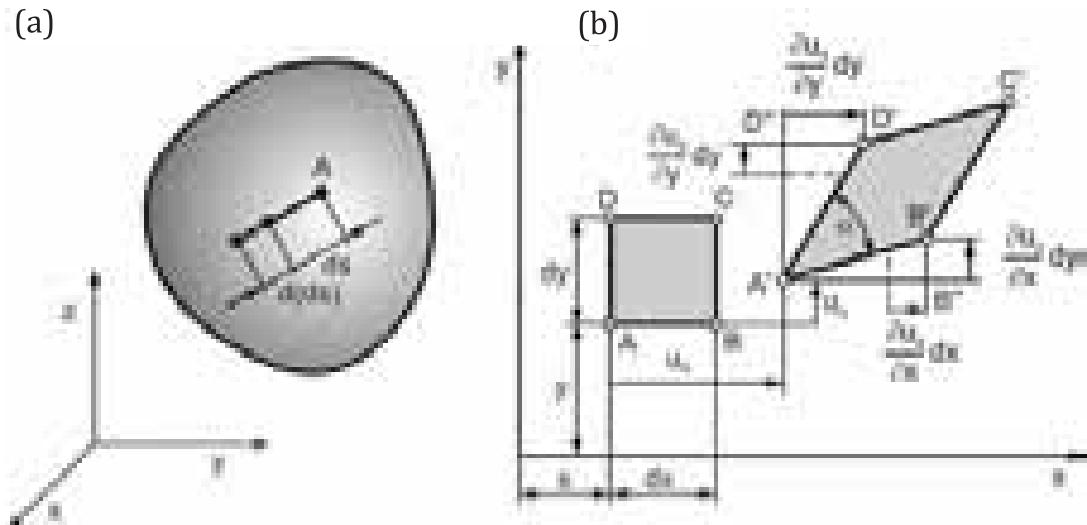
$$e_{xx} = \frac{d(dx)}{dx} \quad (13.8)$$

Dakle  $e_{xx}$  karakteriše promenu jedinice dužine linijskog elementa koji se pre deformacije poklapao sa osom  $x$ . Analogna je definicija normalne deformacije u bilo kom pravcu u tački  $A$  (i u bilo kojoj drugoj tački). Skup svih normalnih deformacija u nekoj tački daje sliku izduženja (i skraćenja) svih linijskih elemenata u posmatranoj tački.

Druga vrsta malih deformacija jeste smičuća deformacija. Po definiciji, smičuća deformacija je promena ugla između dva početno upravna linijska elementa. Smičuća deformacija koja odgovara osama  $x$  i  $y$ , Sl. 13.4b, jeste

$$\gamma_{xy} = \frac{\pi}{2} - \alpha \quad (13.9)$$

gde je  $\alpha$  ugao između linijskih elemenata  $A'B'$  i  $A'D'$  koji su se pre deformacije poklapali sa osama  $x$  i  $y$ . Analogno se može definisati smičuća deformacija za bilo koja druga dva (prvobitno međusobno upravna) pravca. Skup svih smičućih deformacija u posmatranoj tački materijala karakteriše krivljenje, promenu oblika, materijala.



SLIKA 13.4 Male deformacije

Deformacije se mogu izraziti preko polja pomeranja na sledeći način:

$$e_{ij} = \frac{1}{2} \left( \frac{\partial u_i}{\partial x_j} + \frac{\partial u_j}{\partial x_i} \right) \quad i, j = 1, 2, 3 \quad (13.10)$$

Ovde su  $e_{11} \equiv e_{xx}$ ,  $e_{22} \equiv e_{yy}$ ,  $e_{33} \equiv e_{zz}$ ,  $e_{12} \equiv 1/2\gamma_{xy}$ ,  $e_{23} \equiv 1/2\gamma_{yz}$ ,  $e_{31} \equiv 1/2\gamma_{zx}$ . Komponente  $e_{ij}$  se takođe zovu i inženjerske smičuće deformacije, a  $e_{ij}$  tenzorske. Smatra se da su deformacije male ako su veličine do 4%. Napomenimo da pri promeni koordinatnog sistema komponente deformacije se menjaju prema tenzorskim pravilima (13.5), dakle mala deformacija je tenzorska veličina.

U slučaju značajnog deformisanja tela, za određivanje mere deformisanosti nije moguće primeniti definicije koje važe za male deformacije već je neophodno uvesti nove formulacije deformacija. Navedimo logaritamsku deformaciju kao jednu od mera velikih deformacija koju ćemo koristiti u primeni.

Da bismo uveli pojam logaritamske deformacije, polazimo od gradijenta deformacije kao jedne od fundamentalna veličina koja opisuje kinematiku deformisanja kontinuma. Posmatrano u odnosu na referentnu konfiguraciju  ${}^0B$  (obično je to početna, nedeformisana konfiguracija), gradijent deformacije u tački materijala u trenutku  $t$  (konfiguracija  ${}^tB$ ) može se definisati na sledeći način:

$${}^t\mathbf{F} = \frac{\partial' \mathbf{x}}{\partial {}^0 \mathbf{x}}, \text{ odnosno u komponentnoj formi } {}^t F_{ij} = \frac{\partial' x_i}{\partial {}^0 x_j} \quad (13.11)$$

Na osnovu ove definicije gradijenta deformacije sledi relacija između elementarnog materijalnog vektora u trenutku  $t$  i  $t=0$ ,  $d\mathbf{ts}$  i  $d\mathbf{0s}$ ,

$$d\mathbf{s} = {}^t\mathbf{F} d^0\mathbf{s}, \text{ odnosno } d^t s_i = {}^t F_{ij} d^0 s_j \quad (13.11)$$

Materijalni element je skup materijalnih tačaka koje čine linijski element elemen-tarne dužine.

Iz prethodnog izraza sledi izraz koji opisuje streč (ili odnos dužina) materijalnog elementa:

$${}^t\lambda = \left\| \frac{d^t \mathbf{s}}{d^0 \mathbf{s}} \right\| = \| {}^t\mathbf{F} {}^0\mathbf{n} \| = ({}^t F_{ij} {}^0 n_j)^{1/2} \quad (13.13)$$

pri čemu jedinični vektor  ${}^0n$  definiše pravac materijalnog elementa u referentnoj konfiguraciji  ${}^0B$ . Ako, uvedemo levi Koši-Grinov tenzor deformacije [1]:

$${}^t\mathbf{B} = {}^t\mathbf{F} {}^0\mathbf{F}^T \quad (13.14)$$

onda izraz za streč materijalnog elementa možemo napisati kao:

$${}^t\lambda = ({}^t\mathbf{n}^T {}^t\mathbf{B} {}^t\mathbf{n})^{1/2} = ({}^0 B_{ij} {}^t n_i {}^t n_j)^{1/2} \quad (13.15)$$

gde je

$${}^0\mathbf{B} = {}^t\mathbf{B}^{-1} = ({}^t\mathbf{F}^{-1})^T {}^0\mathbf{F}^{-1} \quad (13.16)$$

Konačno, u slučaju velikih deformacija definišemo tenzor logaritamske deformacije u obliku:

$${}^t\mathbf{e}_{\log} = \sum_{k=1}^3 \ln({}^t\lambda_k) {}^t\bar{\mathbf{p}}_k {}^t\bar{\mathbf{p}}_k \text{ odnosno } ({}^t e_{\log})_{ij} = \sum_{k=1}^3 \ln({}^t\lambda_k) ({}^t\bar{p}_k)_i ({}^t\bar{p}_k)_j \quad (13.17)$$

gde su:  ${}^t\lambda_k$  strečevi u glavnim pravcima deformacije,  ${}^t\bar{\mathbf{p}}_k$  vektori glavnih pravaca tenzora  ${}^t\mathbf{B}$ . Primetimo da su u glavnim pravcima  ${}^t\bar{\mathbf{p}}_k$  (u koordinatnom sistemu  ${}^t\bar{\mathbf{p}}_1$ ,  ${}^t\bar{\mathbf{p}}_2$ ,  ${}^t\bar{\mathbf{p}}_3$ ) samo normalne komponente logaritamske deformacije različite od nule, tj.

$$(\bar{e}_{\log})_{11} = \ln({}^t\lambda_1), \quad (\bar{e}_{\log})_{22} = \ln({}^t\lambda_2), \quad (\bar{e}_{\log})_{33} = \ln({}^t\lambda_3) \quad (13.18)$$

### 13.3 PRINCIP VIRTUALNOG RADA I KONSTITUTIVNE RELACIJE

Ovde dajemo ukratko formulaciju principa virtualnog rada kao jednog od osnovnih principa korišćenih u formulaciji MKE. Zatim navodimo neke osnovne forme konstitutivnih relacija, koje predstavljaju relacije između napona i deformacija, za linearno elastičan material.

**Princip virtualnog rada.** Princip virtualnog rada predstavlja jedan od osnovnih principa u mehanici koji ima veoma široku primenu. Na primer, osnovne jednačine u metodi konačnih elemenata se najčešće izvode primenom principa virtualnog rada [2].

Posmatramo telo B prikazano na Sl. 13.5 koje je u ravnoteži pod dejstvom datih sila i zadatim graničnim uslovima. Zadate sile mogu biti: koncentrisane sile (sile koje deluju u određenoj tački tela), površinske sile (sile koje deluju na određenoj površini tela) ili zapreminske sile (sile koje deluju na određenoj zapremini tela). Na granici tela mogu biti zadata opterećenja ili pomeranja.

Prepostavimo da smo telu saopštili infinitezimalna pomeranja  $\delta\mathbf{u}$ , koja dopuštaju granični uslovi (mehaničke veze). Pomeranja  $\delta\mathbf{u}$  predstavljaju virtualna ili moguća pomeranja. Polje virtualnih pomeranja može da se poklapa sa stvarnim pomeranjima pri infinitezimalnom priraštaju sila ili može da se razlikuje od polja stvarnih priraštaja pomeranja.

Na osnovu prethodnih definicija sada izvodimo princip virtualnog rada, pri čemu posmatramo opšte stanje deformisanja tela u trenutku  $t$ , polazeći od uslova ravnoteže (13.7)

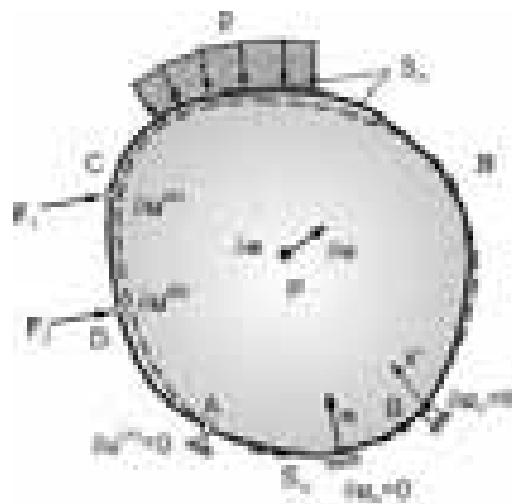
$$\frac{\partial \sigma_{kj}}{\partial x_k} + F_j^V = 0 \quad (13.19)$$

koji važi u svim tačkama zapremine tela  $V$ . Takođe, u tačkama na granici  $S^\sigma$ , u kojima je definisana površinska sila, imamo

$$\sigma_{kj} n_k - F_j^S = 0 \quad (13.20)$$

Neka su data virtualna pomeranja oblika:

$$\delta\mathbf{u} = \delta u_k \mathbf{i}_k \quad k = 1, 2, 3 \quad (13.21)$$



SLIKA 13.5 Uz izvođenje principa virtualnog rada

Ako pomnožimo svaku od jednačina (13.19) sa odgovarajućom komponentom  $\delta u_j$ , pa zatim izvršimo sabiranje tih jednačina i integralimo po zapremini tela  $V$ , dobijamo

$$\int_V \frac{\partial \sigma_{kj}}{\partial x_k} \delta n_j dV + \int_V F_j^V \delta u_j dV = 0 \quad (13.22)$$

Na isti način, na osnovu (13.20) dobijamo sledeću jednačinu

$$\int_{S^V} \sigma_{kj} n_k \delta u_j dS - \int_{S^V} F_j^S \delta u_j dS = 0 \quad (13.23)$$

Primenom Gausove teoreme za transformaciju zapreminskih integrala na površinske u prvom integralu jednačine (13.22), i uz primenu Košijeve formule (13.4), dobija se

$$\delta A_u = \delta A_s \quad (13.24)$$

iz kojeg se vidi da je virtualni rad unutrašnjih sila  $\delta A_u$  jednak virtualnom radu spoljašnjih sila  $\delta A_s$ . Pritom su

$$\delta A_u = \int_V \sigma_{kj} \delta e_{ij} dV, \quad \delta A_s = \int_V F_j^V \delta u_k dV + \int_{S^V} F_k^V \delta u_k dS + \sum_i F_k^i \delta u_k^i \quad (13.25)$$

Kao što se vidi, virtualni rad unutrašnjih sila jednak je radu napona na virtualnim deformacijama u celom telu, a spoljašnji virtualni rad jednak je zbiru virtualnih radova zapreminskih, površinskih i koncentrisanih sila.

Princip virtualnog rada oblika (13.24) važi za velika i mala pomeranja, velike i male deformacije, statičku i dinamičku analizu deformisanja materijalnog tela. U dinamičkoj analizi zapreminskim silama  $\mathbf{F}^V$  dodajemo inercijalne sile.

Materijalne karakteristike nisu uključene u izvođenje principa virtualnog rada, pa možemo da zaključimo da je princip virtualnog rada primenljiv za bilo koji tip konstitutivnih relacija, kao što su linearne i nelinearne elastične, elastoplastične, viskoplastične i sl.

**Konstitutivne relacije.** U opštem slučaju konstitutivne relacije predstavljaju vezu između napona i deformacija. Naponi i deformacije kao mehaničke veličine samo opisuju stanje unutrašnjih sila i stanje deformisanosti materijala. Ove veličine imaju isto značenje za sve kontinualno raspoređene materijale, ali one ne sadrže informacije o karakteristikama materijala. Karakteristike materijala su opisane u konstitutivnim relacijama. Stepen deformisanosti tela (polje deformacije) pri zadatom opterećenju zavisi od materijalnih karakteristika opisanih konstitutivnim relacijama.

U opštem slučaju, konstitutivne relacije imaju veoma složen oblik: one mogu biti oblika funkcionala, koje uzimaju u obzir istoriju deformisanja materijala, ili mogu biti definisane u inkrementalnom obliku kao što je dato u literaturi [1], [2] i dr. Naravno, najjednostavnije su linearne konstitutivne relacije napisane kao

$$\boldsymbol{\sigma} = \mathbf{C} \mathbf{e}, \quad \text{odnosno} \quad \sigma_i = C_{ij} e_j \quad (13.26)$$

Ovde je, radi jednostavnosti korišćena jednoindeksna notacija za napone i deformacije, pri čemu su:

$$\sigma_1 = \sigma_{11}, \sigma_2 = \sigma_{22}, \sigma_3 = \sigma_{33}, \sigma_4 = \sigma_{12}, \sigma_5 = \sigma_{23}, \sigma_6 = \sigma_{31} \quad (13.27)$$

i

$$e_1 = e_{11}, e_2 = e_{22}, e_3 = e_{33}, e_4 = \gamma_{12}, e_5 = \gamma_{23}, e_6 = \gamma_{31} \quad (13.28)$$

Komponente  $\sigma_i$  i  $e_i$  čine 1D matrice (vektore), čije se komponente ne transformišu kao vektori, već prema tenzorskim relacijama (13.5). Matrica  $\mathbf{C}$  je elastična konstitutivna matrica, a relacije (13.27) i (13.28) predstavljaju generalisani Hukov zakon.

Može se pokazati da se koeficijenti  $C_{ij}$  mogu izraziti preko samo dve materijalne konstante: Jangovog modula  $E$  i Poasonovog koeficijenta  $\nu$ . Jangov modul se određuje eksperimentalno jednoosnim zatezanjem materijala, na primer u pravcu ose  $x$ , pri čemu je

$$\sigma_{xx} = Ee_{xx} \quad (13.29)$$

Ovde su  $\sigma_{xx}$  i  $e_{xx}$  napon i deformacija u pravcu zatezanja. Pritom se javljaju i poprečne kompresione deformacije  $e_{yy}$  i  $e_{zz}$  materijala proporcionalne uzdužnoj deformaciji,

$$e_{yy} = e_{zz} = -\nu e_{xx} = -\frac{\nu}{E} \sigma_{xx} \quad (13.30)$$

Relacija izmedju smičućih napona i smičućih deformacija je

$$\sigma_{ij} = G\gamma_{ij}, \quad i \neq j \quad (13.31)$$

gde  $G$  predstavlja modul smicanja. Modul smicanja je karakteristika materijala i može se izraziti preko  $E$  i  $\nu$ :

$$G = \frac{E}{2(1+\nu)} \quad (13.32)$$

U slučaju opšte 3D deformacije materijala relacije između deformacija i napona su oblika

$$\begin{bmatrix} e_{xx} \\ e_{yy} \\ e_{zz} \\ \gamma_{xy} \\ \gamma_{yz} \\ \gamma_{xz} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1/E & -\nu/E & -\nu/E & 0 & 0 & 0 \\ -\nu/E & 1/E & -\nu/E & 0 & 0 & 0 \\ -\nu/E & -\nu/E & 1/E & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1/G & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1/G & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1/G \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \sigma_{xx} \\ \sigma_{yy} \\ \sigma_{zz} \\ \sigma_{xy} \\ \sigma_{yz} \\ \sigma_{xz} \end{bmatrix} \quad (13.33)$$

ili

$$\mathbf{e} = \mathbf{C}^{-1} \boldsymbol{\sigma} \quad (13.34)$$

gde je  $\mathbf{C}^{-1}$  matrica komplijanse. Matrica komplijanse je simetrična, sa vandijagonalnim članovima različitim od nule u vrstama i kolonama koje odgovaraju normalnim naponima i deformacijama.

U daljem izlaganju ćemo mnogo češće imati potrebu za izražavanje napona u zavisnosti od deformacija, prema jednačini (13.26). Invertujući relaciju (13.33) dobijamo da je

$$\mathbf{C} = \frac{E(1-v)}{(1+v)(1-2v)} \begin{bmatrix} 1 & \frac{v}{(1-v)} & \frac{v}{(1-v)} & 0 & 0 & 0 \\ \frac{v}{(1-v)} & 1 & \frac{v}{(1-v)} & 0 & 0 & 0 \\ \frac{v}{(1-v)} & \frac{v}{(1-v)} & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \frac{1-2v}{2(1-v)} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \frac{1-2v}{2(1-v)} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \frac{1-2v}{2(1-v)} \end{bmatrix} \quad (13.35)$$

elastična konstitutivna matrica.

Pod ljskom podrazumevamo materijalne forme oblika tanke membrane. U svakoj materijalnoj tački ljske se može smatrati da je ispunjen uslov da je normalni napon u poprečnom  $t$  pravcu jednak nuli:

$$\sigma_n = 0 \quad (13.36)$$

Sve ostale komponente napona i deformacije su različite od nule. Deformaciju  $e_t$  možemo da izračunamo pomoću komponenata  $e_{rr}$  i  $e_{ss}$  koje odgovaraju lokalnim osama  $r$  i  $s$  u tangencijalnoj ravni ljske,

$$e_{tt} = -\frac{v}{1-v}(e_{rr} + e_{ss}) \quad (13.37)$$

Zamenom ove relacije jednačinu (13.26), dobijamo da konstitutivna matrica (13.35) za ljsku ima sledeći oblik:

$$\mathbf{C} = \frac{E}{1-v^2} \begin{bmatrix} 1 & v & 0 & 0 & 0 & 0 \\ v & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \frac{1-v}{2} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \frac{1-v}{2} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \frac{1-v}{2} \end{bmatrix} \quad (13.38)$$

Ovde su treća vrsta i treća kolona popunjene nulama da bi matrica bila dimenzija  $6 \times 6$  kao i kod 3D deformisanja, radi lakše numeričke primene. Za slučaj de-

formisanja ljske u ravni, na primer  $x, y$  (ravansko stanje napona u  $x, y$  ravni), matrica je dimenzija  $3 \times 3$ , sa podmatricom koja sadrži prve tri vrste i kolone iz (13.38), i sa članom  $C_{33}$  jednakim članu  $C_{44}$  iz gornje matrice  $\mathbf{C}$ .

Na kraju, navodimo konstitutivne relacije koje se odnose na srednji napon i zapreminsку deformaciju, i na devijatorske napone i devijatorske deformacije. Ove relacije su

$$\boldsymbol{\sigma}_m = K e_V, \quad S_{ij} = 2G \mathbf{e}'_{ij} \quad (13.39)$$

gde su

$$\boldsymbol{\sigma}_m = (\sigma_{11} + \sigma_{22} + \sigma_{33})/3, \quad S_{ij} = \sigma_{ij} - \sigma_m \delta_{ij} \quad (13.40)$$

srednji i devijatorski napon, a

$$e_V = e_{11} + e_{22} + e_{33}, \quad \mathbf{e}'_{ij} = e_{ij} - \delta_{ij} e_V / 3 \quad (13.41)$$

su zapreminska i devijatorska deformacija;  $K=E/(2(1+v))$  je zapremski modul elastičnosti; a  $\delta_{ij}$  su Kronekerovi delta simboli:  $\delta_{ij}=1$  za  $i=j$ ,  $\delta_{ij}=0$  za  $i \neq j$ .

## 13.4 JEDNAČINE KONAČNIH ELEMENATA

Osnovna ideja analize metodom konačnih elemenata jeste modeliranje polja fizičkih veličina podrazumevajući da je prostorni domen polja podeljen – diskretizovan na poddomene na koje se primenjuju opšta znanja mehanike kontinuma i numeričke matematike. Poddomeni o kojima je reč terminološki se označavaju kao konačni elementi. Analiza sistema spregnutih konačnih elemenata, dobijenih diskretizacijom kontinuma, omogućava numeričku simulaciju odziva kontinuma na zadate pobude. Fizičke veličine koje su obuhvaćene modelom predstavljaju se u diskretnom obliku, a rešavanje problema se svodi na određivanje fizičkih veličina u tačkama koje proizilaze iz diskretizacije. Ove tačke zovu se čvorne tačke ili čvorovi. Na osnovu izračunatih veličina u čvorovima vrši se interpolacija po domenima konačnih elemenata da bi se dobila polja fizičkih veličina za ceo diskretizovani domen.

U daljem izlaganju navodimo osnovne relacije na kojima počiva metoda konačnih elemenata izoparametarske formulacije. Pritom podrazumevamo da rešavamo problem deformisanja solida pod dejstvom mehaničkog opterećenja. Uvođenjem prirodnog (lokalnog) koordinatnog sistema za svaki konačni element i uvođenjem odgovarajućih interpolacionih funkcija, moguće je na osnovu poznatih vrednosti bilo koje fizičke veličine u čvorovima konačnog elementa odrediti vrednost te fizičke veličine u bilo kojoj tački unutar konačnog elementa. U našem slučaju određujemo polje pomeranja koje nastaje usled deformisanja solida.

Polazne jednačine izoparametarske formulacije mogu se napisati u obliku

$$\mathbf{X} = \mathbf{H} \mathbf{X}, \text{ odnosno } x_i = h_{ij} X_j \quad (13.42)$$

$$\mathbf{u} = \mathbf{H} \mathbf{U}, \text{ odnosno } u_i = h_{ij} U_j \quad (13.43)$$

gde su:  $\mathbf{x}$  i  $\mathbf{u}$  vektori položaja i pomeranja materijalne tačke elementa;  $\mathbf{X}$  i  $\mathbf{U}$  su vektori položaja i pomeranja čvorova elementa;  $\mathbf{H}$  je interpolaciona matrica koja sadrži polinome prirodnih koordinata konačnog elementa. Na primer, u slučaju 3D osmočvornog konačnog elementa (Sl. 13.6), interpolacione funkcije su:

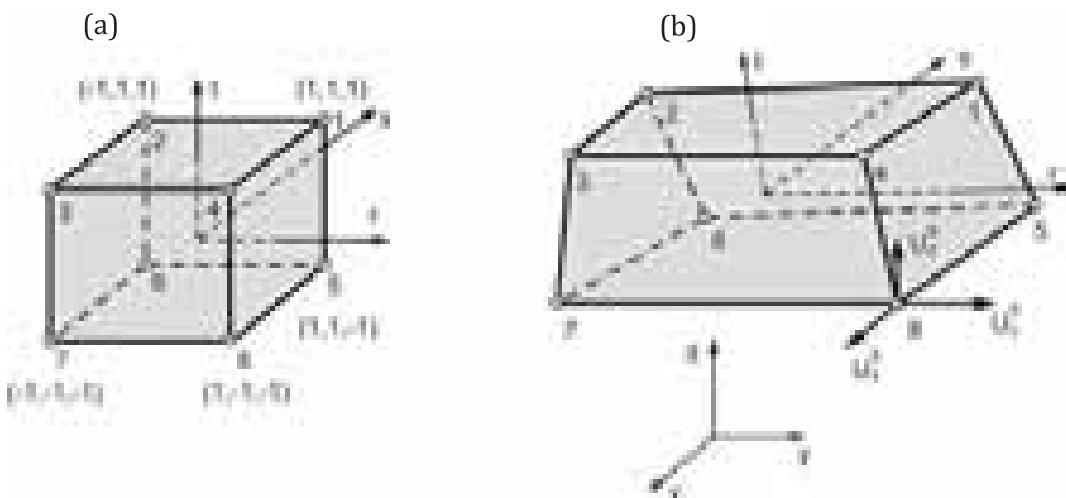
$$\begin{aligned} h_1 &= \frac{1}{8}(1+r)(1+s)(1+t) & h_5 &= \frac{1}{8}(1+r)(1+s)(1-t) \\ h_2 &= \frac{1}{8}(1-r)(1+s)(1+t) & h_6 &= \frac{1}{8}(1-r)(1+s)(1-t) \\ h_3 &= \frac{1}{8}(1-r)(1-s)(1+t) & h_7 &= \frac{1}{8}(1-r)(1-s)(1-t) \\ h_4 &= \frac{1}{8}(1+r)(1-s)(1+t) & h_8 &= \frac{1}{8}(1+r)(1-s)(1-t) \end{aligned} \quad (13.44)$$

gde su  $r, s, t$  prirodne (isoparametarske) koordinate, čije se vrednosti kreću u granicama -1 do 1. Sa slike vidimo da se fizički prostor konačnog elementa preslikava na kocku u prirodnom koordinatnom sistemu, sa koordinatama čvornih tačaka -1 ili 1. Pošto se iste interpolacione funkcije koriste za geometriju i polje fizičke veličine, ova formulacija se zove *izoparametarska*.

Vektor deformacije  $\mathbf{e}$  (13.28) u materijalnoj tački unutar elementa određen je relacijom:

$$\mathbf{e} = \mathbf{U} \mathbf{B} \quad (13.45)$$

gde je  $\mathbf{B}$  matrica koja sledi iz diferenciranja polja pomeranja izraženog interpolacijom (13.43). Komponente  $B_{ij}$  sadrže odgovarajuće izvode interpolacionih funkcija [2].



SLIKA 13.6 3D Konačni element sa 8 čvorova: (a) prirodni koordinatni sistem  $r, s, t$ ; (b) Dekartov koordinatni sistem  $x, y, z$  (fizički prostor)

U daljem tekstu pokazaćemo kako se dolazi do matrice kojom se predstavlja krutost konačnog elementa. Polazeći od izraza za jednakost virtualnih radova spoljašnjih unutrašnjih sila unutar elementa (13.24)

$$\delta A^{ue} = \int_{V^e} \delta \mathbf{e}^T \boldsymbol{\varpi} dV^e = \delta \mathbf{U}^{eT} \mathbf{F}^{e(int)} = \delta A^{se} = \delta \mathbf{U}^{eT} \mathbf{F}^{e(ext)} \quad (13.46)$$

gde je  $\delta \mathbf{U}^e$  vektor virtualnog pomeranja čvorova elementa, a  $\mathbf{F}^{e(int)}$  i  $\mathbf{F}^{e(ext)}$  su vektori spoljašnjih i unutrašnjih sila elementa 'e'. Zamenom izraza (13.45) i  $\sigma = \mathbf{C}\mathbf{e}$  u (13.46), dobijamo

$$e_{tt} = -\frac{\nu}{1-\nu}(e_{rr} + e_{ss}) \quad (13.47)$$

Deo izraza u zagradi predstavlja matricu koja se naziva matricom krutosti konačnog elementa, za koju ćemo koristiti uobičajenu oznaku  $\mathbf{K}^e$

$$\mathbf{K}^e = \int_{V^e} \mathbf{B}^T \mathbf{C} \mathbf{B} dV^e \quad (13.48)$$

Iz jednačina (13.46), (13.47) i (13.48) sledi izraz za silu za jedan konačni element.

$$\mathbf{K}^e \mathbf{U}^e = \mathbf{F}^{e(ext)} \quad (13.49)$$

Sabiranjem matrica krutosti svakog pojedinačnog konačnog elementa možemo formirati matricu krutosti sistema kvadratnog oblika čija je jedna dimenzija jednaka ukupnom broju pomeranja sistema:

$$\mathbf{K} = \sum_e \mathbf{K}^e \quad (13.50)$$

Sabiranjem sila  $\mathbf{F}^{e(ext)}$  u čvorovima konačnih elemenata dobija se da je rezultujući vektor jednak vektoru spoljašnjih sila sistema  $\mathbf{F}^s$ , jer se unutrašnje sile između elemenata poništavaju. Dakle, sabiranjem jednačina (13.50) dobijamo konačan oblik jednačine ravnoteže sistema:

$$\mathbf{K}\mathbf{U} = \mathbf{F}^s \quad (13.51)$$

Napomenimo da je matrica  $\mathbf{K}$  simetrična, što inače sledi iz principa reciprociteta poznatog u mehanici deformabilnog tela.

U slučajevima kada je problem geometrijski nelinearan (promena geometrije pri deformisanju je velika) i/ili materijalno nelinearan (nelinearne karakteristike materijala), matrica sistema  $\mathbf{K}$  nije konstantna, a i vektori unutrašnjih sila elemenata zavise nelinearno od deformacija. U tim slučajevima do rešenja koje odgovara zadatim spoljašnjim silama mora se doći inkrementalno-iterativnim postupkom. Inkrementi podrazumevaju promene opterećenja u vremenskim koracima  $\Delta t$  za koje se određuje ravnotežno stanje sistema. Za svaki vremenski korak se iterativnim postupkom određuje ravnotežni položaj sistema sračunavanjem priraštaja pomeranja  $\Delta \mathbf{U}$  do postizanja konvergencije. U slučaju rešavanja statičkih problema,

vremenski korak je korak opterećenja, a vreme je samo parametar opterećenja a ne stvarno vreme.

Najčešće korišćen metod je Njutn-Rafson iterativni metod [1]. Jednačine koje se koriste u Njutn-Rafson iteracijama (brojač iteracija je  $i=1,2,3,\dots$ ) jesu:

$$\begin{aligned} {}^{n+1}\mathbf{K}^{(i-1)}\Delta\mathbf{U}^{(i)} &= {}^{n+1}\mathbf{F}^{\text{ext}} - {}^{n+1}\mathbf{F}^{(i-1)} \\ {}^{n+1}\mathbf{U}^{(i)} &= {}^{n+1}\mathbf{U}^{(i-1)} + \Delta\mathbf{U}^{(i)} \end{aligned} \quad (13.52)$$

gde su:  ${}^{n+1}\mathbf{F}^{\text{ext}}$  vektor spoljašnjih sila na kraju koraka  $n+1$ ,  ${}^{n+1}\mathbf{F}^{(i-1)}$  vektor unutrašnjih sila na kraju koraka  $n+1$  u prethodnoj iteraciji,  ${}^{n+1}\mathbf{K}^{(i-1)}$  matrica krutosti sistema na kraju koraka  $n+1$  u tekućoj iteraciji, a  $\Delta\mathbf{U}^{(i)}$  priraštaj pomeranja u tekućoj iteraciji. Iterativni postupak se ponavlja sve dok ne bude zadovoljen uslov da je:

$$\left\| {}^{n+1}\mathbf{F}^{\text{ext}} - {}^{n+1}\mathbf{F}^{(i-1)} \right\| = \varepsilon_F \quad (13.53)$$

gde je  $\varepsilon_F$  numerička tolerancija za normu neuravnoteženja sila. Uslov (13.53) fizički odgovara uslovu ravnoteže spoljašnjih i unutrašnjih sila, pri čemu je i priraštaj pomeranja  $\|\Delta\mathbf{U}^{(i)}\|$  mali. Vektor unutrašnjih sila elementa određen je jednačinom

$${}^{n+1}\mathbf{F}^{(i-1)} = \int_{V^e} {}^{n+1}\mathbf{B}^{(i-1)T} {}^{n+1}\boldsymbol{\sigma}^{(i-1)} dV \quad (13.54)$$

Određivanje napona  ${}^{n+1}\boldsymbol{\sigma}$  na kraju koraka na osnovu tekućih deformacija  ${}^{n+1}\mathbf{e}$  zove se *integracija napona*, predstavljena kao

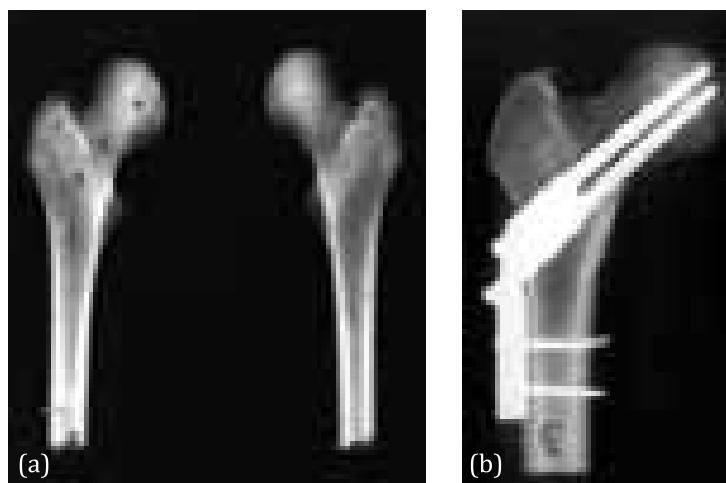
$${}^{n+1}\boldsymbol{\sigma} = \int_n^{{}^{n+1}e} \boldsymbol{\sigma}(\mathbf{e}) d\mathbf{e} \quad (13.55)$$

Integracija napona je značajan zadatak u MKE koji zahteva posebne postupke u zavisnosti od konstitutivnih relacija [1, 3]. Ovo je zato što tačnost rešenja zavisi od metoda integracije napona, jer se rešenje zasniva na odgovarajućem izračunavanju unutrašnjih sila (13.54) potrebnih za zadovoljavanje jednačine ravnoteže (13.51). U ovoj glavi ćemo navesti postupke integracije napona za nekoliko bioloških materijala.

## 13.5 BIOIMPLANTATI KOD KOSTIJA

U kliničkoj praksi i industriji ortopedskih implantata sve je izaženija potreba za simulacijama opterećivanja složenih struktura sačinjenih od kosti i ugrađenog implantata. Ove simulacije su vrlo korisne u cilju utvrđivanja optimalnog dizajna operativnog zahvata, a u smislu postizanja dovoljne stabilnosti noseće strukture u uslovima koje okolnosti operativnog zahvata dozvoljavaju. U industriji ortopedskih implantata navedene kompjuterske simulacije postale su neophodne u procesu dizajniranja i proizvodnje implantata.

Prelom vrata kuka butne kosti (Sl. 13.7a) privlači najveću pažnju u ortopedskoj kliničkoj praksi. Razlog je taj što su pacijenti sa ovakvom dijagnozom uglav-



*SLIKA 13.7 Snimci kuka sa prelomom vrata pre i posle operativnog zahvata:  
(a) snimak preloma vrata kuka, (b) snimak kuka sa ugrađenim implantatom*

nom starije osobe zbog čega je operativni zahvat vrlo rizičan i zahteva dug period oporavka. U ekstremnim slučajevima može izazvati i trajni invaliditet. U slučaju preloma vrata kuka najčešće je u primeni implantat koji se zavrtnjevima vezuje za butnu kost i koji svojim gornjim delom prolazi kroz koštano tkivo glave kuka čime se postiže njegova stabilnost (Sl. 13.7b).

U procesu rehabilitacije, u periodu srastanja koštanog tkiva vrata kuka, celo opterećenje u trenutku oslanjanja na nogu nosi implantat. Tom prilikom implantat je izložen naprezanju na savijanje, a zavrtnjevi koji pričvršćuju implantat za kost na istezanje. U realnom procesu najčešći defekti su pucanje implantata u zoni otvora za zavrtnjeve i izvlačenje zavrtnjeva iz butne kosti. Naponsko stanje u implantatu direktno zavisi od broja i položaja zavrtnjeva koji ga pričvršćuju za butnu kost. S druge strane, operacioni zahtev je da bude što manji broj zavrtnjeva jer se time obezbeđuje kraće vreme trajanja operacije.

**Model konačnih elemenata.** Modeliranje metodom konačnih elemenata može da pokaže koji je broj i kakav raspored zavrtnjeva za pričvršćivanje implantata optimalan. Sam model se sastoji iz dva dela koji imaju različite materijalne karakteristike. Implantat se najčešće izrađuje od čelika pa ćemo ga modelirati linearno-elastičnim modelom sa modulom elastičnosti  $E_l$  i Poasonovim koeficijentom  $\nu_l$ . Prepostavljamo da je koštano tkivo izotropno i da se ponaša kao linearno elastični materijal sa modulom  $E_K$  i Poasonovim koeficijentom  $\nu_K$ .

Za analizu metodom konačnih elemenata najinteresantniji je slučaj kada kuk trpi maksimalno opterećenje. To je slučaj kada se pacijent celom težinom osloni na kuk. U toku hodanja, čovek je uvek samo jednom nogom u dodiru sa podlogom. U tom trenutku celo opterećenje koje potiče od težine čoveka ( $W$ ) prenosi se na kuk te noge. Anatomski odnosi karlice i kuka, kao i sile prikazani su na Sl. 13.8a. U tački dodira kuka i karlice javlja se dodirna sila  $F_R$ . Karlica i kuk takođe su povezani abduktornim mišićima čija je uloga da neutrališu moment koji stvaraju sile težine  $W$ .

i dodirna sila  $F_R$ . Na osnovu jednačina ravnoteže sila i momenata mogu se odrediti vrednosti sile u abduktornim mišićima i dodirne sile.

U cilju pojednostavljenja modela nećemo modelirati ceo proksimalni deo butne kosti već samo donji deo implantata sa zavrtnjevima i deo butne kosti za koji je implantat vezan (Sl. 13.8b). Da bismo održali ekvivalenciju sistema, izračunatu dodirnu silu  $F_R$  i silu u abduktornim mišićima prenećemo na gornji kraj modela u obliku momenta savijanja i sile. Granični uslov za donji kraj modela je da nema pomerenja i rotacija čvorova.

Jednačina (13.51) ravnoteže za linearni sistem ima oblik:

$$(\mathbf{K}_l + \mathbf{K}_k) \mathbf{U} = \mathbf{F}^s \quad (13.56)$$

gde je  $\mathbf{K}_l$  matrica krutosti dela modela koji odgovara implantatu, a  $\mathbf{K}_k$  matrica krutosti dela modela koji odgovara kosti.

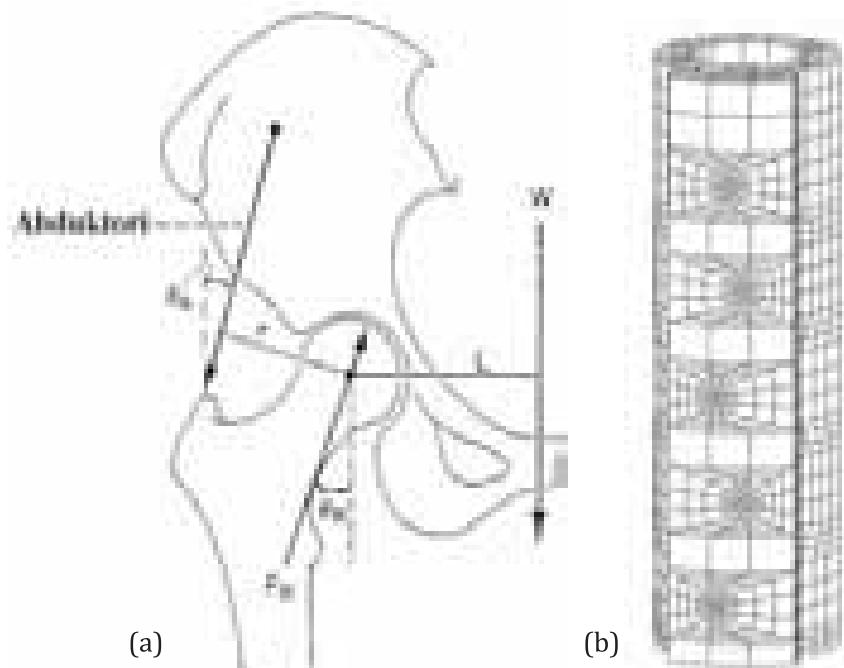
Matrica krutosti konačnog elementa  $\mathbf{K}_l^e$  se dobija iz izraza (13.48) pri čemu je:

$$\mathbf{K}_l^e = \int_{V^e} (\mathbf{B}^T \mathbf{C}_l \mathbf{B} dV^e) \mathbf{U}^e \quad (13.57)$$

gde je  $\mathbf{C}_l$  elastična konstitutivna matrica (13.35) dela modela koji odgovara implantatu.

Analogno tome, matrica krutosti konačnog elementa  $\mathbf{K}_k^e$  je oblika:

$$\mathbf{K}_k^e = \int_{V^e} (\mathbf{B}^T \mathbf{C}_k \mathbf{B} dV^e) \mathbf{U}^e \quad (13.58)$$



SLIKA 13.8 (a) Sile koje deluju na kuk, (b) model konačnih elemenata.

gde je  $C_K$  elastična konstitutivna matrica (13.35) materijala kosti.

**Primeri rešenja.** Kao primer rešenja modeliranja preloma kuka sa ugrađenim implantatom daćemo nekoliko rešenja dobijenih proračunom statičkog opterećenja kuka za slučaj maksimalnog opterećenja. Rešenja su dobijena korišćenjem programa za konačne elemente PAK [4]. Rezultati su pokazani za rešenja koja se međusobno razlikuju po broju i raporedu zavrtnjeva.

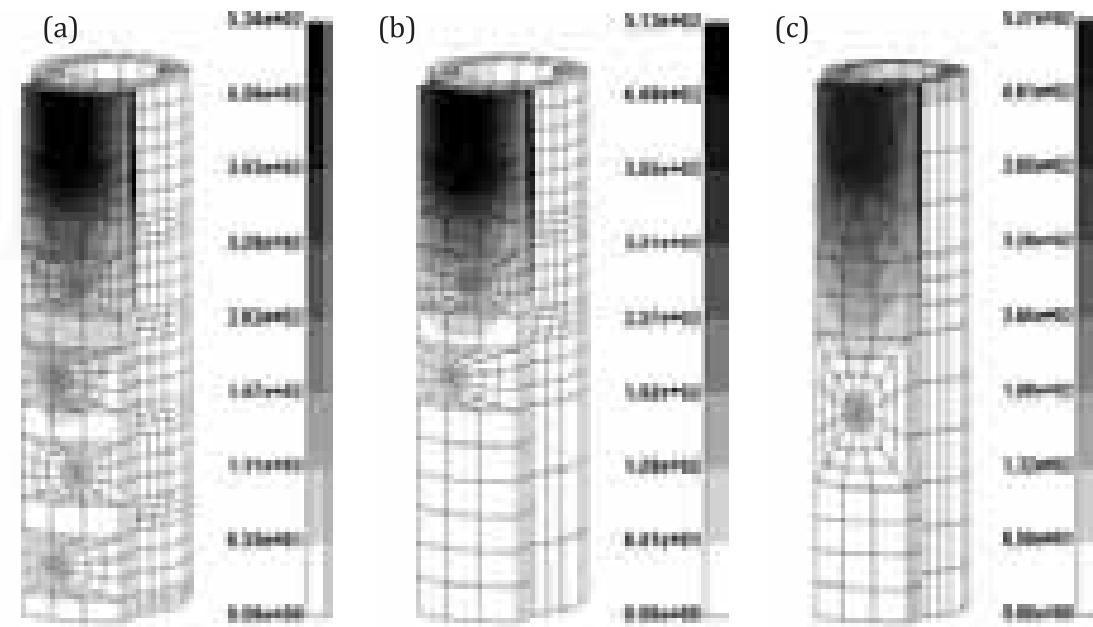
Osnovni materijalni podaci kosti i implantata su:

Kost	Implantat
$E_K=1.8\times10^4$ MPa,	$E_I=2\times10^5$ MPa,
$\nu_K=0.3$	$\nu_I=0.3$

Na Sl. 13.9 data su rešenja za polje efektivnog napona za slučajeve kada je implantat vezan za kost sa 5, 3 i 2 zavrtnja, respektivno. Može se videti da je rešenje sa 2 zavrtnja moguće i optimalno, jer i sa smanjenim brojem zavrtnjeva (znači i sa kraćim vremenom hirurške intervencije) maksimalni efektivni napon, koji je ekvivalent smičućem naponu, nije povećan u odnosu na veći broj zavrtnjeva.

## 13.6 MODELIRANJE BIOLOŠKIH MEMBRANA

U ovom odeljku predstavljamo računske metode za modeliranje bioloških membrana. U opštem slučaju membrane imaju 3D geometriju kako je to prikazano

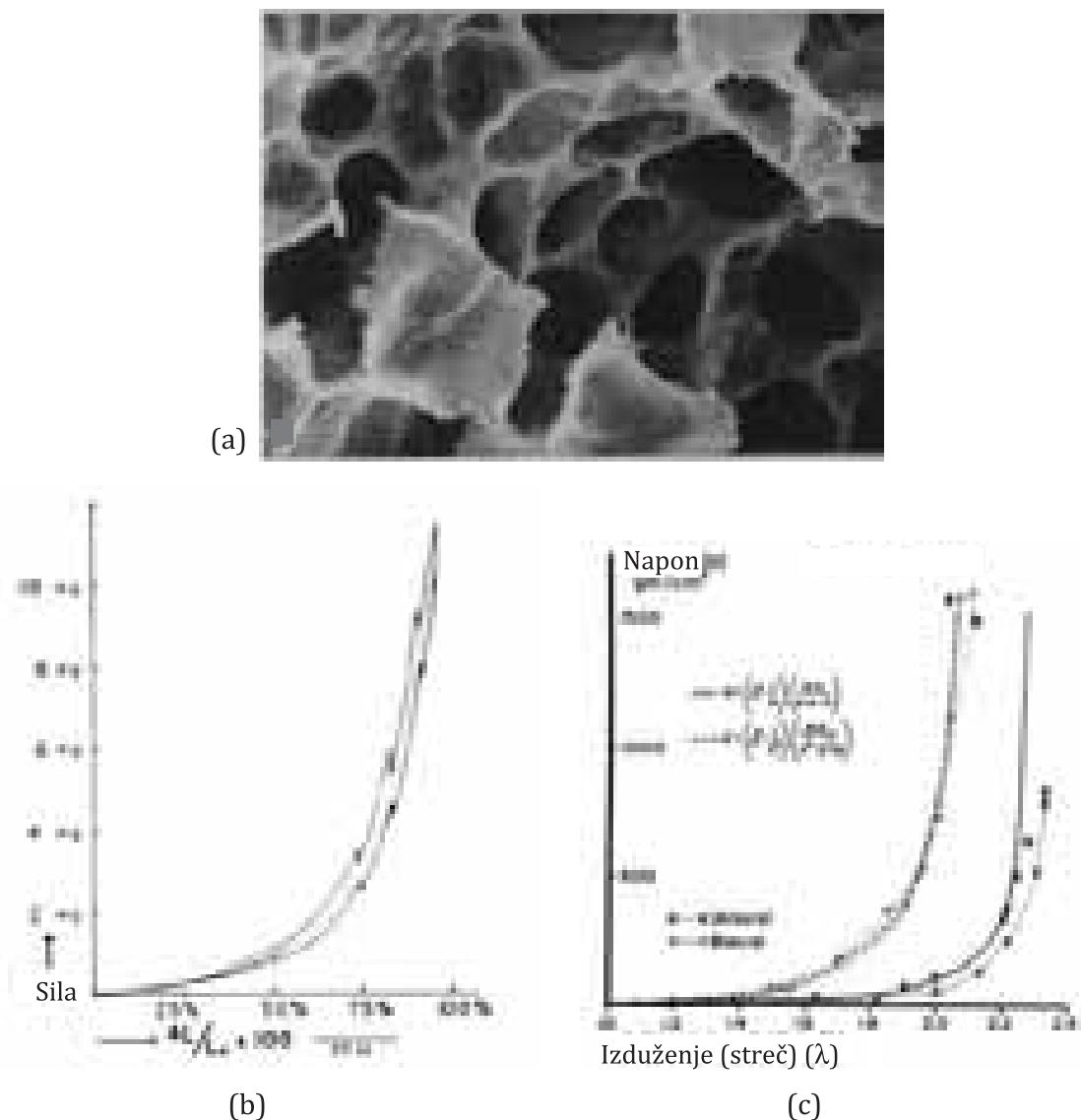


SLIKA 13.9 Polje efektivnog napona: (a) implantat vezan sa 5 zavrtnjema, (b) implantat vezan sa 3 zavrtnjema, (c) implantat vezan sa 2 zavrtnjema.

na Sl. 13.10. Pretpostavićemo da je membrana izotropna i da je njen mehaničko ponašanje opisano jednom napon-izduženje (streč) krivom jednoosnog zatezanja i jednom napon-streč krivom dvoosnog zatezanja.

**Model konačnih elemenata.** Na Sl. 13.10a prikazan je izgled strukture koja će se modelirati metodom konačnih elemenata. S obzirom na fizički izgled prikazane strukture najpogodnije je koristiti konačni element tipa ljske.

Kako tkivo spada u materijale sa nelinearnim konstitutivnim zakonom, model konačnih elemenata koji se koristi za simuliranje mehaničkog ponašanja biološ-



SLIKA 13.10 (a) Mikro-struktura pluća koju čine membrane alveola [5], (b) mehaničke karakteristike membrane dobijene jednoosnim zatezanjem (tkivo pluća, [6]), (c) mehaničke karakteristike membrane dobijene dvoosnim zatezanjem (trbušna maramica mačke, [7])

ke membrane jeste nelinearan, čak i u slučaju malih deformacija. Zato je neophodno koristiti inkrementalno-iterativni postupak rešavanja. Počećemo od nelinearne jednačine ravnoteže za konačni element ljske (13.52) i (13.54),

$$\left( \int_{nV}^n \mathbf{B}_L^T \mathbf{C}_n^n \mathbf{B}_L dV \right) \Delta \mathbf{U} = {}^{n+1} \mathbf{F}^{\text{ext}} - \int_{nV}^n \mathbf{B}_L^T \mathbf{\sigma} dV \quad (13.59)$$

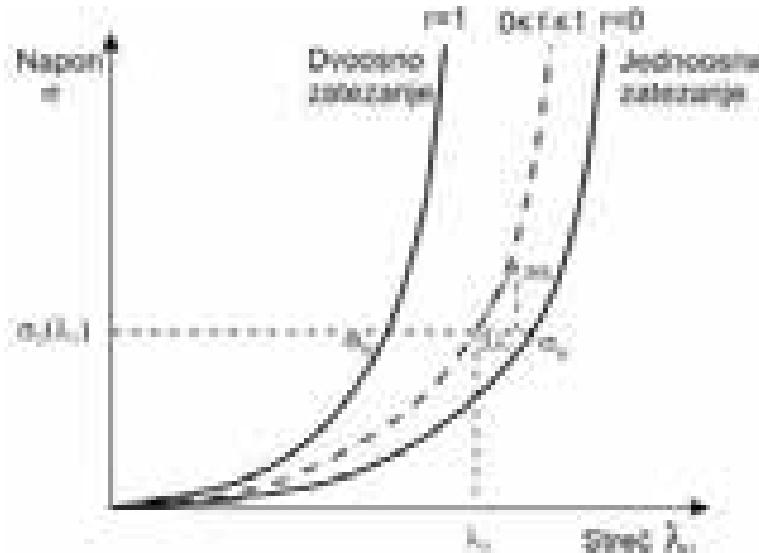
koja odgovara koraku ' $n$ '. Ovde je  ${}^n \mathbf{B}_L$  linearna matrica deformacija-pomeranje,  ${}^n \mathbf{C}$  je tangentna konstitutivna matrica,  ${}^n \mathbf{\sigma}$  je napon,  ${}^{n+1} \mathbf{F}^{\text{ext}}$  je vektor spoljašnjih sila u čvorovima, i  $\Delta \mathbf{U}$  je vektor priraštaja čvornih pomeranja (translatornih i rotacionih).

Napomenimo da konstitutivna matrica  ${}^n \mathbf{C}$  i napon  ${}^n \mathbf{\sigma}$  odgovaraju globalnom koordinatnom sistemu, ali su dobijeni trasformacijom, najpre, sa glavnih pravaca deformacije u tangencijalnoj ravni ljske na lokalni koordinatni sistem elementa ljske, a zatim sa lokalnog koordinatnog sistema ljske na globalni koordinatni sistem.

**Integracija napona.** Na Sl. 13.11 prikazane su krive napon-streč u glavnim prvcima deformacija 1 i 2, za slučaj jednoosnog i za slučaj dvoosnog zatezanja. Strečevi  ${}^n \lambda_1$  i  ${}^n \lambda_2$  kao i vektori glavnih pravaca  ${}^n \bar{\mathbf{p}}_1$  i  ${}^n \bar{\mathbf{p}}_2$  izračunati su u tangencijalnoj ravni ljske korišćenjem levog Koši-Grinovog tenzora deformacije. Ako su na početku koraka ' $n$ ' naponi  ${}^n \sigma_1$  i  ${}^n \sigma_2$ , koji odgovaraju strečevima  ${}^n \lambda_1 > {}^n \lambda_2$ , onda možemo da uvedemo parametar  ${}^n r$  koji definiše odnos napona

$${}^n r = \frac{{}^n \sigma_2}{{}^n \sigma_1} \quad (13.60)$$

U postupku integracije napona polazimo od poznatih vrednosti napona i strečeva za trenutno stanje deformacije:



SLIKA 13.11 Kriva napon-izduženje (streč) za slučaj jednoosnog zatezanja ( $r=0$ ), dvoosnog zatezanja ( $r=1$ ) i slučaj zatezanja pri konstantnom odnosu napona,  $r=\sigma_2/\sigma_1$ . Napon  $\sigma_1$  koji odgovara streču  $\lambda_1$  je dobiten linearom interpolacijom napona  $\sigma_b$  i  $\sigma_u$  očitanih sa dvoosne i jednoosne krive.

Tangentni modul elastičnosti je  $E_\lambda = \Delta \sigma_1 / \Delta \lambda_1$

$${}^n\sigma_1, {}^n\sigma_2, {}^n\lambda_1, {}^n\lambda_2, {}^{n+1}\lambda_1, {}^{n+1}\lambda_2 \quad (13.61)$$

pri čemu je  ${}^n\sigma_1 > {}^n\sigma_2$ . Koristeći izraz (13.60) za odnos napona  ${}^n r$  i krive napon-streč sa Sl. 13.11, interpolacijom možemo da odredimo vrednosti glavnih napona na kraju koraka, označenih indeksom „ $n+1$ “,

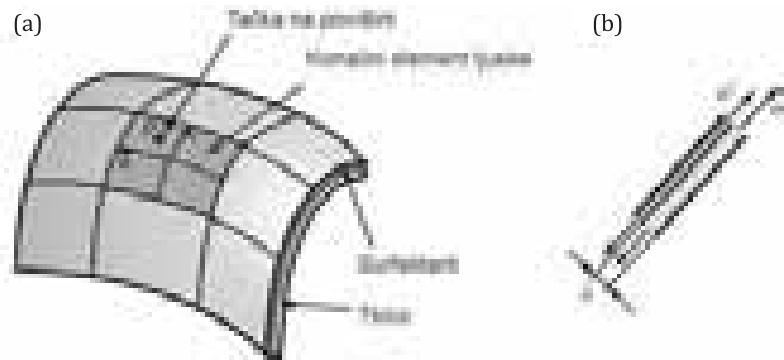
$${}^{n+1}\sigma_1({}^{n+1}\lambda_1) = (1 - {}^{n+1}r)^{n+1}\sigma_u + {}^{n+1}\sigma_u + {}^{n+1}r^{n+1}\sigma_b \quad (13.62)$$

$${}^{n+1}\sigma_2 = {}^{n+1}\sigma_1 \frac{{}^{n+1}e_2 + \nu {}^{n+1}e_1}{{}^{n+1}e_1 + \nu {}^{n+1}e_2} \quad (13.63)$$

gde su  ${}^{n+1}e_1$  i  ${}^{n+1}e_2$  ukupne deformacije merene u odnosu na nederfomisanu konfiguraciju. Pritom koristimo logaritamsku definiciju deformacija:  ${}^{n+1}e_1 = \ln({}^{n+1}\lambda_1)$  i  ${}^{n+1}e_2 = \ln({}^{n+1}\lambda_2)$ .

**Membrane prekrivene surfaktantom histerezisne karakteristike.** Biološke membrane su često prekrivene surfaktantom. Takav slučaj imamo npr. u mikrostrukturi pluća. Surfaktant utiče na funkciju membrane ali takođe i na njen mehanički odziv [5]. Mehanički uticaj se ostvaruje preko površinskog napona koji može da ima histerezisnu karakteristiku tokom promene površine koju prekriva surfaktant [8, 9].

Šematski prikaz membrane prekrivene surfaktantom je dat na Sl. 13.12.



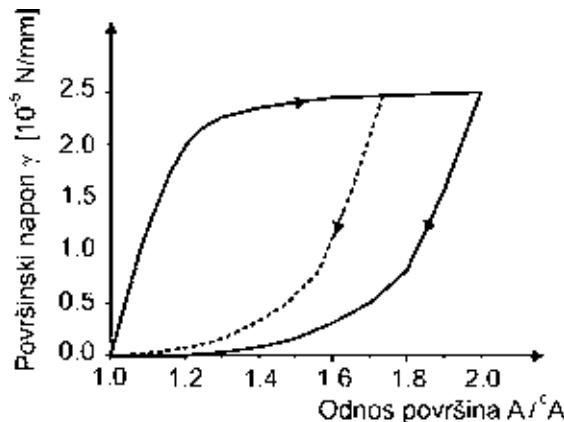
SLIKA 13.12 Biološka membrana prekrivena sa surfaktantom modelirana konačnim elementima ljuške. Surfaktant se deformatiše na isti način kao površina ljuške. (a) Geometrija membrane i surfaktanta; (b) napon u tkivu i surfaktantu (u pravcu glavnih napona deformacije).

Prepostavićemo da nema klizanja između surfaktanta i membrane, tako da je promena površine surfaktanta jednaka promeni površine membrane. Eksperimenti su pokazali da je površinski napon  $\gamma$  [N/m] srazmeran odnosu trenutne i početne površine membrane  $A$  [9].

$$\gamma = \gamma \left( \frac{dA}{d^0 A} \right) = \gamma \left( \frac{\det J}{\det^0 J} \right) \quad (13.64)$$

gde su  $J$  i  ${}^0J$  Jakobijani trasformacije između Dekartovog koordinatnog sistema i prirodnog koordinatnog sistema ljske, koji odgovaraju trenutnoj konfiguraciji  $\beta$  i početnoj konfiguraciji  ${}^0\beta$ , respektivno.

Koristeći prethodni izraz možemo za svako stanje deformisanosti membra- ne da odredimo vrednost površinskog napona. Međutim, u slučaju kada površinski napon ima histerezisnu karakteristiku kako je to prikazano na Sl. 13.13 [8], pored odnosa površina potrebno je znati i istoriju deformisanja, odnosno da li se mem- brana nalazi u stanju opterećivanja ili rasterećivanja. Takođe, neophodno je da zna- mo veličinu amplitude odnosa  $A/{}^0A$  da bismo izvršili skaliranje eksperimentalne krive, jer se amplitude  $A/{}^0A$  za posmatranu tačku ljske i u eksperimentu u opštem slučaju razlikuju. Isprekidanom linijom je prikazana skalirana histerezisna kriva za slučaj kada je maksimalna promena površine  $(A/{}^0A)_{\max}$  membrane manja od ekspe- rimentalne.



SLIKA 13.13 Zavisnost površinskog napona  $\gamma$  od odnosa površina  $A/{}^0A$  surfaktanta koji po- kriva mikrostrukturu pluća tokom procesa udisanja i izdisanja [8]. Isprekidana kriva je do- bijena skaliranjem. Vidi se da je površinski napon mnogo veći tokom udisanja.

Napon u membrani  ${}^{n+1}\sigma_{(\gamma)}^{(i-1)}$  koji potiče od površinskog napona  ${}^{n+1}\gamma^{(i-1)}$  je- ste

$${}^{n+1}\sigma_{(\gamma)}^{(i-1)} = \frac{{}^{n+1}\gamma^{(i-1)}}{{}^{n+1}\delta^{(i-1)}} \quad (13.65)$$

gde je  ${}^{n+1}\delta^{(i-1)}$  debljina membrane u u tački integracije. Sila u čvoru membrane u iteraciji 'i-1', a koja je posledica dejstva surfaktanta, je onda

$${}^{n+1}\mathbf{F}_\gamma^{(i-1)} = \int_{{}^{n+1}V^{(i-1)}} {}^{n+1}\mathbf{B}_L^T {}^{n+1}\sigma_{(\gamma)}^{(i-1)} dV \quad (13.66)$$

Ovde tenzor napona  ${}^{n+1}\sigma_{(\gamma)}^{(i-1)}$  ima samo normalne komponente različite od nule, odnosno  ${}^{n+1}\sigma_{(\gamma)km}^{(i-1)} = \delta_{km} {}^{n+1}\sigma_{(\gamma)}^{(i-1)}$ , pri čemu je  $\delta_{km}$  Kronekerov delta-simbol ( $\delta_{km}=1$  za  $k=m$ ,  $\delta_{km}=0$  za  $k \neq m$ ).

Metode modeliranja tkiva sa histerezisnom karakteristikom. Ovde ćemo pokazati računske metode modeliranja tkiva koja imaju histerezisnu karakteristiku pri cikličnom opterećenju. Histerezisna karakteristika se određuje pri jednoosnom opterećivanju u pravcu vlakana tkiva, tako da možemo koristiti 1D konačne elemente i 1D histerezisni konstitutivni model. Jednoosna konstitutivna relacija je pokazana na Sl. 13.14 kao napon-streč kriva.

Kao i u slučaju modeliranja surfaktanta koji ima histerezisnu karakteristiku, tako je i ovde, pored stanja deformisanosti strukture (vrednosti streča), potrebno znati istoriju deformisanja, odnosno da li se struktura nalazi u fazi opterećivanja ili fazi rasterećivanja. Napon se određuje tako da se na kraju koraka tačka definisana vrednošću napona i streča nalazi na odgovarajućoj konstitutivnoj krivoj. Pritom je neophodno, kao i kod surfaktanta, izvršiti skaliranje eksperimentalne krive, što je šematski pokazano na slici.

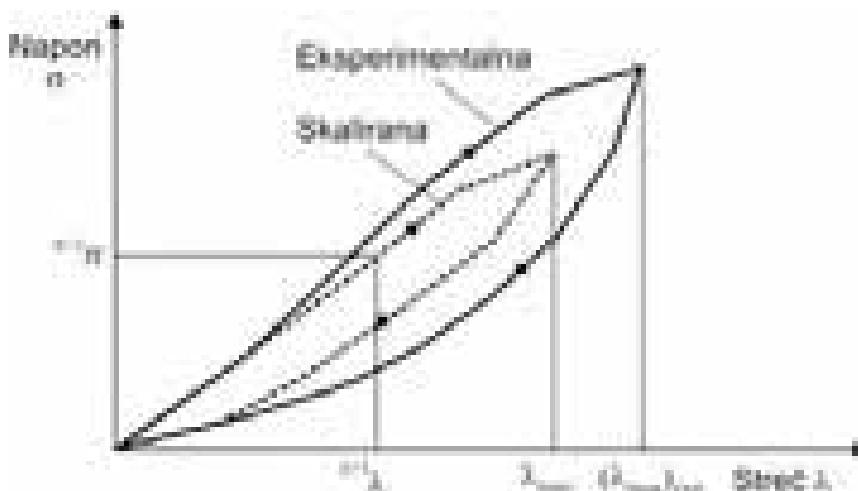
Posle određivanja napona  ${}^{n+1}\sigma_f \equiv {}^{n+1}\sigma$ , ovaj napon transformišemo na globalni koordinatni sistem, kako bismo dobili komponente  ${}^{n+1}\sigma_{(f)ij}$  napona u vlaknu tkiva  ${}^{n+1}\sigma_p$

$${}^{n+1}\sigma_{(f)ij} = {}^{n+1}\sigma \cdot {}^{n+1}\xi_{0i} \cdot {}^{n+1}\xi_{0j} \quad (13.67)$$

gde su  ${}^{n+1}\xi_{0i}$  i  ${}^{n+1}\xi_{0j}$  projekcije jediničnog vektora  ${}^{n+1}\xi_0$  na ose  $x_i$  globalnog koordinatnog sistema. Ukupan tenzor napona  ${}^{n+1}\sigma$  jednak je zbiru napona u vlaknu tkiva  ${}^{n+1}\sigma_f$  i napona koji potiče od okolnog tkiva. Ako je okolno tkivo elastično tipa onda je

$${}^{n+1}\sigma = {}^{n+1}\sigma^E(1 - \phi) + \phi \cdot {}^{n+1}\sigma_f \quad (13.68)$$

gde je  $\phi$  zapreminska udio vlakana, a  ${}^{n+1}\sigma^E$  je napon elastičnog, okolnog materijala ( $\mathbf{C}^E \cdot {}^{n+1}\mathbf{e}$ , gde je  $\mathbf{C}^E$  elastična matrica, a  ${}^{n+1}\mathbf{e}$  je deformacija). Kada se napon  ${}^{n+1}\sigma$  uvrsti u jednačinu ravnoteže (13.59) za tekuću iteraciju 'i', dobijamo:



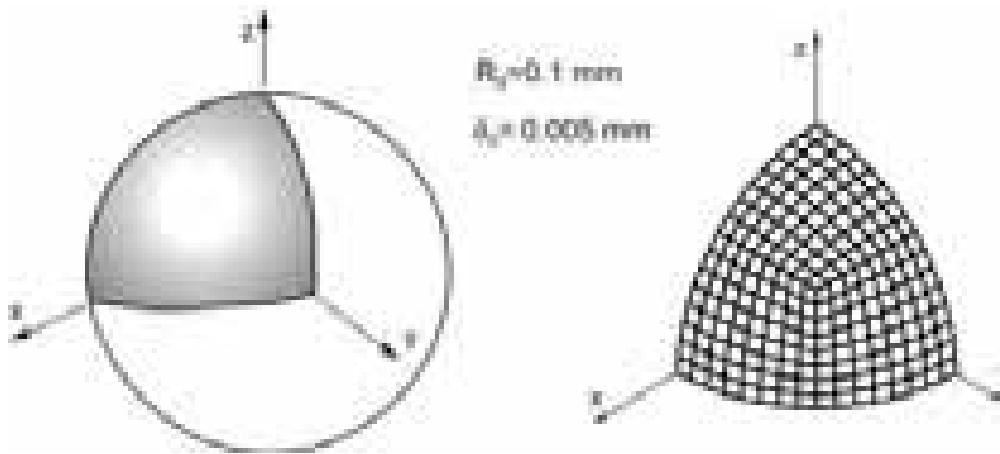
SLIKA 13.14 Eksperimentalna i skalirana napon-streč kriva

$$({}^{n+1}K_L + {}^{n+1}K_{NL})^{(i-1)} \Delta U^{(i)} = {}^{n+1}F^{\text{ext}} - \int_{{}^{n+1}V_{(i-1)}}^{\beta} {}^{n+1}\mathbf{B}_L^{(i-1)T} {}^{n+1}\boldsymbol{\sigma}^{(i-1)} dV \quad (13.69)$$

gde su  ${}^{n-1}\mathbf{K}_L$  i  ${}^{n+1}\mathbf{K}_{NL}$  linearna i nelinearna matrica krutosti, respektivno;  ${}^{n+1}\mathbf{B}_L^{(i-1)}$  je linearna matrica deformacija-pomeranje,  $\Delta\mathbf{U}$  je vektor priraštaja pomeranja u čvorovima, a  ${}^{n+1}\mathbf{F}^{\text{ext}}$  je vektor spoljašnjih sila u čvorovima.

### **Primeri rešenja**

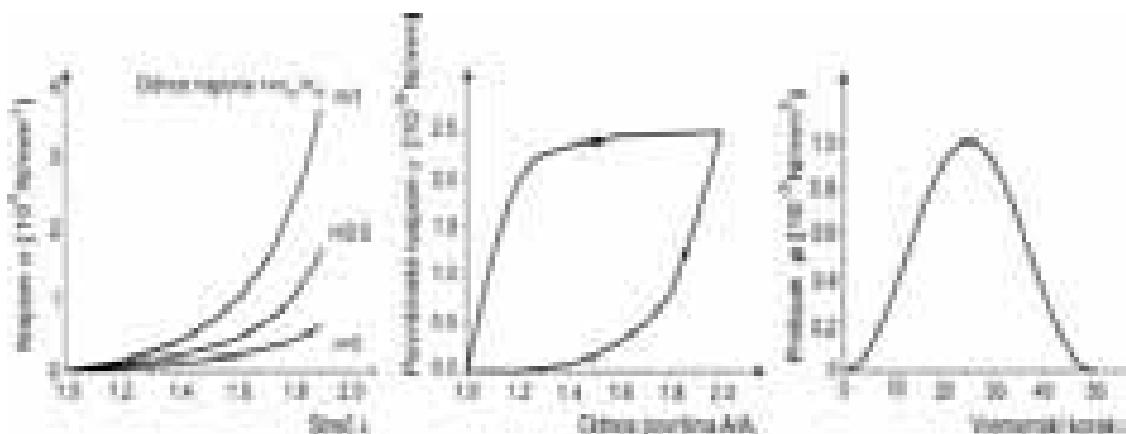
**Biološka membrana u obliku sfere.** U primeru modeliranja biološke membrane u obliku sfere daćemo rešenje radijalnog pomeranja zida sfere u zavisnosti od promene unutrašnjeg pritiska, pri čemu je zid sfere modeliran kao biološka membrana čija je materijalna karakteristika opisana krivama jednoosnog i dvoosnog zatezanja i prekriven je surfaktantom koji ima histerezisno ponašanje [10, 11]. Na Sl. 13.15 prikazan je izgled membrane sfernog oblika, kao i odgovarajući model konačnih elemenata.



*SLIKA 13.15 Membrana sfernog oblika i odgovarajući model konačnih elemenata*

Na Sl. 13.16 prikazane su krive koje opisuju materijalne karakteristike zida sfere i surfaktanta koji prekriva sferu. Materijalna karakteristika zida sfere opisana je dijagramom na Sl. 13.16a na kome su date napon-streč krive za tri vrednosti odnosa napona u glavnim pravcima. Na Sl. 13.16b je prikazana histerezisna karakteristika surfaktanta. Analiza je urađena u ukupno 50 koraka, i to 25 u procesu rastezanja i 25 u procesu skupljanja do početnog stanja. Kriva promene pritiska u toku 50 koraka analize data je na Sl. 13.16c.

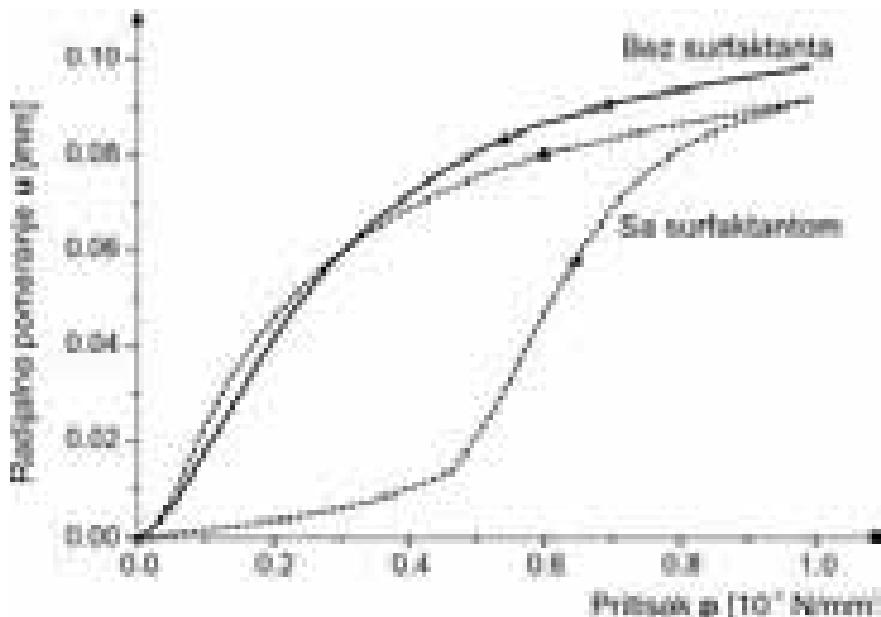
Na Sl. 13.17 prikazan je dijagram radijalnog pomeranja u zavisnosti od vrednosti pritiska u sferi. Kriva prikazana punom linijom opisuje radijalno pomeranje zida sfere u zavisnosti od pritiska za slučaj kada zid sfere nije prekriven surfaktantom. Kriva prikazana isprekidanim linijom pokazuje radijalno pomeranje zida



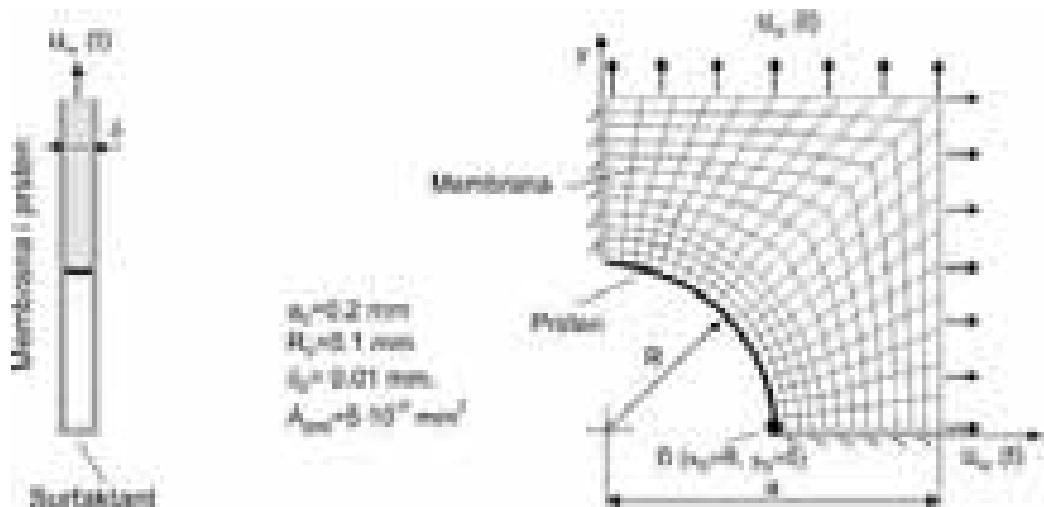
*SLIKA 13.16 Materijalne karakteristike i promena pritiska po koracima: (a) materijalna karakteristika zida sfere, (b) materijalna karakteristika surfaktanta, (c) promena pritiska po koracima analize*

sfere u zavisnosti od pritiska za slučaj kada je zid prekriven surfaktantom. Može se videti da sfera sa surfaktantom ima veću krutost (manja su radijalna pomeranja i deformacije tkiva) i da histerezisna krakteristika površinskog napona izaziva histerezisni karakter deformisanja membrane u toku cikličnog optrećenja.

**Biološka membrana sa otvorom.** U ovom primeru analiziraćemo slučaj biološke membrane kvadratnog oblika sa kružnim otvorom. S obzirom da je model osnosimetričan modeliraćemo samo četvrtinu modela (Sl. 13.18). Membranu ćemo rastezati biaksijalno sa cikličnim pomeranjima  $u_{sp}(t)$  zadatim u oba pravca (Sl. 13.18). Na Sl. 13.19b pokazana je promena pomeranja po  $u_{sp}(t)$  koracima analize.



*SLIKA 13.17 Dijagram radijalnog pomeranja zida u zavisnosti od promene pritiska u sferi*

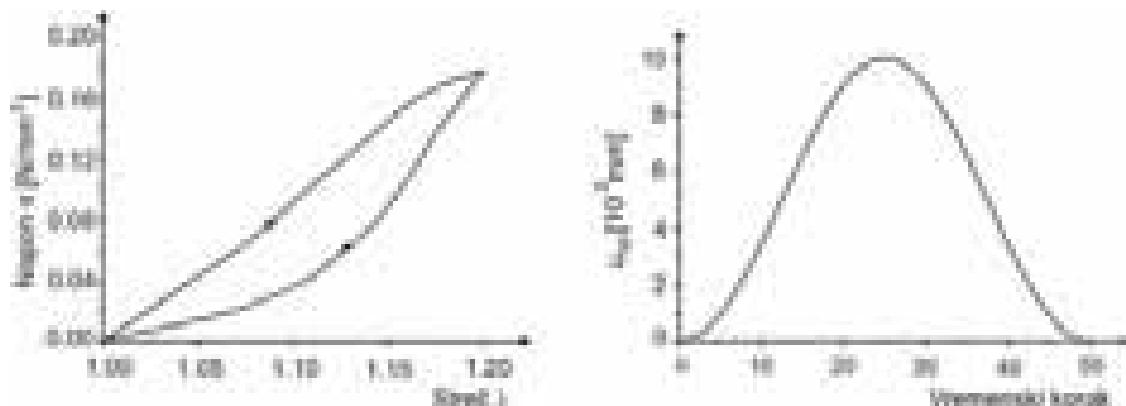


SLIKA 13.18 Biološka membrana sa otvorom

Mehaničko ponašanje membrane je opisano krivama jednoosnog i dvoosnog zatezanja koje su iste kao u prethodnom primeru (Sl. 13.16a). Prepostavimo da prsten kružnog otvora sadrži mišićna vlakna koja imaju histerezisnu karakteristiku (Sl. 13.19a). Takođe, membrana je sa obe strane prekrivena surfaktantom koji ima histerezisnu karakteristiku kao u prethodnom primeru (Sl. 13.16b).

Membranu ćemo modelirati konačnim elementom ljske (mreža konačnih elemenata je pokazana na Sl. 13.18). Prsten kružnog otvora ćemo modelirati konačnim elementom štapa poprečnog preseka  $A_{\text{prst}} = 5 \times 10^{-3} \text{ mm}^2$ .

Cilj ove analize je da utvrdimo uticaj histerezisnog ponašanja surfaktanta i mišićnih vlakana na ukupno mehaničko ponašanje (mehanički odziv) membrane. Značaj ove analize je posebno veliki zato što slični fiziološko-anatomski uslovi postoje u alveolarnom sistemu pluća.



SLIKA 13.19 Biološka membrana sa otvorom: (a) histerezisna napon-streč kriva mišićnih vlakana, (b) promena pomeranja po koracima analize.

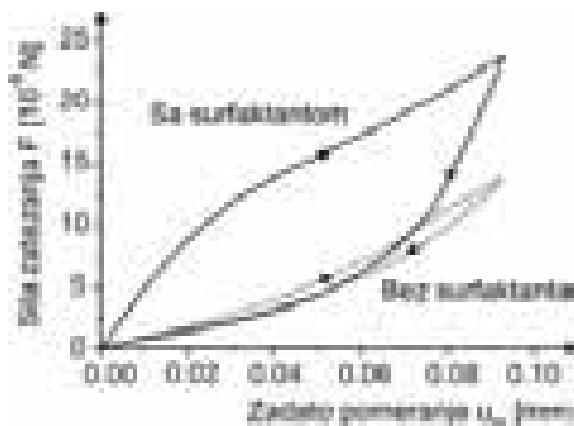
Na Sl. 13.20 prikazani su dijagrami pomeranja tačke D pozicionirane na prstenu kružnog otvora (Sl. 13.18) u zavisnosti od zadatog pomeranja, i to za slučaj kada prsten kružnog otvora ne sadrži mišićna vlakna (Sl. 13.18a) i za slučaj kada prsten kružnog otvora sadrži mišićna vlakna.



SLIKA 13.20 Dijagram pomeranja tačke D u zavisnosti od zadatog pomeranja: (a) slučaj kada prsten kružnog otvora ne sadrži mišićna vlakna, (b) slučaj kada prsten kružnog otvora sadrži mišićna vlakna.

Napomenimo da se na Sl. 13.20b uočava suprotna orientacija histerezisne petlje za slučaj kada postoji dejstvo surfaktanta i za slučaj kada ne postoji dejstvo surfaktanta. Dakle, histerezinski karakteri mišića i surfaktanta imaju suprotne efekte na mehanički odziv membrane.

Na Sl. 13.21 prikazan je dijagram zavisnosti sile zatezanja od zadatog pomeranja. Prikazane su dve krive. Obe se odnose na slučaj kada prsten kružnog otvora sadrži mišićna vlakna. Ovde vidimo da surfaktant povećava krutost membrane i histerezis u ciklusu.



SLIKA 13.21 Dijagram promene sile zatezanja u zavisnosti od zadatog pomeranja

## 13.7 MODELIRANJE MIŠIĆA

Skeletni mišići čine najveći deo tela. Kontrolisani od strane voljnih nerava, oni predstavljaju glavni pokretač organizma. Ukoliko su stimulisani dovoljno visokom frekvencijom, mišići imaju osobinu da generišu maksimalnu silu koja ostaje konstantna u vremenu. Ovakvo stanje mišića se naziva *tetanizovanim* stanjem, a za takav mišić kažemo da je maksimalno aktiviran.

**Hilova jednačina za tetanizovani mišić.** Hilova jednačina [12] jedna je od najpoznatijih jednačina u mehanici mišića. Ova jednačina ima oblik

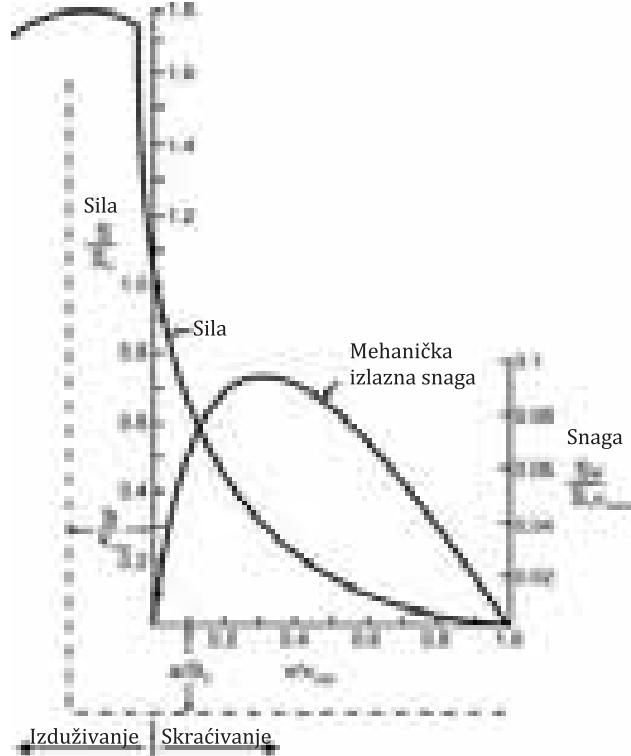
$$(v + b)(S + a) = b(S_0 + a) \quad (13.70)$$

u kojoj  $S$  predstavlja napon u mišiću,  $S_0$  maksimalni tetanički napon,  $v$  brzinu kontrakcije, dok su  $a$  i  $b$  konstante.

Zavisnost između napona u mišiću  $S$  i brzine kontrakcije  $v$  data je na Sl. 13.22.

Osnovna Hilova jednačina (13.70) može se napisati i u bezdimenzionoj formi

$$\frac{S}{S_0} = \frac{1 - (v/v_0)}{1 + c(v/v_0)} \quad (13.71)$$

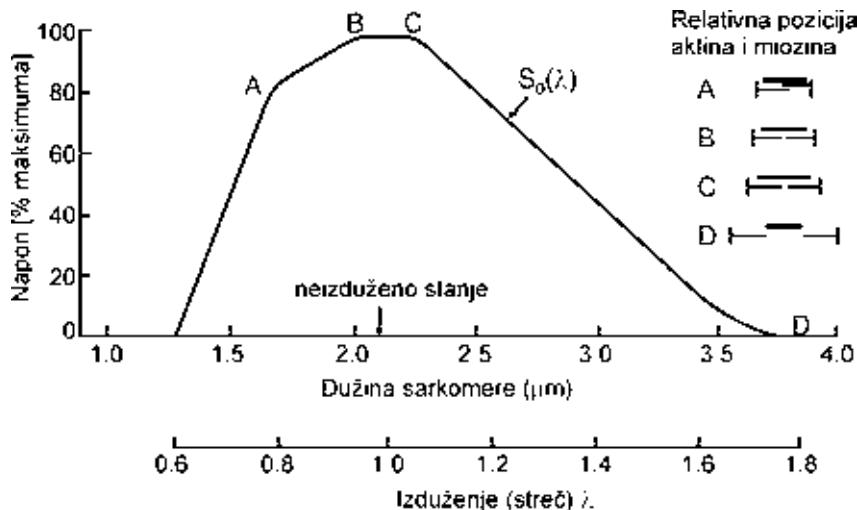


SLIKA 13.22 Zavisnost sila (napon)-brzina kontrakcije

gde je

$$c = \frac{S_0}{S} \quad (13.72)$$

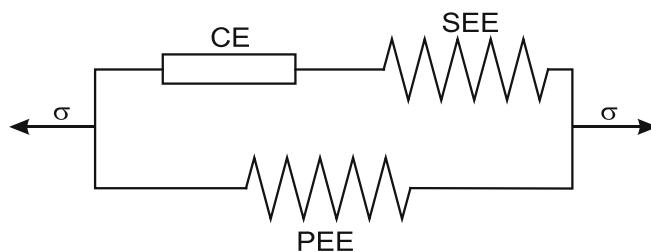
Maksimalni izometrijski (pri konstantnoj dužini) napon  $S_0$  zavisi od izduženja mišića, na način prikazan na Sl. 13.23.



SLIKA 13.23 Izometrijska kriva napon-dužina (Gordonova kriva [13])

**Hilov trokomponentni model.** Hilov model predstavlja aktivni mišić sastavljen od tri elementa (Sl. 13.24). Dva elementa su povezana redno: (a) kontraktilni element CE, koji je u stanju mirovanja potpuno istegljiv (napon u njemu jednak nuli), ali kada se aktivira ima moć skraćivanja; i (b) serijski nelinearni elastični element SEE, koji predstavlja elastičnost koja se javlja u spojevima aktina i miosina, kao i na Z-linijama, koji čine mikrostrukturalne elemente mišića. Da bi se uzela u obzir elastičnost mišića u stanju kada nije aktiviran, uveden je i „paralelni elastični element“ PEE, koji predstavlja elastičnost vezivnog tkiva, ćelijskih membrana, itd.

Ponašanje kontraktilnog elementa je opisano Hilovom jednačinom (13.70), što u funkciji izduženja (streča) može biti napisano kao:



SLIKA 13.24 Hilov funkcionalni model mišića

$${}^{n+1}\sigma_m = {}^{n+1}\alpha_a {}^n\sigma_0(\lambda_p) \frac{1 + \Delta\lambda/\Delta\lambda_{m0}}{1 - c\Delta\lambda/\Delta\lambda_{m0}} \quad (13.73)$$

gde su  $\lambda$  i  $\lambda_0$  trenutni i početni streč,  ${}^{n+1}\alpha_a$  trenutni nivo aktivacije, a  ${}^n\sigma_0(\lambda_p)$  maksimalni tetanički napon koji odgovara streču  ${}^n\lambda_p = {}^n\lambda$ , i koji može biti određen sa Gordonove krive (Sl. 13.23). Indeksi  $m$  i  $p$  označavaju kontraktilni i paralelni element.

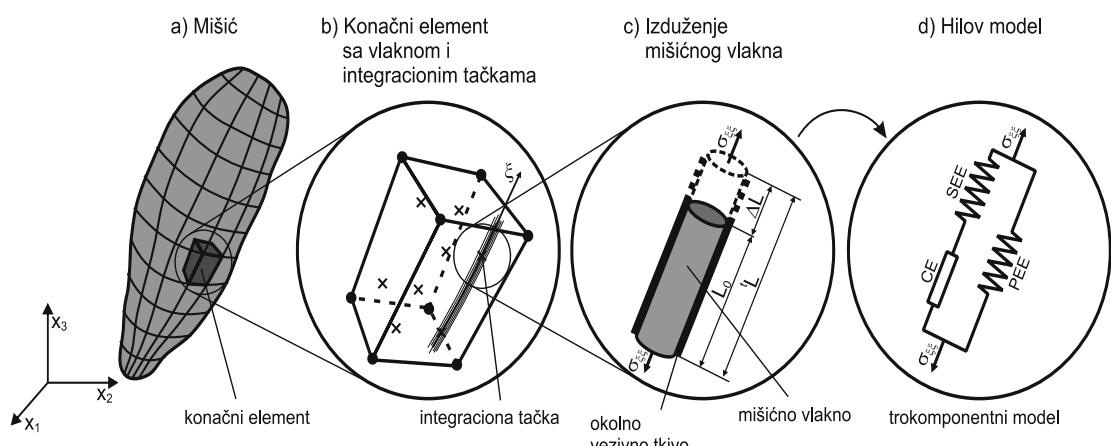
Za serijski element važi da je

$${}^{n+1}\sigma_s = ({}^n\sigma_s + \beta)e^{\alpha\Delta\lambda_s} - \beta \quad (13.74)$$

pri čemu su  $\sigma_s$  i  $\Delta L_s$  napon i priraštaj streča serijskog elementa u sarkomeru, a  $\alpha$  i  $\beta$  konstante.

**Modeliranje mišića metodom konačnih elemenata.** Skeletni mišići imaju vlaknastu strukturu, a sila se generiše unutar mišićnih vlakana. Imajući to u vidu, zadat je odrediti napone u pravcu mišićnih vlakana. Na Sl. 13.25b šematski je prikazan konačni element sa vlaknom, čija je orientacija u prostoru definisana jediničnim vektorom  $\xi_0$  (osa  $\xi$  na slici). Napon u pravcu vlakna, označen sa  $\sigma_{\xi\xi}$  (koji se sastoji od aktivnog dela  $\sigma_s$  i pasivnog dela  $\sigma^E$ ), zavisi od izduženja  $\Delta L$ , ili streča  $\lambda = 1 + \Delta L/L_0$ , mišićnog vlakna (Sl. 13.25c). U prethodnoj relaciji  $L_0$  je početna dužina vlakna, kada je napon jednak nuli. Zavisnost  $\sigma_{\xi\xi}(\lambda)$  predstavlja *konstitutivnu relaciju* mišića. Ova konstitutivna relacija može se definisati fenomenološkim (eksperimentalno određenim) materijalnom modelom, kao što je Hilov model, šematski prikazan na Sl. 13.24 i 13.25d.

Iz uslova jednakosti napona u kontraktilnom i serijskom elementu, kao i iz odnosa geometrije pojedinih delova modela, dobijamo nelinearnu jednačinu čijim rešavanjem dolazimo do izduženja u serijskom elementu. Zamenom dobijene vrednosti u jednačini (13.74) računamo napon u serijskom elementu [14–16].



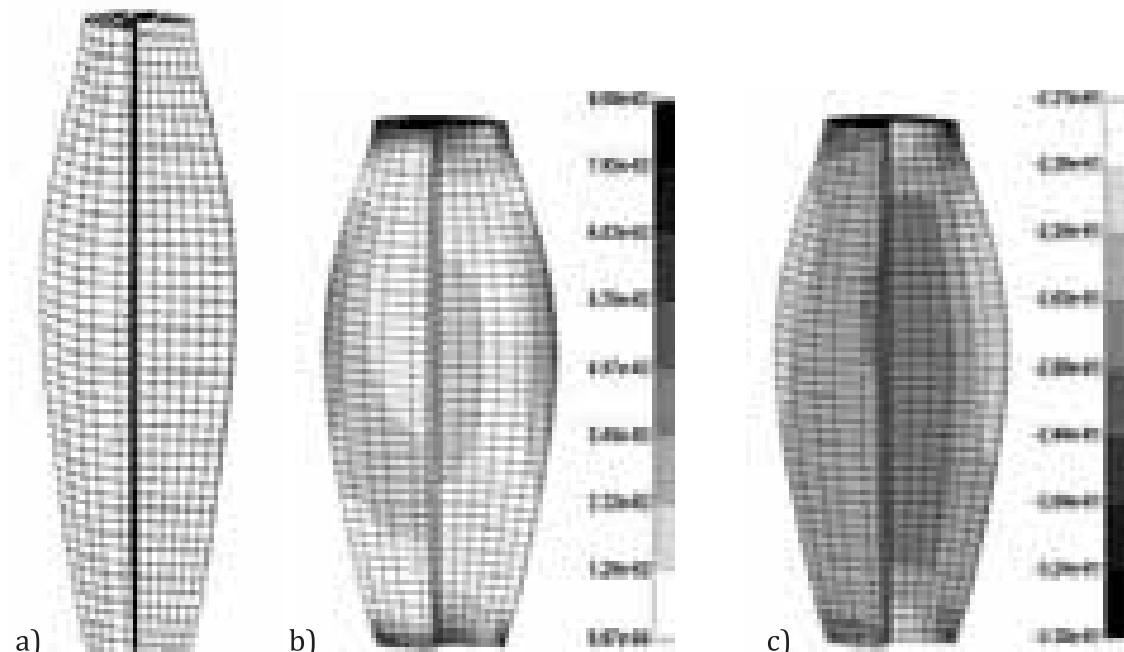
SLIKA 13.25 Šematski prikaz modeliranja mišića metodom konačnih elemenata: od mišića kao deformabilnog tela do Hilovog modela: (a) mišić diskretizovan na konačne elemente; (b) 3D konačni element sa integracionim tačkama i mišićnim vlaknom; (c) izduženje mišićnog vlakna pod naponom  $\sigma_{\xi\xi}$ ; (d) Hilov trokomponentni model.

Konačno, ukupni napon može biti izražen kao

$${}^{n+1}\sigma = {}^{n+1}\sigma^E(1 - \phi) + \phi {}^{n+1}q \quad (13.75)$$

gde je  $\phi$  udeo aktivnog dela u ukupnoj zapremini mišića.

Na Sl. 13.26a prikazan je 3D model *gastroknemius* mišića žabe, modeliran 8-čvornim 3D konačnim elementima. Gornji kraj mišića je fiksiran, dok je donji kraj opterećen tegom težine 10 grama. Mišić je zatim aktiviran, pri čemu je dobijen raspored napona i deformacija u pravcu mišićnih vlakana kao na Sl. 13.26b i 13.26c.



*SLIKA 13.26 Model gastroknemius mišića žabe: (a) mreža konačnih elemenata neaktivnog mišića; (b) naponi u pravcu vlakana aktiviranog mišića; (c) deformacije u pravcu vlakana aktiviranog mišića.*

Prikazanim postupkom mogu se modelirati mišići složene geometrije, sastavljeni od različitih vlakana (brzih i sporih), sa različitim funkcijama pobude i brzinom zamora i relaksacije [14–16], što može biti od velike pomoći u lečenju i sportskoj medicini.

## 13.8 PITANJA ZA REKAPITULACIJU

- 13.1 Šta je (mehanički) napon?
- 13.2 Zašto je napon tenzorska veličina? Koja je fizička osnova ovog naziva?
- 13.3 Objasniti vrste deformacija.

- 13.4 Da li se mogu izvesti jednačine ravnoteže iz principa virtualnog rada?
- 13.5 U čemu je razlika između 3D konstitutivnih elastičnih relacija i ovih relacija za ljusku?
- 13.6 U čemu se sastoji izoparametarska formulacija konačnih elemenata?
- 13.7 Šta su matrica krutosti i sile u čvorovima konačnog elementa?
- 13.8 Kako se modeliraju implantati kostiju?
- 13.9 Koje su konstitutivne krive kojima opisujemo materijal biološke membrane?
- 13.10 Kako se slažu mehanička dejstva tkiva i surfaktanta kod biološke membrane?
- 13.11 Objasniti rešenja na slikama u Od. 13.6.
- 13.12 Koje su osnovne konstitutivne relacije kojima se opisuje Hilov model mišića?
- 13.13 Šta je to integracija naponu u inkrementalnoj analizi biološkog modela (tkivo, mišić)?
- 13.14 Kako se određuje ukupno mehaničko dejstvo mišićnih vlakana i okolnog tkiva?

## 13.9 LITERATURA

5. M. Kojic, K.J. Bathe, *Inelastic Analysis of Solids and Structures*. Springer: Berlin, 2005.
6. M. Kojić, R. Slavković, M. Zivković, N. Grujović, *Metod konačnih elemenata I – Linearna analiza*, Mašinski fakultet u Kragujevcu, 1998.
7. M. Kojić, N. Filipović, B. Stojanović, A. Tsuda, N. Kojić, *Computer Modeling in Bioengineering – Theory, Examples and Software*, J. Wiley, 2007
8. M. Kojić, R. Slavković, M. Zivković, N. Grujović, N. Filipović, *PAK—Finite Element Program for Linear and Nonlinear Analysis*. Mašinski fakultet u Kragujevcu, 1998.
9. S. Schurch, H. Bachofen, F. Possmayer, Surface activity in situ, in vivo, and in captive bubble surfactometer. *Comp. Biochem. Physiol. Part A* 129: 195–207, 2001.
10. H. Fukaya, C. J. Martin, A. C. Young, S. Katsura, Mechanical properties of alveolar walls. *J. Appl. Physiol.* 25(6): 689–695, 1968.
11. J. Hildebrandt, H. Fukaya, C. J. Martin, Stress-strain relations of tissue sheets undergoing uniform two-dimensional stretch. *J. Appl. Physiol.* 27(5): 758–762, 1969.
12. T. A. Wilson, Surface tension-surface area curves calculated from pressure-volume loops, *J. Appl. Physiol: Respirat. Environ. Exercise Physiol.* 53(6): 1512–1520, 1982.
13. J. E. Pengenito, L. Mark, J. Morris, F. F. Espinosa, R. D. Kamm, M. Johnson, Biophysical characterization and modeling of lung surfactant components. *J. Appl. Physiol.* 86(5): 1702–1714, 1999.
14. M. Kojic, J. P. Butler I. Vlastelica, B. Stojanovic, V. Rankovic, A. Tsuda, Interaction between tissue and surfactant hysteretic action within alveolar duct, *Experimental Biology*, San Francisco, 2006.
15. M. Kojic, I. Vlastelica, B. Stojanovic, V. Rankovic, A. Tsuda, Stress integration procedures for a biaxial isotropic material model of biological membranes and hysteretic models of muscle fibres and surfactant, *Int. J. Numer. Meth. Engng.* 68: 893–909, 2006.
16. A. V. Hill, The heat of shortening and the dynamic constants of muscle, *Proc. R Soc. London*; 126B: 136–195, 1938

17. A. M. Gordon, A. F. Huxley, F. J. Julian, *J. Physiol.*; 269: 441–515, 1966
18. M. Kojic, S. Mijailovic, N. Zdravkovic, Modelling of muscle behaviour by the finite element method using Hill's three-element model. *Int. J. Numer. Meth. Eng.* 43: 941–953, 1998.
19. B. Stojanovic, M. Kojic, M. Rosic, C.P. Tsui, C.Y. Tang, An Extension of Hill's Three-Component Model to Include Different Fiber Types in Finite Element Modeling of Muscle. *Int. J. Numer. Meth. Eng.*, in press.
20. B. Stojanovic, *Generalizacija fenomenološkog Hilovog modela u cilju izučavanja zamora mišića*, doktorska disertacija, Centar za interdisciplinarnе i multidisciplinarnе studije i istraživanja, Univerzitet u Kragujevcu, 2007.

# 14

## MODELIRANJE KRVOTOKA, DISAJNIH ORGANA I HRSKAVICE<sup>1</sup>

U ovoj glavi se izlažu osnovne jednačine laminarnog strujanja fluida, a zatim se na osnovu tih jednačina izvode jednačine koje odgovaraju diskretizovanom do-menu metodom konačnih elemenata. Takođe se opisuje izvođenje jednačina i način rešavanja problema solid-fluid interakcije. Od primera su pokazani modeli stru-janja krvi kroz arterije, model stenta unutar femoralne arterije, i strujanje vazduha u disajnim organima. Zatim je dato izvođenje jednačina i način rešavanja mehaničkog modela hrskavice kao i nekoliko karakterističnih primera rešenja.

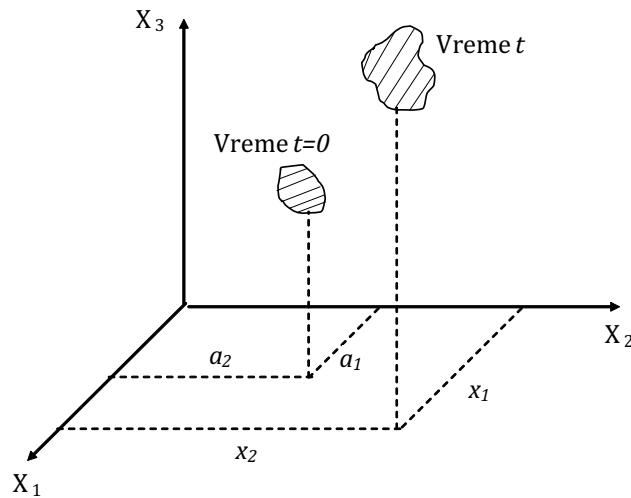
### 14.1 OSNOVNE JEDNAČINE LAMINARNOG STRUJANJA FLUIDA

**Zakon održanja mase (jednačina kontinuiteta).** U mehanici kontinuma veličine koje se posmatraju (kao npr. deformacija, napon u materijalu, brzina tačka materijala, temperatura, gustina) jesu funkcije prostora i vremena. Postoje dva izbora posmatranja promenljive veličine u prostoru. Jedan je Lagranžeov opis kod koga se veličina posmatra zajedno sa kretanjem materijalne čestice, tj. neka pro-menljiva  $f$  je funkcija materijalnih (početnih) koordinata

$$\begin{aligned} f &= f(a_1, a_2, a_3, t) \\ x_i &= a_i + u_i(a_1, a_2, a_3, t) \end{aligned} \tag{14.1}$$

gde su  $a_i$  početne koordinate materijalne tačke u trenutku  $t = 0$ ;  $x_i$  su koordinate u trenutku  $t$ , a  $u_i$  su komponente pomeranja materijalne tačke, kao što je prikazano na Sl. 14.1. Ovakav način opisivanja je primenljiv kod kretanja solida jer je tekuća vrednost vezana za tačku materijala i uzima u obzir prethodna stanja (najčešće samo početno stanje), odnosno „istoriju“ promene (v. Gl. 13).

<sup>1</sup>Ovo poglavlje napisali su Nenad Filipović, Miloš Kojić, Boban Stojanović i Vladimir Ranković.



SLIKA 14.1 Definicije koordinata

Drugi način opisivanja promene fizičke veličine je Ojlerov, koji se primjenjuje za fluide, kod kojih su relativna pomeranja materijalnih tačaka u toku kretanja fluida značajna. Kod Ojlerovog opisa praktično se posmatra tačka u prostoru i veličina vezana za materijalnu tačku koja se u datom trenutku nalazi u toj tački prostora. Time se ustvari uvodi prostorno polje fizičke veličine  $f(x_1, x_2, x_3, t)$ , tj.

$$\begin{aligned} f &= f(x_1, x_2, x_3, t) \\ x_i &= x_i - u_i(x_1, x_2, x_3, t) \end{aligned} \quad (14.2)$$

Ako se primeni osnovni zakon održanja mase, tj. da se masa ne može ni stvoriti ni uništiti, onda dobijamo jednačinu kontinuiteta oblika

$$\frac{dm}{dt} = \frac{d}{dt} \int_V \rho dV = \int_V \left( \frac{\partial \rho}{\partial t} + \frac{\partial (\rho v_i)}{\partial x_i} \right) dV = 0 \quad (14.3)$$

Kako je kontrolna zapremina prostora  $V$  proizvoljna, sledi jednačina kontinuiteta u tački

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \frac{\partial (\rho v_i)}{\partial x_i} = 0 \quad (14.4)$$

odnosno u razvijenoj formi

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \frac{\partial \rho v_x}{\partial x} + \frac{\partial \rho v_y}{\partial y} + \frac{\partial \rho v_z}{\partial z} = 0 \quad (14.5)$$

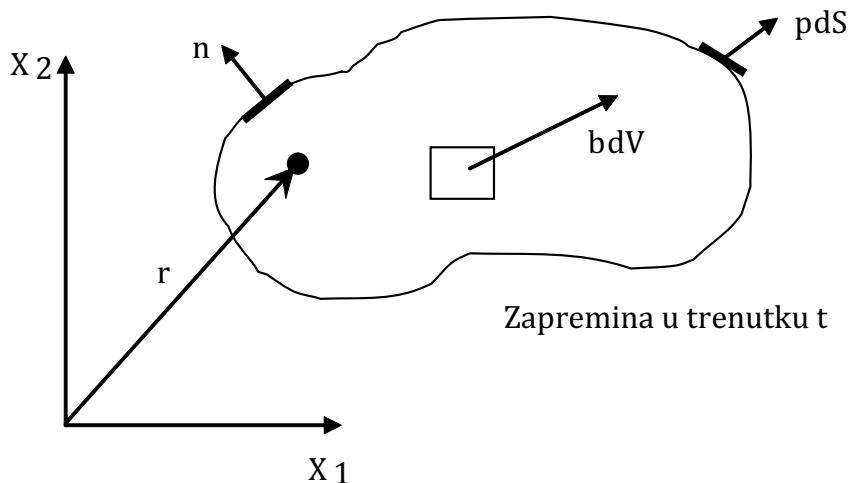
gde, kako se vidi, ponovljen indeks znači sabiranje. Ukoliko je fluid nestišljiv, tj.

$$\rho = \text{const.} \quad (14.6)$$

jednačina kontinuiteta ima oblik

$$\frac{\partial v_i}{\partial x_i} = \frac{\partial v_x}{\partial x} + \frac{\partial v_y}{\partial y} + \frac{\partial v_z}{\partial z} = 0 \quad (14.7)$$

**Navije-Stoksove jednačine.** Posmatra se određena fiksna zapremina fluida u trenutku  $t$  kao na Sl. 14.2. Spoljašnje sile su predstavljene kao površinske sile  $F^S$  po jedinice površine i zapreminske sile  $F^V$  po jedinici mase.



SLIKA 14.2 Dvodimenzione definicije zapremske i površinske sile

Na osnovu jednačine promene količine kretanja (drugi Njutnov zakon) dobija se

$$\frac{d}{dt} \int_V \rho v_i dV = \int_V F_i^V dV + \int_S F_i^S dS \quad (14.8)$$

Korišćenjem jednačine održanja mase (14.4), ova jednačina se svodi na

$$\int_V \rho \left( \frac{\partial v_i}{\partial t} + v_{i,j} v_j \right) dV = \int_V F_i^V dV + \int_S F_i^S dS \quad (14.9)$$

gde konvektivni član  $v_{i,j} v_j$  u razvijenom obliku ima izgled,

$$v_{i,j} v_j = \frac{\partial v_i}{\partial x} v_x + \frac{\partial v_i}{\partial y} v_y + \frac{\partial v_i}{\partial z} v_z \quad (14.10)$$

Na osnovu Košijeve teoreme [1] i Gausove teoreme o pretvaranju površinskog u zapreminski integral, dobija se

$$\int_V \rho \left( \frac{\partial v_i}{\partial t} + v_{i,j} v_j \right) dV = \int_V F_i^V dV + \int_V \frac{\partial \sigma_{ij}}{\partial x_j} dV \quad (14.11)$$

gde su  $\sigma_{ij}$  komponente napona (videti jednačinu (13.3)). Dalje se uvode konstitutivne relacije za Njutnov fluid,

$$\sigma_{ij} = -p\delta_{ij} + 2\mu\dot{e}_{ij} \quad (14.12)$$

gde su  $p$  pritisak fluida,  $\mu$  dinamička viskoznost, a  $\dot{e}$  tenzor brzine deformacije

$$\dot{e}_{ij} = \frac{1}{2} \left( \frac{\partial v_i}{\partial x_j} + \frac{\partial v_j}{\partial x_i} \right) \quad (14.13)$$

Kada se jednačine (14.12) i (14.13) zamene u (14.11), dobija se

$$\int_V \rho \left( \frac{\partial v_i}{\partial t} + v_{i,j} v_j \right) dV = \int_V F_i^V dV + \int_V \left( -\frac{\partial p}{\partial x_i} + \mu \left( \frac{\partial^2 v_i}{\partial x_j \partial x_j} + \frac{\partial^2 v_j}{\partial x_j \partial x_i} \right) \right) dV \quad (14.14)$$

pri čemu se podrazumeva sabiranje po ponovljenom indeksu ( $j=1,2,3$ ).

Pošto je kontrolna zapremina prostora  $V$  proizvoljna, može se napisati diferencijalni oblik jednačina balansa sila (14.11) i (14.14),

$$\rho \left( \frac{\partial v_i}{\partial t} + v_j v_{i,j} \right) = \sigma_{ij,j} + F_i \quad (14.15)$$

$$\rho \left( \frac{\partial v_i}{\partial t} + v_j \frac{\partial v_i}{\partial x_j} \right) = -\frac{\partial p}{\partial x_i} + \mu \left( \frac{\partial^2 v_i}{\partial x_j \partial x_j} + \frac{\partial^2 v_j}{\partial x_j \partial x_i} \right) + F_i^V \quad (14.16)$$

Tri skalarne jednačine (14.16) se uobičajeno zovu Navije-Stoksove jednačine za nestišljiv viskozni fluid.

## 14.2 JEDNAČINE KONAČNIH ELEMENATA

Ovde iznosimo osnovne postavke modeliranja fluida metodom konačnih elemenata. Izlaganje se oslanja na izloženu materiju u Gl. 13. Podrazumeva se implicitna formulacija, tj. formulacija u kojoj se uslovi balansa postavljaju za kraj vremenskog koraka integracije.

**Mešovita formulacija.** Jedna od najčešće zastupljenih metoda rešavanja strujanja fluida je mešovita (brzine-pritisci,  $v-p$ ) formulacija [2–10]. U ovoj formulaciji istovremeno se rešavanju oba fizička polja od interesa, brzina i pritisak.

Ovde ćemo pretpostaviti da imamo Njutnov fluid, tako da su jednačine ravnoteže oblika (14.15). Pored jednačina ravnoteže, moraju biti zadovoljeni granični uslovi koji mogu biti:

- zadate brzine  $\bar{v}_i$  fluida na površini  $S_1$ :

$$v_i = \bar{v}_i \Big|_{S_1} \quad (14.17)$$

– zadate površinske sile  $F_i^S$  na površini  $S_2$ :

$$\sigma_{ij} n_j = F_i^S \Big|_{S_2} \quad (14.18)$$

gde su  $n_j$  komponente jediničnog vektora normale na površinu  $S_2$ . U poslednjoj jednačini korišćena je Košijeva formula (13.4). Naravno, važi uslov da površine  $S_1$  i  $S_2$  koje se ne preklapaju čine ukupnu površinu  $S$ ,

$$S_1 \cap S_2 = \emptyset \text{ i } S_1 \cup S_2 = S \quad (14.19)$$

Da bi se dobile jednačine balansa konačnog elementa, primenjuje se Galerkinova metoda [3–10]. Polazimo od toga da se brzine  $v_i$  i pritisak fluida  $p$  u polju konačnog elementa mogu izraziti korišćenjem interpolacionih funkcija i vrednosti u čvorovima (v. jednačinu (13.43)),

$$v_i = H_\alpha v_{i\alpha} \text{ i } p = G_\delta p_\delta \quad (14.20)$$

gde su  $H_\alpha$  interpolacione funkcije za brzinu fluida, pri čemu je  $\alpha=1,\dots,M$ ;  $G_\delta$  su interpolacione funkcije za pritisak, pri čemu  $\delta=1,\dots,N$ . Ovde  $M$  i  $N$  predstavljaju broj čvorova po elementu za brzinu i pritisak. Dalje, jednačine balansa (14.16) i (14.7) pomnožimo, respektivno, interpolacionim funkcijama  $H_\alpha$  i  $G_\delta$  i integralimo po zaređenim konačnog elementa, tako da dobijamo jednačine:

$$\rho \int_V H_\alpha \frac{\partial v_i}{\partial t} dV + \rho \int_V H_\alpha v_j v_{i,j} dV = - \int_V H_\alpha p_i dV + \int_V \mu H_\alpha v_{i,jj} dV + \int_V H_\alpha F_i^V dV \quad (14.21)$$

$$\int_V G_\delta v_{i,i} dV = 0 \quad (14.22)$$

Ako se izvrši parcijalna integracija i prevođenje prva dva integrala na desnoj strani (14.21) u površinske integrale, dobija se umesto (14.21):

$$\begin{aligned} & \rho \int_V H_\alpha \frac{\partial v_i}{\partial t} dV + \rho \int_V H_\alpha v_j v_{i,j} dV - \int_V H_{\alpha,i} p dV + \int_V \mu H_{\alpha,j} v_{i,j} dV = \\ & = \int_V H_\alpha F_i^V dV + \int_S H_\alpha (-pn_i + \mu v_{i,j} n_j) dS \end{aligned} \quad (14.23)$$

Kod mešovite formulacije  $\mathbf{v}-\mathbf{p}$  (brzina–pritisak) i implicitne integracije, za definisanje veličine pritiska uzimaju se interpolacijske funkcije uvek za red niže nego za brzine. U zavisnosti od broja čvorova po elementu i tipa elementa kod  $\mathbf{v}-\mathbf{p}$  mešovite formulacije, iskustveno je dobiten broj čvorova po elementu (broj interpolacionih funkcija) za brzinu i pritisak; pregled je dat u Tabl. 14.1.

Kada se zamene brzine i pritisak iz jednačine (14.20) u jednačine (14.23) i (14.22), dobija se:

$$\begin{aligned} & \left[ \rho \int_V H_\alpha H_\beta dV \right] \dot{v}_{\beta i} + \left[ \rho \int_V H_\alpha H_\gamma v_{j\gamma} H_{\beta,j} dV \right] v_{\beta i} + \\ & \left[ \int_V \mu H_{\alpha,j} H_{\beta,j} dV \right] v_{\beta i} - \left[ \int_V H_{\alpha,i} G_\beta dV \right] p_\beta = \\ & = \int_V H_\alpha F_i^V dV + \int_S H_\alpha (-pn_i + v_{i,j} n_j) dS \end{aligned} \quad (14.24)$$

gde su  $\alpha, \beta=1,2,\dots,M; i,j=1,2,3$ , kao i

$$\left[ \int_V G_\delta H_{\alpha,i} dV \right] v_{\alpha,i} = 0, \quad \delta = 1, 2, \dots, N \quad (14.25)$$

TABELA 14.1 Tip elementa i broja čvorova za brzinu i pritisak

Tip elementa	Broj čvorova po elementu	Broj čvorova po elementu za v i p	
		Brzina v	Pritisak p
2-D	4	4	1
	9	9	4
3-D	8	8	1
	21	21	8
	27	27	8

Prethodne jednačine se mogu napisati u matričnom obliku

$$\begin{bmatrix} \mathbf{M}_v & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & \mathbf{0} \end{bmatrix} \begin{Bmatrix} \dot{\mathbf{v}} \\ \dot{\mathbf{p}} \end{Bmatrix} + \begin{bmatrix} \mathbf{K}_{vv} + \mathbf{K}_{\mu v} & \mathbf{K}_{vp} \\ \mathbf{K}_{vp}^T & \mathbf{0} \end{bmatrix} \begin{Bmatrix} \mathbf{v} \\ \mathbf{p} \end{Bmatrix} = \begin{Bmatrix} \mathbf{R}_B + \mathbf{R}_S \\ \mathbf{0} \end{Bmatrix} \quad (14.26)$$

gde su:

- matrica masa

$$(\mathbf{M}_v)_{i\alpha\beta} = \rho \int_V H_\alpha H_\beta dV = \rho \int_V \mathbf{H}^T \mathbf{H} dV \quad (14.27)$$

- matrica konvektivnog člana

$$(\mathbf{K}_{vv})_{i\alpha\beta} = \rho \int_V H_\alpha H_\gamma v_{j\gamma} H_{\beta,j} dV = \rho \int_V \mathbf{H}^T (\mathbf{H} \mathbf{v}_1 \mathbf{H}_{,x_1} + \mathbf{H} \mathbf{v}_2 \mathbf{H}_{,x_2} + \mathbf{H} \mathbf{v}_3 \mathbf{H}_{,x_3}) dV \quad (14.28)$$

- matrica viskoznog člana

$$(\mathbf{K}_{\mu v})_{i\alpha\beta} = \int_V \mu H_{\alpha,j} H_{\beta,j} dV = \int_V \mu (\mathbf{H}_{,x_1}^T \mathbf{H}_{,x_1} + \mathbf{H}_{,x_2}^T \mathbf{H}_{,x_2} + \mathbf{H}_{,x_3}^T \mathbf{H}_{,x_3}) dV \quad (14.29)$$

- matrica gradijenta pritiska

$$(\mathbf{K}_{vp})_{i\alpha\delta} = - \int_V H_{\alpha,i} G_\delta dV = - \int_V \mathbf{H}_{,x}^T \mathbf{G} dV \quad (14.30)$$

- vektor zapreminskih sila

$$(\mathbf{R}_B)_{i\alpha} = \int_V H_\alpha F_i^V dV = \int_V \mathbf{H}^T \mathbf{F}^V dV \quad (14.31)$$

- vektor površinskih sila

$$(\mathbf{R}_S)_{i\alpha} = \int_S H_\alpha (-pn_i + v_{i,j} n_j) dS = \int_S \mathbf{H}^T (-p\mathbf{n} + \mathbf{v}_{,x} \cdot \mathbf{n}) dS \quad (14.32)$$

ovde su  $\mathbf{v}_1, \mathbf{v}_2, \mathbf{v}_3$  vektori koji sadrže komponente x,y,z čvorova, respektivno.

Pošto se u konvektivnom članu pojavljuju brzine, problem je nelinearan i neophodan je iterativni postupak za rešavanje sistema jednačina u vremenskom koraku.

$${}^{t+\Delta t}v_{i\alpha} = {}^{t+\Delta t}v_{i\alpha}^{(m-1)} + \Delta v_{i\alpha}^{(m)} \quad \text{i} \quad {}^{t+\Delta t}p_\delta = {}^{t+\Delta t}p_\delta^{(m-1)} + \Delta p_\delta^{(m)} \quad (14.33)$$

Brzina i pritisak na kraju koraka se izražavaju preko tekućih vrednosti i priraštaja u iteraciji, gde je  $m$  tekući broj iteracije. Takođe se izvod po vremenu iz jednačine (14.24) može napisati preko Ojlerove šeme unapred („forward“):

$${}^{t+\Delta t}\dot{v}_{i\alpha} = \frac{{}^{t+\Delta t}v_{i\alpha} - {}^t v_{i\alpha}}{\Delta t} = \frac{{}^{t+\Delta t}v_{i\alpha}^{(m-1)} + \Delta v_{i\alpha}^{(m)} - {}^t v_{i\alpha}}{\Delta t} \quad (14.34)$$

Kada se izrazi (14.33) i (14.34) zamene u jednačine (14.24) i (14.25), njihov matrični oblik dat jednačinom (14.26) postaje [11]:

$$\begin{bmatrix} \frac{1}{\Delta t} \mathbf{M}_v + {}^{t+\Delta t} \mathbf{K}_{vv}^{(m-1)} + {}^{t+\Delta t} \mathbf{K}_{\mu v}^{(m-1)} + {}^{t+\Delta t} \mathbf{J}_{vv}^{(m-1)} & \mathbf{K}_{vp} \\ \mathbf{K}_{vp}^T & \mathbf{0} \end{bmatrix} \begin{Bmatrix} \Delta \mathbf{v}^{(m)} \\ \Delta \mathbf{p}^{(m)} \end{Bmatrix} = \begin{Bmatrix} {}^{t+\Delta t} \mathbf{F}_v^{(m-1)} \\ {}^{t+\Delta t} \mathbf{F}_p^{(m-1)} \end{Bmatrix} \quad (14.35)$$

sa matricama koje slede iz ove zamene. Jednačina (14.35) rešava se nesimetričnim solverom [10] pošto je globalna matrica leve strane ove jednačine nesimetrična usled konvektivnog člana koji je prisutan zbog Ojlerove formulacije fluida. Samim tim rešavanje ovakvog sistema nameće dvostruko veće memoriske resurse računara nego što je to recimo slučaj kod rešavanja problema modeliranja solida opisanog u Gl. 13, gde se koristi simetrični solver. Generalizacija problema strujanja fluida na slučajeve kada se granice fluida značajno menjaju izložena je u ref. [11,12].

## 14.3 SOLID-FLUID INTERAKCIJA

U ovom odeljku ukratko je opisan postupak rešavanja spregnutih problema solida i fluida [13–17]. Problem je spregnut kada fluid izaziva deformisanje solida, koje sa druge strane utiče na strujanje fluida. Osnovno pitanje koje se postavlja jeste koji je najbolji način povezivanja rešavanja solida opisanog u Gl. 13 i strujanja fluida. Ovde iznosimo dva koncepta rešavanja, tzv. jako i slabo sprezanje.

**Uvodna razmatranja.** U početnim istraživanjima u rešavanju spregnutih problema postavilo se pitanje da li je neophodno menjati već postojeće programe za analizu solida i fluida, odnosno da li je potrebno ponovo pisati solveure za istovremeno rešavanje solida i fluida. Pokazalo se da je veoma komplikovano praviti nove solveure koji bi istovremeno rešavali solid-fluid interakciju [14–17]. Da bi se uspešno rešili interdisciplinarni problemi, zasada se uzimaju programi za CFD (Computational Fluid Dynamics) i CSD (Computational Solid Dynamics) onakvi kakvi jesu,

i prave se novi specijalizovani upravljački programi koji koriste mogućnosti oba solvera i upravljaju njihovim rešavanjem [18–20].

U principu, izdvojili su se sledeći pravci u rešavanju problema interakcija solid-fluid:

- jako sprezanje (kada se sve rešava u jednom sistemu jednačina); i
- slabo sprezanje (kada se spoljašnjim programom upravlja rešavanjem posebno problema solida i problema fluida)

Imajući u vidu gore rečeno, slabo sprezanje na prvi pogled predstavlja bolju alternativu. Međutim i ovaj prilaz, zbog svojih specifičnosti koje se inače ne javljaju u metodi jakog sprezanja, sadrži niz problema. Tu se pre svega misli na vremensku integraciju. Naime, zbog različitosti samih fizičkih karakteristika solida i fluida, ne može se generalno koristiti isti vremenski korak rešavanja. Jer, domeni numeričke stabilnosti su naravno potpuno različiti pri rešavanju problema solida i problema fluida. Druga teškoća se javlja prilikom transfera podataka između programa CFD i CSD. Različita diskretizacija dodatno otežava problem, jer je potrebno preneti informacije sa jedne na drugu mrežu sa najčešće različitom diskretizacijom.

**Osnovne jednačine sprezanja.** Da bi se bolje razumela priroda sprezanja između fluida i solida, korisno je napisati osnovne jednačine za CSD i CFD posle diskretizacije na domene fluida i solida. Diskretni sistem jednačina za dinamiku solida glasi:

$$\mathbf{M}\ddot{\mathbf{U}} + \mathbf{C}\dot{\mathbf{U}} + \mathbf{K}\mathbf{U} = \mathbf{F}_s \quad (14.36)$$

gde su:  $\mathbf{M}$  – konstantna matrica masa;  $\mathbf{C}$  – konstantna matrica prigušenja;  $\mathbf{K}$  – matrica krutosti koja može zavisiti od pomeranja,  $\mathbf{F}_s$  – vektor spoljašnjih sila; i  $\ddot{\mathbf{U}}$ ,  $\dot{\mathbf{U}}$  i  $\mathbf{U}$  – su vektori ubrzanja brzine i pomeranja. Jednačina (14.36) može se napisati u inkrementalnom obliku po vremenu i pritom se vektori ubrzanja i priraštaja pomeranja mogu izraziti preko priraštaja brzine  $\Delta\mathbf{v}_s$ . Onda jednačina za solid (14.36) dobija oblik

$$\mathbf{K}_v^s \Delta\mathbf{v}_s = \mathbf{f}_s \quad (14.37)$$

gde je  $\mathbf{f}_s$  vektor sile koji se dobija iz ovako izведенog inkrementalnog postupka.

Sa druge strane, prema jednačini (14.35), inkrementalne jednačine za fluid mogu da se napišu u obliku

$$\begin{bmatrix} \mathbf{K}_v^f & \mathbf{K}_p^f \\ \mathbf{K}_p^{Tf} & \mathbf{0} \end{bmatrix} \begin{pmatrix} \Delta\mathbf{v}_f \\ \Delta\mathbf{p} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \mathbf{f}_v \\ \mathbf{f}_p \end{pmatrix} \quad (14.38)$$

gde su  $\mathbf{K}_v^f$  i  $\mathbf{K}_p^f$  odgovarajuće matrice leve strane sistema jednačina za brzinu i pritisak fluida,  $\mathbf{v}_f$  je brzina,  $\mathbf{p}$  je vektor pritiska u čvorovima,  $\mathbf{f}_v$  je desna strana za brzinu i  $\mathbf{f}_p$  desna strana za pritisak fluida. Ovde su, radi jednostavnosti izlaganja, izostavljene oznake za iteracije.

Zajednički stepeni slobode u ovim sistemima jednačina mogu se podeliti na unutrašnje (koji pripadaju domenima solida i fluida posebno) i na granične (za-

jednički za solid i fluid). Naime, ako se indeksima sf označe stepeni slobode solida koji se nalaze na zajedničkim površinama sa fluidom, a sa fs stepeni slobode fluida koji se nalaze na tim površinama, onda se sistem jednačina (14.37) za solid može napisati u obliku

$$\begin{bmatrix} \mathbf{K}_{vf-f}^s & \mathbf{K}_{vf-s}^s \\ \mathbf{K}_{vs-f}^s & \mathbf{K}_{vs-s}^s \end{bmatrix} \begin{pmatrix} \Delta \mathbf{v}_{sf} \\ \Delta \mathbf{v}_{ss} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \mathbf{f}_{sf} \\ \mathbf{f}_{ss} \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} \tilde{\mathbf{f}}_{fs} \\ \mathbf{0} \end{pmatrix} \quad (14.39)$$

gde je  $\tilde{\mathbf{f}}_{fs}$  sila opterećenja od fluida na zajedničkim dodirnim površinama. Slično se može podeliti sistem jednačina (14.38) kojima se rešavaju problemi fluida,

$$\begin{bmatrix} \mathbf{K}_{vs-s}^f & \mathbf{K}_{vs-f}^f & \mathbf{K}_{ps-p}^f \\ \mathbf{K}_{vf-s}^f & \mathbf{K}_{vf-f}^f & \mathbf{K}_{pf-p}^f \\ \mathbf{K}_{ps-p}^{Tf} & \mathbf{K}_{pf-p}^{Tf} & \mathbf{0} \end{bmatrix} \begin{pmatrix} \Delta \mathbf{v}_{fs} \\ \Delta \mathbf{v}_{ff} \\ \Delta p \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \mathbf{f}_{v_{fs}} \\ \mathbf{f}_{v_{ff}} \\ \mathbf{f}_p \end{pmatrix} \quad (14.40)$$

Za viskozne fluide imamo da su brzine na dodirnim površinama jednake, tj.  $\mathbf{v}_{fs} = \mathbf{v}_{sf}$ , dok su kod neviskoznih fluida jednake samo normalne komponente brzina, tj.  $\mathbf{n} \cdot \mathbf{v}_{fs} = \mathbf{n} \cdot \mathbf{v}_{sf}$ . Sabiranjem sistema jednačina (14.39) i (14.40) dobija se spregnuti sistem jednačina u obliku [11]

$$\begin{bmatrix} \mathbf{K}_{vs-s}^f + \mathbf{K}_{vf-f}^s & \mathbf{K}_{vs-f}^f & \mathbf{K}_{ps-p}^f & \mathbf{K}_{vf-s}^s \\ \mathbf{K}_{vf-s}^f & \mathbf{K}_{vf-f}^f & \mathbf{K}_{pf-p}^f & \mathbf{0} \\ \mathbf{K}_{ps-p}^{Tf} & \mathbf{K}_{pf-p}^{Tf} & \mathbf{0} & \mathbf{0} \\ \mathbf{K}_{vs-f}^s & \mathbf{0} & \mathbf{0} & \mathbf{K}_{vs-s}^f \end{bmatrix} \begin{pmatrix} \Delta \mathbf{v}_{fs} \\ \Delta \mathbf{v}_{ff} \\ \Delta p \\ \Delta \mathbf{v}_{ss} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \mathbf{f}_{v_{fs}} + \mathbf{f}_{sf} \\ \mathbf{f}_{v_{ff}} \\ \mathbf{f}_p \\ \mathbf{f}_{ss} \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} \mathbf{0} \\ \tilde{\mathbf{f}}_{fs} \\ \mathbf{0} \\ \mathbf{0} \end{pmatrix} \quad (14.41)$$

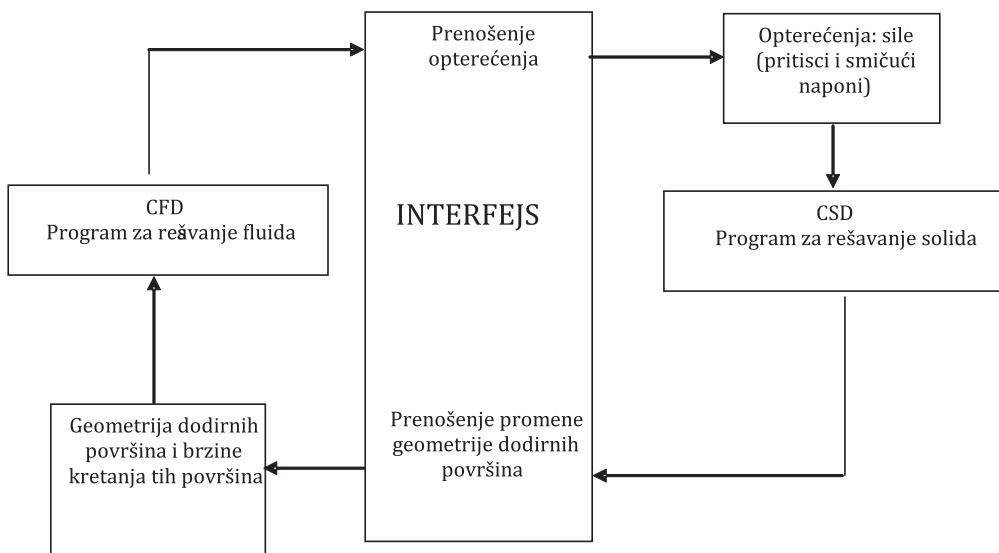
Za rešavanje ovakvog sistema jednačina mogu se primeniti dve metode: tzv. jako i slabo sprezanje, što se izlaže u daljem tekstu.

**Jako sprezanje.** Osnovna ideja jakog sprezanja je da se kompletan sistem jednačina rešava u jednom koraku. U ovom slučaju se sve veličine i za fluid i za solid menjaju istovremeno. Ova metodologija postaje previše skupa, posebno u slučaju 3D problema. Takođe je vrlo komplikovano rešavati solide i fluide sa različitom diskretizacijom (mrežom konačnih elemenata). Pored toga, matrice sistema za solid i fluid numerički su različite i za više redova veličine, tako da zbog takve zajedničke matrice sistema u opštem slučaju može doći do nestabilnosti rešenja („ill-condition“). Ovo praktično dovodi u pitanje korišćenje programa za rešavanje odvojenih problema solida i fluida koji su razvijani u dugom vremenskom periodu. Napomenimo da za neke manje 2D probleme ova tehnika može biti uspešno primenjena.

**Slabo sprezanje.** Metodologija slabog sprezanja sadrži niz prednosti. Pre svega, glavna prednost je korišćenje već postojećih programa za rešavanje solida i fluida sa vrlo malo izmena. Računanja veličina kojima se opisuju solid i fluid jesu nezavisna i u posebnim programima, pri čemu se granične informacije razmenjuju u svakom vremenskom koraku.

CFD programu za fluide je pri rešavanju potrebno proslediti granične uslove za tekuću geometriju dodirnih površina sa solidom kao i brzine kretanja tačaka tih

površina. Ova informacija se naravno dobija od CSD programa za rešavanje solida. Sa druge strane, CSD programu se prenose opterećenja (pritisni i smičući naponi, odnosno sile) od dejstva fluida na dodirnim površinama. Ta opterećenja se dobijaju korišćenjem CFD programa. Dakle, imamo interakciju između solvera CFD i CSD. Ova interakcija je prikazana na Sl. 14.3.



SLIKA 14.3 Razmena informacija za rešavanje problema solid-fluid interakcije

U procesu rešavanja slabog sprezanja interakcije solid-fluid, neophodna su u principu četiri međusobno povezana programa:

1. CSD solver za rešavanje problema solida;
2. CFD solver za rešavanje problema fluida i koršćenje posebne (ALE – *Arbitrary Lagrangian Eulerian*) formulacije za pokretne mreže;
3. Generatori mreža konačnih elemenata koji su opštег tipa;
4. Glavni upravljački program za prenos informacija između gore navedenih programa.

**CSD solver** služi za rešavanje deformacija konstrukcije (solida). Ovaj program služi za rešavanje različitih problema solida kao što su: male/velike deformacije, materijalni modeli (elastični, elasto-plastični, itd.), kontakt, trenje, mehanika loma, itd. Takođe, tu su različiti tipovi konstrukcija: 2D, 3D, ljske, itd. (v. Gl. 13).

**CFD solver** služi za rešavanje problema strujanja fluida koji je u interakciji sa solidom. Ovakvim solverima rešavaju se različiti režimi strujanja: vrtložno/bezvrtložno, stišljivo/nestišljivo, viskozno/neviskozno, laminarno/turbulentno, subsonično/transonično/supersonično, itd. Dodatna specifičnost kod CFD solvera je u tome što se mogu rešavati i domeni fluida koji se kreće. U tom slučaju je neophodno primeniti metode koje rešavaju probleme fluida u pokretnoj geometriji, kao što je recimo ALE formulacija [11,12].

**Generatori mreža** služe za korigovanje mreža u domenu fluida koje se menjaju usled deformacije solida. Naime, može se dogoditi da dođe do distorzije mreže usled deformacija solida na dodirnim površinama sa fluidom, tako da je nekad neophodno izvršiti i globalno regenerisanje („remeshing“) domena fluida. Glavne karakteristike programa za generisanje mreža je da mogu da rade sa proizvoljnom geometrijom.

**Glavni upravljački program** služi za neophodnu razmenu podataka između CSD i CFD solvera, kao i za upravljanje u toku samog procesa rešavanja po vremenskim koracima. Dakle, postupak za povezivanje programa u principu bi bio sledeći:

- Potrebno je korigovati programe za rešavanje solida i fluida na taj način da glavni upravljački CSD i CFD programi postanu veliki potprogrami;
- Potrebno je program za generisanje mreža pretvoriti u potprogram;
- Potrebno je napisati glavni upravljački program koji kontroliše startovanje i prenosi informacije između potprograma.

## 14.4 STRUJANJE KRVI KROZ ARTERIJE

U ovom odeljku modeliranje strujanja fluida primenjuje se na probleme strujanja krvi kroz velike arterije. Prvo su opisani osnovni fiziološki parametri karakteristični za strujanje krvi u arterijama kod čoveka, a zatim su prikazana neka rešenja dobijena numeričkim modeliranjem.

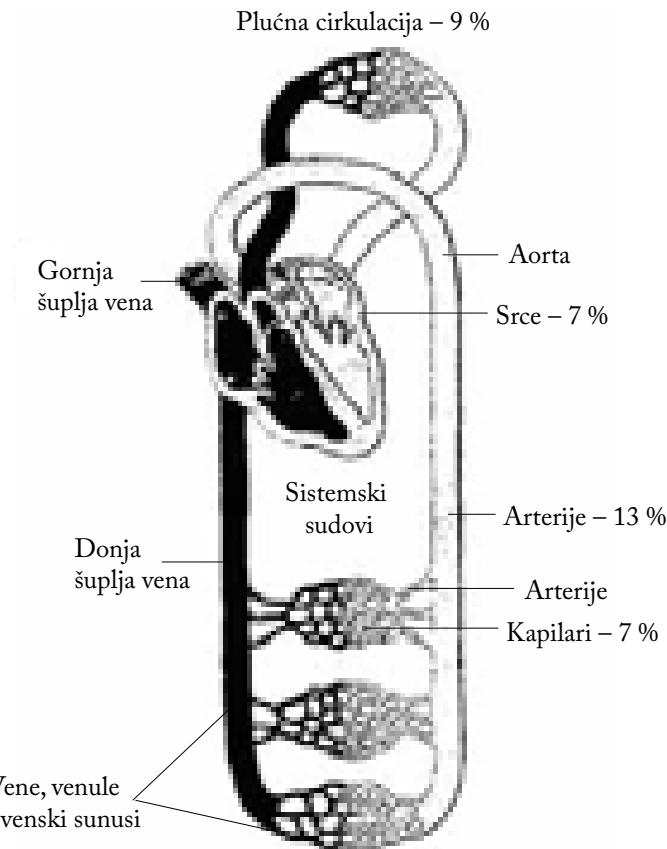
**Uvodna razmatranja o strujanju krvi kod čoveka.** Uloga cirkulacije krvi kod čoveka je da transportuje hranljive supstrate u tkiva, uklanja otpadne proizvode, prenosi hormone i, uopšte, da održava adekvatnu biološku sredinu u svim tkivnim tečnostima za optimalne funkcije ćelija [22]. Cirkulacija je podeljena na sistemsku i plućnu cirkulaciju kao što je prikazano na Sl. 14.4. Sistemska cirkulacija se naziva još i veliki krvotok ili periferna cirkulacija, pošto snadbeva krvlju sva tkiva izuzev pluća. Uobičajena podela cirkulatornog sistema je na: arterije, arteriole, kapilare, vene i venule.

**Arterije** prenose krv pod visokim pritiskom u tkiva. Zbog toga arterije imaju jak vaskularni zid a strujanje krvi u njima je sa velikim brzinama.

**Arteriole** su poslednje male grane arterijskog sistema koje imaju ulogu kontrolnih valvula preko kojih krv dolazi u kapilare. Arteriole imaju debelo mišićni zid koji je u stanju da potpuno zatvori arteriole ili da ih potpuno dilatira, u zavisnosti od potreba tih tkiva.

**Kapilari** imaju ulogu u razmeni tečnosti, hranljivih supstrata, elektrolita, hormona i drugih supstanci. Zbog toga je kapilarni zid veoma tanak i propustljiv (permeabilan) za male molekule.

**Vene** imaju ulogu da transportuju krvi iz tkiva u srce, ali, što je veoma važno, i da pri tome služe kao veliki rezervoar krvi. Pritisak u venskom sistemu je veoma nizak, tako da su venski zidovi tanki, a strujanje sporo.



SLIKA 14.4 Raspodela krvotoka u različitim delovima cirkulatornog sistema

**Venule** prikupljaju krv iz kapilara i ulivaju se u veće vene. Najveći deo krvi u sistemskoj cirkulaciji smešten je u sistemske vene. Sa Sl. 14.4 može se videti da je oko 84% čitave zapremine krvi u sistemskoj cirkulaciji i to: 64% u venama, 13% u arterijama i 7% u sistemskim arteriolama i kapilarima. U srcu se nalazi oko 7% ukupne zapremine krvi, a u plućima 9%. Kako ista zapremina krvi protiče kroz sve segmente cirkulacije kontinualno, brzina krvi je obrnuto proporcionalna površini preseka. U stanju mirovanja brzina protoka kroz aortu iznosi 33 cm/s, a u kapilarima samo jedan hiljaditi deo ove brzine, ili 0,31 mm/s.

Srce pumpa kontinualno krv u aortu pri srednjem pritisku od 100 mmHg (13,3 kPa). To pumpanje je pulzatorno pa tako arterijski pritisak osciluje između sistolnog nivoa od 120 mmHg do dijastolnog od 80 mmHg. Krv protiče kroz sistemsku cirkulaciju i pritisak postepeno opada da bi bio približno 0 mmHg u trenutku kada dosegne do kraja vena, na ulasku u desnu pretkomoru srca.

Prosečni protok krvi u cirkulaciji odraslog čoveka iznosi 5 l/min. On se zove minutni volumen srca, jer je to količina krvi koju srce ispumpa za jedan minut.

Srčani ciklus sastoji se iz perioda relaksacije nazvanog dijastola za vreme koga se srce puni krvlju, posle koga sledi period kontrakcije, koji se zove sistola. Krv koja ulazi u arterije izaziva istezanje njihovih zidova i porast pritiska u njima. Kada na kra-

ju sistole leva komora prestane da istiskuje krv i valvule se zatvore, visok pritisak u arterijama za vreme dijastole održava se zahvaljujući elastičnim svojstvima arterija. Postoje dva oblika srčanog rada. Prvi, najveći deo srčanog rada, troši se na to da se krv prebaci iz područja niskog venskog u područje visokog arterijskog pritiska. To je rad potreban za održavanje odnosa zapremina-pritisak, ili spoljašnji rad. Drugi, mnogo manji deo rada, troši se za ubrzavanje krvi do one brzine kojom se ona istiskuje kroz valvulu aorte i valvulu pulmonalne arterije. To je kinetička energija srca.

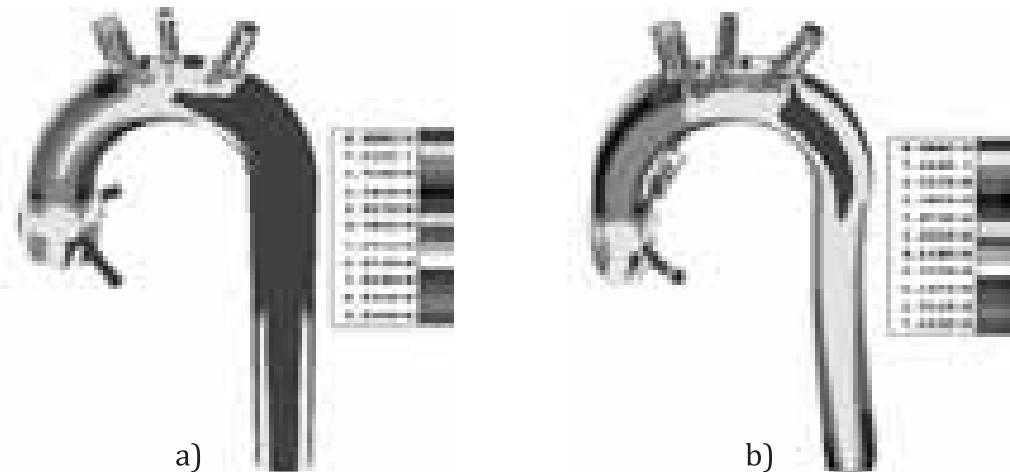
**Strujanje krvi u srcu i glavnim arterijama.** U hemodinamici (dynamici krvi) najčešće se proučavaju četiri dela arterijskog stabla kao prototipovi, i to: srce i proksimalna aorta, abdominalna aorta, karotidna bifurkacija, i leva koronarna arterija. Ovi krvni sudovi su od posebnog značaja, pre svega zato što najčešće podležu bolesti, a sa druge strane reprezentuju strujanje u arterijskom stablu.

Pri strujanju krvi u **srcu** i velikim krvnim sudovima dominantne su inercijalne u odnosu na viskozne sile. Rejnoldsovi brojevi, kao karakteristike brzine strujanja na maksimumu sistole, reda su veličine  $R_e=4000$ . Strujanja u **aorti** i u plućnom delu slična su strujanjima ulaznih profila brzina. Može se smatrati da je oblast središnjeg strujanja neviskozni region okružen razvijenim graničnim slojevima ka zidu. Pritisci i brzine u kompleksnom strujanju u komorama srca određuju se isključivo analizom 3D strujanja koja uključuju kretanja granica. Inače postoje *in vitro* modeli ovih strujanja razvijeni u laboratorijama [23], dok se *in vivo* merenja na čoveku vrše raznim tehnikama, kao što su: kateteri, Doplerov ultrazvuk, magnetna rezonanca, itd. Sve tehnike merenja i proračuna pokazuju prisutnost sekundarnog strujanja (u ravni normalnoj na glavni tok strujanja) u levoj srčanoj komori, koje nastaje zbog strujanja iz atrijuma kroz mitralnu valvulu. Kada se pritisak u levoj komori poveća iznad 80 mmHg a pritisak desne bude nešto iznad 8 mmHg, pritisak u komorama otvara semilunarne zaliske, pa krv odmah počne da izlazi iz komora. Od ukupno istisnute količine krvi udeo komora je oko 70% u prvoj trećini perioda izbacivanja, a preostalih 30% se događa u naredne dve trećine tog perioda [22].

**Aorta** je krvni sud koji polazi iz leve srčane komore i ima sledeće segmente:

- bulbus – proširenje početnog dela neposredno iza aortnih zalistaka iz koga polaze dve koronarne arterije,
- ushodni deo koji daje pobočne grane,
- luk koji nastavlja ushodni deo i pravi krivinu ka levoj strani gde nastavlja kao nishodna grudna aorta, a sa svog konveksnog dela daje tri velike grane za glavu, vrat i gornje ekstremitete,
- nishodnu grudnu aortu koja se nastavlja od leve potključne arterije poslednje grane luka do dijafragme, gde prelazi u trbušnu aortu praveći blagu krivinu konveksnu uлево,
- abdominalnu ili trbušnu aortu koja je nastavak grudne, ispod dijafragme do bifurkacije na levu i desnu zajedničku bedrenu arteriju za noge. U početnom delu trbušna aorta daje pobočne grane (za jetru, creva i bubrege), celijačno stablo, gornju mezenteričnu arteriju, i levu i desnu bubrežnu arteriju, a u srednjem delu daje donju mezenteričnu arteriju. U svom toku pravi krivinu blago konveksnu udesno i prema napred.

Na Sl. 14.5 prikazana su rešenja za smičući napon modela aorte sa arterijama. Numerička simulacija je urađena sa krutim i deformabilnim zidovima. Osim aorte u model su uključene obe koronarne arterije, brachiocephalicus, leva zajednička karotida i subclavian arterija. Smičući napon (shear stress) predstavlja jedan od veoma važnih hemodinamskih parametara za određivanje zona moguće pojave stenoze i nagomilavanja masnih materija u krvi. Niske vrednosti smičućeg napona kao i pojave osculatornog indeksa smičućeg napona već su dokazani klinički parametri za procenu opasnih zona za razvoj arteroskleroze [21].



*SLIKA 14.5 Raspored smičućeg napona u aorti sa arterijama dobijen modeliranjem metodom konačnih elemenata: (a) kruti zidovi, (b) deformabilni zidovi*

**Karotidne arterijske bifurkacije** nalaze se sa obe strane u predelu vrata. Ove arterije snadbevaju mozak i lice krvlju. Svaka od dve karotidne arterije račva se na unutrašnju karotidnu arteriju koja snadbeva mozak i spoljašnju koja snadbeva lice krvlju. Arteroskleroza se uglavnom razvija na desnoj grani bifurkacije što izaziva velike probleme kod bolesnika. Rejnoldsov broj je približno oko 300. Arterije iza bifurkacije su pod uglom od oko  $25^\circ$  u odnosu na osu ulazne arterije. Karotidna arterija je od posebnog interesa jer su kod nje u najvećem procentu prisutni razni oblici stenoze. Sama hemodinamika strujanja prilično je kompleksna iz više razloga. Kompleksnost strujanja proističe zbog račvanja, zatim zbog promene prečnika karotide i grana, osculatornih pulzacija, reverzibilnih strujanja, smičućih napona koji se tu javljaju, itd. Najveći prečnik karotidne grane se nalazi odmah iza račvanja na unutrašnjoj karotidnoj arteriji i naziva se sinus. Upravo u tom delu na spoljašnjem zidu se najčešće javlja arterosklerotični plak [21]. Polje smičućeg napona u vrhu sistole za karotidnu arteriju prikazano je na Sl. 14.6.

Prikazana rešenja su samo mali segment od značajnih mogućnosti koje numeričko rešavanje strujanja krvi kroz arterije pruža savremenoj kliničkoj praksi. Budući softverski sistemi koji bi se direktno povezivali sa postojećim medicinskim



SLIKA 14.6 Polje smičućeg napona u vrhu sistole u karotidnoj arterijskoj bifurkaciji

uređajima koji obrađuju slike (CT skener, Magnetna Rezonanca, Angiografija, itd.) u sebi bi imali i ovakve vrste simulacija, što će značajno unaprediti dijagnostiku u medicini.

## 14.5 MODELIRANJE STENTA, INTERAKCIJA SA KRVOTOKOM ARTERIJA

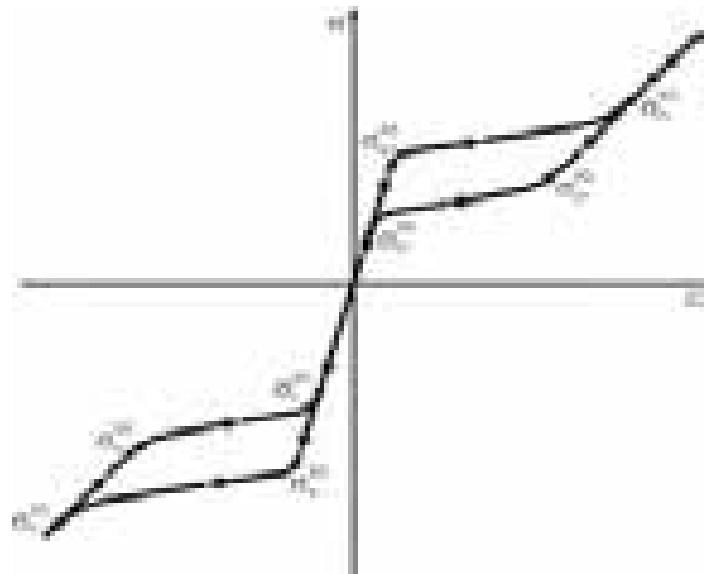
U ovom odeljku prikazuje se primena solid-fluid interakcije opisana u Od. 14.3 na probleme strujanja krvi kroz arterije, sa modeliranjem deformabilnosti zidova arterija u koje je ugrađen stent. Opisan je ukratko model nitinola od koga se stent najčešće izrađuje, a zatim su dati neki primeri rešenja numeričkog modeliranja.

**Pojam stenta.** U vaskularnoj hirurškoj praksi sve je veća upotreba stentova. Stentovi su žičane strukture valjkastog oblika čija je osnovna funkcija da obezbede fiziološke vrednosti veličine poprečnog preseka krvnog suda. Primenjuju se kod krvnih sudova kod kojih postoji suženje poprečnog preseka koje za posledicu ima smanjenje protoka krvi. Postupak se sastoji u tome da se skupljeni stent pozicionira na mesto suženja krvnog suda, a zatim se stent utisne u zid tako da obezbedi povećanje poprečnog preseka krvnog suda. Pošto stent ostaje utisnut u zid krvnog suda, znatno su promenjene materijalne karakteristike samog zida u smislu smanjenja njegove elastičnosti. Ova činjenica je vrlo bitna u hemodinamskom smislu, jer je strujanje krvi pulzativnog karaktera, gde elastičnost krvnog suda igra značajnu ulogu. Zato će i hemodinamske karakteristike zavisiti od mehaničkog ponašanja složene strukture, koju čine stent i zid krvnog suda.

U kliničkoj praksi su u upotrebi dve vrste stenta. Stentovi od nerđajućeg čelika (balloon expandable stents) i samošireći (self-expandable) stentovi koji se

izrađuju od nitinola. Čelični stentovi se utiskuju u zid krvnog suda pomoću specijalnih vazdušnih balona i imaju slabe elastične karakteristike. Nitinolski stentovi imaju superelastična svojstva. Oni se grade tako da formiraju cilindričnu strukturu, koja se zatim deformiše u cilindrični oblik malog prečnika tako da se lako unosi u krvni sud. Materijal ima osobinu da se pri oslobođanju vraća u prvobitni oblik (memorijska legura, shape-memory alloy). Zahvaljujući superelastičnosti, ovi stentovi obezbeđuju dobre elastične karakteristike zida na segmentu gde su ugrađeni, a zahvaljujući osobini „pamćenja oblika“ za njihovu ugradnju nije potreban vazdušni balon već se oni sami utiskuju u zid šireći se na temperaturi krvi.

Modeliranje mehaničkog odziva legure nitinola nije jednostavno jer nitinol ima superelastično i histerezisno ponašanje. Na Sl. 14.7 prikazana je kriva napon-deformacija nitinola pri cikličnom opterećivanju.



SLIKA 14.7 Kriva napon-deformacija nitinola pri cikličnom opterećivanju

Uzrok jedinstvenog makroskopskog ponašanja legure nitinola leži u specifičnoj mikro-mehanici. Naime, legura nitinola poseduje sposobnost reverzibilne strukturne fazne transformacije, poznate kao martenzitna fazna transformacija izazvana promenama naponskog stanja. Ovo je solid-solid transformacija između kristalne faze višeg reda zvane *austenit* i kristalne faze nižeg reda zvane *martenzit* [24] (v. Od. 17.1).

Pri nižim vrednostima napona materijal je u austenitnoj kristalnoj fazi. Tokom povećanja opterećenja, kako se povećavaju vrednosti napona u materijalu, pojavljuje se fazna transformacija i to iz austenita u martenzit. Možemo da kažemo da se materijal ponaša kao linearno elastičan i u austenitnoj i u martenzitnoj fazi, ali da se u te dve faze razlikuju moduli elastičnosti [25,26]. Dok je materijal u austenitnoj fazi, modul elastičnosti ima veću vrednost, a kada se nalazi u martenzitnoj fazi ovaj modul ima manju vrednost. Takođe, u austenitnoj fazi kriva rasterećenja prati

krivu opterećenja, dok u martenzitnoj fazi kriva opterećenja se razlikuje od krive rasterećenja, te na taj način materijal pokazuje histerezisno ponašanje.

**Konstitutivni materijalni model nitinola.** Kako je već navedeno, pri određenom naponskom stanju dolazi do fazne transformacije austenita u martenzit. Zato možemo da uvedemo parametar koji će biti mera fazne transformacije i koji će direktno zavisiti od naponskog stanja. Taj parametar ćemo označiti sa  $\xi_s$ , koji će predstavljati udio martenzitne frakcije. Takođe, deformaciju možemo razložiti na elastičnu i na deformaciju fazne transformacije. U tom slučaju gradijent deformacije (v. (13.11)) može se razložiti na sledeći način:

$$\mathbf{F} = \mathbf{F}^e \mathbf{F}^{tr} \quad (14.42)$$

gde su  $\mathbf{F}^e$  i  $\mathbf{F}^{tr}$  gradijent elastične deformacije i gradijent fazne transformacije, respektivno. Ova dekompozicija gradijenta deformacije odgovara uobičajenoj elastično-neelastičnoj multiplikativnoj dekompoziciji [26].

U cilju određivanja kriterijuma za pojavu fazne transformacije potrebno je da se definiše relacija između gradijenta deformacije i veličine stanja. Da bismo to uradili uvodimo levi Koši-Grinov tenzor deformacije (v. (13.14)) [26], definisan kao:

$$\mathbf{B} = \mathbf{F} \mathbf{F}^T = \mathbf{B}^e \mathbf{B}^{tr} \quad (14.43)$$

gde su  $\mathbf{B}^e$  i  $\mathbf{B}^{tr}$  elastični i transformacioni levi Koši-Grinov tenzor, respektivno [27].

Pretpostavljajući da je materijal izotropan usvajamo da Košijev napon  $\boldsymbol{\sigma}$  i levi Koši-Grinov tenzor deformacije imaju iste glavne pravce (v. (13.17)). Prema tome, napon možemo izraziti u obliku [26]:

$$\boldsymbol{\sigma} = \sum_{A=1}^3 \boldsymbol{\sigma}_A \bar{\mathbf{p}}_A \bar{\mathbf{p}}_A \quad (14.44)$$

gde su  $\boldsymbol{\sigma}_A$  glavni naponi, a  $\bar{\mathbf{p}}_A$  su glavni pravci tenzora  $\mathbf{B}$ . Uvodeći logaritamske deformacije (v. (13.17) i (13.18)):

$$e_A = \ln(\lambda_A), \quad e_A^e = \ln(\lambda_A^e), \quad e_A^{tr} = \ln(\lambda_A^{tr}) \quad (14.45)$$

iz jednačine (14.43) dobijamo izraz za ukupne logaritamske deformacije  $e_A$  kao zbir elastičnih  $e_A^e$  i transformacionih deformacija  $e_A^{tr}$ :

$$e_A = \ln(\lambda_A), \quad e_A^e = \ln(\lambda_A^e), \quad e_A^{tr} = \ln(\lambda_A^{tr}) \quad (14.46)$$

Deformacije možemo dalje predstaviti kao zbir zapreminske i devijatorskih deformacija (v. (13.23)),

$$e_V = e_V^e + e_V^{tr}, \quad e'_A = e'_A^e + e'_A^{tr} \quad (14.47)$$

Ovde su:

$$e_V = \ln(J), \quad e'_A = \ln(\bar{\lambda}_A); \quad e_V^e = \ln(J^e), \quad e'_A^e = \ln(\bar{\lambda}_A^e) \quad (14.48)$$

$$J = \lambda_1 \lambda_2 \lambda_3, \quad \bar{\lambda}_A = (J)^{-\frac{1}{3}} \lambda_A; \quad J^e = \lambda_1^e \lambda_2^e \lambda_3^e, \quad \bar{\lambda}_A^e = (J^e)^{-\frac{1}{3}} \lambda_A^e$$

Dalje, transformacione deformacije se izražavaju u obliku

$$e_V^{tr} = 3\alpha \varepsilon_L \xi_S, \quad e_A^{tr} = \varepsilon_L \xi_S N_A, \quad (14.49)$$

gde je  $\varepsilon_L$  skalarni parametar koji predstavlja maksimalnu deformaciju dobijenu faznom transformacijom. Takođe,  $N_A$  je definisano kao:

$$N_A = n_A + \alpha \quad (14.50)$$

gde je  $\alpha$  materijalni parametar, a  $n_A$  je:

$$n_A = \frac{S_A}{\|S\|} = \frac{e'_A}{\|e\|} \quad (14.51)$$

Ovde su  $S_A, A=1,2,3$ , glavni devijatorski naponi (v. (13.22) i (13.27)).

Konačno, koristeći konstitutivne relacije (13.21), dobijamo:

$$\sigma_m = K e_V^e, \quad S_A = 2G e_A'^e \quad (14.52)$$

i dalje

$$\sigma_m = K (e_V - 3\alpha \varepsilon_L \xi_S) \quad (14.53)$$

$$S_A = 2G (e'_A - \varepsilon_L \xi_S N_A) \quad (14.54)$$

Za definisanje zavisnosti fazne transformacije od naponskog stanja, uvodimo Druker-Prager funkciju [27] oblika

$$F(\sigma) = \|S\| + 3\alpha \sigma_m - CT \quad (14.55)$$

gde su  $T$  i  $C$  materijalne karakteristike. Dalje, parametar  $\xi_S$  razdvajamo na deo koji predstavlja meru fazne austenit-martenzit trasformacije  $\xi_S^{AS}$  i na deo koji predstavlja meru fazne martenzit-austenit transformacije  $\xi_S^{SA}$ , tako da je

$$\xi_S = \xi_S^{AS} + \xi_S^{SA} \quad (14.56)$$

Brzine promene parametara  $\xi_S^{AS}$  i  $\xi_S^{SA}$  izražavaju se u obliku:

$$\frac{d\xi_S^{AS}}{dt} = \frac{d\xi_S}{dt} = H^{AS} \beta^{AS} (1 - \xi_S) \frac{dF / dt}{(F - R_f^{AS})^2} \quad (14.57)$$

$$\frac{d\xi_S^{SA}}{dt} = \frac{d\xi_S}{dt} = H^{SA} \beta^{SA} \xi_S \frac{dF / dt}{(F - R_f^{SA})^2} \quad (14.58)$$

gde su  $\beta^{AS}$  i  $\beta^{SA}$  materijalni parametri, a  $H^{AS}$  i  $H^{SA}$  su skalarni parametri koji definišu kriterijum početka fazne trasformacije na osnovu naponskog stanja u materijalu:

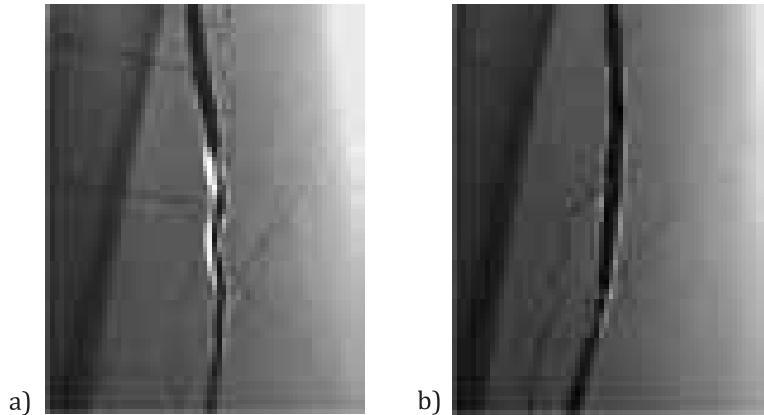
$$H^{AS} = \begin{cases} 1 \text{ ako je } \left\{ \begin{array}{l} R_s^{AS} < F < R_f^{AS} \\ \dot{F} > 0 \end{array} \right\} \\ 0 \text{ u ostalim slučajevima} \end{cases} \quad \text{pri čemu je} \quad \begin{cases} R_s^{AS} = \left[ \sigma_s^{AS} \left( \sqrt{\frac{2}{3}} + \alpha \right) \right] \\ R_f^{AS} = \left[ \sigma_f^{AS} \left( \sqrt{\frac{2}{3}} + \alpha \right) \right] \end{cases} \quad (14.59)$$

$$H^{SA} = \begin{cases} 1 \text{ ako je } \left\{ \begin{array}{l} R_s^{SA} < F < R_f^{SA} \\ \dot{F} < 0 \end{array} \right\} \\ 0 \text{ u ostalim slučajevima} \end{cases} \text{ pri čemu je} \quad \begin{cases} R_s^{SA} = \left[ \sigma_s^{SA} \left( \sqrt{\frac{2}{3}} + \alpha \right) \right] \\ R_f^{SA} = \left[ \sigma_f^{SA} \left( \sqrt{\frac{2}{3}} + \alpha \right) \right] \end{cases} \quad (14.60)$$

Ovde su  $\sigma_s^{AS}$ ,  $\sigma_f^{AS}$ ,  $\sigma_s^{SA}$ ,  $\sigma_f^{SA}$  materijalne konstante.

**Modeliranje arterije sa stentom.** Modeliranje arterije sa stentom u cilju određivanja mehaničkog odziva zida arterije i hemodinamike krvnog toka počinjemo sa generisanjem odgovarajućeg modela konačnih elemenata. To je složen model koji se sastoji od solida koji čine zid arterije i stent, i od fluidnog domena koji čini krv. Modeliranje mehaničkog ponašanja strukture solida zasniva se na principima mehanike solida, dok se računski model fluidnog toka zasniva na mehanici fluida. Zajedničko mehaničko ponašanje ova dva domena se usklađuje njihovim uzajamnim dejstvom na način kako je to opisano u Od. 14.4.

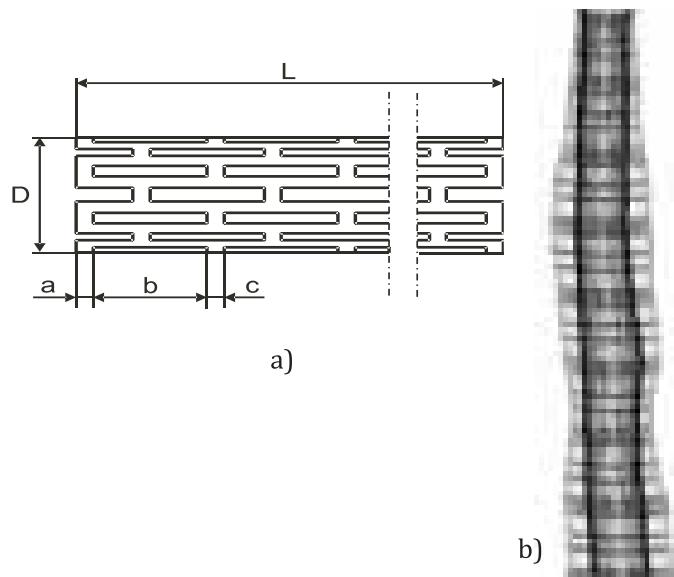
Za generisanje realističnog modela konačnih elemenata koristimo angiografske snimke femoralne arterije snimljene pre ugradnje stenta i posle ugradnje stenta (Sl. 14.8).



SLIKA 14.8 Angiografski snimak femoralne arterije: (a) pre ugradnje stenta, (b) posle ugradnje stenta.

Mreža konačnih elemenata za oba domena sastoji se od 3D osmočvornih elemenata. Usvojićemo da zajednički čvorovi konačnih elemenata kojima se modeliraju stent i zid arterije imaju ista pomeranja. Takođe, zajednički čvorovi solida i fluida imaju iste brzine.

U ovom primeru ćemo koristiti uprošćeni model tubularnog stenta (Palmaz-Shatz stent, proizvod firme *Johnson and Johnson Company*) [28, 29]. Na Sl. 14.9a prikazana je uprošćena geometrija tubularnog stenta. Na osnovu geometrije steno-



SLIKA 14.9 (a) Uprošćena geometrija tubularnog stenta, (b) 3D model konačnih elemenata

zne arterije (Sl. 14.8a i 14.8b) i na osnovu uprošćene geometrije tubularnog stenta, generišemo složen 3D model konačnih elemenata prikazan na Sl. 14.9b.

Usvojićemo da je stent napravljen od legure nitinola čije je mehaničko ponašanje definisano napred opisanim materijalnim modelom. Materijalne karakteristike legure nitinola su uzete iz literature [27] i date su ispod:

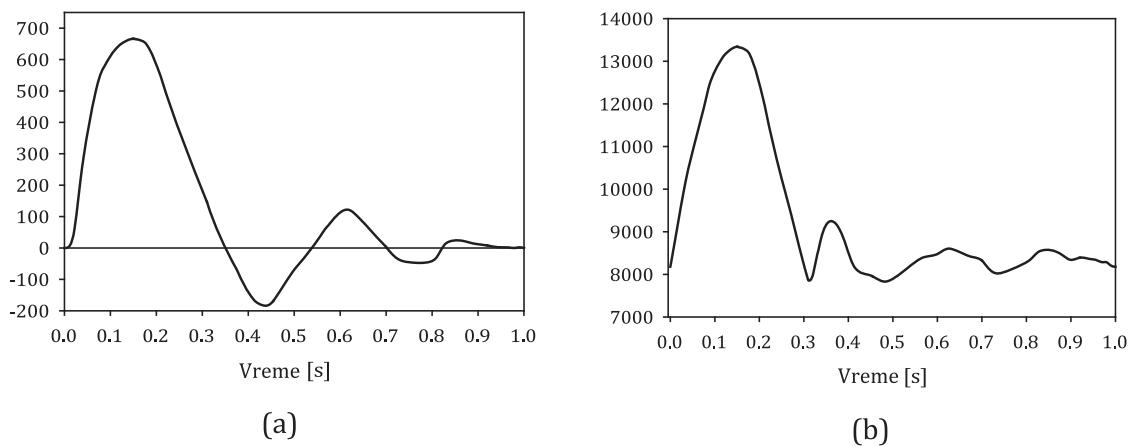
$$E = 60000 \text{ MPa}, v = 0.3, \epsilon_L = 7.5\%, C = 0 \text{ MPa}, \sigma_s^{AS} = 520 \text{ MPa}, \sigma_f^{AS} = 750 \text{ MPa}, \\ \beta^{AS} = 250 \text{ MPa}, \sigma_s^{SA} = 550 \text{ MPa}, \sigma_f^{SA} = 200 \text{ MPa}, \beta^{AS} = 250 \text{ MPa}$$

Takođe, usvojićemo da se zid arterije ponaša kao linerano elastični izotropni materijal, sa modulom elastičnosti  $E_{AR}=2.7 \text{ MPa}$  i Poasonovim koeficijentom  $v_{AR}=0.3$  [8, 30].

Za određivanje odziva mehaničkog sistema neophodno je definisati i granične uslove. Granični uslovi koji se odnose na fluid (krv) u ovom primeru su: (a) zadata promena maksimalne brzine fluida u toku jednog srčanog ciklusa u poprečnom preseku iznad dela krvnog suda gde je ugrađen stent (Sl. 14.10a), i (b) zadata promena pritiska u fluidu u toku srčanog ciklusa u poprečnom preseku ispod dela gde je ugrađen stent (Sl. 14.10b). Granični uslovi koji se odnose na solid (zid arterije) su takvi da čvorovi koji se nalaze u prvom i poslednjem poprečnom preseku nemaju pomeranja.

Korišćenjem programa za konačne elemente [31] dobijen je mehanički odziv opisanog modela, za zid arterije sa ugrađenim stentom i za krvotok.

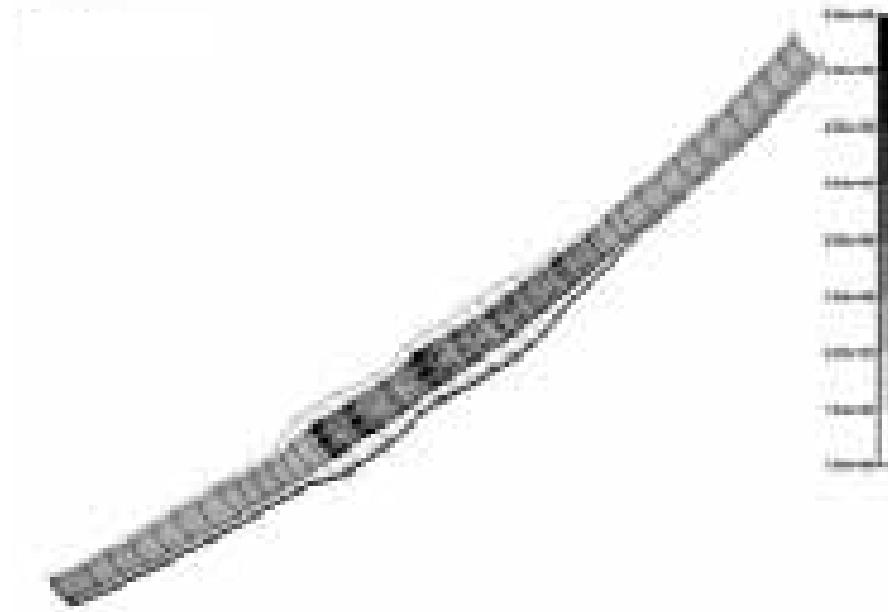
Na Sl. 14.11 prikazano je rešenje za efektivni (*Von-Mises-ov*) napon (koji je ekvivalent smičućeg napona) [26] u zidu arterije sa stentom, za trenutak srčanog ciklusa koji odgovara maksimalnoj vrednosti brzine krvi i maksimalnoj vrednosti pritiska (vrh sistole). Vidi se da se najveći naponi javljaju u zoni u kojoj je ugrađen



*SLIKA 14.10 Promena (a) maksimalne brzine fluida u toku jednog srčanog ciklusa, i  
(b) pritiska fluida u toku jednog srčanog ciklusa*

stent. To je zona znatno veće krutosti zato što sam stent ima za nekoliko redova veću krutost od zida krvnog suda. Takođe, u toj zoni je i sam zid krvnog suda zadebljan što mu drastično povećava krutost u odnosu na deo krvnog suda iznad i ispod mesta ugradnje stenta.

Na Sl. 14.12 prikazano je rešenje za efektivni napon u stentu, za trenutak srčanog ciklusa koji odgovara maksimalnoj vrednosti brzine strujanja krvi i maksimalnoj vrednosti pritiska. Vidi se da se najveći naponi javljaju u zonama poprečnih spojeva žičane strukture stenta. U tim zonama je struktura kruća nego u zonama gde nema poprečnih spojeva što za posledicu ima veće vrednosti napona.



*SLIKA 14.11 Polje efektivnog napona u zidu arterije sa ugrađenim stentom, vrh sistole.*



SLIKA 14.12 Polje efektivnog napona u stentu, vrh sistole.

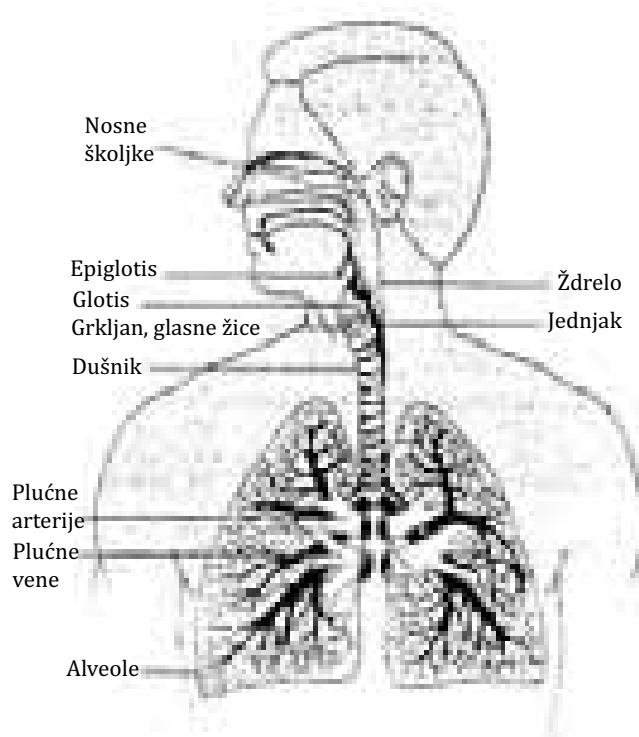
Prikazani rezultati ukazuju da je moguće povezati modeliranje složenih sistema strujanja krvi u arterijama sa stentom sa savremenom kliničkom dijagnostikom. Naime, uvid u deformacije i naponsko stanje u zidu i stentu, kao i u raspored brzina i pritisaka krvi, uključujući i polje smičućeg napona, može biti od pomoći pri planiranju operacija (prvo se uradi simulacija na računaru). Takođe, ovakvo modeliranje može biti od velikog značaja u optimalnom dizajniranju graftova i anastomoz, i to na pojedinačnim slučajevima kod vaskularnih hirurških intervencija.

## 14.6 MODELIRANJE STRUJANJA VAZDUHA U RESPIRATORNOM SISTEMU

Još jedna primena kompjuterskog modeliranja strujanja fluida jeste na strujanje vazduha u respiratornom sistemu. U ovom odeljku se opisuju osnovne fiziološke definicije strujanje vazduha u disajnim organima. Takođe su data i reprezentativna numerička rešenja.

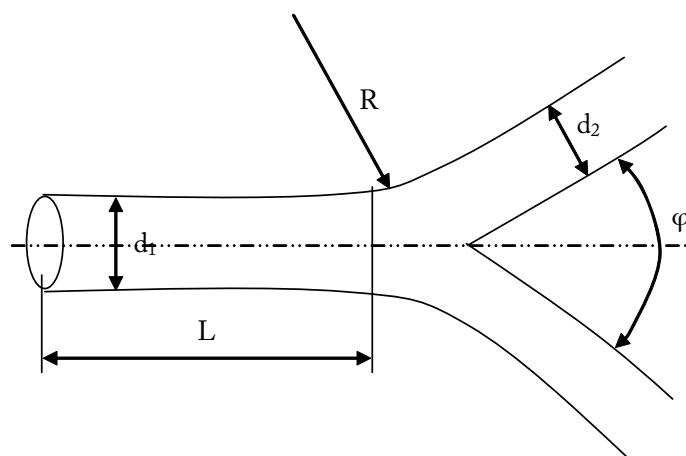
**Uvodna razmatranja o respiratornom sistemu.** Osnovna funkcija respiratornog sistema jeste razmena gasova, pri čemu se pod razmenom podrazumeva kretanje kiseonika iz vazduha u krv i kretanje ugljen-dioksida u suprotnom smeru. Pluća se sastoje iz mreže bronhija koje postaju sve uže, kraće i brojnije kako se granaju duboko u plućima. Pošto prođe kroz nos i farinks, vazduh stiže u pluća pu-

tem traheje, bronhija i bronhiola. Traheja se naziva disajnim putem prve generacije (poluprečnika 0,9 cm), a dve glavne bronhije, desna i leva, čine drugu generaciju. Svako dalje grananje daje narednu generaciju disajnih puteva. Pre nego što konačno dospe u alveole, vazduh prolazi kroz 20 do 25 generacija disajnih puteva. Na Sl. 14.13 dat je šematski prikaz respiratornog sistema. Poluprečnici alveola su oko 150  $\mu\text{m}$ . Kod odraslog čoveka ukupna površina koju zauzimaju alveole je oko  $100 \text{ m}^2$ , što govori o velikoj i razgranatoj mreži za difuznu razmenu gasova. Treba naglasiti da zidovi respiratornog sistema poseduju viskoelastične karakteristike tako da se njihove dužine i prečnici povećavaju, kao što se i zapremina pluća značajno povećava pri udisanju. Razlikuju se dve faze prilikom disanja: inspiracija – kada dolazi do udisanja, i ekspiracija – kada dolazi do izdisanja.



SLIKA 14.13 Šematski prikaz respiratornog sistema

**Opis bifurkacije respiratornog sistema.** Osnovna karakteristika geometrije respiratornog sistema jeste bifurkacija (račvanje) jedne cevi (prečnika  $d_1$ ) u dve manje cevi (prečnika  $d_2$ ), kao što je prikazano na Sl. 14.14. Proučavanja mnogih autora dovela su do tipičnih karakteristika geometrije bifurkacije [32]: (a)  $L/d_1 \approx 3,5$ ; (b)  $d_2/d_1 \approx 0,79$  za generacije od 0–16; (c) odnos površina  $2(d_2/d_1)^2 = 1,20 - 1,25$  za bifurkacije iza treće generacije; (d) ugao račvanja  $\varphi$  se kreće u opsegu od  $64^\circ$  do  $100^\circ$ ; i (e) aksijalni poluprečnik krivine  $R$  kreće se između  $5d_1$  i  $10d_1$ . Za prve tri generacije bifurkacije važi da se površina poprečnog preseka smanjuje, pri čemu dolazi na minimum u trećoj generaciji. Razvojem modernih CAD sistema moguće

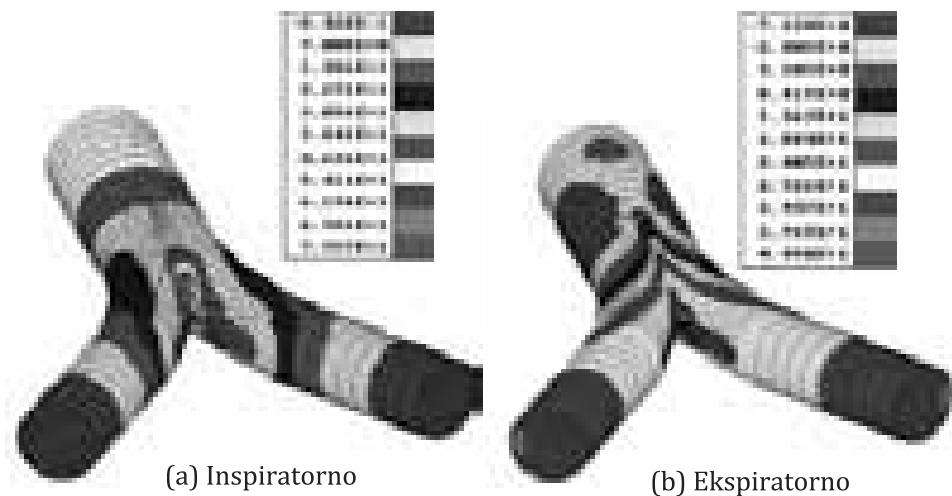


SLIKA 14.14 Model bifurkacije respiratornog sistema

je vrlo precizno opisati geometriju bifurkacije korišćenjem fraktalnih algoritama i teorijom splajnova.

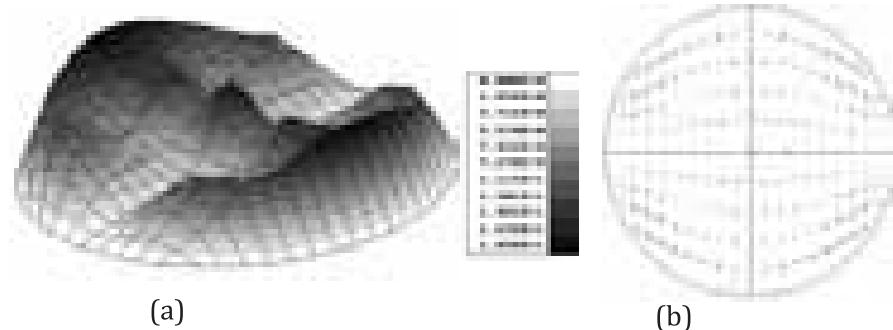
Kao posledica kompleksne geometrije i složenih uslova strujanja fluida (vazduha) koji karakterišu uzastopne bifurkacije, javlja se nekoliko fenomena kao što su: poremećaj aksijalnih profila brzina, helikoidno kretanje i odvajanje strujanja. Tako složene karakteristike kretanja vazduha doprinose taloženju čestica i raspršivanju aerosola u plućima. Upravo zbog toga je bitno poznavati dinamiku strujanja vazduha, koja može značajno pomoći ranom otkrivanju mnogih bolesti respiratornog sistema.

**Numerički primeri.** Veoma je komplikovano rešavati sve generacije istovremeno. Najčešće se modelira glavna plućna bifurkacija (traheja) i to u fazi maksimalne ekspiracije i maksimalne inspiracije. Jedno od takvih rešenja za polje pritiska vazduha u traheji za vreme inspiracije i ekspiracije prikazano je na Sl. 14.15.

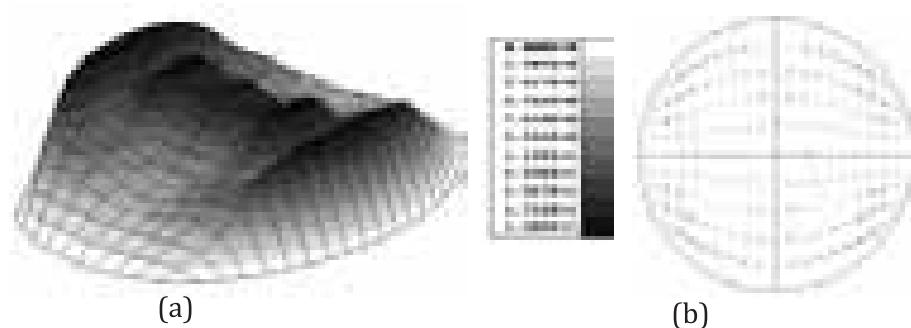


SLIKA 14.15 Polje pritisaka u 3D modelu bifurkacije za stacionarno strujanje

Takođe je od velikog interesa poznavanje aksijalne i radijalne brzine u ravni bifurkacije za stacionarno inspiratorno i ekspiratorno strujanje u preseku gornjeg dela traheje; ova rešenja su prikazana na Sl. 14.16 i 14.17.



*SLIKA 14.16 Aksijalna i radijalna brzina u ravni bifurkacije za stacionarno ekspiratorno strujanje u preseku gornjeg dela traheje: (a) 3D prikaz aksijalne brzine, (b) radijalna brzina (maksimlana brzina 2,36 cm/s)*

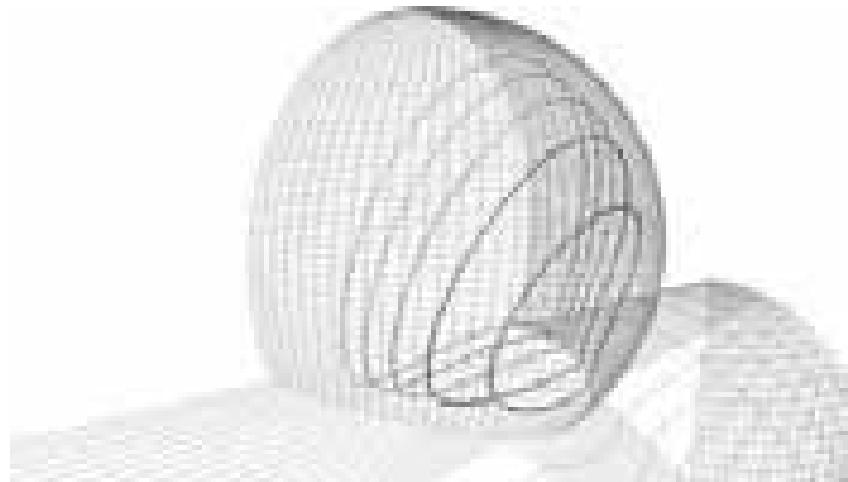


*SLIKA 14.17 Aksijalna i radijalna brzina u ravni bifurkacije za stacionarno ekspiratorno strujanje u preseku gornjeg dela traheje: (a) 3D prikaz aksijalne brzine, (b) radijalna brzina (maksimlana brzina 3,92 cm/s)*

Modeliranje alveola kao završetaka plućnih bifurkacija od posebnog je interresa za proučavanje taloženja aerosola, plućnih bolesti astme, spazma, itd. Trodimenzionalne (3D) strujnice za stacionarno strujanje vazduha unutar alveola prikazane su na Sl. 14.18.

## 14.7 MODELIRANJE HRSKAVICE

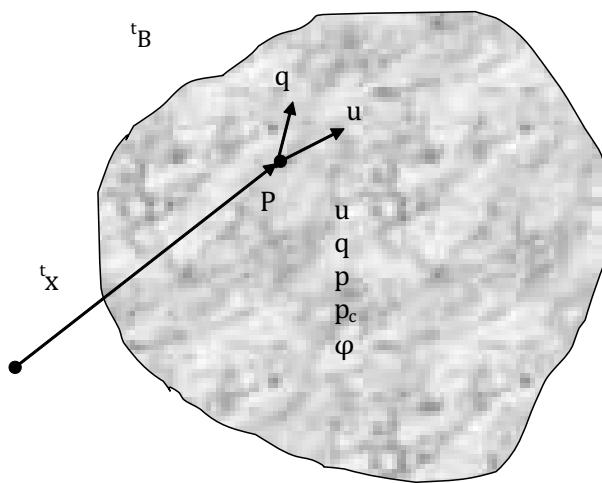
U čovekom organizmu postoji veliki broj vrsta hrskavice koje regulišu takozvani „meki“ kontakt između kostiju. Tema ovog odeljka jeste način modeliranja



*SLIKA 14.18 Prikaz strujnica u 3D modelu alveola*

hrskavice. Pošto je hrskavica porozna sredina sa solidom i fluidom, radi se o spregnutom problemu polja fizičkih veličina. Međutim, osnovne jednačine i sprezanje polja bitno se razlikuju od opisanih u Od. 14.3. Ovde se, pored teorijskih osnova, daje numeričko rešenje za diskus kičme čoveka.

**Uvodna razmatranja proučavanja hrskavice.** Fenomen deformisanja hrskavice predmet je mnogih eksperimentalnih i teorijskih istraživanja. Mnogi autori [33–40] posmatrali su hrskavicu sa inženjerskog aspekta. Pošto se hrskavica posmatra kao porozna sredina kroz koju se kreće fluid, osnovni zakon koji definiše strujanje je Darsijev zakon. Međutim, u hrskavici se odvijaju i procesi hemijske difuzije, koji se opisuju na razne načine, na primer preko „swelling“ pritiska (pritiska naduvanja) [41–44], ili nastajanja električnog potencijala [45–48].



*SLIKA 14.19 Konfiguracija  $tB$  u trenutku  $t$  i veličine u materijalnoj tački  $P$  hrskavice posmatrane kao kontinuum*

Za rešavanje ovako spregnutog problema strujanja fluida kroz poroznu deformabilnu sredinu korišćene su razne formulacije metode konačnih elemenata. Neki autori [49, 50] su koristili **u-p** formulaciju, gde su nepoznate veličine u čvorovima konačnih elemenata pomeranja solida i pritisak fluida, po analogiji sa problemima u geomehanici. Drugu formulaciju **u-w** (pomeranja solida i pomeranja fluida) koristili su autori [42,43]. Opštija formulacija **u-p-q** uzima u obzir pomeranja solida, pritisak i brzine fluida [51]. Ova formulacija je pogodnija za analizu zbog opštih graničnih uslova. Dalje proširenje **u-p-q** formulacije dato je u radu [52] dodavanjem elektrokinetičkog sprezanja, prema **u-p-q-φ** formulaciji, gde je  $\varphi$  električni potencijal.

**Osnovne jednačine strujanja fluida kroz poroznu deformabilnu sredinu.** Hrskavica se razmatra kao porozna deformabilna sredina čije su pore ispunjene fluidom. Tekuća konfiguracija u trenutku  $t$ , kao što je prikazano na Sl. 14.19, označena je sa  ${}^t\mathbf{B}$ , a vektor položaja materijalne tačke  $P$  je  ${}^t\mathbf{x}$ . Fizičke veličine u materijalnoj tački su: pomeranje solida  $\mathbf{u}$ , relativna brzina fluida u odnosu na solid (Darsijeva brzina)  $\mathbf{q}$ , pritisak fluida  $p$ , pritisak naduvanja  $p_s$  odnosno električni potencijal  $\varphi$ .

Dalje se ukratko predstavljaju osnovne jednačine za prethodno opisan spregnuti problem. Polazimo od dinamičke jednačine kretanja solida,

$$(1-n)\mathbf{L}\boldsymbol{\sigma}_s + (1-n)\rho_s \mathbf{b} + \mathbf{k}^{-1}n\mathbf{q} - (1-n)\rho_s \ddot{\mathbf{u}} = 0 \quad (14.61)$$

gde su:  $\boldsymbol{\sigma}_s$  – napon u fazi solida,  $n$  – poroznost,  $\mathbf{k}$  – matrica permeabilnosti,  $\rho_s$  – gustina solida,  $\mathbf{b}$  zapreminska sila po jedinici mase,  $\mathbf{q}$  – relativna brzina fluida,  $\ddot{\mathbf{u}}$  – ubrzanje solida. Diferencijalni operator  $\mathbf{L}^T$  je

$$\mathbf{L}^T = \begin{bmatrix} \frac{\partial}{\partial x_1} & 0 & 0 & \frac{\partial}{\partial x_2} & 0 & \frac{\partial}{\partial x_3} \\ 0 & \frac{\partial}{\partial x_2} & 0 & \frac{\partial}{\partial x_1} & \frac{\partial}{\partial x_3} & 0 \\ 0 & 0 & \frac{\partial}{\partial x_3} & 0 & \frac{\partial}{\partial x_2} & \frac{\partial}{\partial x_1} \end{bmatrix} \quad (14.62)$$

Zatim, diferencijalna jednačina kretanja za fazu fluida je (bez elektrokinetičkog sprezanja):

$$n\nabla p + n\rho_f \mathbf{b} - \mathbf{k}^{-1}n\mathbf{q} - n\rho_f \dot{\mathbf{v}}_f = 0 \quad (14.63)$$

gde je  $p$  pritisak fluida u porama,  $\rho_f$  gustina fluida i  $\dot{\mathbf{v}}_f$  je ubrzanje fluida. Iz jednačina (14.61) i (14.63) sledi:

$$\mathbf{L}^T \boldsymbol{\sigma} + \rho \mathbf{b} - \rho \ddot{\mathbf{u}} - \rho_f \dot{\mathbf{q}} = 0 \quad (14.64)$$

gde je  $\boldsymbol{\sigma}$  totalni napon koji se može izraziti preko članova  $\boldsymbol{\sigma}_s$  i  $p$  kao

$$\boldsymbol{\sigma} = (1-n) \boldsymbol{\sigma}_s - n \mathbf{m} p \quad (14.65)$$

i  $\rho = (1-n)\rho_s + n\rho_f$  je gustina mešavine. Konstantni vektor  $\mathbf{m}$  definiše se kao  $\mathbf{m}^T = [111000]$  i označava da se doprinos pritiska fluida odnosi samo na normalne

napone. Takođe se uzima u obzir da pritisak fluida ima pozitivan znak u pravcu kompresije, kao i da su zatežući naponi i deformacije pozitivni. U daljoj analizi koristi se efektivni napon koji se definiše kao

$$\boldsymbol{\sigma}' = \boldsymbol{\sigma} + \mathbf{m}p \quad (14.66)$$

i koristi se u konstitutivnim relacijama za solid. Relativna brzina fluida (Darsijeva brzina)  $\mathbf{q}$  definiše se kao zapremina fluida koja kroz jediničnu površinu mešavine prođe u jedinici vremena,

$$\mathbf{q} - n(\mathbf{v}_f - \dot{\mathbf{u}}) \quad (14.67)$$

Jednačina (14.63) može se napisati kao

$$-\nabla p + \rho_f \mathbf{b} - \mathbf{k}^{-1} \mathbf{q} - \rho_f \ddot{\mathbf{u}} - \frac{\rho_f}{n} \dot{\mathbf{q}} = \mathbf{0} \quad (14.68)$$

Sledeća osnovna jednačina je konstitutivna relacija za solid

$$\boldsymbol{\sigma}' - \mathbf{C}^E (\mathbf{e} - \mathbf{e}_p) \quad (14.69)$$

gde je  $\mathbf{C}^E$  elastična konstitutivna matrica skeleta solida,  $\mathbf{e}$  je ukupna deformacija, a  $\mathbf{e}_p$  je deformacija solida usled delovanja pritiska fluida [50],

$$\mathbf{e}_p = -\frac{\mathbf{m}}{3K_s} p \quad (14.70)$$

gde je  $K_s$  zapreminski modul materijala solida.

Jednačina kontinuiteta fluida [50] glasi

$$Q_v + Q_p + Q_\rho + Q_s + \nabla^T (\rho_f \mathbf{q}) = 0 \quad (14.71)$$

gde su:

(a) brzina zapreminske deformacije:

$$Q_v = \rho_f \frac{\partial \mathbf{e}_v}{\partial t} = \rho_f \mathbf{m}^T \frac{\partial \mathbf{e}}{\partial t} \quad (14.72)$$

(b) stišljivost zrnaca solida:

$$Q_p = \rho_f \frac{1-n}{K_s} \frac{\partial p}{\partial t} \quad (14.73)$$

(c) stišljivost fluida:

$$Q_\rho = \frac{n\rho_f}{K_f} \frac{\partial p}{\partial t} \quad (14.74)$$

gde je  $K_f$  zapreminski modul fluida; i

(d) stišljivost materijala solida usled dejstva efektivnog napona  $\sigma'$ :

$$Q_s = -\frac{\rho_f}{3K_c} \mathbf{m}^T \frac{\partial \boldsymbol{\sigma}'}{\partial t} \quad (14.75)$$

Korišćenjem elastičnog konstitutivnog zakona i jednačina (14.72–75), može se jednačina kontinuiteta (14.71) napisati kao

$$\nabla^T \mathbf{q} + \left( \mathbf{m}^T - \frac{\mathbf{m}^T \mathbf{C}^E}{3K_s} \right) \dot{\mathbf{e}} + \left( \frac{1-n}{K_s} + \frac{n}{K_f} - \frac{\mathbf{m}^T \mathbf{C}^E \mathbf{m}}{9K_s^2} \right) \dot{p} = 0 \quad (14.76)$$

Procesi hemijske difuzije ili efekti „swelling“ pritiska opisuju se jednačinama elektrokinetičkog sprezanja [45–46]. Naime, kombinacijom Omovog i Darsijevog zakona utvrđene su sledeće relacije [47]:

$$\begin{Bmatrix} \mathbf{q} \\ \mathbf{j} \end{Bmatrix} = \begin{bmatrix} -k_{11} & k_{12} \\ k_{21} & -k_{22} \end{bmatrix} \begin{Bmatrix} \nabla p \\ \nabla \phi \end{Bmatrix} \quad (14.77)$$

gde je:  $\mathbf{j}$  gustina električne struje,  $\phi$  električni potencijal,  $k_{11}$  je Darsijeva hidraulična permeabilnost,  $k_{22}$  je električna provodnost; i  $k_{12}$  i  $k_{21}$  su elektrokinetički koeficijenti sprezanja. Takođe se koristi i jednačina kontinuiteta za gustinu struje  $\mathbf{j}$ ,

$$\nabla^T \mathbf{j} = 0 \quad (14.78)$$

**Jednačine balansa konačnog elementa.** U ovom odeljku navodi se konačan oblik jednačina balansa konačnog elementa, koje se dobijaju transformacijom osnovnih jednačina (14.64), (14.68), (14.76), (14.77) i (14.78) na način opisan u Od. 13.4 i 14.2.

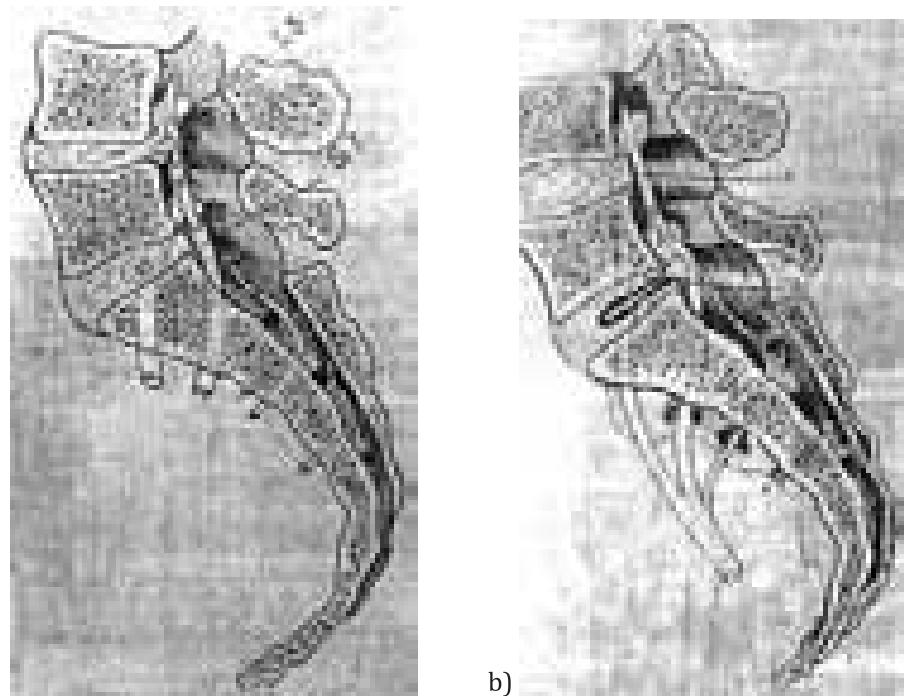
Jednačine balansa konačnog elementa su:

$$\begin{aligned} & \begin{bmatrix} \mathbf{m}_{uu} & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ \mathbf{m}_{qu} & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} \begin{Bmatrix} {}^{t+\Delta t} \underline{\mathbf{u}} \\ {}^{t+\Delta t} \underline{\mathbf{p}} \\ {}^{t+\Delta t} \underline{\mathbf{q}} \\ {}^{t+\Delta t} \underline{\phi} \end{Bmatrix} + \begin{bmatrix} 0 & 0 & \mathbf{c}_{uq} & 0 \\ \mathbf{c}_{pu} & \mathbf{c}_{pp} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \mathbf{c}_{qq} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} \begin{Bmatrix} {}^{t+\Delta t} \underline{\mathbf{u}} \\ {}^{t+\Delta t} \underline{\mathbf{p}} \\ {}^{t+\Delta t} \underline{\mathbf{q}} \\ {}^{t+\Delta t} \underline{\phi} \end{Bmatrix} \\ & + \begin{bmatrix} \mathbf{k}_{uu} & \mathbf{k}_{up} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \mathbf{k}_{pq} & 0 \\ 0 & \mathbf{k}_{qp} & \mathbf{k}_{qq} & \mathbf{k}_{q\phi} \\ 0 & \mathbf{k}_{\phi p} & 0 & \mathbf{k}_{\phi\phi} \end{bmatrix} \begin{Bmatrix} \Delta \underline{\mathbf{u}} \\ \Delta \underline{\mathbf{p}} \\ \Delta \underline{\mathbf{q}} \\ \Delta \underline{\phi} \end{Bmatrix} = \begin{Bmatrix} {}^{t+\Delta t} \mathbf{f}_u \\ {}^{t+\Delta t} \mathbf{f}_p \\ {}^{t+\Delta t} \mathbf{f}_q \\ {}^{t+\Delta t} \mathbf{f}_\phi \end{Bmatrix} \end{aligned} \quad (14.79)$$

gde matrice i vektori u ovom sistemu slede iz osnovnih jednačina i postupka transformisanja osnovnih jednačina na oblik jednačina balansa konačnog elementa.

**Analiza vertebralnog dinamičkog segmenta.** Bol u leđima i ostale abnormalnosti kičmenog stuba oduvek su predstavljali veliki problem. Oko 80% svih poremećaja u vezi kičmenog stuba odnosi se na probleme intervertebralnog diskusa. Gotovo svi ljudi u dobu preko 50 godina susreću se sa problemom bola u leđima. Ogroman procenat uzroka tih bolova leži u oštećenjima diskusa kičmenih pršljenva.

Osnovna funkcionalna jedinica kičmenog stuba jeste tzv. vertebralni dinamički segment koji se sastoji iz dva susedna pršljena, međupršljenskog diskusa, dva intervertebralna (apofizna) zglobova, i ligamenata (prednji i zadnji uzdužni liga-



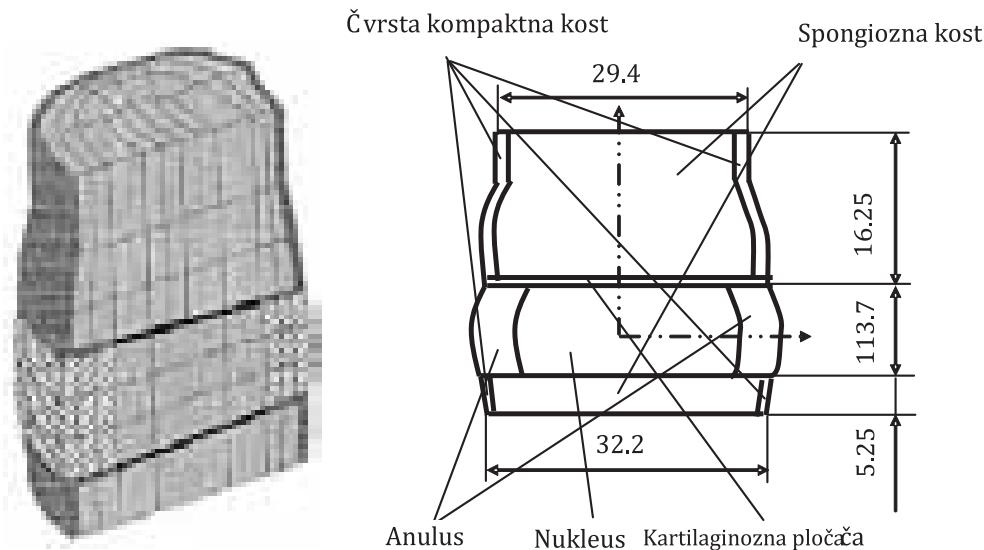
*SLIKA 14.20 Prikaz hernije diskusa: (a) L4-L5 sa kompresijom L5 korena, (b) L5-S1 sa kompresijom S1 korena*

ment, žuti i interspinalni ligament) koji ih, zajedno sa diskusom, čvrsto povezuju. Intervertebralni diskus sastoji se iz dva dela: spoljnog fibroznog prstena (annulus fibrosus) i unutrašnjeg želatinoznog dela (nucleus pulposus) koji je funkcionalno značajniji. Fibrozni prsten sastoji se iz čvrstih vezivnih vlakana koje urastaju u pršljensko telo i vezuju diskus za pršljen. Nucleus pulposus sastoji se iz osnovne supstance i kolagenih vlakana potopljenih u njoj. Osnovnu supstancu čine voda i hidrofilni proteoglikoni koji se sastoje iz proteina i glikozoaminoglikana.

Pri naglom povećanju pritiska u diskusu (dizanje tereta), neuobičajenom pokretu, ili čak bez posebnog razloga, može doći do prskanja perifernog dela anulusa i protruzije diskusa. Istovremeno ili kasnije može se otvoriti i uzdužni ligament sa prolapsom diskusa (hernija diskus). Hernija diskusa prikazana je na Sl. 14.20.

**Deformisanje lumbarnog dinamičkog segmenta pri aksijalnoj kompresiji.** Razmatra se mehanički odziv vertebralnog dinamičkog segmenta pod dejstvom konstantnog aksijalnog opterećenja. Geometrijski i materijalni podaci dati su na Sl. 14.21.

Zapreminske moduli stišljivosti za solid  $K_s$  i za fluid  $K_f$  veoma su veliki jer se prepostavlja da su obe faze nestišljive. Zbog osnosimetričnosti problema analizira se jedan presek. Granični uslovi su uslovi osnosimetričnosti za pomeranja solida i brzinu fluida, da nema strujanja između diskusa i kostiju pršljena, i da je pritisak na obodu diskusa jednak nuli. Ovde se prepostavlja da su svi materijali porozni, odnosno da svi materijali imaju permeabilnost.



Materijal	Modul elastičnosti	Puasonov koeficijent	Poroznost	Permeabilnost
Spongiozna kost	1517E6	0.14	0.5	1.0E-10
Kompaktna kost	12480E6	0.28	0.5	1.0E-15
Kartilaginozna ploča	490E6	0.40	0.7	1.0E-14
Nukleus	1.0E5	0.45	0.7	1.0E-13
Anulus	8.0E5	0.45	0.7	1.0E-15

SLIKA 14.21 Geometrijski i materijalni podaci za vertebralni dinamički segment

Polja napona prilikom opterećenja od 400 N prikazana su na Sl. 14.22. Rezultati za opterećenje od 400 N dobijeni su korišćenjem **u-p-q** formulacije za razne trenutke vremena dati na Sl. 14.22, a odnose se na neoštećeni diskus.

Ovaj primer ukazuje na mogućnosti vezane sa korišćenje kompjuterskog modeliranja hrskavice u savremenoj medicinskoj praksi fizikalne medicine. Precizno određivanje intradiskalnog pritiska, napona oštećenih diskusa, količine vode koja se istiskuje iz hrskavice, samo su neki od veoma relevantnih kliničkih pokazatelia koji se teško mogu *in vivo* meriti kod pacijenata. Upravo numeričke simulacije pružaju mogućnosti rešenja ovih teškoća, uz buduće povezivanje u dijagnostičke kliničke sisteme.

## 14.8 PITANJA ZA REKAPITULACIJU

- 14.1 Koje su osnovne jednačine balansa fluida?
- 14.2 U čemu je razlika između jednačina ravnoteže sila za solid i za fluid?

- 14.3 Na koji način se dobijaju jednačine balansa konačnog elementa za fluid?
- 14.4 Objasniti pojedine matrice i vektore u jednačinama balansa konačnog elementa za fluid.
- 14.5 Koje se vrste sprezanja koriste za solid-fluid interakciju i u čemu je razlika između njih?
- 14.6 Kako u principu treba da bude organizovan softver za modeliranje solid-fluid interakcije u metodi slabog sprezanja?
- 14.7 Koje su fizičke veličine fiziološki bitne, a mogu se odrediti kompjuterskim modeliranjem?
- 14.8 Objasniti pojam smičućeg napona u strujanju krvi.
- 14.9 Kako se modelira stent u krvnom sudu?
- 14.10 Koje vrste deformacija su sadržane u modelu nitinola?
- 14.11 Opisati numerička rešenja modela arterije sa stentom.
- 14.12 Koje su osnovne karakteristike strujanja vazduha u disajnim putevima i koje informacije od interesa za plućne bolesti pružaju numerička rešenja?
- 14.13 Kojim se modelom opisuje mehanički odziv hrskavice i koje su osnovne jednačine balansa?
- 14.14 Kako se opisuju efekti hemijskih procesa u krskavici?
- 14.15 Kako se dobijaju jednačine balansa konačnog elementa za model hrskavice?

## **14.9 LITERATURA**

1. M. Kojić, R. Slavković, M. Živković, N. Grujović, *Metod Konačnih Elemenata I*, Mašinski fakultet u Kragujevcu, 1998.
2. R. W. Lewis, K. Morgan, *The Finite Element Method in Heat Transfer Analysis*, John Wiley & Sons, 1996.
3. K. H. Huebner, *The Finite Element Method*, John Wiley & Sons, 1975.
4. R. H. Gallagher, J. T. Oden, C. Taylor, O. C. Zienkiewicz, *Finite Elements in Fluids – Vol. 1*, John Wiley & Sons, 1975.
5. R. H. Gallagher, J. T. Oden, C. Taylor, O. C. Zienkiewicz, *Finite Elements in Fluids – Vol. 2*, John Wiley & Sons, 1975.
6. R. H. Gallagher, J. T. Oden, C. Taylor, O. C. Zienkiewicz, *Finite Elements in Fluids – Vol. 3*, John Wiley & Sons, 1978.
7. R. H. Gallagher, J. T. Oden, C. Taylor, O. C. Zienkiewicz, *Finite Elements in Fluids – Vol. 5*, John Wiley & Sons, 1984.
8. R. H. Gallagher, J. T. Oden, C. Taylor, O. C. Zienkiewicz, *Finite Elements in Fluids – Vol. 7*, John Wiley & Sons, 1987.
9. O. C. Zienkiewicz, *The Finite Element Method*, III Edition, McGRAW-HILL, 1977.

10. M. Kojić, N. Filipović, R. Slavković, M. Živković, N. Grujović, PAK-F Program za rešavanje strujanja viskoznog nestišljivog fluida sa prenosom topoteke metodom konačnih elemenata, Mašinski fakultet Kragujevac, 34000 Kragujevac, Jugoslavija, 1996.
11. N. Filipović, *Doktorska disertacija: Numeričko rešavanje spregnutih problema i deformabilnog tela i fluida*, Mašinski fakultet u Kragujevcu, 1999.
12. N. Filipovic, S. Mijailovic, A. Tsuda, M. Kojic, An implicit algorithm within the arbitrary Lagrangian-Eulerian formulation for solving incompressible fluid flow with large boundary motions, *Comp. Meth. Appl. Mech. Engng.*, 195, 6347–6361, 2006.
13. T. J. Pedley, Stephanoff, Flow along a channel with a time dependent indentation in one wall: the generation of vorticity waves, *J. Fluid Mech.*, 160, 337–367, 1985.
14. M. E. Ralf, T.J. Pedley, Flow in a channel with a moving indentation, *J. Fluid Mech.*, 88, 87–112, 1988.
15. T. W. Lowe, T. J. Pedley, Computation of Stokes flow in a channel with a collapsible segment, *Journal of Fluids and Structures*, 9, 885–905, 1995.
16. X. Z. Luo, T. J. Pedley, A numerical simulation of unsteady flow in a two-dimension collapsible channel, *J. Fluid Mech.*, 314, 191–225, 1996.
17. J. R. Cebral, Loose Coupling Algorithms for Fluid-Structure Interaction, Dissertation, George Mason University, Virginia, 1996.
18. W. A. Wall, E. Ramm, Fluid-structure interaction based upon a stabilized (ALE) finite element method, *Computational Mechanics*, CIMNE, Barcelona, 1998.
19. J. Sarrate, A. Huerta, J. Donea, Arbitrary Lagrangian-Eulerian formulation for fluid-multi rigid bodies interaction problems, *Computational Mechanics*, CIMNE, Barcelona, 1998.
20. M. Heil, Stokes flow in an elastic tube – A large displacement fluid-structure interaction problem, *International Journal for Numerical Methods in Fluids*, 1998.
21. N. Filipovic, M. Kojic, Computer simulations of blood flow with mass transport through the carotid artery bifurcation. *Theoret. Appl. Mech. (Serbian)* 31 (1), 1–33, 2004.
22. A. C. Guyton, *Medicinska Fiziologija*, Medicinska knjiga, Beograd, 1996.
23. T. W. Taylor, T. Yamaguchi, Realistic three-dimensional left ventricular ejection determined from computational fluid dynamics, *Medical Engineering & Physics*, 58, 427–437, 1998.
24. F. Auricchio, A robust integration-algorithm for a finite-strain shape-memory-alloy superelastic model, *International Journal of Plasticity* 17, 971–990, 2001.
25. P. R. Barrett, D. Fridline, User Implemented Nitinol Material Model in ANSYS. 2003.
26. M. Kojic, K. J. Bathe, *Inelastic Analysis of Solids and Structures*, Springer, Berlin-Heidelberg, 2005.
27. F. Auricchio, R. Taylor, Shape-memory alloys: modelling and numerical simulations of the finite-strain superelastic behavior. *Comput. Methods Appl. Mech. Engrg.* 143, 175–194, 1997.
28. F. Etave, G. Finet, M. Boivin, J.-C. Boyer, G. Rioufol, G. Thollet, Mechanical properties of coronary stents determined by using finite element analysis. *Journal of Biomechanics*. 34, 1065–1075, 2001.

29. F. Migliavacca, L. Petrini, F. Auricchio, G. Dubini, Deployment of an intravascular stent in coronary stenotic arteries: A computational study, Summer Bioengineering Conference, June 25–29, 2003, Sonesta Beach Resort in Key Biscayne, Florida.
30. C. Lally, F. Dolan, P. J. Prendergast. Cardiovascular stent design and vessel stresses: a finite element analysis. *Journal of Biomechanics*, 38, 1574–1581, 2005.
31. M. Kojic R. Slavkovic M. Zivkovic N. Grujovic, PAK –S Finite Element Program for Linear and Non-linear Structural Analysis, Faculty of Mechanical Engineering, University of Kragujevac, 1996.
32. J. B. Groteberg, Pulmonary flow and transport phenomena, *Annu. Rev. Fluid Mech.*, 26, 529–571, 1994.
33. M. L. Burns, I. Kaleps, L. E. Kazarian, Analysis of compressive creep behaviour of the vertebral unit subjected to a uniform axial loading using exact parametric solution equations o kelvin-solid models-part I. Human intervertebral joints, *J. Biomechanics*, 17, 113–130, 1984.
34. C. G. Armstrong, W. M. Lai, V. C. Mow, An analysis of the unconfined compression of articular cartilage, *Journal of Biomechanical Engineering*, 106, 165–173, 1984.
35. B. R. Simon, J. S. S. Wu, M. W. Cartlon, J. H. Evans, L. E. Kazarian, Structural models for human spinal motion segments based on a poroelastic view of the intervertebral disk, *J. Biomech. Eng.*, 107, 327–335, 1985.
36. J. R. Sachs, A. J. Grodzinsky, An electromechanically coupled poroelastic medium driven by an applied electric current: surface detection of bulk material properties, *PCH*, 11 , 585–614, 1989.
37. J. P. Laible, D.S. Pflaster, M.H. Krag, B.R. Simon, L. D. Haugh, A poroelastic-swelling finite element model with application to the intervertebral disc, *SPINE*, 18, 659–670, 1993.
38. J. K. Suh, Z. Li, S. L. Woo, Dynamic behaviour of a biphasic cartilage model under cyclic compressive loading, *J. Biomechanics*, 28, 357–364, 1995.
39. J. Z. Wu, W. Herzog, M. Epstein, Evaluation of the finite element software ABAQUS for biomechanical modelling of biphasic tissues, *Journal of Biomechanics*, 31, 165–169, 1998.
40. J. Suh, S. Bai, Finite element formulation of biphasic poroviscoelastic model for articular cartilage, *Journal of Biomechanical Engineering*, 120, 195–201, 1998.
41. Y. Lanir, Biorheology and fluid flux in swelling tissues. I. Bicomponent theory for small deformations, including concentration effects, *BIORHEOLOGY*, 24, 173–187, 1987.
42. B. R. Simon, M.A. Gaballa, Poroelastic element models for the spinal motion segment including ionic swelling, *Computational Methods in Bioengineering*, ed., R.L. Spilker, B. R. Simon, Publication of the American Society of Mechanical Engineers, New York, 93–99, 1988.
43. J. P. Laible, D.S. Pflaster, M. H. Krag, B. R. Simon, L. D. Haugh, A poroelastic-swelling finite element model with application to the intervertebral disc, *SPINE*, 18 , 659–670, 1993.
44. B. R. Simon, J.P. Laible, D. Pflaster, Y. Yuan, M. H. Krag, A poroelastic finite element formulation including transport and swelling in soft tissue structures, *Journal of Biomechanical Engineering*, 118, 1–8, 1996.

45. E. H. Frank, A.J. Grodzinsky, Cartilage electromechanics-II. A continuum model of cartilage electrokinetics and correlation with experiments, *J. Biomechanics*, 20, 629–639, 1987.
46. E. H. Frank, A.J. Grodzinsky, Cartilage electromechanics-I. Electrokinetic transduction and the effects of electrolyte pH and ionic strength, *J. Biomechanics*, 20, 615–627, 1987.
47. A. J. Grodzinsky, E. H. Frank, Electromechanical and physicochemical regulation of cartilage strength and metabolism, *Connective tissue matrix*, Vol. II, 91–126, 1990.
48. S. I. Berkenblit, T. M. Quinn, A. J. Grodzinsky, Molecular electromechanics of cartilaginous tissues and polyelectrolyte gels, *J. Electrostatics*, 12, 1–36, 1994.
49. H. J. Siriwardane, C. S. Desai, Two numerical schemes for nonlinear consolidation, *Int. J. Numer. Methods Engng.*, 17, 405–426, 1981.
50. R. W. Lewis, B. A. Schrefler, The Finite Element Method in the Deformation and Consolidation of Porous Media, J. Wiley&Sons, Chichester, England, 1987.
51. Kojic, M., Filipovic, N. Vulovic, S. and Mijailovic, S. A finite element solution procedure for porous medium with fluid flow and electromechanical coupling, *Commun. Numer. Meth. Engng.*, 14, 381–392, 1998.
52. M. Kojic, N. Filipovic, S. Mijailovic, A Large Strain Finite Element Analysis of Cartilage Deformation with Electrokinetic Coupling, *Comput. Methods Appl. Mech. Engrg.*, 190, 2447–2464, 2001.

---

## MODELIRANJE MIKROMEHANIKE KOD ČESTIČNO KOMPOZITNIH BIOMATERIJALA<sup>1</sup>

Za određene primene poželjno je projektovati čestične kompozitne biomaterijale sa različitim mehaničkim svojstvima. To je moguće jednostavno menjanjem veličine, oblika i zapreminskog udela čestica, kao i kombinovanjem čestica i matrica različitih svojstava. Povećani interes za mikromehaniku kod čestičnih kompozita nastao je prvenstveno kao posledica zahteva za dizajniranje materijala unapred zadatih karakteristika, manipulacijom same mikrostrukture kompozita.

Kombinovanjem mikromehaničkih eksperimentalnih ispitivanja i razvijenih numeričkih modela, dobijen je značajan alat za razumevanje tokova deformisanja kao i dizajniranja čestično ojačanih kompozitnih biomaterijala.

### 15.1 MIKROMEHANIKA ČESTIČNIH KOMPOZITA

Jasno je da je raspored čestica kao i njihov oblik, kod čestičnih kompozita u principu proizvoljan. Olakšavajuća okolnost je to što su čestice u većini slučajeva približno istog oblika i veličine mada to ne mora da bude pravilo. Takođe, u većini slučajeva čestice su manje-više homogeno raspoređene u matrici, mada, opet, ni to ne mora da bude pravilo. Relativno često se na prelomnim površinama čestičnih kompozita mogu videti područja sa gušćim i ređim grupisanjem čestica, mada to u principu zavisi i od načina procesiranja (proizvodnje) samog kompozita i na to se u većini slučajeva može uticati. Takođe, moguća je pojava poroznosti u matrici, čestici ili na dodirnoj površini čestica – matrica (u vidu dekohezije). Jasno je da je skoro nemoguće napraviti takav model, bilo analitički bilo numerički, koji bi realno predstavio stvarnu mikrostrukturu takvog jednog kompozita.

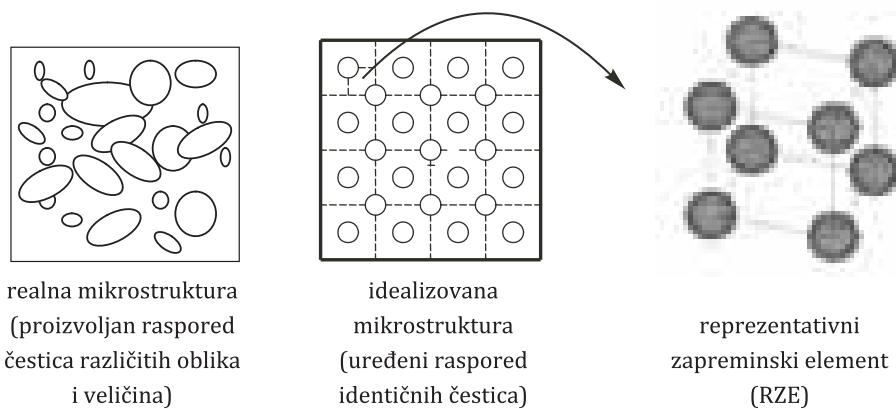
Tako su nastali mnogi modeli kojima je zajedničko bilo to što su realnu mikrostrukturu čestičnih kompozita predstavljali na neki način uređenim raspore-

---

<sup>1</sup>Ovo poglavje napisali su Petar Uskoković i Igor Balać.

dom čestica u matrici. Schmauder i saradnici predstavili su iscrpan pregled mnogih modela [1,2], počev od jednostavnih koji predstavljaju idealne periodične sisteme, objašnjavajući prelaz do složenijih modela koji preslikavaju konfiguracije realnih mikrostruktura.

Kao polazna ideja, pri analizi načina rasporeda čestica u matrici kompozita, mogu poslužiti poznati rasporedi atoma u kristalnoj rešetki. Prednost ovakvih modela je u činjenici da uređeni raspored čestica u principu dozvoljava pojednostavljenje modela na jedan takozvani *reprezentativni zapreminske element* (RZE) ili u anglosaksonskoj literaturi poznat kao *unit cell* (jedinični element) u kojima se jedna ili više ojačavačkih čestica definisane geometrije nalaze ugrađene u matricu takođe definisane geometrije, u cilju simulacije kompozita sa periodičnim rasporedom ojačanja (Sl. 15.1). Tako pojednostavljen model se potom rešava numerički, najčešće primenom metode konačnih elemenata-MKE, kao trodimenzionalni problem sa odgovarajućim graničnim uslovima. Jasno je da model RZE prepostavlja da je čestični kompozit sastavljen od konačnog broja RZE koji su svi istih geometrijskih i materijalnih karakteristika.



*Slika 15.1 Šematski prikaz idealizacije realne mikrostrukture preko reprezentativnog zapremskog elementa (RZE)*

Literatura posvećena oblasti čestičnih kompozita prevashodno se bavi eksperimentalnom problematikom iako postoji značajan interes u razvijanju metoda simulacija za predviđanje globalnih mehaničkih svojstava i omogućavanje razumevanja naponskih stanja na nivou mikrostruktura. Weng [3] i Christensen i Lo [4], izveli su naponska stanja za dvo-fazne kompozite pod hidrostatičkim pritiskom kao deo rešenja za efektivne elastične karakteristike kompozita.

Numeričke metode, kao što je MKE, koriste se za proučavanje naponskih i deformacionih polja usled varijacije u veličini, obliku i rasporedu čestica u čestičnim kompozitim. Kao što je već rečeno, geometrijska složenost ovog problema obično je pojednostavljena radi minimiziranja vremena modeliranja i rada računara a neuređen raspored čestica (vlakana) idealizovan je periodičnim pakovanjem,

omogućavajući da se kompozit u celini analizira samo uzimanjem u obzir reprezentativnog ili ponavljačeg elementa. Ovi reprezentativni elementi mogu biti dvo-dimenzionalni (2D) [5–7], osnosimetrično sferni [8,9] ili tro-dimenzionalni (3D) [10–13] u smislu idealizovane mikrostrukture. Dosta dobar pregled ove problematike, uopšteno za različite vrste kompozita, prikazao je Jones u svojoj knjizi [14].

Kao što je već istaknuto, modeli čestičnih kompozita predstavljeni preko RZE pojednostavljaju strukturu kompozita kao periodični raspored identičnih zapremina odnosno elemenata, i shodno tome imaju očigledno ograničenje u tome da prepostavljaju da su sve čestice u uređenom rasporedu dok u realnim kompozitnim materijalima postoje varijacije u veličini i rasporedu čestica u matrici. Poslednjih godina bilo je pokušaja da se uzme u obzir nasumičan raspored čestica u matrici, npr. Borbely i saradnici [15] i Segurado i Llorca [16]. Iako modeli kompozita sa nasumičnim rasporedom čestica različitih dimenzija i oblika predstavljaju konačan cilj budućeg razvoja u ovoj oblasti, ova problematika je izvan okvira ovoga poglavlja.

Modeliranje čestičnih kompozita tipa keramika-polimer primenom RZE, u cilju određivanja mehaničkih svojstava kod kompozita koji nalaze primenu u biomaterijalima kao implantatima za veštačka tvrda tkiva kao i primene u stomatologiji, do sada je dato u ograničenom broju studija [17–22].

I pored očiglednih nedostataka modeliranja čestičnih kompozita primenom RZE u cilju mikromehaničke analize, mnogi istraživači ipak daju prednost ovom pristupu usled činjenice da ova metoda zahteva relativno male kompjuterske resurse.

## 15.2 POLUEMPIRJSKE, NUMERIČKE I ANALITIČKE METODE PRORAČUNA

**Poluempijske metode.** Poluempijska metoda Halpin-Tsai (skraćeno HT), dobro poznata iz mehanike kompozitnih materijala [23], služi za određivanje elastičnih karakteristika kompozitnih materijala. Prema ovoj jednostavnoj metodi, elastične karakteristike kompozitnog materijala mogu se izračunati iz sledeće jednačine:

$$M = M_m \frac{1 + \xi \eta V_p}{1 - \eta V_p} \quad (15.1)$$

gde je:  $M$  odgovarajuća konstanta kompozita ( $E$ ,  $G$  ili  $v$ ),  $M_m$  odgovarajuća konstanta matrice ( $E_m$ ,  $G_m$  ili  $v_m$ ),  $V_p$  zapremski udeo čestica u kompozitu,  $\xi$  konstanta koja uzima u obzir geometriju čestice, raspored čestica i karakter opterećenja, dok je  $\eta$  dopunski parametar definisan kao:

$$\eta = \left( \frac{M_p}{M_m} - 1 \right) \left/ \left( \frac{M_p}{M_m} + \xi \right) \right. \quad (15.2)$$

gde je  $M_p$  odgovarajuća konstanta čestice ( $E_p$ ,  $G_p$  ili  $v_p$ ). Vrednost parametra  $\xi$  dobija se tako što se za njega uzimaju probne proizvoljne vrednosti, sve dok se ne odredi

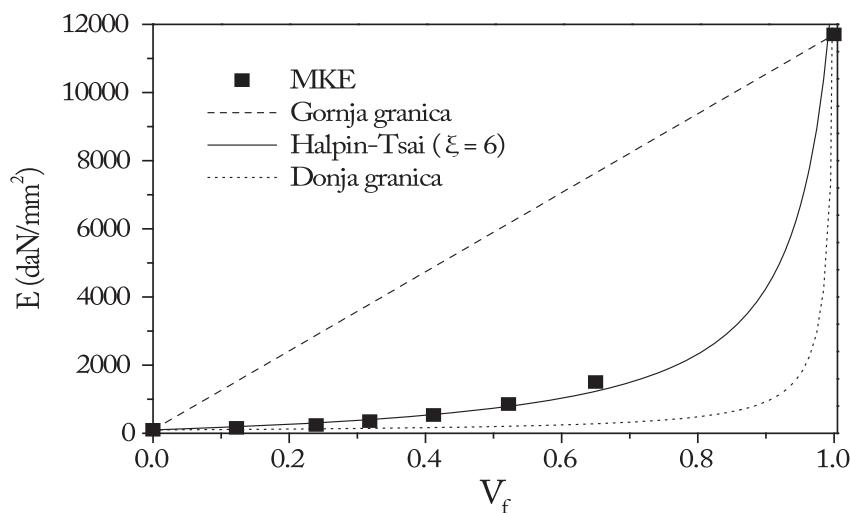
jedna koja daje najbolje poklapanje sa rezultatima eksperimentalnih ispitivanja, ili rezultatima dobijenim numeričkim metodama. U tom smislu, zanimljivo je videti šta se dešava sa jednačinom (15.1) kada je vrednost ovoga parametra na primer  $\xi=0$ . Tada jednačina (15.1), za  $M$  usvojeno kao odgovarajuća konstanta kompozita  $E$ , postaje:

$$\frac{1}{E} = \frac{V_p}{E_p} + \frac{1-V_p}{E_m} \quad (15.3)$$

što predstavlja takozvanu donju granicu, koja je u mehanici kompozitnih materijala poznata i kao inverzno pravilo mešanja (*inverse rule of mixtures*) [23]. Međutim, ukoliko se usvoji da  $\xi$  teži beskonačnosti, dobija se takozvana gornja granica, koja je u mehanici kompozitnih materijala poznata i kao pravilo mešanja (*rule of mixtures*):

$$E = E_m + (E_p - E_m)V_p \quad (15.4)$$

Imajući sve ovo u vidu, na Sl. 15.2 prikazani su tipični rezultati vrednosti modula elastičnosti čestičnog kompozita u funkciji zapreminskog udela čestica ojačanja dobijeni: primenom MKE, poluempirijskom metodom HT i na osnovu dva spomenuta pristupa iz klasične mehanike kompozitnih materijala (donja i gornja granica). Primećuje se da su vrednosti modula elastičnosti čestičnog kompozita, dobijene primenom MKE, za ceo opseg vrednosti zapreminskog udela čestičnog ojačanja uvek između vrednosti koje određuje donja i gornja granica, odnosno, da su vrednosti modula elastičnosti čestičnog kompozita, uvek između vrednosti koje određuju pravilo mešanja i inverzno pravilo mešanja. Zanimljiva je činjenica da je ovo je potvrđeno i brojnim eksperimentalnim rezultatima za različite vrste čestičnih kompozita. Zanimljivo je istaći da se u udžbenicima koji se bave ovom problematikom, izuzimajući [14], čak i u onima novijeg datuma, skoro uvek pojavljuje jednačina (15.3) kao relevantna jednačina iz koje se izračunava modul elastičnosti



SLIKA 15.2 Promena modula elastičnosti čestičnog kompozita u funkciji zapreminskog ude- la čestica ojačanja.

čestičnog kompozita  $E$  ako je poznat zapreminski udeo čestica  $V_p$ , modul elastičnosti matrice  $E_m$  i modul elastičnosti čestice  $E_p$ .

Takođe je jasno, da se modul elastičnosti čestičnih kompozita ne može odrediti klasičnim pristupima koji su poznati u mehanici kompozitnih materijala. Konkretno, ti pristupi su:

- Primena principa zasnovanog na mehanici – otpornosti materijala (*mechanics of material approach*),
- Primena principa metode zasnovane na teoriji elastičnosti (*elasticity approach*).

Upravo pomenuta pravila mešanja i inverznog pravila mešanja, rezultat su ova dva pristupa.

Halpin-Tsai metoda je pogodna za primenu iz dva razloga. Kao prvo, pomaže pri validaciji numeričkih modela, a kao drugo, kako u suštini predstavlja jednostavnu matematičku formulu, može već u prvoj aproksimaciji poslužiti kao brz alat za izračunavanje elastičnih karakteristika različitih kompozitnih sistema, naravno, ukoliko je poznata vrednost parametra  $\xi$ . Kao što je već rečeno, vrednost parametra  $\xi$  može se odrediti i iz eksperimentalnih rezultata.

**Numeričke metode.** Numeričke metode pokazuju svoju ogromnu primenljivost pogotovo pri rešavanju problema formulisanih preko 3D modela kao što je slučaj modeliranja mikrostrukture čestičnih kompozita. Naime, u slučaju 3D formulacije problema primenljivost analitičkih metoda je vrlo ograničena činjenicom da se vrlo retko može dobiti rešenje problema u zatvorenom obliku, za razliku od 2D problema gde su analitičke metode daleko primenljivije.

Od numeričkih metoda ovde će ukratko biti reči o metodi konačnih elemenata (MKE) kao najrasprostranjenijoj i najprimenljivijoj savremenoj numeričkoj metodi kada je u pitanju rešavanje problema mehanike kontinuma. Metoda konačnih elemenata spada u metode diskretne analize. Za razliku od ostalih numeričkih metoda, koje se zasnivaju na matematičkoj diskretizaciji jednačina graničnih problema, metod konačnih elemenata zasniva se na fizičkoj diskretizaciji razmatranog domena gde osnovu za sva razmatranja predstavlja deo domena konačnih dimenzija, poddomen ili konačni element. Sa stanovišta fizičke interpretacije ovo znači da se razmatrani domen (linija, površina, zapremina) kao kontinum sa beskonačno mnogo stepeni slobode, zamenjuje diskretnim modelom međusobno povezanih konačnih elemenata (linijski, površinski, zapremski elementi), sa konačnim brojem stepeni slobode. Pošto je geometrija elemenata po pravilu jednostavna, to praktično znači da se kompleksan problem razbija na niz jednostavnih problema. Način diskretizacije, izbor oblika elementa, kao i ukupnog broja elemenata zavise od prirode problema koji se rešava i potrebne tačnosti traženog rešenja.

Na ovaj način se analizom pojedinih elemenata uz pretpostavku o njihovoj međusobnoj povezanosti, analizira celina. Ovaj pristup u analizi, gde se od posebnog ide ka opštem, od individualnog ka univerzalnom, u kome se analizom delova zaključuje o celini, jeste poznati induktivni pristup, koji se primenjuje u mnogim oblastima nauke. Kod inženjerskih i drugih problema kod kojih se opšta rešenja ne mogu dobiti u zatvorenom obliku, induktivni pristup je od posebnog značaja.

Detaljan prikaz same metode konačnih elemenata u ovom podpoglavlju nije dat, pošto se ova metoda danas posmatra kao uobičajeni inženjerski alat u strukturalnoj analizi.

Metoda konačnih elemenata (MKE) intenzivno se primenjuje za predviđanje svojstava kompozita kao i za objašnjenje fenomena dobijenih eksperimentalnim ispitivanjima. Primena MKE za određivanje karakteristika elastičnosti za kompozite HAp/PLLA predmet je dela istraživanja prikazanih u ovom poglavlju, pri čemu je posebna pažnja posvećivana varijaciji oblika čestičnih ojačanja [19–22]. U naредном poglavlju upravo će ova metoda (MKE) biti iskorišćena za odgovarajuće rešavanje problema definisanog preko različitih modela koji predstavljaju aproksimacije realne mikrostrukture čestično kompozitnog biomaterijala.

**Analitičke metode.** Kao što je već rečeno, u slučaju 3D formulacije problema primenljivost analitičkih metoda je vrlo ograničena činjenicom da se vrlo retko može dobiti rešenje problema u zatvorenom obliku. Ukoliko analitičke metode i mogu biti primenjene uglavnom se radi o specijalnom slučaju gde uz određene aproksimacije je moguće dobiti rešenje problema u zatvorenom obliku.

Što se tiče analitičkih metoda primenljivih kod rešavanja problema određivanja elastičnih karakteristika kompozita ojačanih sferičnim česticama, ukoliko se uvede ograničenje da su sve čestice iste veličine, onda se ističu tri klasične analitičke metode koje mogu biti primenjene u tom slučaju:

- Mori-Tanaka analiza, MT [24],
- Uopšteni sopstveno konzistentni metod, GSC [4],
- Torkvatova (Torquato) aproksimacija trećeg reda, TOA [25].

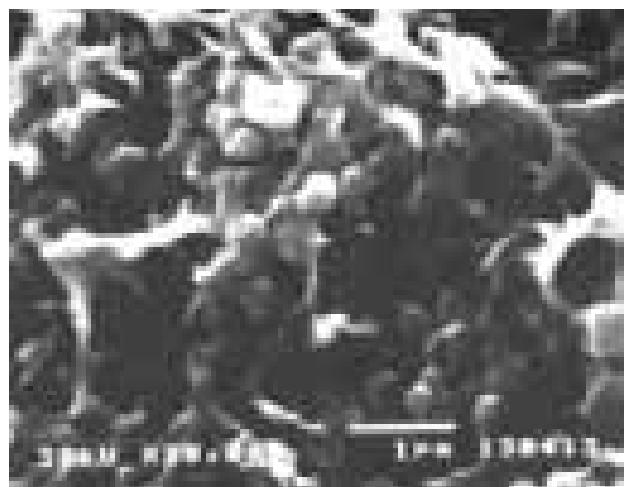
Uzimajući u obzir činjenicu da se tačno rešenje u zatvorenom obliku analitičkim metodama ne može dobiti, rešenja koja daju pomenuta tri klasična analitička modela (MT, GSC, TOA) dobijena su uz određene manje-više grube aproksimacije i ograničenja, te se ne mogu smatrati tačnim, već manje ili više približno tačnim. Ovde nije dat detaljan prikaz navedenih metoda, jer to značajno izlazi van okvira ovog poglavlja.

Upravo će rešenja koja daju pomenute tri analitičke metode, biti kasnije upoređena sa rešenjima koja daje numerički model, radi davanja ocene o kvalitetu tog numeričkog modela.

### 15.3 NUMERIČKI MODEL KOMPOZITA

Pristup pravljenju numeričkog modela može u nekim slučajevima biti izuzetno komplikovan usled oprečnih zahteva koje model treba da zadovolji. Naime, ukoliko model realnije predstavlja mikrostrukturu, on je utoliko (u principu) ne-pogodniji za numerički proračun i obrnuto. Optimalno rešenje predstavlja model koji manje ili više realno predstavlja razmatranu mikrostrukturu, a čiji su rezultati numeričkog proračuna dovoljno dobri te se mogu sa velikom sigurnošću prihvati kao relevantni.

Na Sl. 15.3 prikazan je snimak prelomne površine HAp/PLLA kompozita dobijen primenom skenirajuće elektronske mikroskopije (SEM). Primećuje se da su čestice HAp približno istog reda veličine, sličnog oblika i rasporeda unutar matrice PLLA. Kao što je već rečeno, pravljenje 3D modela koji bi reprezentovao realnu mikrostrukturu ovih kompozita (proizvoljan oblik, veličina i raspored čestica, porozna matrica, itd.) skoro je nemoguće.



*SLIKA 15.3 Mikrostruktura prelomne površine HAp/PLLA kompozita sa 60% HAp-a posle toplog presovanja.*

Poseban, gotovo nesavladiv problem je pravljenje modela za proračun primenom MKE onih čestičnih kompozitnih struktura kod kojih realno postoje poroznosti nastale u procesu proizvodnje ovakvih materijala, jer je određivanje nekih zakonitosti oblika i rasporeda poroziteta nemoguće. Fenomenologija nehomogenih kompozita u ovom smislu, a u teoriji koja se bavi analizom kompozitnih materijala, posebna je tema kojom se bavi mnoštvo autora. U većini radova vezanih za ovu problematiku daju se rezultati dobijeni pre svega primenom skupih eksperimentalnih analiza, a istovremeno se stiče utisak da je tu daleko veća pažnja posvećena laminatnim kompozitnim materijalima.

**Modeliranje kompozita sa besporoznom matricom.** Ukoliko pretpostavimo da su sve čestice oblika sfere istog prečnika, a da je njihov prostorni raspored u matrici najednostavniji mogući, tzv. prosti kubni raspored (SC – *simple cubic*, Sl. 15.4), onda bi saglasno principima primene metode MKE, reprezentativni zapreminski element mogla biti upravo kocka na čijem se svakom temenu nalazi po jedna osmina sferične čestice. Jasno je da se promenom prečnika čestica menja veličina njihovog zapreminskeg udela ( $V_f$ ) u reprezentativnom modelu. Jednostavno se može pokazati da je maksimalni zapreminske ideo za sferične čestice u SC rasporedu  $V_{f\max} = 52,36\%$ , a to je slučaj kada se čestice međusobno dodiruju. To je u ovom slučaju ograničavajući faktor, pošto je očigledno da se za modele sa većim zapreminskim udelom od ovih 52,36% mora promeniti oblik čestica ili raspored čestica.

Ukoliko zadržimo SC raspored čestica, oblik koji teoretski dozvoljava zapreminske ideoe čestica u strukturi kompozitnog materijala od 100%, jeste čestica oblika kocke. U literaturi se mogu pronaći slučajevi da je oblik čestica približniji obliku kocke nego obliku sfere, tako da se neki oblik kocke zaobljenih ivica može uzeti u obzir kao jedan od oblika za polazna razmatranja. Upravo je preko SC rasporeda čestica u matrici analiziran uticaj oblika čestica.

Uticaj oblika čestica analiziran je preko serije modela sa različitim zapreminskim udelima čestica oblika sfere, zaobljene kocke ( $r/2L=0,12$ ), i kocke skoro oštrih ivica ( $r/2L=0,05$ ) u SC rasporedu, gde je sa  $2L$  označena dimenzija čestice oblika kocke (dužina ivice), a sa  $r$  poluprečnik zaobljenja po ivici kocke. Prethodno je namerno izabran model kocke skoro oštrih ivica sa malim radijusom zaobljenja, pošto idealno oštra ivica kocke, a samim tim i njeno teme, predstavljaju singularitete po principima primene MKE.

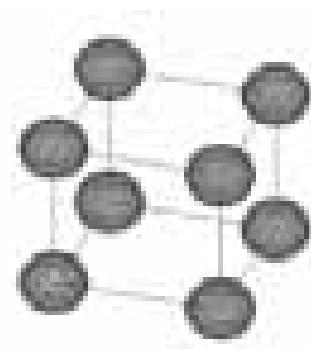
Međutim, ukoliko se postavi uslov da je oblik čestice nepromenljiv, na primer čestica oblika sfere, mora se napraviti model sa drugaćijim rasporedom čestica ukoliko se želi analiza RZE sa većim zapreminskim udelom od 52,36%.

Kada se usvoji takozvani površinski centrirani kubni (FCC – *face centered cubic*) raspored čestica, onda je reprezentativni zapreminski element kocka na čijem se svakom temenu, kao i na sredini svake stranice, nalazi po jedna sferična čestica. Opet se može pokazati da je maksimalni zapreminski ideo za sferične čestice u FCC rasporedu  $V_{fmax}=74,05\%$ , a to je slučaj kada se čestice dodiruju. Ovo je ujedno i najveća moguća vrednost gustine pakovanja za sferične čestice koje se, jasno, ne preklapaju (Sl. 15.5).

S jedne strane, na osnovu prethodno rečenog, usvaja se model reprezentativnog zapreminskog elementa (RZE) oblika kocke, sa dimenzijama  $1 \times 1 \times 1 \text{ mm}$  ( $2H \times 2H \times 2H$ ). Potreba da se izmodelira 3D element ovako malih dimenzija u potpunosti se sagledava ako se zna da su u čestičnim kompozitnim materijalima tipa HAp/PLLA nalaze čestice sa dimenzijama (bez obzira na geometrijski oblik) do  $0,5 \text{ mm}$ .

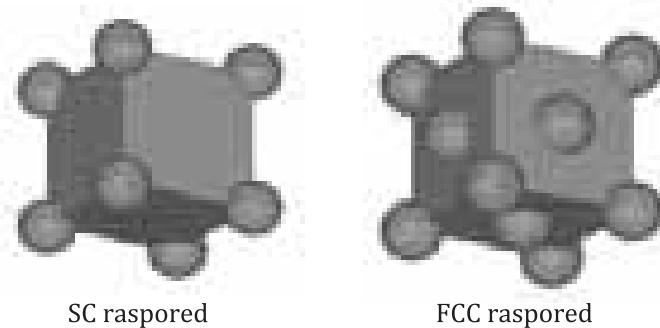
S druge strane, model reprezentativnog zapreminskog elementa koji sadrži deo čestice određenog oblika i matrice, usvaja se i uz sledeće prepostavke:

1. linearno elastično ponašanje čestice i matrice,
2. čestica i matrica su homogeni (bezporozni),
3. čestica i matrica, kao i ceo kompozit globalno posmatran, izotropni su,
4. spoj matrice i čestice je perfektn, bez klizanja i poroziteta na dodirnoj površini,
5. primjeno opterećenje ne dovodi do gubitka nosivosti matrice, nosivosti čestice, kao ni celog kompozita.



SLIKA 15.4 Prosti kubni (SC) raspored čestica u matrici.

Na Sl. 15.5 prikazani su modeli reprezentativnog zapreminskog elementa (RZE) sa dva rasporeda čestica: SC i FCC.



*SLIKA 15.5 RZE sa različitim rasporedom čestica HAp u polimernoj matrici SLIKA 15.6 Redukovani model RZE dimenzija HxHxH*

Uticaj rasporeda čestica u matrici na elastične karakteristike ovog kompozita, analiziran je na formiranim modelima koji čine seriju modela sa različitim zapreminskim udelima ( $V_f$ ) čestica oblika sfere u SC i FCC rasporedu.

U cilju dobijanja elastičnih karakteristika kompozita RZE je opterećen na pritisak.

Izračunavanje potrebnih veličina izvedeno je numerički, primenom MKE, korišćenjem paketa ANSYS, verzije 5.4 i 5.7. Analiza je urađena u okviru pretpostavke linearno elastičnog ponašanja bez razmatranja nelinearnih efekata, odnosno u okvirima teorije malih deformacija.

Opterećenje u smislu pritiska se na RZE uvodi zadavanjem odgovarajućeg pomeranja svih tačaka (čvorova) gornje površine modela, a donja površina nema pomeranje po y-pravcu. Ovom idejom je donja površina simulirana kao oslonac. Taj granični uslov može se napisati u obliku:

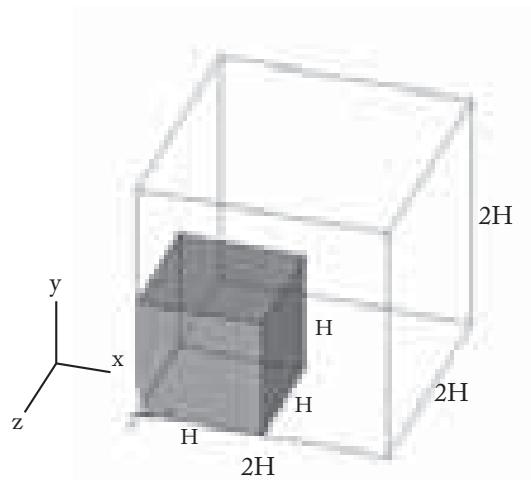
$$u_y(x, H, z) = -u_{y_0} \quad \text{and} \quad u_y(x, -H, z) = 0 \quad (15.5)$$

Uticaj susednih RZE uzima se zadavanjem odgovarajućih graničnih uslova, a to je u ovom slučaju za stranice modela koje leže u ravnima:

$$x = \pm H, \quad z = \pm H \quad (15.6)$$

i posle deformisanja RZE, da ostaju ravne i međusobno ortogonalane pri čemu se jedino menjaju dimenzije modela RZE, ali ne i njegov oblik. Usled odgovarajuće simetrije modela i primjenjenog opterećenja moguće je posmatrati samo osminu prvobitnog modela. Šematski to je prikazano na Sl. 15.6. Dimenzije novog redukovanih modela su  $0,5 \times 0,5 \times 0,5$  mm. ( $H \times H \times H$ ), Sl. 15.6.

Granični uslovi za ravni simetrije redukovanih modela (v. Sl. 15.6) mogu se napisati u obliku:



SLIKA 15.6 Redukovani model RZE dimenzija  $H \times H \times H$

$$u_x(0, y, z) = 0, \quad u_y(x, 0, z) = 0, \quad u_z(x, y, 0) = 0. \quad (15.7)$$

Na sličan način se uticaj susednih RZE, u smislu graničnih uslova, može predstaviti u obliku (v. Sl. 15.7):

$$u_x(H, y, z) = u_{x0}, \quad u_z(x, y, -H) = -u_{z0}, \quad (15.8)$$

pri čemu se  $u_{x0}$  i  $u_{z0}$  izračunavaju iz uslova da je na bočnim površinama RZE:

$$x = H \quad \text{i} \quad z = -H \quad (15.9a)$$

odnosno, posle deformisanja,

$$x = H + u_{x0} \quad \text{i} \quad z = -(H + u_{z0}) \quad (15.9b)$$

ispunjeno je uslov da je ukupna normalna sila jednaka nuli (v. Sl. 15.7):

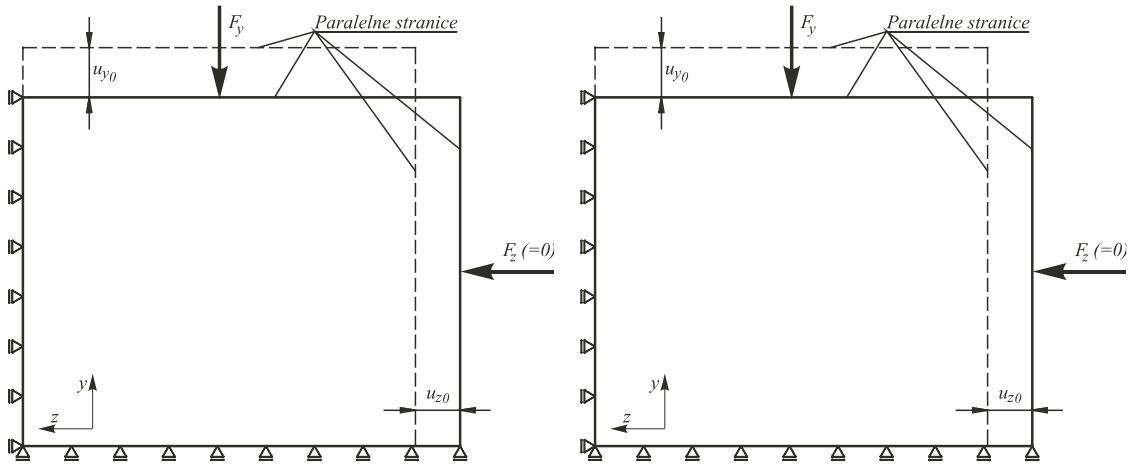
$$F_x = \int_A \sigma_x dA = 0 \quad F_z = \int_A \sigma_z dA = 0 \quad (15.10)$$

Na osnovu ovako usvojenog modela i ovako zadatih graničnih uslova jasno je da se elastične karakteristike kompozita, modul elastičnosti i Poasonov odnos mogu dobiti iz:

$$E_y = (F_y H) / (u_{y0} A) \quad (15.11a)$$

$$\nu_{xy} = |u_{x0}| / |u_{y0}|, \quad \nu_{zy} = |u_{z0}| / |u_{y0}| \quad (15.11b)$$

gde je:



Slika 15.7 Granični uslovi redukovanih modela na stranicama  $x=H$  i  $z=-H$  (prikazani u odgovarajućim projekcijama).+

$$F_y = \int_A \sigma_y dA \quad (15.12)$$

Očigledno je da je model lokalno posmatrano ortogonalno izotropan gde su  $x, y, z$  glavni pravci ortotropije, pa je jasno da važi:

$$E_x = E_y = E_z \quad (15.13)$$

a pošto je usled simetrije

$$|u_{x0}| = |u_{z0}| \quad (15.14)$$

to na osnovu prethodnog proizilazi da važi:

$$\nu_{xy} = \nu_{zy} \quad (15.15)$$

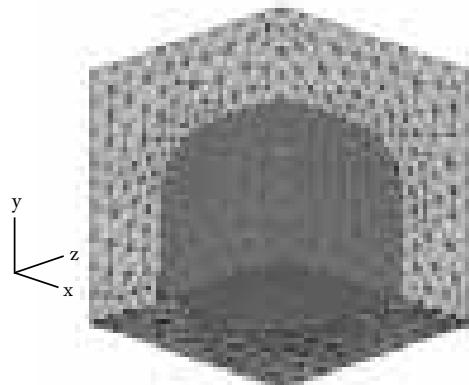
Usled pretpostavke da je ceo kompozit, globalno posmatrano, izotropan, vrednosti modula smicanja  $G$  mogu se izračunati na osnovu prethodno izračunatih vrednosti za  $E$  i  $\nu$ , preko poznate relacije:

$$G = \frac{E}{2(1+\nu)} \quad (15.16)$$

Da bi se osigurala konvergencija rezultata, za svaki od razmatranih modela napravljene su tri različite gustine mreža sa približno 15.000, 30.000 i 60.000 elemenata.

Elementi koji su korišćeni su 10-čvorni tetraedarski zapreminski elementi (opcija 20-čvornog brik zapreminskog elementa). Svaki čvor ima tri stepena slobode u smislu pomeranja u  $x, y, z$  pravcu.

Na Sl. 15.8 prikazana je tipična mreža konačnih elemenata modela čestice HAp oblika kocke zaobljenih ivica u SC rasporedu u polimernoj matrici, tako da ceo model ima 14124 elementa i 20189 čvorova.

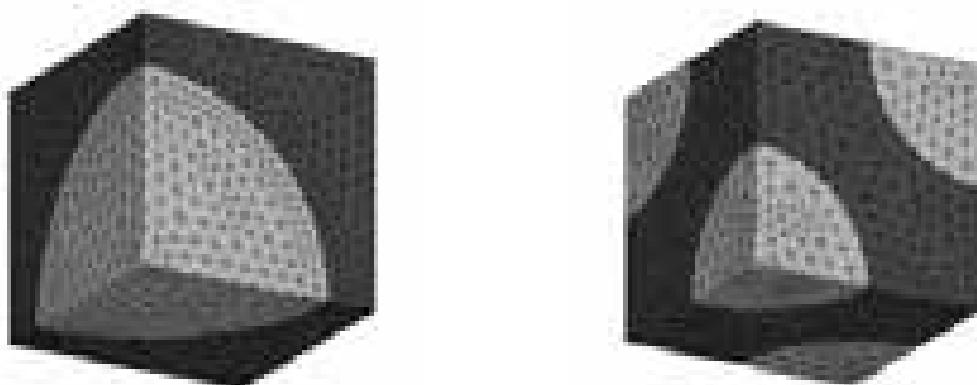


*SLIKA 15.8 Mreža konačnih elemenata čestice HAp oblika kocke zaobljenih ivica, ( $V_f=0,24$ ) u SC rasporedu u polimernoj matrici.*

Na Sl. 15.9 prikazane su mreže redukovanih modela sa česticama u obliku sfere ( $V_f=0,265$ ) u SC i FCC rasporedu. Zapreminske udjeli čestica variraju od 0,06 do 0,47 za čestice u SC rasporedu, odnosno od 0,134 do 0,602 za čestice u FCC rasporedu.

Na Sl. 15.10 prikazane su mreže redukovanih modela sa česticama u obliku kocke dimenzije  $L \times L \times L$ , skoro oštrih ivica ( $r/2L=0,05, V_f=0,371$ ) i kocke zaobljenih ivica ( $r/2L=0,12, V_f=0,412$ ) u matrici PLLA u SC rasporedu.

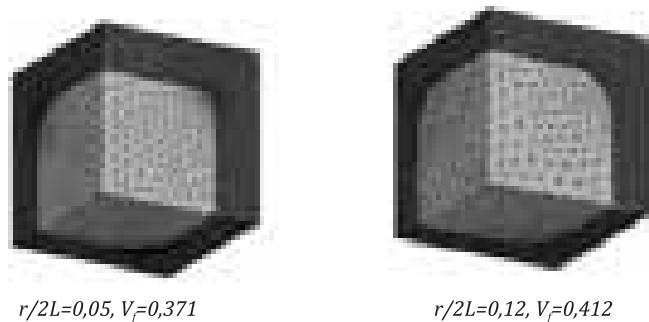
Oznaka  $r$  predstavlja poluprečnik zaobljenja ivice i temena kocke. Zapreminske udjele čestica variraju od 0,06 do 0,51 za čestice oblika kocke



SC raspored

FCC raspored

*SLIKA 15.9 Mreža konačnih elemenata čestice HAp, oblika sfere ( $V_f=0,265$ ) u matrici PLLA.*



*SLIKA 15.10 Mreža konačnih elemenata čestice HAp-a, oblika kocke skoro oštrih ivica ( $r/2L=0,05, V_f=0,371$ ) i kocke zaobljenih ivica ( $r/2L=0,12, V_f=0,412$ ) u matrici PLLA u SC rasporedu.*

skoro oštrih ivica u SC rasporedu, odnosno od 0,12 do 0,65 za čestice oblika kocke zaobljenih ivica u SC rasporedu.

Za analizu primenom MKE, korišćene su sledeće karakteristike materijala za modul elastičnosti  $E$  i Poasonov odnos  $v$ :

$$E_1 = 117 \text{ GPa}, v_1 = 0,28,$$

$$E_2 = 6,50 \text{ GPa}, v_2 = 0,45.$$

Indeksi 1 i 2 odnose se na HAp i PLLA, respektivno.

Takođe, za ocene nekih modela u smislu poređenja sa dostupnim eksperimentalnim podacima, korišćene su i neke druge vrednosti za karakteristike materijala iz literature.

Ocena dvofaznog modela (matrica-čestica) sa FCC rasporedom čestica, dobijena je poređenjem sa približno tačnim rešenjem za elastične karakteristike kompozita ojačanog sferičnim česticama [16], kao i sa rezultatima koje daju tri klasična analitička modela: Mori-Tanaka analiza, MT [24], Uopšteni sopstveno konzistentni metod, GSC [4] i Torkvatova aproksimacija trećeg reda, TOA [25]. Ovo poređenje je prikazano u nastavku.

Na kraju, izvršeno je poređenje rezultata dobijenih analizom svih modela u ovom poglavlju sa rezultatima koje daje poluempirijska metoda HT, odnosno rezultatima koje daju jednačine (15.1) i (15.2).

**Rezultati numeričkih simulacija modela čestičnog kompozita.** U ovom delu dat je prikaz rezultata za dva već objašnjena rasporeda čestica, SC i FCC raspored. Kod čestica u SC rasporedu variran je oblik čestica (sféra, kocka zaobljenih ivica i kocka skoro oštrih ivica). Kod FCC rasporeda razmatran je samo sferični oblik čestica. Dat je prikaz rezultata proračuna modela čestičnog kompozita HAp/PLLA bez i sa uticajem matrične poroznosti. Izvršene su uporedne analize nekih izabranih modela sa rešenjima koja daju neke analitičke i poluempirijske metode.

Naponsko polje deformisane matrice i čestice kompozita, prikazano na Sl. 15.11, dobijeno je posle opterećivanja modela u smislu deformacije u  $y$ -pravcu gornje površine modela ( $y=H$ ), a za vrednost koja daje relativnu deformaciju od 1%. Prikazane vrednosti odgovaraju ekvivalentnim naponima izračunatim preko hipoteze *von Mises*.

Na Sl. 15.11 prikazana je raspodela ekvivalentnih naponi ( $\times 10 \text{ MPa}$ ) za česticu HAp u SC rasporedu ( $V_f=0,24$ ) i za polimernu matricu. Za prikazani slučaj na Sl. 15.11, nominalni napon iznosi  $6,4 \text{ MPa}$  ( $0,64 \text{ daN/mm}^2$ ). Oblasti u kojima se javljaju maksimalne vrednosti ekvivalentnih naponi (označene strelicama) potencijalna su mesta pojava koje se mogu shvatiti kao zone tečenja, odnosno zone plastičnih deformacija.

Za sve razmatrane slučajeve zapreminske udela čestica oblika kocke (zaobljene kocke i kocke skoro oštrih ivica u SC rasporedu), maksimalna vrednost ekvivalentnog naponi u polimernoj matrici nalazila se negde na zaobljenju kocke kao što to pokazuje Sl. 15.11a.

Maksimalna vrednost ekvivalentnog naponi u keramičkoj čestici nalazila se negde na zaobljenju kocke u blizini ravni  $y=0$  kao što to pokazuje Sl. 15.11b.

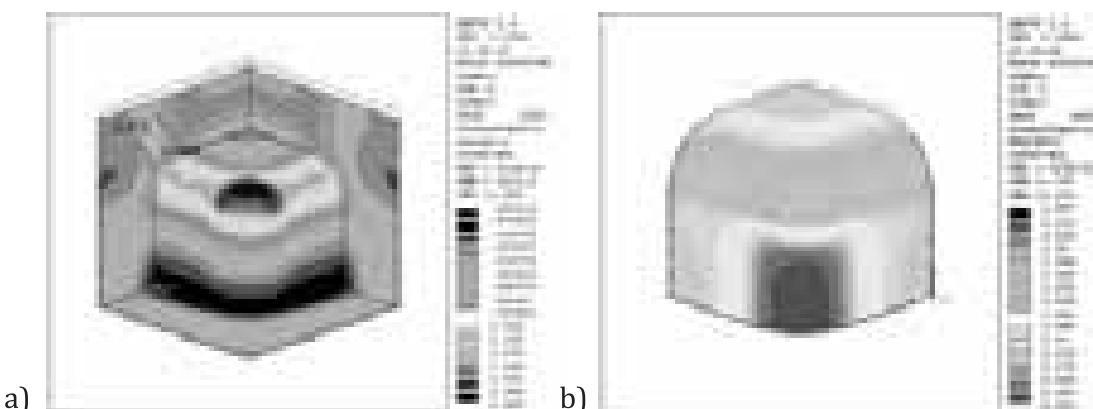
Što se tiče slučaja čestice oblika sfere, maksimalne vrednosti ekvivalentnih naponi u polimernoj matrici, za sve razmatrane zapreminske udele, uvek su se nalazile iznad pola, bliže gornjoj površini modela ( $y=H$ ).

Razmatrani su naponi isključivo unutar polimerne matrice pošto podaci iz literature ukazuju da lom keramičkih čestica nije primećen kod ovih kompozita.

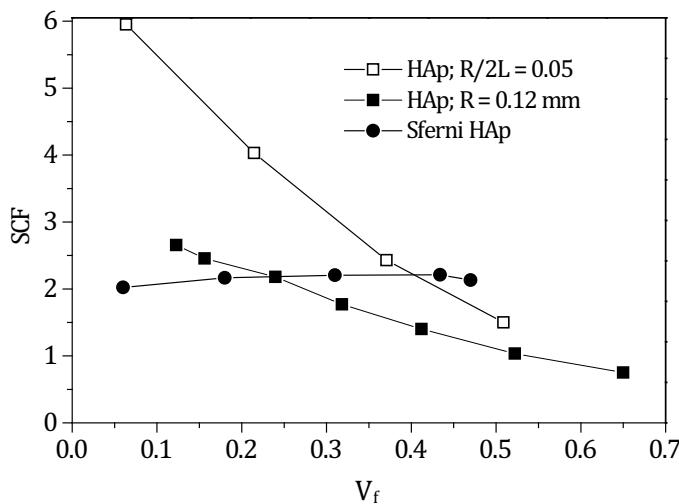
Kao nominalni napon ( $\sigma_n$ ), ovde je uzeta vrednost izračunata kao količnik ukupne sile, koja se javlja u smislu reakcije u  $y$ -pravcu donje površine modela (svi čvorovi sa koordinatom  $y=0$ ) i veličine površine donje stranice modela (kvadrat površine  $H^2$ ):

$$\sigma_n = \sum F_{yi} / H^2 \quad (15.17)$$

Ukoliko se uvede oznaka SCF (*stress concentration factor*) koja predstavlja faktor koncentracije naponi, a koji se izračunava kao količnik maksimalne vredno-



*SLIKA 15.11 Raspodela ekvivalentnih naponi ( $\times 10 \text{ MPa}$ ) za česticu HAp u SC rasporedu ( $V_f=0,24$ ): (a) u polimernoj matrici i (b) u čestici HAp.*

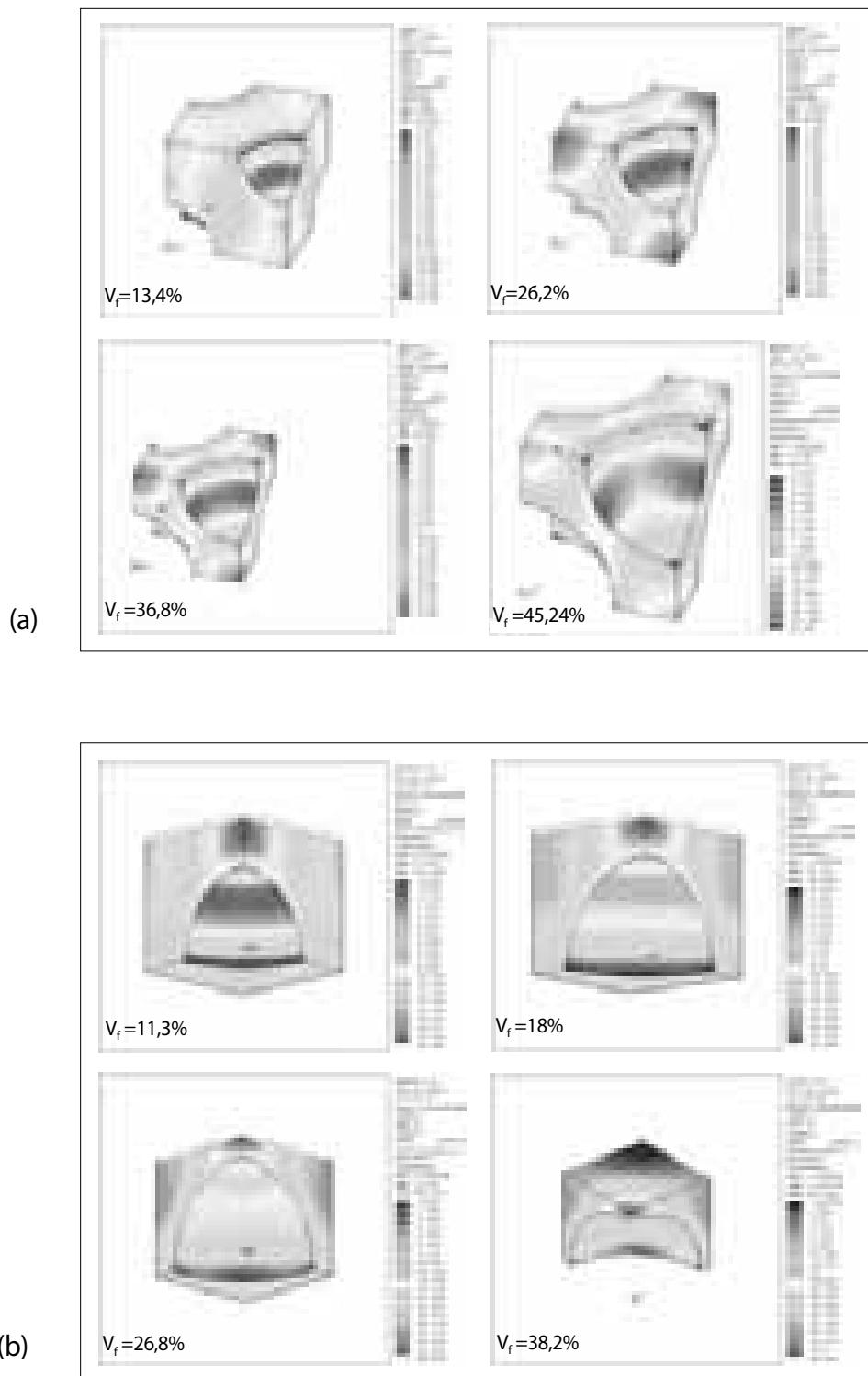


SLIKA 15.12 Promena SCF u polimernoj matrici u funkciji od zapreminskog udela, odnosno oblika čestica u SC rasporedu.

sti ekvivalentnog napona i vrednosti nominalnog napona, izračunatog po jednačini (15.17), onda se promena SCF u polimernoj matrici u funkciji od zapreminskog udela čestica, a za različite oblike čestica u SC rasporedu, može prikazati kao na Sl. 15.12. Jasno se vidi da je faktor koncentracije napona za polimernu matricu i za čestice oblika kocke, izuzetno osetljiv u odnosu na vrednost zapreminskog udela i opada sa porastom zapreminskog udela čestica ojačanja. S druge strane, za čestice oblika sfere, faktor koncentracije napona za polimernu matricu skoro da i



SLIKA 15.13 Raspodela ekvivalentnih napona (MPa) u polimernoj matrici za slučaj  $V_f=0,45$  (FCC raspored čestica).



SLIKA 15.15 Promena SCF u polimernoj matrici, u funkciji od zapreminskog udela čestica, za različite rasporede čestica oblika sfere.

ne zavisi od zapreminskog udela čestica ojačanja, pa tako za ceo razmatrani opseg zapremiskih udela SCF ostaje u granicama 2–2,5.

Može se primetiti da je SCF za polimernu matricu, za zapreminske udele čestica do 0,2 najveći za čestice oblika kocke skoro oštrih ivica, a najmanji za čestice oblika sfere. Takođe se može primetiti da za zapreminske udele čestica preko 0,25 oblik čestice tipa zaobljena kocka generiše za razmatrani slučaj opterećenja manji SCF nego oblik čestice tipa sfera, dok za zapreminske udele čestica preko 0,4 čak i oblik čestice tipa kocka skoro oštrih ivica generiše za razmatrani slučaj opterećenja manji SCF nego oblik čestice tipa sfera.

Na Sl. 15.13 prikazana je raspodela ekvivalentnih napona u polimernoj matrici za slučaj FCC raporeda čestica oblika sfere zapreminskog udela od  $V_f=0,45$ . Vrednosti napona prikazane na Sl. 15.13, rezultat su opterećivanja modela u smislu deformacije svih tačaka gornje površine koja odgovara relativnom skraćenju u y-pravcu od 1%, pri čemu nominalna vrednost napona iznosi 16,04 MPa. Kao što se sa Sl. 15.13 vidi, u slučaju čestice oblika sfere u FCC rasporedu maksimalna vrednost ekvivalentnog napona računatog po hipotezi Von Mises za polimernu matricu, nalazi se na polovini luka koji spaja pol i ekvator sferične čestice.

Na Sl. 15.14a i 15.14b prikazana je raspodela ekvivalentnih napona u polimernoj matrici za slučaj FCC i SC raporeda čestica oblika sfere, za različite vrednosti zapreminskog udela čestica ojačanja.

Jasno se primećuje promena mesta pojave vrednosti maksimalnih ekvivalentnih napona u matrici. Ukoliko je u pitanju FCC raspored čestica, maksimalna vrednost ekvivalentnog napona računatog po hipotezi Von Mises za polimernu matricu nalazi se uvek na polovini luka koji spaja pol i ekvator sferične čestice. Međutim, kao što se i vidi sa Sl. 15b za čestice u SC rasporedu to ne važi.

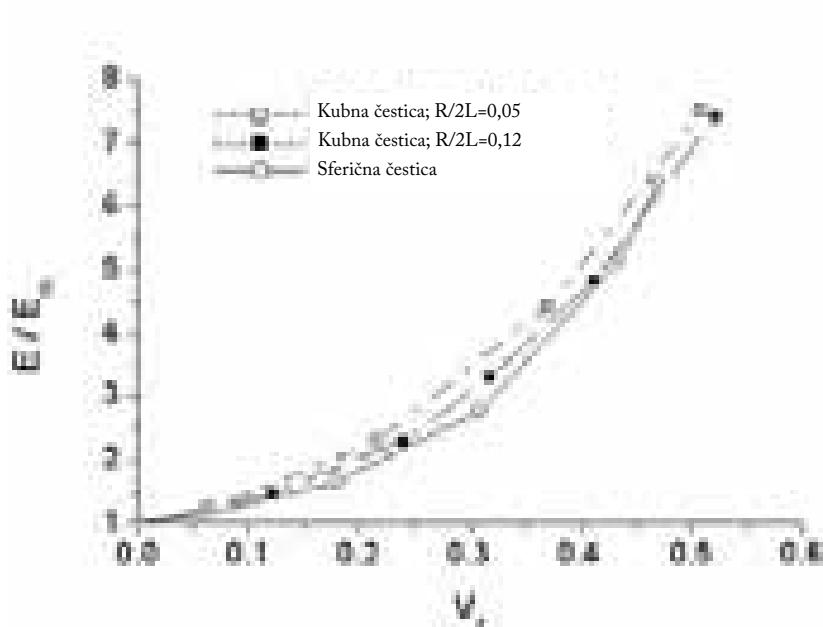
Na Sl. 15.15 prikazana je promena vrednosti SCF u polimernoj matrici, u funkciji od zapreminskog udela čestica, a za različite rasporede čestica oblika sfera.

Može se primetiti da su vrednosti SCF za polimernu matricu, za ceo opseg razmatranih zapreminskih udela, za sferične čestice u FCC rasporedu, manji od vrednosti SCF za čestice oblika sfere u SC rasporedu, te se može zaključiti da je sa stanovišta faktora koncentracije napona FCC raspored mnogo povoljniji.

Za sve razmatrane modele modul elastičnosti je izračunat iz jednačine (15.11a), odnosno imajući u vidu jednačinu (15.17) iz jednačine:

$$E_y = \sigma_n / \varepsilon_y \quad (15.18)$$

gde je očigledno:  $\varepsilon_y = u_{y_0} / H$ . Na Sl. 15.16 prikazana je normalizovana vrednost modula elastičnosti čestičnog kompozita sa SC rasporedom čestica različitih oblika u funkciji od zapreminskog udela čestica ojačanja. Normalizovanje vrednosti modula elastičnosti čestičnog kompozita izvršeno je u odnosu na modul matrice. Primećuje se da modul elastičnosti čestičnog kompozita u velikoj meri zavisi od zapreminskog udela čestica ojačanja. Takođe se primećuje da oblik čestice ima izvestan uticaj na modul elastičnosti čestičnog kompozita, ali karakter promene je isti za sva tri raz-



SLIKA 15.16 Normalizovana vrednost modula elastičnosti čestičnog kompozita, u funkciji od zapreminskog udela čestica ojačanja, sa SC rasporedom čestica različitih oblika.

matrana oblika čestica. Treba primetiti da za sferične čestice maksimalni mogući zapreminske udio iznosi 52,36% (tada se čestice dodiruju). Tom činjenicom se može tumačiti kako brza konvergencija vrednosti modula elastičnosti kompozita sa ovim oblikom čestica, za zapreminske udje veće od 40%.

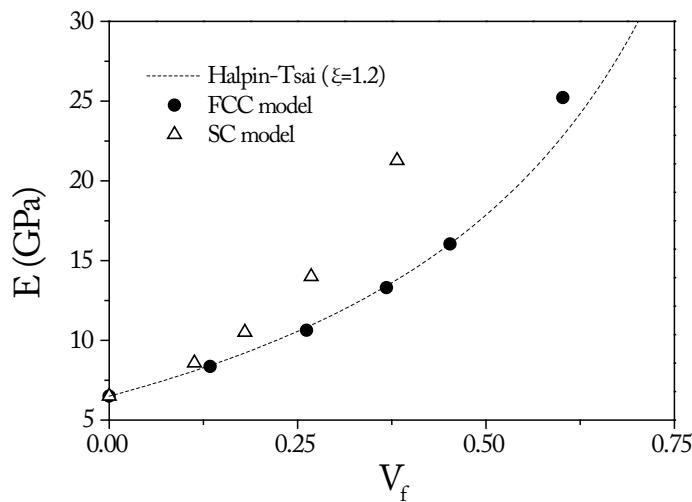
Slučajevi kada se dostižu maksimalne vrednosti zapreminske udje čestica različitih oblika i rasporeda (čestice se dodiruju), ovde nisu razmatrani, uzimajući u obzir da oni podrazumevaju i kontaktne probleme te samim tim i geometrijsku nelinearnost što izlazi van okvira ovoga poglavlja.

Što se tiče ostala dva analizirana oblika oni imaju skoro identičnu promenu, što je i očekivano, uzimajući u obzir da njihov maksimalni mogući zapreminske udio iznosi preko 90%.

Na Sl. 15.17 prikazana je promena vrednosti modula elastičnosti čestičnog kompozita HA/PLLA sa sferičnim česticama u SC i FCC rasporedu, u funkciji od zapreminskog udela čestica ojačanja. Izvršeno je i poređenje sa poluempirijskom metodom Halpin-Tsai.

Kao prvo, primećuje se značajan uticaj razmatranih rasporeda sferičnih čestica na modul elastičnosti kompozita. Za razmatrani FCC raspored čestica dobijene vrednosti modula elastičnosti značajno su manje od vrednosti dobijenih za čestice u SC rasporedu. Te razlike se povećavaju sa porastom zapreminske udje čestica.

Kao drugo, prilikom poređenja sa rešenjem dobijenim primenom Halpin-Tsai metode primećuje se izvrsno poklapanje rezultata za FCC raspored za sastav kompozita sa otprilike do 50% zapreminske udje. Kao što je već rečeno, vrednost parametra  $\xi$  može se odrediti tako da se dobije što je moguće bolje poklapanje



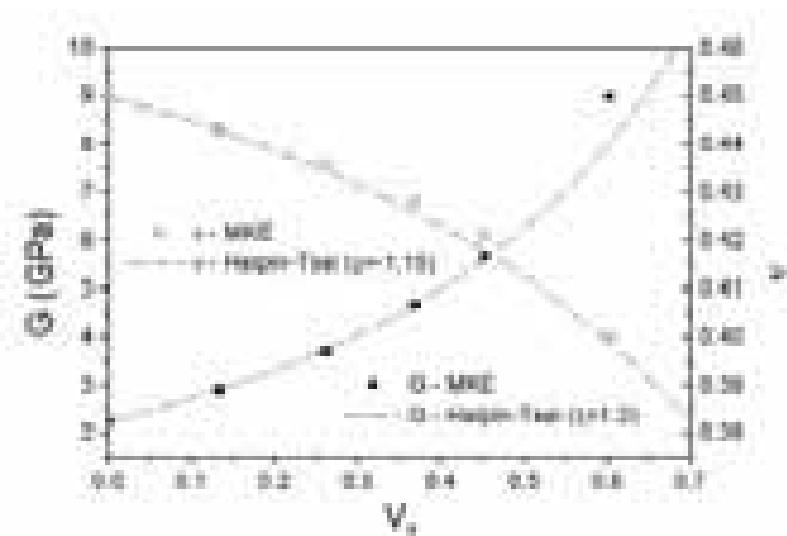
SLIKA 15.17 Promena vrednosti modula elastičnosti čestičnog kompozita HAp/PLLA sa sferičnim česticama u SC i FCC rasporedu u funkciji od zapreminskog udela čestica ojačanja.

sa dobijenim rezultatima. U ovom slučaju uzeto je da je  $\xi=1.2$ . Za veće vrednosti zapreminskega udela primećuje se sve veće odstupanje, što se može tumačiti činjenicom da HT jednačine opisuju promenu karakteristike elastičnosti u funkciji od zapreminskog udela koji može biti u opsegu od 0 do 100%, dok za FCC raspored sfernih čestica maksimalni zapreminski udio iznosi 74,05%, pa shodno tome vrednost modula elastičnosti kompozita za zapremske udele čestica veće od 50% brže konvergira ka vrednosti koju ima čestica.

Na Sl. 15.18 prikazana je promena vrednosti modula smicanja i Poasonovog odnosa čestičnog kompozita HAp/PLLA sa sferičnim česticama u FCC rasporedu u funkciji od zapreminskog udela čestica ojačanja. Vrednost parametra  $\xi$  u jednacina koje opisuju promenu vrednosti modula smicanja i Poasonovog odnosa u funkciji od zapreminskog udela čestica ojačanja iznosi  $\xi=1.2$  i  $\xi=-1.15$ , respektivno. Odstupanje za veće vrednosti zapreminskega udela čestica mogu se tumačiti kao i u prethodnom slučaju: vrednosti modula smicanja i Poasonovog odnosa kompozita, za zapremske udele čestica veće od 50% brže konvergiraju ka vrednostima koje ima čestica.

**Ocenjivanje modela.** Ocena dvo-faznog modela (čestica-matrica) sa FCC rasporedom čestica, dobijena je poređenjem sa nedavnjim rešenjem za elastične karakteristike kompozita ojačanog sferičnim česticama [16], koje se u ovom poglavlju naziva *tačnim rešenjem*, kao i sa rezultatima koje daju tri klasična analitička modela: Mori-Tanaka analiza (The Mori-Tanaka mean-field analysis) – MT [24], Uopšteni sopstveno konzistentni metod (The generalized self-consistent method) – GSC [4], i Torkvatova aproksimacija trećeg reda (Torquato's third-order approximation) – TOA [25].

Ovde treba razjasniti pojam *tačno rešenje*. Naime, Segundo i Llorca su 2002. godine objavili rad [16] u kome je po njima dato tačno rešenje problema određivanja



SLIKA 15.18 Promena vrednosti modula smicanja i Poasonovog odnosa čestičnog kompozita HA<sub>p</sub>/PLLA sa sferičnim česticama u FCC rasporedu u funkciji od zapreminskog udela čestica.

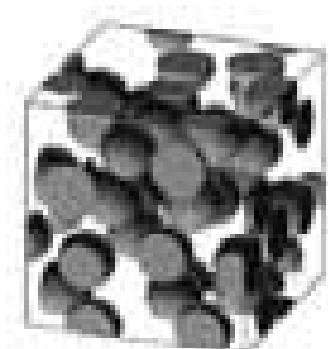
nja elastičnih karakteristika kompozita ojačanih sferičnim česticama. Uzimajući u obzir činjenicu da se tačno rešenje u zatvorenom obliku analitičkim metodama ne može dobiti, rešenja koja daju pomenuta tri klasična analitička modela (MT, GSC, TOA) mogu se opravdano smatrati približno tačnim.

Model RZE koji su napravili Segundo i Llorca, jeste kocka koja sadrži 30 sfera iste veličine koje se ne preklapaju i koje su proizvoljno raspoređene unutar RZE kao što je to prikazano na Sl. 15.19. Osnov njihove ideje obrađene u tom radu vezan je za činjenicu da je morao da bude ispunjen uslov da su svi pravci unutar RZE statistički izotropni.

Sve numeričke simulacije modela sa FCC rasporedom čestica, u postupku procene vrednosti urađene su primenom softverskog paketa ANSYS 5.4 u okvirima teorije malih deformacija uz sledeće pretpostavke:

1. kompozit, čestica i matrica imaju linearno elastično ponašanje,
2. čestična faza, matrična faza kao i ceo kompozit jesu izotropni i bezporozni,
3. sve sferične čestice iste su veličine,
4. površinski spoj (vezu) između čestice i matrice jeste idealan.

Upotrebljeni elementi su 10-čvorni tetraedarski zapreminske elementi (opcija 20-čvornog brik elementa). Svi analizirani modeli sadržavali su oko 20.000 elemenata i oko 30.000 čvorova. Izvedene su analize za četiri vrednosti zapreminskog udela sferičnih čestica.



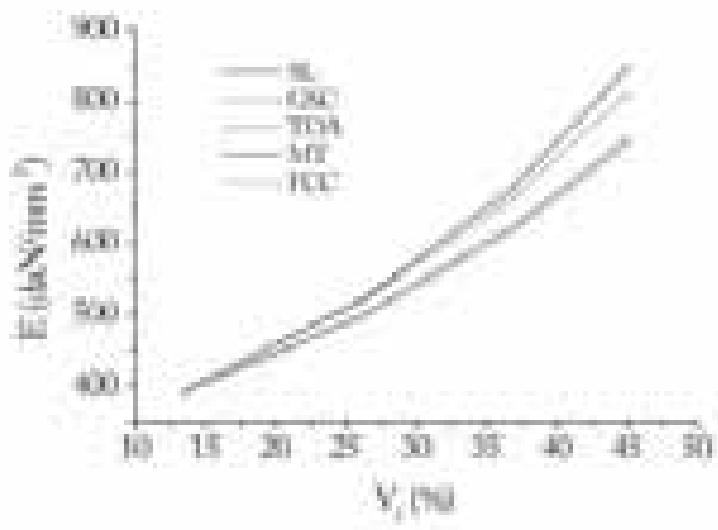
SLIKA 15.19 RZE koji sadrži 30 identičnih sfera koje se ne preklapaju [16].

Za ovu analizu usvojene su sledeće karakteristike materijala [16]:  $E_p=70$  GPa,  $v_p=0,2$ ,  $E_m=3$  GPa,  $v_m=0,38$ . Indeksne oznake  $p$  i  $m$  odnose se na česticu, odnosno matricu.

Uporedni rezultati za modul elastičnosti i Poasonov odnos za različite zapremske udele sferičnih čestica, prikazani su u Tabl. 15. 1.

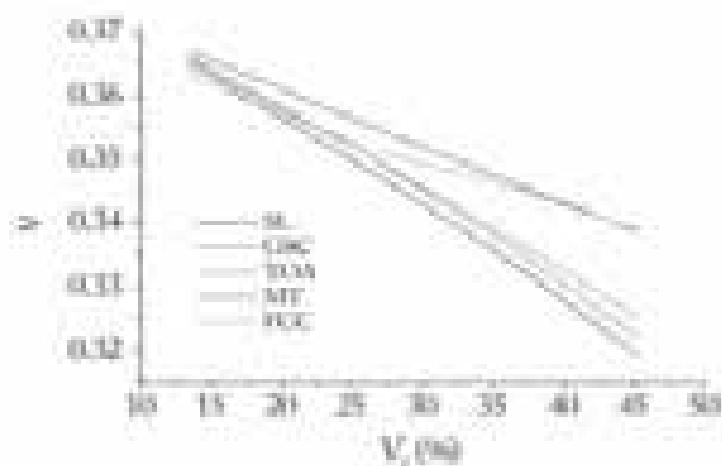
*TABELA 15.1 Uporedni rezultati za modul elastičnosti i Poasonov odnos za različite zapremske udele sferičnih čestica*

MODUL ELASTIČNOSTI (daN/mm <sup>2</sup> )					
$V_f$	Seguardo i Llorca (SL)	GSC	TOA	MT	FCC (ovaj rad)
13,4%	393	392	392	390	390
26,2%	522	520	520	501	494,5
36,8%	678	663	663	623,5	616
45,24%	851	815	815	750	741
POASONOV ODNOS					
$V_f$	Seguardo i Llorca (SL)	GSC	TOA	MT	FCC (ovaj rad)
13,4%	0,3651	0,3662	0,3658	0,3672	0,3633
26,2%	0,3483	0,3505	0,3505	0,3553	0,3516
36,8%	0,3331	0,3354	0,3368	0,3459	0,3453
45,24%	0,3192	0,3221	0,3252	0,3385	0,3387



*SLIKA 15.20 Promena modula elastičnosti u funkciji od zapremskog udela sferičnih čestica*

Praktično, izvršeno je poređenje izračunatih modula elastičnosti i vrednosti Poasonovog odnosa dobijenih različitim metodama za različite vrednosti zapreminskog udela čestica oblika sfere. Rezultati su prikazani na Sl. 15.20 i 15.21. Maksimalno odstupanje rezultata modula elastičnosti kod FCC modela za manje vrednosti zapreminskog udela čestica iznosi do oko 5%, dok je kod viših vrednosti ono do 15%. Na primer, za  $V_f=26,2\%$  odstupanje FCC modela od modela po Mori-Tanaka teoriji iznosi manje od 1%, dok je poklapanje sa ostalim metodama u okvirima 15% što u potpunosti opravdava numerički model čestičnog kompozita sa FCC rasporedom sferičnih čestica.



SLIKA 15.21 Promena Poasonovog odnosa u funkciji od zapreminskog udela sferičnih čestica

## 15.4 POREĐENJA NUMERIČKIH I EKSPERIMENTALNIH REZULTATA

U Tabl. 15.2 prikazane su vrednosti modula elastičnosti  $E$ , eksperimentalno izmerenih od strane Shikinami i Okuno [26], za različite vrednosti zapreminskih udela čestica HAp u polimernoj matrici PLLA. Ove vrednosti su dobijene ispitivanjem kompozitnih epruveta prema JIS standardu (*Japanese industrial standard*): na savijanje u tri tačke (JIS K 7203), na zatezanje (JIS K 7113) i na pritisak (JIS K 7208). Sve kompozitne epruvete imale su kompaktnost-homogenost od skoro 100%. Zapreminski udeo poroznosti je kod najlošije kompozitne epruvete iznosio samo 0,1%.

Treba imati u vidu činjenicu da merenja metodama na zatezanje i pritisak kod ovih materijala ne daju zadovoljavajuće rezultate usled mnogih problema koji se javljaju pri samom izvođenju merenja [26], a što je i očigledno na osnovu prikazanih rezultata u Tabl. 15.2. Odavde je jasno, da se samo rezultati merenja dobijeni primenom metode savijanja u tri tačke mogu prihvati kao dobri eksperimentalni rezultati, tako da su upravo oni prihvaćeni kao relevantni za dalja poređenja. Zato

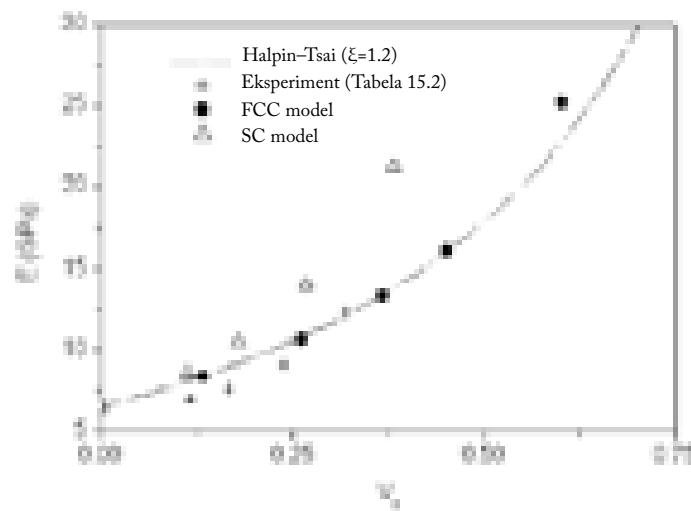
su u nastavku ovog poglavlja oni bili upoređeni sa odgovarajućim rezultatima koji su dobijeni primenom drugih metoda.

*TABELA 15.2 Eksperimentalno izmerene vrednosti modula elastičnosti E [26]*

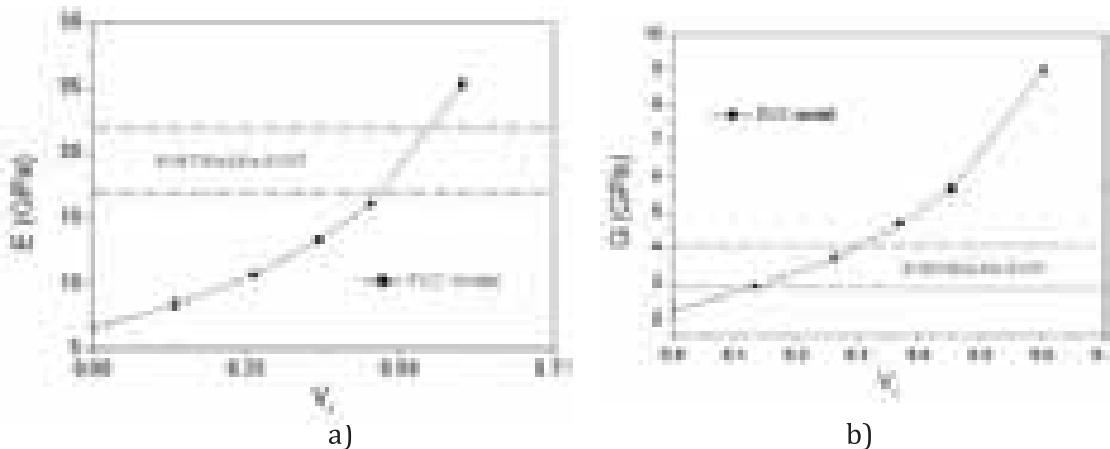
HAp/PLLA (težinski odnos) %	HAp/PLLA (zapreminski odnos) %	E <sub>b</sub> (JIS K 7203) GPa	E <sub>t</sub> (JIS K 7113) GPa	E <sub>c</sub> (JIS K 7208) GPa
0/100	0/100	6,5 ( $\pm 0,3$ )	1,3 ( $\pm 0,3$ )	4,8 ( $\pm 0,02$ )
20/80	11,5/88,5	7,0 ( $\pm 0,2$ )	2,0 ( $\pm 0,2$ )	5,3 ( $\pm 0,09$ )
30/70	16,7/83,3	7,6 ( $\pm 0,1$ )	2,3 ( $\pm 0,2$ )	5,6 ( $\pm 0,2$ )
40/60	23,8/76,2	9,1 ( $\pm 0,4$ )	2,3 ( $\pm 0,2$ )	6,1 ( $\pm 0,2$ )
50/50	32,0/68,0	12,3 ( $\pm 0,2$ )	2,4 ( $\pm 0,9$ )	6,5 ( $\pm 0,2$ )

Na Sl. 15.22 dat je uporedni prikaz rezultata modula elastičnosti čestično kompozitnog HAp/PLLA biomaterijala dobijenih različitim metodama. Tu je izvršeno poređenje dobijenih rezultata sa eksperimentalnim rezultatima iz Tabl. 15.4 (rezultati merenja obavljenih metodom savijanja u tri tačke,  $E_b$ ), kao i sa rezultatima koji su dobijeni poluempirijskom metodom Halpin-Tsai.

Na Sl. 15.23 prikazani su uporedni rezultati modula elastičnosti i modula smicanja čestičnog kompozita HAp/PLLA, dobijenih na osnovu FCC modela, sa vrednostima izmerenim kod prirodne kosti [26]. Rezultati koje daje model sferičnih čestica u FCC rasporedu, u odnosu na rezultate ostalih numeričkih modela, daju daleko bolje poklapanje sa eksperimentalnim rezultatima iz Tabl. 15.4. Uočena odstupanja rezultata su u inženjerski prihvatljivim granicama (maksimalno oko 15%). U



*SLIKA 15.22 Uporedni prikaz rezultata modula elastičnosti E u funkciji zapreminskog udela čestica ojačanja.*



*SLIKA 15.23 Uporedni prikaz rezultata (a) modula elastičnosti i (b) modula smicanja sa vrednostima izmerenim kod prirodne kosti [26].*

literaturi koja se odnosi na analize ovih savremenih biokompozitnih materijala, na više mesta se mogu naći ozbiljne diskusije o uticaju i značaju laboratorijskih uslova na proces proizvodnje ovakvih materijala.

## 15.5 PITANJA ZA REKAPITULACIJU

- 15.1 Šta je reprezentativni zapreminski element-RZE?
- 15.2 Zašto je Metoda Halpin-Tsai poluempijska metoda?
- 15.3 Koje metode proračuna se primenjuju u mikromehanici kompozitnih materijala?
- 15.4 Objasniti „filozofiju“ modeliranja mikromehanike čestičnih kompozita?
- 15.5 Šta numerički model mikrostrukture zanemaruje u odnosu na realnu mikrostrukturu kompozita?
- 15.6 U čemu je razlika između SC i FCC rasporeda sferičnih čestica u matrici?
- 15.7 Koji je raspored povoljniji i zašto?
- 15.8 Zašto je koncentracija napona manja kod FCC rasporeda?
- 15.9 Kako se slažu numerička rešenja za SC i FCC raspored sa eksperimentalnim rezultatima?
- 15.10 Objasniti uticaj oblika, zapreminskog udela i rasporeda keramičkih čestica (HAp) u polimernoj matrici (PLLA), na modul elastičnosti kompozita.
- 15.11 Koje su prednosti i mane modeliranja mikrostrukture čestičnih kompozita primenom RZE?

## 15.6 LITERATURA

1. S. Schmauder, Computational mechanics, *Annual Review of Materials Research*, 32 (2002) 437–65.
2. L.L. Mishnaevsky Jr, S. Schmauder, Continuum mesomechanical finite element modeling in materials development: A state-of-the-art review. *Applied Mechanics Review*, 54 (2001) 49–74.
3. G.J. Weng, Some elastic properties of reinforced solids, with special reference to isotropic ones containing spherical inclusions, *International Journal of Engineering Science*, 22 (1984) 845–856.
4. R.M. Christensen, K.H. Lo, Solutions for effective shear properties in three phase sphere and cylinder models, *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, 27 (1979) 315–330.
5. T. Nakamura, S. Suresh, Effects of thermal residual stresses and fiber packing on deformation of metal-matrix composites, *Acta Materialia*, 41 (1993) 1665–1681.
6. M.N. Vijayashankar, S. Neti, S. Anken, Finite element method modeling of deformation behavior of two-phase materials. Part (I): Stress-strain relations, *Materials Science and Engineering A*, 145 (1991) 47–54.
7. Y-L. Shen, M. Finot, A. Needleman, S. Suresh, Effective elastic response of two-phase composites, *Acta Metallurgica et Materialia*, 42 (1994) 77–97.
8. F.J. Guild, A.J. Kinloch, Predictive modeling of the mechanical properties of rubber-toughened epoxy, *Journal of Materials Science Letters*, 13 (1994) 629–632.
9. W. Wu, K. Boberick, K. Sadeghipour, G. Baran, Predictive modeling of elastic properties of particulate-reinforced composites, *Materials Science and Engineering A*, 332 (2002) 362–370.
10. B.D. Agrawal, L.J. Broutman, Three-dimensional finite element analysis of spherical particulate composites, *Fibre Science and Technology*, 7 (1974) 63.
11. A. Levy, J.M. Papazian, Elastoplastic finite element analysis of short-fiber-reinforced Sic/Al composites: effects of thermal treatment, *Acta Metallurgica et Materialia*, 39 (1991) 2255–2266.
12. Y. Wu, Z. Dong, Three-dimensional finite element analysis of composites with coated spherical inclusions, *Materials Science and Engineering*, 203 (1995) 314–323.
13. C.P. Tsui, C.Y. Tang, T.C. Lee, Finite element analysis of polymer composites filled by interphase coated particles, *Journal of Materials Processing Technology*, 117 (2001) 105–110.
14. R. M. Jones, Mechanics of composite materials, Hemisphere Publishing Co., New York (1975).
15. A. Borbely, H. Biermann, O. Hartmann, FE investigation of the effect of particle distribution on the uniaxial stress-strain behaviour of particulate reinforced metal matrix composites. *Materials Science and Engineering A*, 313 (2001) 34–45.
16. J. Segurado, J. Llorca, A numerical approximation to the elastic properties of sphere-reinforced composites, *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, 50 (2002) 2107–2121.

17. J.P. Fan, C.P. Tsui, C.Y. Tang, C.L. Chow, Influence of interphase layer on the overall elasto-plastic behaviors of HA/PEEK biocomposite, *Biomaterials*, 25 (2004) 5363–5373.
18. P. Lingois, L. Berglund, Modeling elastic properties and volume change in dental composites, *Journal of Materials Science*, 37 (2002) 4573–4579.
19. I. Balać, P.S. Uskoković, M. Milovančević, R. Aleksić, D. Uskoković, Finite element modeling of the mechanical properties in particulate composite biomaterials, *Materials Science Forum*, 413 (2003) 257–261.
20. I. Balać, M. Milovančević, C.Y. Tang, P.S. Uskoković, D. Uskoković, Estimation of the elastic properties of a face-centered cubic ceramic particle composite, *Materials Letters*, 58 (2004) 2437–2441.
21. I. Balać, P.S. Uskoković, N. Ignjatović, R. Aleksić, D. Uskoković, Stress analysis in hydroxyapatite/poly-L-lactide composite biomaterials, *Computational Materials Science*, 20 (2001) 275–283.
22. I. Balać, P.S. Uskoković, R. Aleksić, D. Uskoković, Predictive modeling of the mechanical properties of particulate hydroxyapatite reinforced polymer composites, *Journal of Biomedical Materials Research*, 63 (2002) 793–799.
23. J.C. Halpin, S.W. Tsai, Effects of environmental factors on composite materials, AFML-TR, (1969) 67–243.
24. Y. Benveniste, A new approach to the application of Mori-Tanaka's theory in composite materials, *Mechanics of Materials*, 6 (1987) 147–157.
25. S. Torquato, Effective stiffness tensor of composite media: II. Applications to isotropic dispersions, *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, 46 (1998) 1411–1440.
26. Y. Shikinami, M. Okuno, Bioresorbable devices made of forged composites of hydroxyapatite (HA) particles and poly-L-lactide (PLLA): Part I. Basic characteristics *Biomaterials*, 20 (1999) 859–877.

---

## NANOMEHANIČKA KARAKTERIZACIJA BIOMATERIJALA<sup>1</sup>

Tokom samog postupka procesiranja kompozita, usled spregnutih uticaja temperature, pritiska kao i vremena tretiranja vrlo često dolazi do značajne promene karakteristika konstituenata kompozita koji se mogu znatno razlikovati od onih koje konstituenti imaju kao zasebni materijali. Tako na primer očekivane mehaničke karakteristike kompozita hidroksiapatit/poli-L-laktid (HAp/PLLA) odstupaju i do 50% u odnosu na literaturne rezultate za metodu toplog presovanja zbog polaznih podataka koje ne uzimaju u obzir fizičko-hemijske promene koje se dešavaju pri samom procesiranju kompozita. Pri formiranju numeričkog modela potrebnog za sprovođenje numeričke analize primenom MKE, pored geometrije modela, potrebno je zadati granične uslove modela i opterećenja, kao i odgovarajuće materijalne karakteristike upotrebljenih materijala. Dakle, da bi se napravio pouzdan numerički model kompozita, postoji problem definisanja polaznih materijalnih karakteristika svake od sastavnih komponenti kompozita. Tako na primer kod HAp/PLLA biomaterijala, komponenta PLLA je posebno osetljiva u smislu materijalnih karakteristika (modul elastičnosti) na uslove proizvodnje-procesiranja, tako da postoji realna opasnost da se u numerički model unese pogrešna vrednost karakteristike materijala matrice što kasnije daje pogrešnu procenu krutosti samog kompozita.

Zbog toga je neophodan prikladan metod da se odredi elasto-plastično ponašanje materijala faza već formiranog kompozita.

Još pre pedeset godina Tabor [1, 2] je pokazao da je tvrdoća metala direktno povezana sa vrednošću napona tečenja. On je pokušao da dođe do podataka o ponašanju materiala tj. krive zavisnosti napona od deformacije, bez odgovarajućeg eksperimentalnog ispitivanja epruveta na zatezanje odnosno pritisak.

Poznavanje krive koja opisuje elasto-plastično ponašanje kompozitnog biomaterijala od izuzetne je važnosti pogotovo ukoliko se taj kompozit koristi kao deo nosećih struktura kostiju odnosno ako vrši prenos opterećenja.

---

<sup>1</sup>Ovo poglavlje napisali su Petar Uskoković i Igor Balać.

Za razliku od termoplastičnih polimera (PLLA) materijalno ponašanje za keramiku (HAp) je manje više poznato. Kao što je već rečeno, tokom procesiranja kompozita usled uticaja temperature i pritiska dolazi do promene mehaničkih karakteristika polimera što dovodi do karakteristika konstituenata koji se mogu znatno razlikovati od onih koje konstituenti imaju kao zasebni materijali. Usled toga je neophodno na odgovarajući način izmeriti te karakteristike. Jedna od metoda koja se od nedavno koristi kod određivanja mehaničkih karakteristika biomaterijala je metoda nanoindentacije.

Pored široke upotrebe u materijalima kao što su tanki filmovi i tvrde prevlake, određivanje mehaničkih karakteristika eksperimentalnim metodama visoke rezolucije, kao što je nanoindentacija, postaje sve važnija kod npr. polimera ili polimernih blendi [3,4], keramika sa finom strukturom [5], fazno-ratzdvojenih materijala i kompozita [6–10]. Nanoindentacija se poslednjih godina intenzivno primenjuje kod određivanja mehaničkih karakteristika biomaterijala kao što su polietileni visoke molarne mase, sinterovani biokeramički prahovi i bioaktivne kompozitne prevlake [11–13].

U ovom poglavlju je prikazana kombinovana metoda nanoindentacije i MKE modeliranja, primenljiva za širi spektar čestično ojačanih polimera, gde je neophodno odrediti elasto-plastične karakteristike polimera koje značajno zavisi od uslova procesiranja kompozita.

## 16.1 OSNOVE METODE NANOINDENTACIJE

Utiskivač poznatog oblika, a najčešće je to trostrana piramida definisane geometrije (tip *Berkovich*), utiskuje se u površinu materijala koji se ispituje pri čemu se istovremeno prati zavisnost sile i dubine utiskivanja. Na osnovu tih podataka jednostavno se izračunava modul elastičnosti ispitivanog materijala  $E$  kao i njegova tvrdoća  $H$ .

U najčešće korišćenoj opciji ove metode, podaci se dobijaju iz jednog punog ciklusa opterećenja tj. utiskivanja indentera u površinu materijala koji se ispituje i rasterećenja.

U studiji koja je metodu nanoindentacije prilagodila korišćenju u savremenim uređajima, Oliver i Pharr [14] dali su iscrpan prikaz razvoja ove metode i njene primene u površinskim ispitivanjima materijala. Procedura je zasnovana na problemu elastičnog kontakta prema kome je razvijen metod [15], koji je davao rešenja za različite oblike indentera kao što su cilindrični i konični. Za elastične kontakte i jednostavne geometrije, opšti odnos između opterećenja i deformacije tj. dubine utiskivanja može se predstaviti odnosom:

$$P = \alpha \cdot h^m \quad (16.1)$$

gde je  $P$  opterećenje indentera,  $h$  je dubina utiskivanja, a  $\alpha$  i  $m$  su konstante koje se određuju empirijski na osnovu dijagrama utiskivanja-indentacije. Ova jednačina se naziva i Kikov zakon.

Međutim, očigledno je da prilikom utiskivanja dolazi do elasto-plastičnog deformisanja materijala ispitivanog uzorka, što se jasno i vidi sa Sl. 16.1, pošto posle rasterećenja postoji veličina zaostalih deformacija. Ali, rezultati početnih eksperimentirana pokazali su da se oblik krive rasterećenja i celokupna regenerisana deformacija mogu precizno povezati sa modulom elastičnosti i veličinom kontaktnog otiska, kako sferičnog tako i koničnog indentera. To je i logično uzimajući u obzir činjenicu da se prilikom rasterećenja odvija isključivo elastični kontakt. Ukoliko se, prema [14], uvede pojam redukovanih modula elastičnosti koji uzima u obzir odnosno spreže elastičnu deformaciju uzorka i utiskivača, onda postoji sledeća veza između modula elastičnosti uzorka i modula elastičnosti indentera:

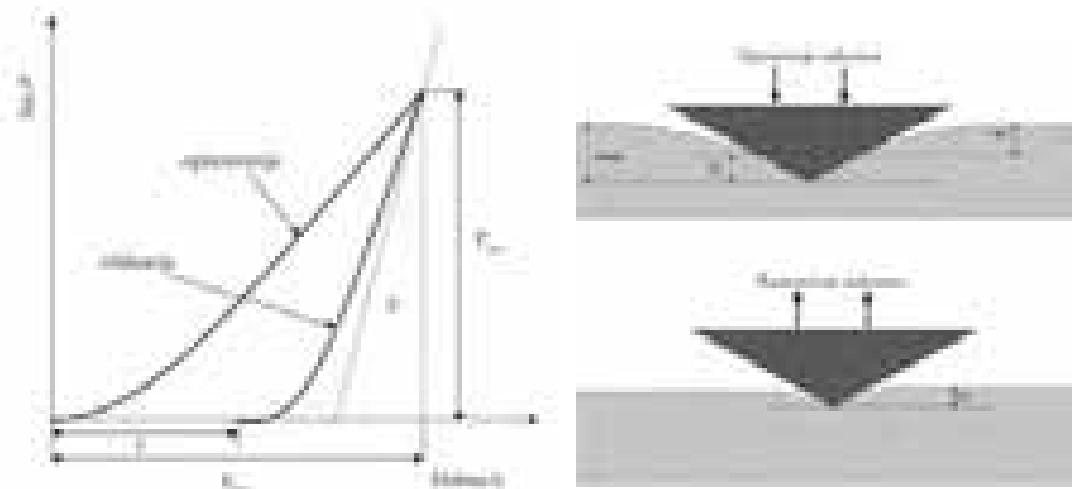
$$\frac{1}{E_r} = \frac{(1 - v_m^2)}{E_m} + \frac{(1 - v_i^2)}{E_i} \quad (16.2)$$

gde su  $E_m$  i  $v_m$  Jangov modul elastičnosti i Poasonov odnos ispitivanog materijala-uzorka, a  $E_i$  i  $v_i$  su isti parametri indentera.

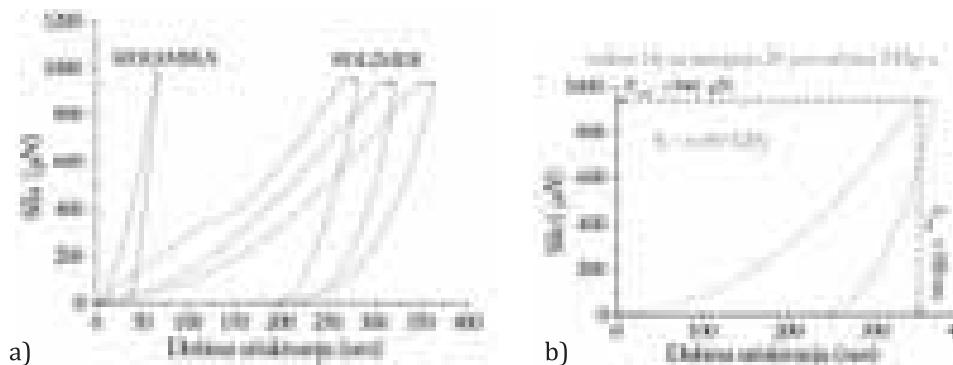
U daljem tekstu opisana je opšteprihvaćena metoda Olivera i Pharra [14] koja je u stvari proširena ideja pokazana kod Doerner i Nix [15], a koja daje najbolje rezultate pri određivanju mehaničkih svojstava realnih materijala, pa je kao takva i korišćena u proračunima modula elastičnosti ispitivanog materijala u ovom radu.

Na Sl. 16.1 dat je šematski prikaz postupka indentacije u preseku kao i prikaz tipične krive koja daje zavisnost sile utiskivanja u funkciji od dubine za jedan ciklus opterećenje-rasterećenje.

Veličine prikazane na Sl. 16.1 jesu:  $P$  – opterećenje,  $h_c$  – dubina kontakta,  $h_s$  – deformacija površine po obimu kontakta,  $h_f$  – dubina zaostalog otiska. U bilo kom



SLIKA 16.1 Šematski prikaz postupka indentacije u preseku kao i prikaz tipične krive



*SLIKA 16.2 Karakteristične krive (a) sila-dubina utiskivanja za keramiku, odnosno polimer; i (b) za matricu koja može biti jedna od reprezentativnih.*

trenutku tokom opterećenja materijala indenterom, potpuna deformacija opisuje se kao:

$$h = h_c + h_s \quad (16.3)$$

gde je  $h_c$  vertikalno rastojanje duž kojeg dolazi do kontakta (dubina kontakta), a  $h_s$  je deformacija površine po obimu kontakta. Pri najvećem opterećenju, opterećenje i deformacija su  $P_{\max}$  i  $h_{\max}$ . Pri relaksaciji odnosno rasterećenju, deformacije se postepeno smanjuju, a kada se indenter u potpunosti povuče konačna dubina zaostalog otiska je  $h_f$  (trajna deformacija materijala). Tri najvažnija parametra su: najveće opterećenje  $P_{\max}$ , deformacija pri najvećem opterećenju  $h_{\max}$ , i početna kontaktna krutost pri rasterećenju  $S_{\max}$ .

Kontaktna krutost ( $S=dP/dh$ ) meri se iz nagiba gornjeg dela krive relaksacije, tj rasterećenja, pri najvećem opterećenju (Sl. 16.1). Pošto jednačina (16.1) važi za elastični kontakt, a on se kod indentacije dešava pri rasterećenju, to se kriva relaksacije može u smislu veze  $P-h$  predstaviti kao:

$$P = \alpha (h - h_f)^m \quad (16.4)$$

pri čemu se vrednosti konstanti  $\alpha$ ,  $m$  i  $h_f$  određuju empirijski na osnovu dijagrama utiskivanja-indentacije, i to na osnovu više merenja. Početni nagib krive relaksacije nalazi se diferenciranjem izraza (16.4), odnosno određivanjem izvoda pri najvećem opterećenju i deformaciji.

Vrednost redukovanih modula elastičnosti  $E_r$ , kao funkcije kontaktne krutosti  $S$  i površine kontakta  $A$  pri najvećem opterećenju, iznosi:

Površina kontakta pri najvećem opterećenju, određuje se iz geometrije indentera i dubine kontakta  $h_c$ . Po metodi Olivera i Pharra, pretpostavljamo da je geometrija indentera funkcija dubine kontakta koja se određuje pre analize. Dubina kontakta se dobija izrazom  $h_c = h_{\max} - h_s$ . Pošto se  $h_{\max}$  može odrediti eksperimentalno, osnova analize jeste dobijanje površine deformacije po obimu kontakta iz poda-

taka opterećenje-dubina. Ova veličina zavisi od geometrije indentera, a za konični indenter sa poluuglom konusa od  $70,3^\circ$  koristi se tzv. Sneddonova jednačina:

$$h_s = (h - h_f) (\pi - 2)/\pi \quad (16.6)$$

Sneddonov odnos za konični indenter dat je izrazom:

$$h - h_f = 2P/S \quad (16.7)$$

pri čemu se zamenom ove jednačine u prethodnu, a pri maksimalnoj vrednosti sile, dobija:

$$h_s = \varepsilon P_{\max}/S \quad (16.8)$$

gde je  $\varepsilon$  geometrijska konstanta  $\varepsilon=2(\pi-2)/\pi$  koničnog indentera, a njena vrednost je 0,72. Zanimljivo je istaći da je i za indenter tipa *Berkovich* vrednost za geometrijsku konstantu  $\varepsilon$  iznosi takođe 0,72 što implicira da će i krive opterećenje-dubina utiskivanja i od jednog i od drugog indentera biti iste. To je i potvrđeno brojnim eksperimentalnim analizama.

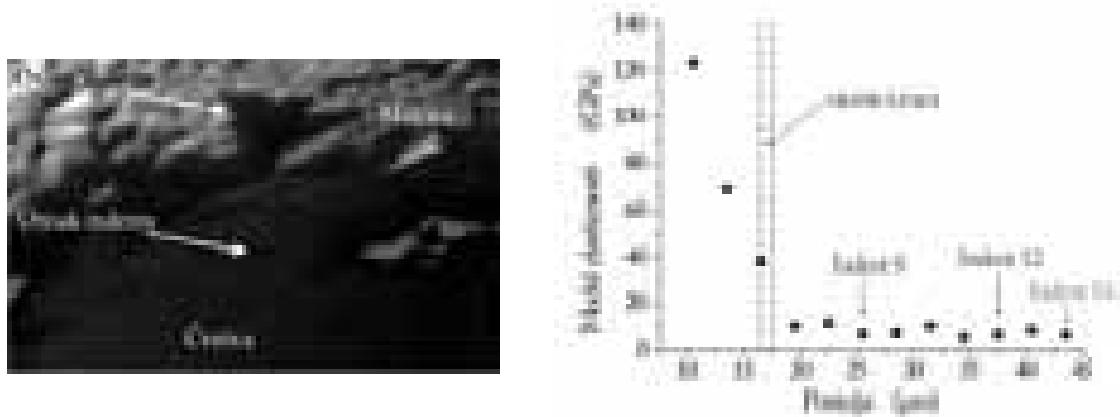
Ovom procedurom, modul elastičnosti ispitivanog materijala izračunava se na osnovu podataka tj. krive opterećenje-dubina utiskivanja, odnosno primenom jednačina (16.2) i (16.5).

## 16.2 EKSPERIMENTALNI REZULTATI NANOINDENTACIJE

U okviru ovog poglavlja, prikazana je serija kvazi-statičkih indenta (utiskivanja indentera), koji su započeti na keramičkoj fazi (HAp) i završeni u polimernom delu kompozita (PLLA). Generalno, tokom prvih 5 sekundi indenter se utiskuje u površinu uzorka sa brzinom porasta sile opterećenja od  $200 \mu\text{N/s}$ . Nakon dostignutog opterećenja od oko  $1000 \mu\text{N}$ , koje predstavlja i maksimalno opterećenje indentacije, indenter je zadržan tokom 2 sekunde da bi se izbegao efekat puzanja, a pre nastupanja faze rasterećenja materijala brzinom od  $200 \mu\text{N/s}$ . Razmak između pojedinačnih indenta na čestici i matrici bio je podešen na  $1,5$  i  $3 \mu\text{m}$ , redosledno, a sa ciljem izbegavanja mogućeg uticaja zona plastičnih deformacija na najbliže indente.

U cilju izračunavanja modula elastičnosti površine uzorka, jednačina (16.2), neophodna je vrednost Poasonovog odnosa. Ovde je modul elastičnosti izračunat prepostavljanjem vrednosti Poasonovog odnosa od 0,28 i 0,45, za HAp i PLLA respektivno, a na osnovu dostupnih podataka iz literature. Na osnovu serije dijagrama koji pokazuju zavisnost opterećenje-dubina utiskivanja (Sl. 16.2a) izabrane su tzv. reprezentativne krive na osnovu kojih su izmerene vrednosti modula elastičnosti površine kompozita HAp-PLLA. Prikaz karakteristične krive za matricu koja može biti jedna od reprezentativnih dat je na Sl. 16.2b.

Rezultati prikazani na Sl. 16.3 pokazuju najveće vrednosti izmerenog modula elastičnosti na keramičkoj čestici, što je i očekivano. Ovde je primenjeno relativno malo opterećenje da bi se izbeglo uranjanje čestice u okolnu matricu. Povećanje vrednosti modula elastičnosti matrice u blizini čestice, ovde se tumači kao posledica uticaja blizine čestice koja ima mnogo veći modul elastičnosti od matrice.



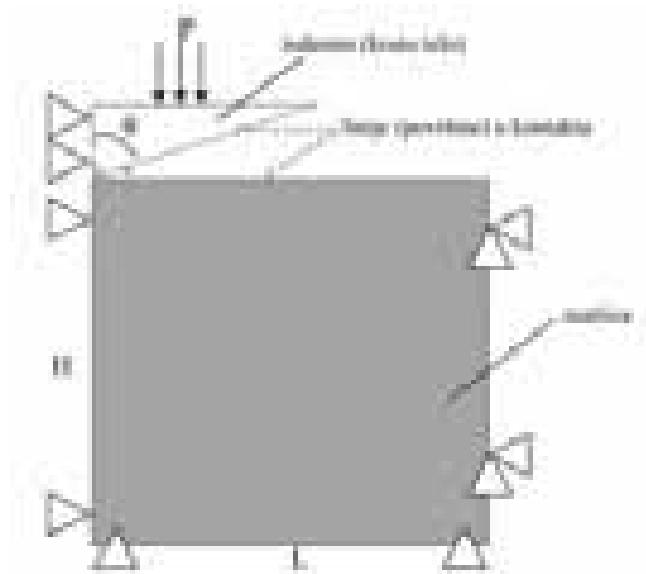
*SLIKA 16.3 Modul elastičnosti ( $E$ ) u zavisnosti od pozicije indentacije, sa prikazom otiska indentera na ispitivanoj površini kompozita kod granice faza.*

Prosečna vrednost modula elastičnosti keramičke HAp-čestice dobijena ovim ispitivanjem je 119 GPa. Rezultati merenja u blizini granice čestice sa matricom isključeni su iz proračuna. Izmerene vrednosti za HAp-materijal u saglasnosti su sa gornjom granicom za HAp dobijene konvencionalnim merenjima (117 GPa).

Prosečna vrednosti modula elastičnosti za PLLA matricu je 6,68 GPa. Ova prosečna vrednost predstavlja rezultat 9 merenja-utiskivanja indentera, a uočeno je da je ta prosečna vrednost modula elastičnosti za PLLA nešto viša od očekivane. Očekivana vrednost modula zasnovana je na podacima iz literature: pri kompresiji (4,7 GPa) i savijanju (6,5 GPa) [10].

### 16.3 NUMERIČKA SIMULACIJA METODE NANOINDENTACIJE

Numerički model kojim se simulira postupak metode nanoidentacije, treba da odgovori na pitanje validnosti izmerenih vrednosti modula elastičnosti matrice. Naime, kao što je prethodno pokazano, rezultati dobijeni nanoidentacijom variraju. Neka od mogućih objašnjenja već su ponuđena, ali ne i odgovor na pitanje: Da li je variranje izmerenih vrednosti modula elastičnosti matrice nastalo usled toga što se merno mesto nalazi blizu druge faze strukture kompozita (čestice), te se na taj način u elastičnom odgovoru matrice, na osnovu koga se i izračunava modul elastičnosti, ogleda u određenoj meri i uticaj keramičke faze kompozita?



SLIKA 16.4 Model indentera i matrice sa odgovarajućim graničnim uslovima.

U nastavku je napravljen numerički model kompozita koji daje odgovor na ovo pitanje. Dakle, na kom minimalnom rastojanju od mesta indentacije može da se nalazi keramička faza, a da njen uticaj na elastični odgovor matrice, odnosno mere-ru veličinu matrice bude neznatan?

Indenter je modeliran kao kupa sa poluuglom veličine  $70,3^\circ$  pošto takav indenter, kao što je već rečeno, pri indentaciji proizvodi iste krive sila-dubina utiskivanja kao i indenter tipa *Berkovich*. Pošto je u pitanju osnosimetrični 3D model, on se može svesti pri ovoj analizi na 2D model. Šematski prikaz ovog modela je dat na Sl. 16.4.

Indenter je modeliran kao absolutno kruto telo (3D), odnosno kao kruta linija-površina (Sl. 16.4) koja se utiskuje polako u matricu do određene dubine. Očigledno da je u pitanju kontaktni problem koji podrazumeva geometrijsku nelinearnost.

Uticaj trenja između kontaktnih površina ovaj model nije uzimao u obzir usled nedostupnosti podatka za odgovarajuću vrednost koeficijenta trenja. Ovo je donekle opravdano pošto su brojne studije pokazale da uticaj trenja zanemarljiv.

Kod svih urađenih numeričkih simulacija maksimalna dubina utiskivanja indentera pri opterećenju bila je  $h_{\max}=0,35 \mu\text{m}$ , dakle, ona nije menjana i ista je kao i u realno izvedenom eksperimentu prikazanom na Sl. 16.2b.

Tražena vrednost sile indentera  $P$  kojom se dobija zadata dubina utiskivanja od  $0,35 \mu\text{m}$ , dobijena je posle svake numeričke simulacije.

Model je rešavan numerički primenom softverskog paketa ANSYS 5.7 u okvirima teorije velikih deformacija, kao geometrijski nelinearni, a što se tiče poнаšanja materijala kao linearni, odnosno nelinearni problem.

Simulacija je prvo urađena za model kod koga je  $H=L=25 \mu\text{m}$ , a u tačkama  $x=L$  on nema zadate granične uslove. Pretpostavljeno je da je tako izračunata sila ( $F_{y\text{un}}$ ) približno jednaka sili koja bi se dobila kada bi veličine  $L$  i  $H$  težile beskonačnosti.

U cilju simulacije uticaja blizine prisustva keramičke faze (u matrici kompozita) mesto indentacije, u ovom modelu veličina  $L$  je postupno smanjivana od  $L=25 \mu\text{m}$  do vrednosti  $L=1,2 \mu\text{m}$  primenom graničnog uslova da sve tačke modela koje se nalaze na liniji  $x=L$  nemaju pomeranje u  $x$  odnosno, u  $y$  pravcu. Dakle, ovi izmodelirani oslonci na liniji  $x=L$  modela, simuliraju krutost keramičke faze.

Elementi koji su korišćeni su 6-čvorni ravanski strukturalni solid elementi (opcija 8-čvornog ravanskog strukturalnog solid elementa), sa kontaktnim linjskim elementima pridruženim kontaktnim linijama (površinama). Svaki čvor ima 2 stepena slobode u smislu pomeranja u  $x$  i  $y$  pravcu.

Na Sl. 16.5 prikazana je tipična mreža konačnih elemenata dela matrice u deformisanom stanju pri  $h_{\max}=0,35 \mu\text{m}$ , koja ima ukupno 1572 elemenata. Vođeno je računa da kod svih numeričkih simulacija broj elemenata modela matrice koji su u kontaktu sa indenterom bude ne manji od 10, a pri maksimalnoj dubini utiskivanja.

Materijalni parametri koji utiču na elasto-plastično deformisanje materijala za vreme trajanja indentacije jesu: elastične konstante, modul elastičnosti –  $E$  i Poasonov koeficijent –  $\nu$ , napon tečenja –  $\sigma_{\text{yield}}$  i funkcija ojačavanja  $\eta=d\sigma/d\varepsilon$  izražena preko plastičnog rada (*work hardening rate*). Zakon ojačavanja materijala (*work hardening rule*) direktno je povezan sa veličinom  $h_f$  koja predstavlja dubinu zaostalog otiska posle rasterećenja preko parametra definisanog kao odnos  $h_f/h_{\max}$  koji se lako izračunava ukoliko je poznata zavisnost sile indentera u funkciji od dubine utiskivanja pri jednom ciklusu indentacije. Prirodne granice ovog parametra su  $0 < h_f/h_{\max} < 1$  [16].

Pošto je karakteristika materijala polimerne matrice PLLA, u smislu njenog ponašanja posle tačke tečenja, a samim tim i funkcija ojačavanja  $\eta$ , nepoznata, svi modeli su urađeni sa dve karakteristike materijala koje odgovaraju idealno linearno-elastičnom odnosno idealno plastičnom ponašanju.



*SLIKA 16.5 Deo mreže konačnih elemenata modela matrice (dimenzije  $5 \times 5 \mu\text{m}$ ) u deformisanom stanju pri maksimalnoj dubini utiskivanja od  $0,35 \mu\text{m}$*

Prva serija modela je urađena sa materijalom koji je idealno linearno-elastičan:

$$\sigma = E \varepsilon \text{ za svako } \varepsilon > 0, \quad (16.9)$$

a druga sa idealno linearno elasto-plastičnim materijalom, bez ojačanja ( $\eta=0$ ), definisanim sa:

$$\sigma = E \varepsilon \text{ za } \varepsilon < \varepsilon_{yeld} \quad (16.10)$$

$$\sigma = \sigma_{yeld} \text{ za } \varepsilon \geq \varepsilon_{yeld} \quad (16.11)$$

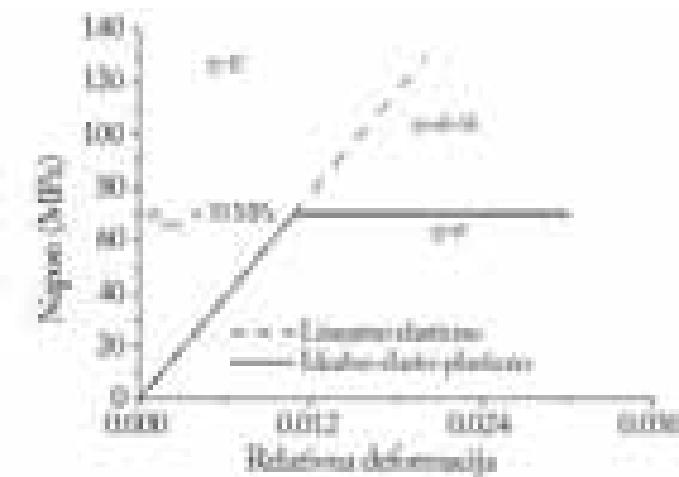
Stvarno ponašanje materijala matrice za  $\varepsilon \geq \varepsilon_{yeld}$  jeste funkcionalna kriva  $\sigma = \sigma(\varepsilon)$ , sa granicama:

$$\sigma = E \varepsilon > \sigma = \sigma(\varepsilon) > \sigma_{yeld} \quad (16.12)$$

Na Sl.16.6 prikazane su karakteristike materijala matrice korišćene za obe serije modela.

Kod prve serije modela sa linearno-elastičnim ponašanjem materijala, nije ograničen porast napona usled zadatog opterećenja, dok kod druge sa idealno elasto-plastičnim ponašanjem, jeste. Upotrebljeni podatak za napon tečenja polimera PLLA od  $\sigma_{yeld}=70$  MPa, usvojen je iz literature. Usvojena vrednost modula elastičnosti matrice kod obe serije modela je  $E=6,455$  GPa, i predstavlja rezultat eksperimenta prikazanog u ovom radu na Sl. 16.2 za indent obeležen sa br.14 pozicioniran na rastojanju 24 µm od HAp-čestice.

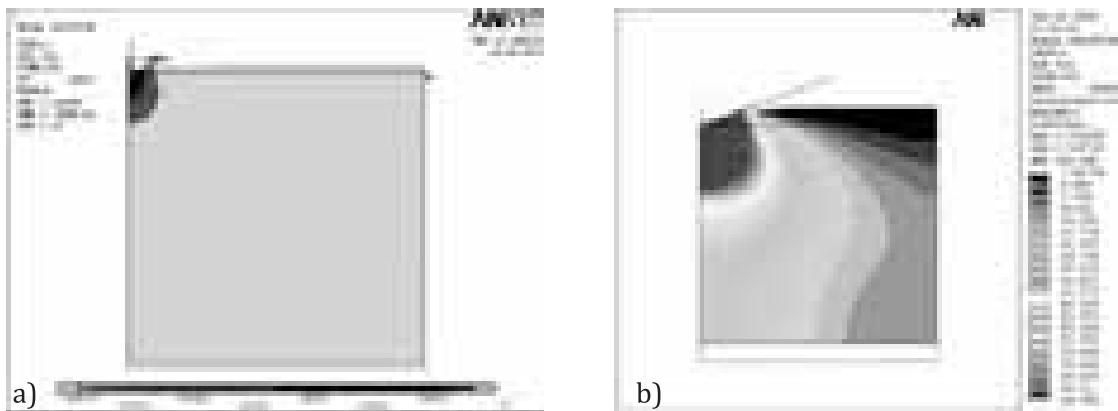
Na Sl. 16.7a prikazana je raspodela deformacija matrice pri maksimalnoj dubini utiskivanja od 0,35 µm u y-pravcu, a za slučaj idealno elasto-plastične karakteristike materijala matrice, a na Sl. 16.7b prikazana je raspodela ekvivalentnih naponova dela matrice za isti proračunski model.



SLIKA 16.6 Karakteristike materijala matrice korišćene za obe serije modela

Na Sl. 16.8 prikazana je normalizovana sila indentera ( $F_y/F_{y\text{ un}}$ ) potrebna za ostvarivanje dubine utiskivanja od  $0,35 \mu\text{m}$ , u funkciji od odnosa  $L/h_{\max}$  za oba razmatrana slučaja karakteristika materijala matrice.

Kao što je i očekivano, u slučaju linearne elastične karakteristike materijala, pri smanjivanju veličine  $L$  normalizovana sila indentera potrebna za ostvarivanje dubine utiskivanja od  $0,35 \mu\text{m}$ , mnogo brže raste nego u slučaju idealno elasto-plastičnog ponašanja matrice.



*SLIKA 16.7 Raspodele (a) deformacija matrice u y pravcu i (b) ekvivalentnih napona (u MPa) dela matrice pri maksimalnoj dubini utiskivanja od  $0,35 \mu\text{m}$*

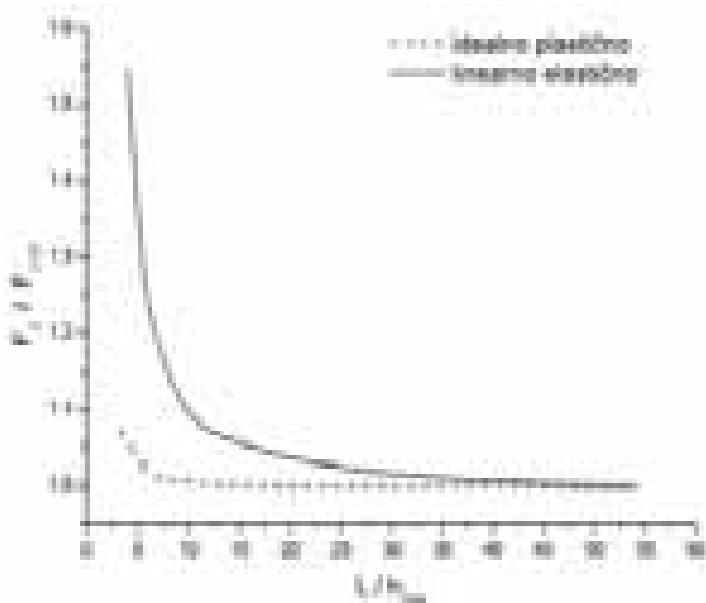
U slučaju idealno elasto-plastičnog ponašanja matrice izračunata je rezultujuća vrednost sile indentera od  $P=831,8 \mu\text{N}$ , koja je manja od vrednosti realno unete sile primenjene u eksperimentu od  $P=940 \mu\text{N}$ , a što se i vidi sa Sl. 16.2. Ovo je i očekivano uzimajući u obzir činjenicu da je stvarno ponašanje materijala, odnosno približna funkcija ojačavanja  $\eta=d\sigma/d\varepsilon$ , za polimer PLLA između prepostavljenih zavisnosti prikazanih na Sl. 16.6. Ukoliko je ta funkcija linearna ( $\eta=\text{const}$ ) u pitanju je bilinearno ponašanje materijala.

Rezultati obavljenih proračuna dati su na Sl. 16.8, koja prikazuje normalizovanu silu indentera potrebnu za ostvarivanje dubine utiskivanja od  $0,35 \mu\text{m}$  u funkciji od odnosa  $L/h_{\max}$ .

Na osnovu Sl. 16.8 može se zaključiti da je potrebno da minimalno rastojanje najbliže čestice od mesta indentacije bude 25 puta veće od veličine maksimalne dubine utiskivanja, tako da bi time bio ispunjen uslov da uticaj čestice na elastični odgovor matrice, odnosno merenu veličinu matrice, bude neznatan. Treba istaći da je ovaj zaključak u potpunosti u skladu sa istraživanjima sa sličnom tematikom, koju su nedavno objavili Gregory i Spearing [17].

U nastavku je prikazano određivanje ponašanja materijala polimerne faze kompozitnog biomaterijala u očvrsłom kompozitu, kombinovanjem metoda nano-indentacije i numeričkog modeliranja (MKE).

Naime, kao što je već rečeno, usvojen je tzv. bilinearni model ponašanja materijala matrice sa izotropnim ojačanjem, pa je prema tome ponašanje materijala u



*SLIKA 16.8 Normalizovana sila indentera potrebna za ostvarivanje dubine utiskivanja od  $0,35 \mu\text{m}$  u funkciji od odnosa  $L/h_{\max}$*

potpunosti određeno ako su poznati: modul elastičnosti –  $E$ , napon tečenja –  $\sigma_{\text{yield}}$  i indeks ojačanja –  $\eta$ . Ponašanje materijala matrice koje je ulazni parametar za primjenu numeričku analizu jeste funkcionalna kriva  $\sigma = \sigma(\varepsilon)$ , definisana kao:

$$\sigma = E \varepsilon \text{ za } \varepsilon < \varepsilon_{\text{yield}}; \quad (16.13a)$$

i

$$\sigma = \sigma_{\text{yield}} + \eta(\varepsilon - \varepsilon_{\text{yield}}) \text{ za } \varepsilon \geq \varepsilon_{\text{yield}} \quad (16.13b)$$

Kao što je već rečeno za ponašanje matrice u plastičnoj zoni, pretpostavljeno je linearno ojačavanje sa koeficijentom ojačanja  $\eta$ . Ovaj koeficijent zajedno sa ostala dva parametra, naponom tečenja ( $\sigma_{\text{yield}}$ ) i modulom elastičnosti ( $E$ ), u potpunosti opisuje elasto-plastično ponašanje matrice (PLLA).

Međutim, Pelltier [18] i Cheng i Cheng [19], nedvosmisleno su pokazali da se indentične krive opterećenja i rasterećenja mogu dobiti za različite funkcionalne zavisnosti koje opisuju elasto-plastično ponašanje (veze napon-deformacija). Međutim, ovaj fenomen u inverznom obliku se ne dešava [19–21].

Prethodno pomenuti fenomen dovodi do problema u slučaju da ni  $\sigma_{\text{yield}}$  niti  $\eta$  nisu poznati.

Kao što je već rečeno, ogromni napor su uloženi u iznalaženje generalnog postupka ili algoritma za određivanja elasto-plastičnog ponašanja materijala samo na osnovu eksperimentalnih podataka dobijenih njihovom indentacijom. Ti pokušaji koji su bili manje-više uspešni rađeni su uglavnom na metalima zboglake verifikacije. Naime, lako je verifikovati dobijene rezultate elasto-plastičnog ponašanja preko klasičnog ispitivanja epruveta zatezanjem. Tako, sve predložene metode odnose se i primjenjive su na materijale koji imaju materijalne karakteristike bliske materijalnim

karakteristikama metala [22,23]. Međutim, očekivano je da matrica PLLA posede vrednosti materijalnih karakteristika daleko od onih koje nalazimo kod metala.

Na osnovu prethodno rečenog, jasno je da je određivanje elasto-plastičnog ponašanja materijala matrice PLLA, samo na osnovu eksperimentalnih podataka dobijenih njenom indentacijom, veliki izazov.

Skoro sve studije koje su se bavile ovom problematikom pokazale su da se kriva  $P-h$ , koja prikazuje zavisnost sile od dubine indentacije, može u fazi utiskivanja matematički opisati u eksponencijalnom obliku  $P=Kh^n$  [24]. Za homogene materijale Loubet [25] je zaključio da je  $n=2$  (Kikov zakon), dok konstanta  $K$  zavisi od karakteristika elastičnosti (modula elastičnosti, Poasonovog odnosa), napona tečenja, kao i geometrije samog indentera. Međutim, pokazalo se da jednačina ovog oblika, u nekim slučajevima pri nekim dubinama indentacija kod metala, ne opisuje dobro dobijenu krivu  $P-h$ .

Eksperimentalna istraživanja na metalima primenom nanoindentacije [22], dokazala su da proširenje Kikovog zakona u obliku polinoma drugog reda,  $P=Ah^{2+}Bh$ , daje dovoljno dobro pokapanje za široki opseg dubina indentacije.

Kao rezultat prethodne diskusije, sledi da je veoma važno na pravi način matematički opisati zavisnost sile, u fazi utiskivanja, od dubine indentacije. Ukoliko je to moguće uraditi primenom Kikovog zakona,  $P=Kh^2$ , ili u obliku polinoma,  $P=Ah^{2+}Bh$ , onda za indentovani materijal sigurno važe sledeća dva zaključka: (i) indentovani uzorak je homogen materijal i (ii) neki zaključci koji važe za neke druge materijale mogu biti primenljivi i za materijal indentovanog uzorka. Zato je izuzetno važno detaljno analizirati oblik krive  $P-h$ , odnosno pokušati je opisati prethodno pomenutim jednačinama.

Numerička analiza primenom metode konačnih elemenata potvrdila je da se kod materijala koji imaju bi-linearno ponašanje oblik krive  $P-h$  u fazi utiskivanja indentera može opisati u obliku polinoma drugog reda,  $P=Ah^{2+}Bh$ , gde je koeficijent  $B \approx 0$ . Zato je očigledno da je Kikov zakon,  $P=Kh^2$ , dovoljan za kvalitativan opis krive  $P-h$ . Ovo je u skladu sa rezultatima koje su za polimere objavili Gregory i Spearing [13].

Na ovaj način moguće je iz seta nanoindentacijom dobijenih rezultata (krive  $P-h$ ) izdvojiti one krive koje se mogu opisati Kikovim zakonom. Tako dobijene vrednosti modula elastičnosti iz nanoindentacija koje odgovaraju tim krivim treba iskoristiti kao ulazne podatke za numeričku simulaciju tih indentacija a za prepostavljenu vrednost koeficijenta ojačanja. Kao izlaz iz numeričke simulacije dobija se slična kriva  $P-h$ . Potom se prepostavljana vrednost za funkciju ojačanja varira, sve dok se ne dobije odgovarajuće pokapanje dobijenih numeričkih i eksperimentalnih krivih. Ovakva predložena reversna kombinovana metoda kao izlaz daje vrednosti koje definišu elasto-plastično ponašanje polimerne matrice PLLA, pre (modul elastičnosti) kao i posle tačke tečenja (koeficijent ojačanja) kod već formiranog kompozita HAp/PLLA.

U nastavku je dat postupak predložene procedure na konkretnom primeru preko rezultata prikazanih na Sl. 16.9–11, na kojima su prikazane eksperimentalno dobijene krive  $P-h$ .

Prvo su iz čitave serije eksperimentalnih rezultata izdvojene 3 krive (8,12,14) koje su naizgled bile reprezentativne. Sve tri su ispunjavale sledeće uslove: (i) dobijene su indentacijom na mestu dovoljno udaljenom od najbliže čestice tako da uticaj čestice na elastični odgovor matrice bude neznatan,  $L/h_{\max} \geq 25$ , (ii) očitane vrednosti modula elastičnosti pokazivale su malo rasipanje i (iii) oblik krivih je ukazivao na očekivani karakteristični odgovor matrice. Na osnovu tih eksperimentalnih krivih, karakteristične vrednosti prikazane su u Tabl. 16.1.

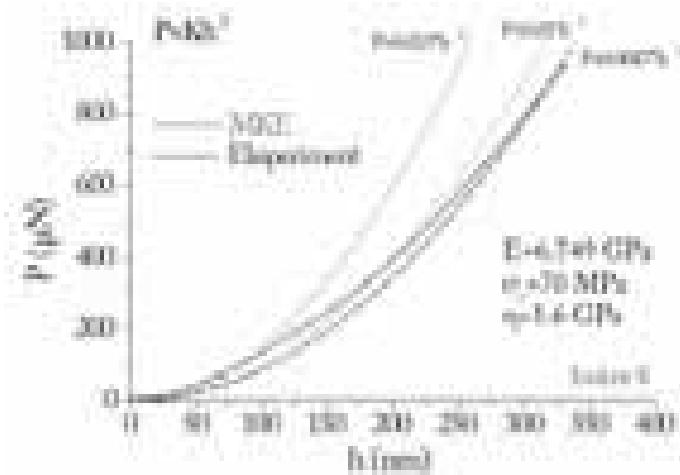
TABELA 16.1 Karakteristične vrednosti za izabrane indente (8,12,14).

Indent broj	Jungov modul elastičnosti – E	Maksimalna dubina utiskivanja – $h_{\max}$	Maksimalna sila utiskivanja – $P_{\max}$	Rastojanje od najbliže čestice – L	odnos $L/h_{\max}$
8	6,749 GPa	331 nm	945 $\mu\text{N}$	12 $\mu\text{m}$	36,25
12	6,479 GPa	345 nm	937 $\mu\text{N}$	18 $\mu\text{m}$	52,17
14	6,455 GPa	350 nm	940 $\mu\text{N}$	24 $\mu\text{m}$	68,57

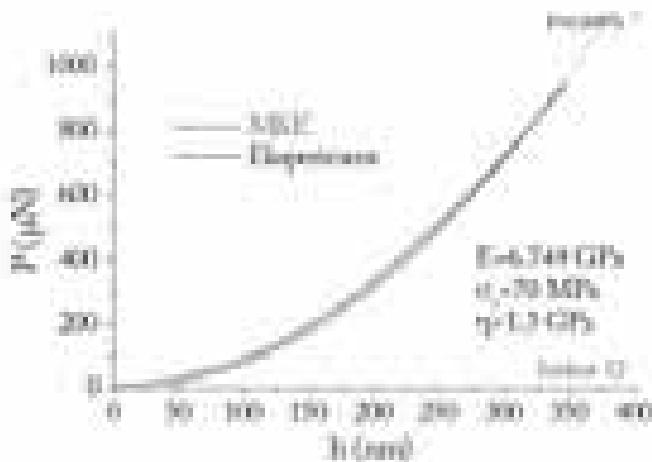
Krive indentacije broj 8 i 12, kao što i prikazuju Sl. 16.9 i 10, ne mogu se opisati Kikovim zakonom te ih treba uzeti sa rezervom. Treba primetiti da je oblik krive obeležen sa indent 12 mnogo bliži Kikovom zakonu nego oblik krive obeležen sa indent 8.

S druge strane, oblik krive obeležen sa indent 14 skoro savršeno sledi Kikov zakon u obliku  $P=0,0076 h^2$ , Sl. 16.11.

Potom je numeričkom simulacijom procesa utiskivanja indentera u ispitivani materijal, za svaki od ova tri modela varirana vrednost indeksa ojačanja, sve dok se ne poklope vrednosti maksimalne sile utiskivanja kod numeričkog modela i razmatrane eksperimentalne krive za izabrani indent. Pri tome je maksimalna



SLIKA 16.9 Karakteristične eksperimentalne i MKE vrednosti P-h za PLLA

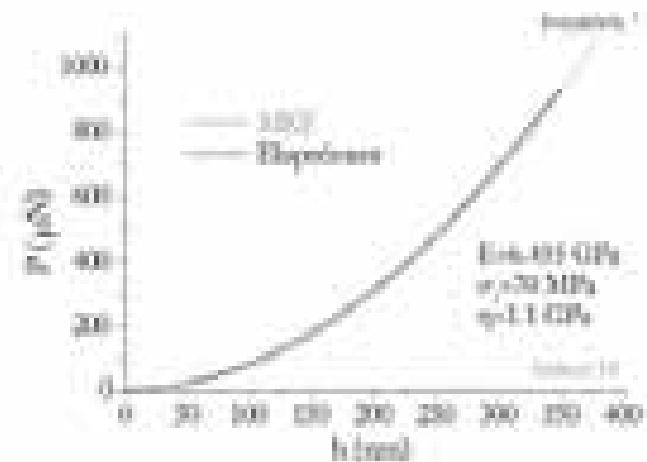


SLIKA 16.10 Izabrane P-h krive sa najboljim slaganjem eksperimenta i simulacije MKE

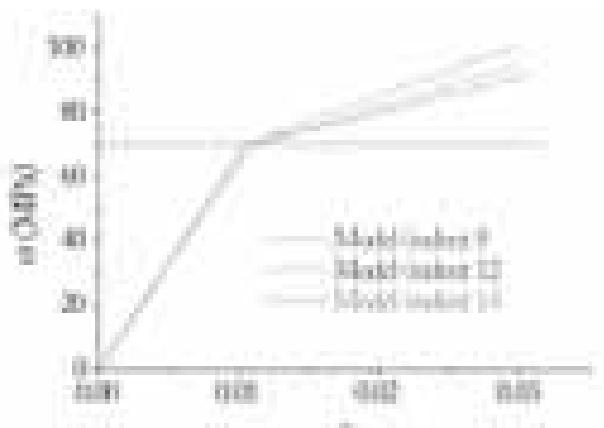
vrednost dubine utiskivanja bila nepromenljiva za svaki razmatrani model, a ta vrednost je bila očitana sa eksperimentalne krive. Vrednosti modula elastičnosti kao i dubina utiskivanja pri maksimalnoj sili utiskivanja iz Tabl. 16.1 korišćeni su kao ulazni podaci pri numeričkoj simulaciji ovih indentacija.

Očigledno je da se oblici krivih, dobijenih na osnovu eksperimentalnih rezultata prikazanih na Sl. 16.9 i 10, ne mogu dobiti numeričkim putem primenom MKE.

Takođe, simulacija primenom MKE za indent broj 14 (v. Sl. 16.11) daje odlično poklapanje sa eksperimentalnom krivom za sledeće vrednosti parametara bi-linearnog ponašanja:  $E=6,455 \text{ GPa}$ ,  $\sigma_{\text{yield}}=70 \text{ MPa}$  i  $ET=1,1 \text{ GPa}$ , kao što je i predstavljeno na Sl. 16.11.



SLIKA 16.11 Reprezentativna kriva P-h za PLLA.



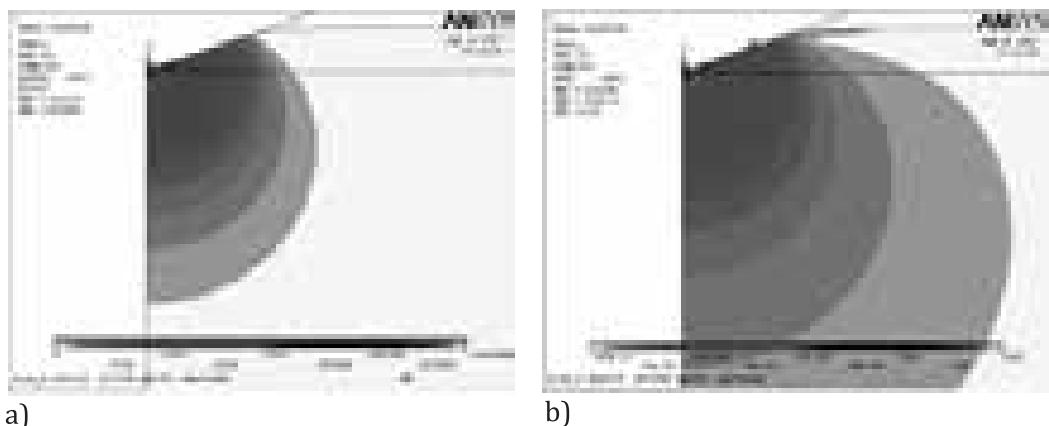
SLIKA 16.12 Ponašanje PLLA matrice za tri izabrana indenta.

Analizirajući dobijene rezultate očigledno je da samo kriva obeležena sa indent 14 (v. Sl. 16.11) kao i njeni rezultati treba da budu izabrani kao reprezentativni, kao što je predstavljeno na Sl. 16.12.

Dobijene vrednosti modula elastičnosti indentovanog materijala u saglasnosti su sa vrednostima dobijenim od strane Shikinami i Okuno [26] ( $E=6,5$  GPa).

Sl. 16.13 prikazuje raspodelu ekvivalentne plastične relativne deformacije kao i ekvivalentnog napona računatog po hipotezi Von Mises u matrici PLLA u okolini koničnog indentera. Treba primetiti da je zapremina na koju utiče utiskivanje indentera ograničena i relativno mala, te na taj način omogućava kvalitativno ispitivanja mehaničkih karakteristika materijala čak i kod tankih prevlaka i filmova.

Prethodni rezultati pokazuju mogućnosti nanoindentacije kao eksperimentalne metode u određivanju mehaničkih karakteristika čestičnih biokompozita. Međutim, ostaje činjenica da određivanje elasto-plastičnog ponašanje materijala isključivo na osnovu podataka dobijenih njihovom indentacijom, predstavlja veoma kompleksan problem.



SLIKA 16.13 (a) Raspodela ekvivalentne plastične relativne deformacije i (b) ekvivalentnog napona (MPa) računatog po hipotezi Von Mises u matrici PLLA u okolini koničnog indentera

## 16.4 PITANJA ZA REKAPITALACIJU

- 16.1 Navesti definiciju metode nanoindentacije?
- 16.2 Navesti moguće primene (vrste materijala) metode nanoindentacije?
- 16.3 Navesti izlazne mehaničke karakteristike kod metode nanoindentacije?
- 16.4 Objasniti sličnost između indentera tipa Berkovich i indentera oblika kupe sa poluugлом od  $70,3^\circ$ ?
- 16.5 Šta numerički model nanoindentacije zanemaruje u odnosu na realni eksperiment?
- 16.6 Objasniti usvojeni model ponašanja materijala matrice PLLA?
- 16.7 Nabrojati materijalne parametre koji utiču na elasto-plastično deformisanje materijala za vreme trajanja indentacije?
- 16.8 Kojom jednačinom je moguće opisati zavisnost sile od dubine utiskivanja?
- 16.9 Kako se može izvršiti eliminacija loših eksperimentalnih rezultata dobijenih nanoindentacijom?
- 16.10 Objasniti zašto nije moguće samo na osnovu eksperimentalnih rezultata dobijenih nanoindentacijom odrediti elasto-plastično ponašanje indentovanog materijala?

## 16.5 LITERATURA

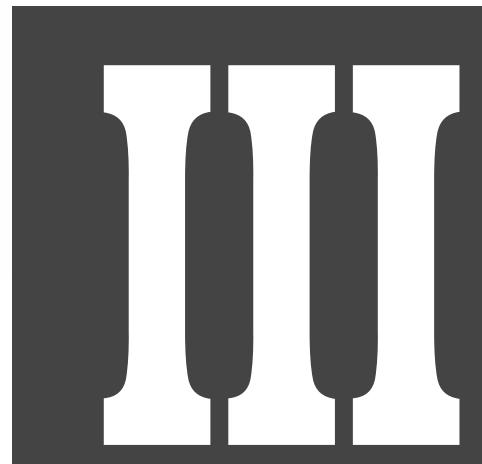
1. D. Tabor In: P. J. Blau B. R. Lawn, editors, Microhardness indentation techniques in materials science and engineering, ASTM STP 889. Philadelphia, PA: ASTM; 1986. p. 129.
2. D. Tabor, Indentation hardness: fifty years on a personal view, *Philos Mag* 1996; A74:1207–12.
3. S. H. Zhu, C. M. Chan, Y. W. Mai, Micromechanical properties on the surface of PVC/SBR blends spatially resolved by a nanoindentation technique, *Polymer Engineering and Science*, 44 (2004) 609–614.
4. C. Klapperich, K. Komvopoulos, L. Pruitt, Nanomechanical properties of polymers determined from nanoindentation experiments, *ASME Journal of Tribology*, 123 (2001) 624–631.
5. J. Gong, Z. Peng, H. Miao, Analysis of the nanoindentation load–displacement curves measured on high-purity fine-grained alumina, *Journal of the European Ceramic Society*, 25 (2005) 649–654.
6. Q. Furnemont, M. Kempf, P.J. Jacques, M. Goken, F. Delannay, On the measurement of the nanohardness of the constitutive phases of TRIP-assisted multiphase steels, *Materials Science and Engineering A*, 328 (2002) 26–32.
7. J.M. Torralba, F. Velasco, C.E. Costa, I. Vergara, D. Caceres, Mechanical behaviour of the interphase between matrix and reinforcement of Al 2014 matrix composites reinforced with (Ni<sub>3</sub>Al)p, *Composites A*, 33 (2002) 427–434.
8. M. Campo, A. Urena, J. Rams, Effect of silica coatings on interfacial mechanical properties in aluminium-SiC composites characterized by nanoindentation, *Scripta Materialia*, 52 (2005) 977–982.

9. K.M. Müssert, W.P. Vellinga, A. Bakker, S. van der Zwaag, A nano-indentation study on the mechanical behaviour of the matrix material in an AA6061 – Al2O3 MMC, *Journal of Materials Science*, 37 (2002) 789–794.
10. J.S. Zhang, X.J. Liu, H. Cui, Z.Q. Sun, G.L. Chen, Nanoindentation characterisation of the properties around reinforcements in a heat treated spray deposited 2014+15vol%SiCp metal-matrix composite, *Scripta Materialia*, 35 (1996) 1115–1120.
11. K. Park, S. Mishra, G. Lewis, J. Losby, Z. Fan, J.B. Park, Quasi-static and dynamic nano-indentation studies on highly crosslinked ultra-high-molecular-weight polyethylene, *Biomaterials*, 25 (2004) 2427–2436.
12. R. Roop Kumar, M. Wang, Modulus and hardness evaluations of sintered bioceramic powders and functionally graded bioactive composites by nano-indentation technique, *Materials Science and Engineering A*, 338 (2002) 230–236.
13. R. Roop Kumar, M. Wang, Functionally graded bioactive coatings of hydroxyapatite/titanium oxide composite system, *Materials Letters*, 55 (2002) 133–137.
14. W.C. Oliver, G.M. Pharr, An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments, *Journal of Materials Research*, 7 (1992) 1564–1583.
15. M.F. Doerner, W.D. Nix, A method for interpreting the data from depth-sensing indentation instruments, *Journal of Materials Research*, 1 (1986) 601.
16. A. Bolshakov, G.M. Pharr, Influences of pileup on the measurement of mechanical properties by load and depth sensing indentation techniques *Journal of Materials Research*, 13 (1998) 1049–1058.
17. J.R. Gregory, S.M. Spearing, Nanoindentation of neat and in situ polymers in polymer-matrix composites, *Composites Science and Technology*, 65 (2005) 595–607.
18. H. Pelletier, J. Krier, A. Cornet, P. Mille, Limits of using bilinear stress-strain curve for finite element modeling of nanoindentation response on bulk materials. *Thin Solid Films* 2000;379:147–155.
19. Cheng Y-T, Cheng C-M. Scaling relationships in conical indentation of elastic-perfectly plastic solids. *Int J Solids Struct*, 36 (1999) 1231–1243.
20. SV. Hainsworth HW, Chandler TF, Page, Analysis of nanoindentation load–displacement loading curves. *J Mater Res*, 11 (1996) 1987–95.
21. M. Dao, N. Chollacoop, van K.J. Vliet, TS. Venkatesh, S. Suresh, Computational modeling of the forward and reverse problems in instrumented sharp indentation. *Acta Mater*, 49 (2001) 3899–3918.
22. H. Pelletier, *Tribology International* 39 (2006) 593–606.
23. J.M. Antunes et al. *Acta Materialia* 55 (2007) 69–81.
24. F. Fröhlich, P. Grau, W. Grellmann, Performance and analysis of recording microhardness tests. *Phys Stat Sol A*, 42 (1977) 79–86.
25. JL. Loubet, JM. Georges, G. Meille In: PJ. Blau, BR. Lawn, editors. *Microindentation techniques in materials science and engineering*. ASTM STP 889. Philadelphia, PA: ASTM; 1986. p. 72.
26. Y. Shikinami, M. Okuno, *Biomaterials* 20 (1999) 859–877.

# ***SAVREMENI BIOMATERIJALI I TEHNOLOGIJE***

..... ➤

**D E O**





---

## METALNI BIOMATERIJALI<sup>1</sup>

Prva metalna legura stvorena specijalno za ljudsku upotrebu bila je vanadijumski čelik, koji je korišćen za izradu ploča kod preloma kostiju (Šermanove ploče) i zavrtnjeva – da bi potom metalne legure doživele širu primenu u izradi medicinskih i stomatoloških implantata [1–5].

U ovom poglavlju je najpre u Od. 17.1 dat prikaz metoda kojima se tehnološki po želji kontrolišu mikrostruktura i makrostruktura metala i time njihove mehaničke karakteristike (što se može nazvati *inženjeringom mehaničkih karakteristika metala*). Potom su u Od. 17.2 razmotreni različiti *metalni biomaterijali* i njihove primene (nerđajući čelici, Co-Cr legure, titan i Ti-legure, stomatološki metali i ostali metali), pri čemu je biokompatibilnost metalnih implantata od izuzetnog značaja, pošto implantati mogu korodirati kada se nađu u organizmu. Otuda je koroziji posvećen Od. 17.3, jer ona dovodi do dezintegracije materijala i slabljenja implantata, ali i do štetnih efekata produkata korozije koji odlaze u okolno tkivo (v. Gl. 7–9). Konačno, u Od. 17.4 razmotrena je tehnologija metalnih implantata.

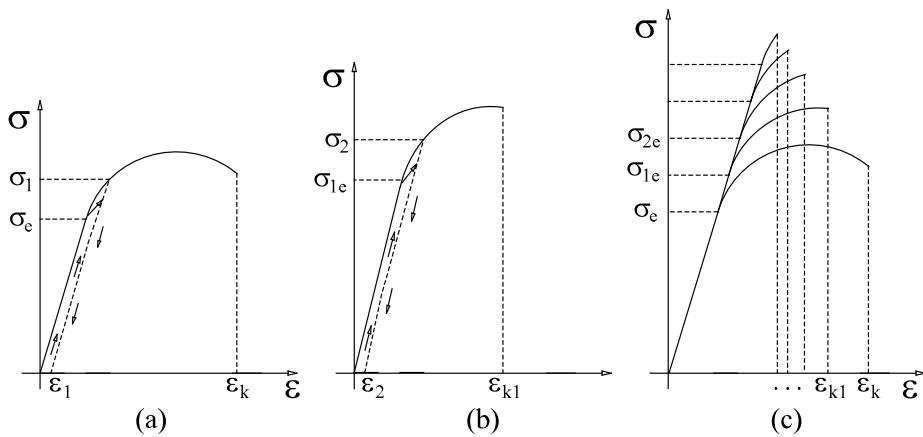
### 17.1 INŽENJERING MEHANIČKIH KARAKTERISTIKA METALA

Inženjering mehaničkih karakteristika metala može se realizovati na dva načina: obradom deformacijom na hladno, i termičkom obradom i legiranjem [4–6].

*Hladnom deformacijom* kontroliše se broj dislokacija, kao i veličina i broj (polikristalnih) zrna u metalu. *Termičkom obradom i legiranjem* vrši se kontrola veličine i oblika zrna, broja tačkastih defekata, i/ili finoće i raspodele različitih faza metalnih legura. Ipak, treba istaći da je ova podela vrlo uslovna, i da se te metode često prepliću sa ciljem regulisanog kretanja *dislokacija u metalu*, gde se kao prepreke kretanju dislokacija, odnosno deformaciji metala, pojavljuju druge dislokacije, granice zrna, tačkasti defekti i granice faza.

---

<sup>1</sup>Ovo poglavlje napisali su Dejan Raković i Miodrag Pavlović.



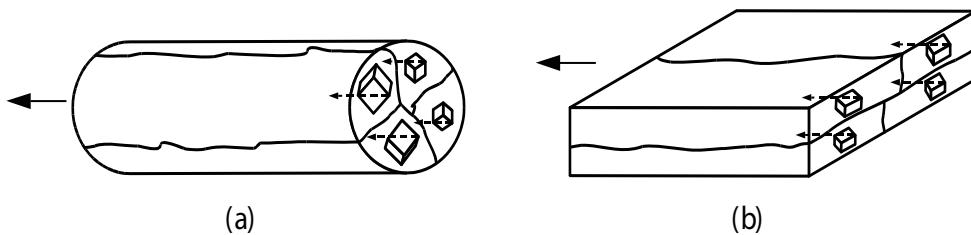
**SLIKA 17.1** Prikaz ojačavanja hladnom deformacijom na dijagramu napon-jedinično izduženje: (a) metal je hladno deformisan preko granice zatezne čvrstoće pre nego što je napon uklonjen; (b) sada uzorak ima veću granicu elastičnosti i zateznu čvrstoću, ali manju plastičnost; (c) ponavljanjem procedure, čvrstoća se neprekidno povećava a plastičnost smanjuje, sve dok metal ne postane veoma krt.

**Ojačavanje metala hladnom deformacijom.** Obradom deformacijom na hladno metal se istovremeno deformeša i ojačava. Ojačavanje hladnom deformacijom ostvaruje se umnožavanjem *dislokacija*, koje se pojavljuju kao prepreke kretanju drugih dislokacija, odnosno deformaciji metala.

Ojačavanje hladnom deformacijom zahteva od metala značajnu prethodnu plastičnost. Ako se na metal primeni napon  $\sigma_1$  veći od granice elastičnosti  $\sigma_e$ , biće prouzrokovana stalna deformacija, ili jedinično izduženje  $\epsilon_1$ , posle uklanjanja napona (Sl. 17.1a). Ako se posle toga metal testira, dobiće se drugačiji dijagram napon-jedinično izduženje (Sl. 17.1b). Uzorak će sada imati povećanu granicu elastičnosti do nivoa jednakog prethodnom naponu plastične deformacije ( $\sigma_{1e} = \sigma_1$ ). Pri svakoj narednoj plastičnoj deformaciji, granica elastičnosti postaje jednaka prethodnom naponu plastične deformacije, pri čemu se u narednim ciklusima sve više povećavaju granica elastičnosti i zatezna čvrstoća, dok se plastičnost i žilavost smanjuju. Metal se na taj način može ojačavati sva dok se granica elastičnosti, zatezna čvrstoća i napon kidanja ne izjednače, kada praktično više nema plastičnosti metala (Sl. 17.1c).

Ojačavanje plastičnom deformacijom posledica je povećanja broja dislokacija (od  $10^6$  na  $10^{12}$  cm dislokacionih linija po  $\text{cm}^3$  metala), koje se protive međusobnom kretanju.

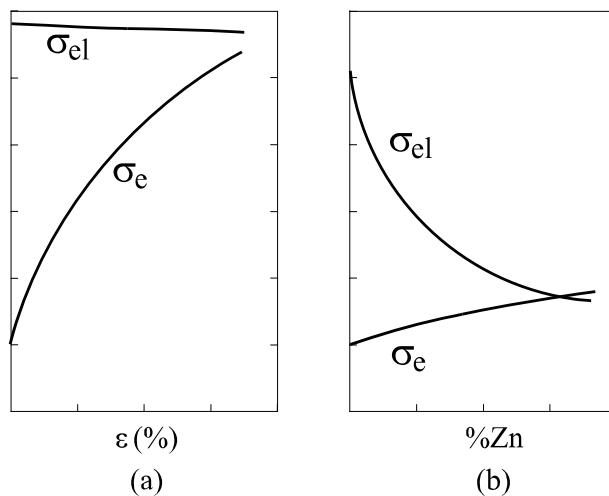
Tokom deformacije na hladno, kristalna zrna se ne samo izdužuju već i rotiraju, prouzrokujući pojavu postrojavanja određenih kristalografskih osa i ravni u polikristalnim zrnima, što dovodi do anizotropije fizičkih svojstava hladno deformisanih metala (v. Sl. 17.2). U toku plastične deformacije razvijaju se i *zaostali naponi* (oko 10% od primjenjenog napona), u vidu isprepletane mreže dislokacija. Zaostali naponi nisu ravnomerno raspoređeni u hladno deformisanom metalu. Na



*SLIKA 17.2 Razvoj anizotropnog ponašanja u proizvodima dobijenim (a) izvlačenjem i (b) valjanjem. Uočiti orijentaciju jediničnih čelija u polikristalnim zrnima.*

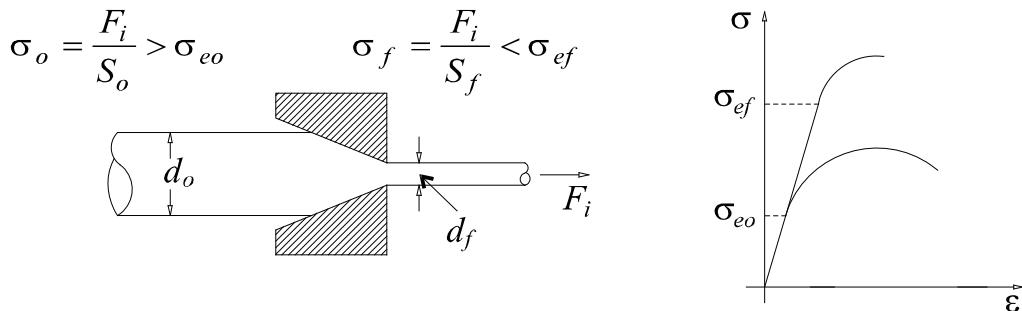
primer, veliki kompresioni zaostali naponi mogu biti prisutni na površini valjane ploče, dok veliki zatezni zaostali naponi mogu biti smešteni u centru. Ako se rezanjem ukloni mali sloj metala sa jedne površine hladno deformisanog dela, dolazi do narušenja statičke ravnoteže zaostalih napona i krivljenja ploče kako bi se uspostavila poremećena ravnoteža.

Konačno, navedimo prednosti i ograničenja deformacija na hladno: (1) Isto-vremeno se metal oblikuje i ojačava; (2) Postižu se odlične dimenzione tolerancije i mala površinska hrapavost; (3) Pogodne su za manje stepene deformacije, jer iznad neke maksimalne deformacije na hladno (npr. kod bakra 90%) dolazi do kidanja materijala; za veće potrebne stepene deformacije, kombinuju se sa deformacijama na toplo; (4) Smanjuju se plastičnost, električna provodnost i otpornost na koroziju. Ipak, specifična električna provodnost ( $\sigma_{el}$ ) neznatno se smanjuje, dok se čvrstoća ( $\sim \sigma_e$ ) znatno povećava (za razliku od slučaja legiranja metala primesama, v. Sl. 17.3). Zato se bakar i aluminijum, koji se koriste kao provodnici, isključivo ojačavaju procesom deformacije na hladno (izvlačenje žica, ...); (5) Unose se anizo-



*SLIKA 17.3 Poređenje ojačavanja bakra (a) deformacijom na hladno i (b) legiranjem primesama cinka. Uočiti da deformacija na hladno praktično ne smanjuje električnu provodnost ( $\sigma_{el}$ ) bakra, dok se mehaničko ojačavanje ( $\sigma_e$ ) višestruko povećava.*

tropija i zaostali naponi; (6) Neki procesi deformacije mogu se ostvariti jedino na hladno! Na primer, izvlačenje žice (Sl. 17.4) zahteva ojačavanje žice u toku procesa (odnosno da je konačna granica elastičnosti mnogo veća od početne,  $\sigma_{ef} \gg \sigma_{eo}$ ), pošto je konačni napon mnogo veći od početnog ( $\sigma_f \gg \sigma_o$ ) zbog znatnog smanjenja poprečnog preseka žice posle izvlačenja ( $S_f \ll S_o$ ).



*SLIKA 17.4 Proces izvlačenja žice. Sila izvlačenja deluje i na početni i na krajnji poprečni presek. Na početku, zbog plastične deformacije mora biti  $\sigma_o > \sigma_{eo}$ , dok na kraju procesa izvlačenja tačno određeni presek žice zahteva samo elastičnu deformaciju,  $\sigma_f < \sigma_{ef}$ . Pošto je  $\sigma_f \gg \sigma_o$ , to je  $\sigma_{ef} \gg \sigma_{eo}$ , odnosno dolazi do ojačavanja materijala pri procesu izvlačenja, koji se otuda može ostvariti jedino deformacijom na hladno.*

U Zad. 17.1–2 ilustrovani su neki proračuni pri procesima deformacija na hladno.

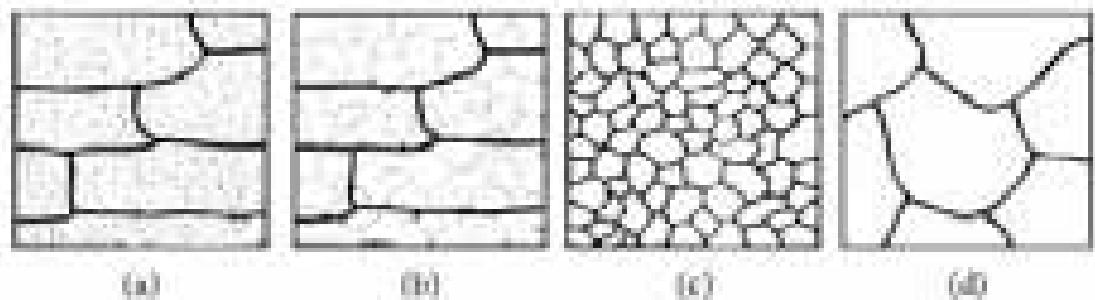
**Žarenje** hladno deformisanih metala je termički tretman kojim se delimično ili potpuno eliminišu efekti deformacije na hladno, čime se prethodno hladno deformisani metal vraća u manje ili više meko, plastično stanje. Time se *kontroliše* stepen ojačavanja metala.

Žarenje se koristi iz nekoliko razloga: (1) Mogu se kompletno eliminisati ojačavanja ostvarena tokom deformacije na hladno. Završni komad je mek i plastičan, ali i dalje ima malu hrapavost i odličnu dimenzionu toleranciju; (2) Posle žarenja, može se primeniti dodatna deformacija na hladno, pošto je obnovljena plastičnost materijala. Kombinujući ponovljene cikluse deformacije na hladno i žarenja, mogu se ostvariti velike ukupne deformacije (v. Zad. 17.3); (3) Pri niskim temperaturama može se vršiti eliminisanje zaostalih napona stvorenih tokom deformacije na hladno, bez smanjenja prethodno postignutog mehaničkog ojačanja obrađenog komada.

Postoje tri stupnja procesa žarenja: oporavljanje, rekristalizacija i rast zrna. Na Sl. 17.5 prikazani su efekti žarenja na mikrostrukturu hladno deformisanog metala (Sl. 17.5a) posle oporavljanja (Sl. 17.5b), rekristalizacije (Sl. 17.5c) i rasta zrna (Sl. 17.5d).

Efekti žarenja na svojstva hladno deformisanog metala dati su na Sl. 17.6.

*Oporavljanje.* Prvobitna hladno deformisana struktura sastoji se od deformisanih zrna sa velikim brojem isprepletanih dislokacija (Sl. 17.5a).



*SLIKA 17.5 Prikaz efekata žarenja na mikrostrukturu hladno deformisanog metala (a), posle oporavljanja (b), rekristalizacije (c), i rasta zrna (d).*

Zagrevanjem metala, dodatna termalna energija omogućava dislokacijama kretanje i formiranje granica poligonalne podzrnaste strukture (Sl. 17.5b). Ovo dovodi do smanjenja unutrašnjih, zaostalih napona, ali se ne menjaju tvrdoća, čvrstoća i plastičnost (Sl. 17.6I), jer se gustina dislokacija praktično ne menja – pa ni mehanička svojstva!

Oporavljanjem se poboljšava električna provodnost, kao i otpornost na koroziju. Zato se ovaj niskotemperaturski proces koristi za izradu Cu- i Al-žica za provodnike i kablove, koje su dovoljno jake i visokoprovodne!

*Rekristalizacija.* Rekristalizacija se odigrava nukleacijom i rastom novih zrna koja sadrže po nekoliko dislokacija, iznad temperature rekristalizacije ( $T_r$ ; obično je  $T_r \approx 0,4 T_v$  gde je  $T_v$  – temperatura topljenja metala u stepenima kelvinovim). Što je veća prvobitna hladna deformacija to je sitnija struktura zrna.

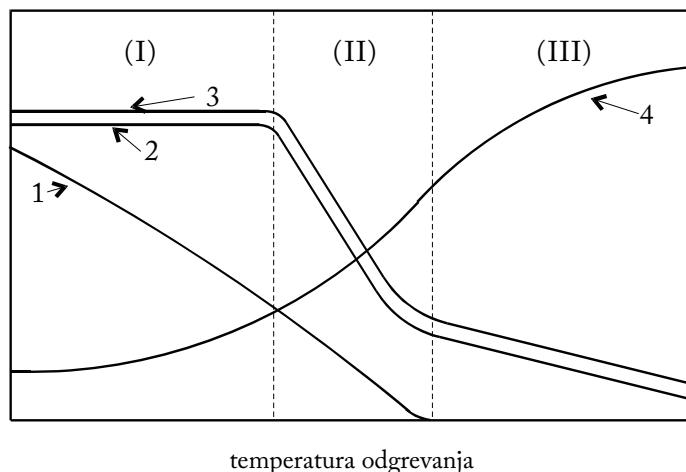
Time se eliminisu zaostali naponi (Sl. 17.6II) i formiraju nova zrna na ćelijskim granicama poligonalne dislokacione strukture, čime je eliminisana većina dislokacija (Sl. 17.5c).

Zbog velikog smanjenja broja dislokacija, koje se više ne protive jedne drugima pri deformaciji, rekristalisani metal ima smanjenu tvrdoću i čvrstoću, i povećanu plastičnost (Sl. 17.6II).

*Rast zrna.* Veliki broj sitnih zrna ima veliku ukupnu površinu, što ih čini termodinamički nestabilnim pri višim temperaturama. Zato zrna započinju da rastu i formira se manji broj krupnijih zrna manje ukupne granice zrna (Sl. 17.5d), čime se dodatno smanjuju tvrdoća i čvrstoća, a povećava plastičnost (Sl. 17.6III).

Treba istaći da metali obrađeni na hladno, sa ili bez kasnijeg žarenja, nisu pogodni za rad na visokim temperaturama, jer im se mehanička svojstva drastično menjaju zbog procesa žarenja, koji je tu nepoželjan.

Takođe, procesi rekristalizacije mogu biti veoma nepoželjni pri zavarivanju, gde se oblast u blizini vara zagревa na visoke temperature zbog čega može da rekristališe, čime mu se smanjuje mehanička čvrstoća. Zato je pogodnije zavarivanje elektronskim ili laserskim snopom, čime se postižu velike gustine energije u kratkom intervalu vremena, čime se minimizira vreme izlaganja metala temperaturama iznad temperature rekristalizacije.



**SLIKA 17.6 Efekti žarenja na svojstva hladno deformisanog metala:** 1 - kriva zaostalih napona, 2 - kriva tvrdoće, 3 - kriva zatezne čvrstoće i 4 - kriva plastičnosti, tokom oporavljanja (oblast I), rekristalizacije (II) i rasta zrna (III).

**Ojačavanje polikristalnih metala granicom metalnih zrna.** Kristalizacija metala je proces transformacije iz tečne u čvrstu fazu, ispod temperature topljenja materijala. Metal se dalje može koristiti u očvrsłom stanju ili posle dalje mehaničke obrade ili termičkog tretmana. Strukture dobijene tokom procesa kristalizacije utiču na mehaničke karakteristike i tip dalje obrade, potrebne za ostvarivanje željenih svojstava. Posebno, veličina metalnih zrna i njihov oblik mogu se kontrolisati tokom procesa kristalizacije. Kristalni defekti u formi *granica metalnih zrna* sprečavaju kretanje dislokacija i deformaciju polikristalnih metala. Ovo omogućuje ojačavanje granicom zrna kod polikristalnih metala sa sitnozrnastom strukturu, koja obezbeđuje veliku međupovršinu razdvajanja susednih zrna.

Kristalizacija zahteva dva koraka: nukleaciju i rast zrna. *Nukleacija* se odigrava formiranjem malih zrna ( $r_c \gg 1 \text{ nm}$ ) čvrste faze unutar tečne, pri hlađenju tečnosti. *Rast zrna* se odigrava ugrađivanjem atoma iz tečne u čvrstu fazu, sve dok postoji tečna faza.

Nukleacija može biti heterogena i homogena. *Heterogena nukleacija* nastaje na nečistoćama, primesama, zidovima suda sa rastopom itd, i potrebno je vrlo malo pothlađenje ( $\Delta T$ ) za obrazovanje kritičnog radijusa zrna. Nečistoće se nekada namerno unose u rastop, kako bi se obrazovalo što veći broj zrna, čime se po završetku kristalizacije obrazuje sitnozrnasta struktura, što povećava čvrstoću materijala! *Homogena nukleacija* nastaje iz rastopa bez primesa i nečistoća, i ona zahteva pothlađenje rastopa ( $\Delta T \sim 0,2 T_t$ , gde je  $T_t$  temperatura topljenja metala u kelvinima) da bi se obrazovalo kritični radius ( $r_c$ ) zrna, koja potom dalje rastu.

U slučaju naglog hlađenja najčešće nastaje amorfno čvrsto stanje metala, pošto nema dovoljno vremena za obrazovanje kristalnih zrna kritičnog radijusa.

Brzina kristalizacije zavisi od brzine hlađenja, odnosno odvođenja toplote. Vreme kristalizacije liva u kalupu, odnosno *vreme livenja* dato je pravilom Čvorinova:

$$t_s = B \left( \frac{V}{S} \right)^2 \quad (17.1)$$

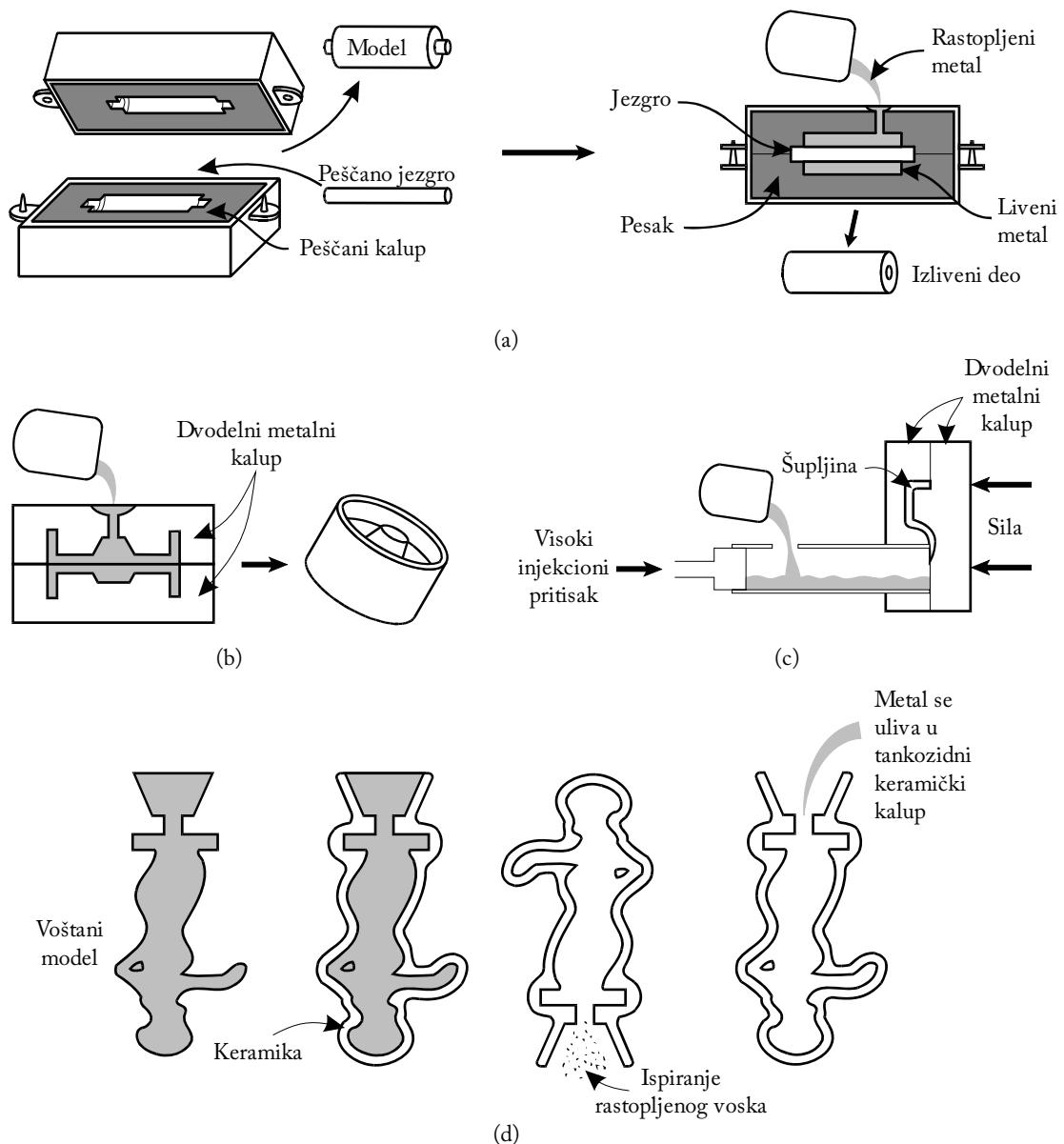
gde je  $V$  – zapremina liva,  $S$  – površina liva u kontaktu sa kalupom, a  $B$  – konstanta materijala kalupa. Pri livenju se pojavljuju i *makrodefekti*, zbog smanjene zapremine očvrslog liva u odnosu na zapreminu rastopa. Ovi defekti se mogu ukloniti dodavanjem rezervoara sa rastopljenim livom, koji zbog geometrije rezervoara sporije očvršćava nego liv u kalupu, čime se popunjava šupljina u očvrsłom livu u kalupu dok makrodefekat ostaje u kasnije očvrsłom delu liva u rezervoaru (v. Zad. 17.4).

Jačina liva se poboljšava *ojačavanjem granicom zrna*, kontrolisanim dobijanjem što sitnozrnastije strukture, što se postiže na sledeće načine: (1) Dodaje se veći broj primesa, kao centara nukleacije za formiranje sitnozrnastog liva; (2) Obezbeđuje se što veća brzina hlađenja liva, smanjenjem dimenzija kalupa, kao i izborom kalupa što veće topotne provodnosti (pri čemu su metalni kalupi najbolji, a keramički najslabiji). Na Sl. 17.7 ilustrovano je nekoliko tipičnih procesa livenja, korišćenjem peščanih, metalnih i keramičkih kalupa. Peščani kalupi se koriste jednokratno (za odlivke od livenog gvožđa i čelika) – dok se metalni koriste višekratno (pretežno za odlivke od obojenih metalnih legura) baš kao i keramički (za sve vrste metalnih odlivaka), omogućujući velike serije odlivaka odlične dimenzijske tolerancije i glatkog površina.

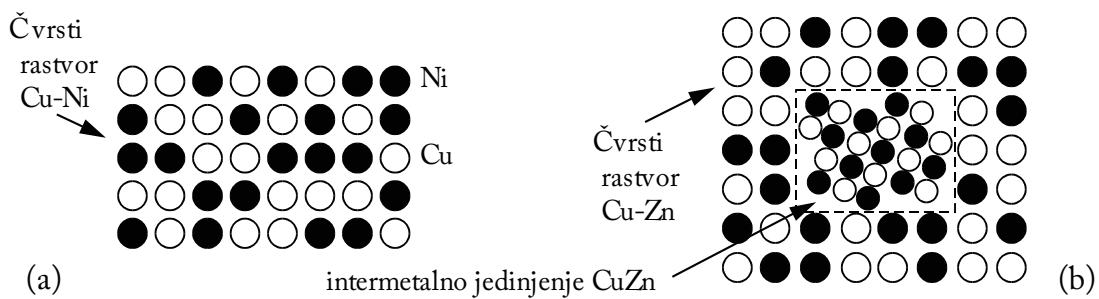
Gornji zaključci o kontroli čvrstoće liva imaju posledice i na *zavarivanje* koje daje kvalitetniji sitnozrnasti var – ubacivanjem primesnih centara u rastopljeni var, bržim hlađenjem varu, ili korišćenjem intenzivnijeg izvora topote (lučno, otporno, lasersko i zavarivanje elektronskim snopom) koji minimizira grejanje susednog metala i time daje brže hlađenje varu.

**Ojačavanje metalnih legura čvrstim rastvorom.** Mehaničke karakteristike metala mogu biti kontrolisane dodavanjem tačkastih defekata, u formi supstitucijskih i intersticijskih primesnih atoma, koji zajedno sa atomima osnovnog metala mogu obrazovati legure tipa čvrstog rastvora. *Tačkasti defekti* narušavaju pravilan raspored atoma u kristalnoj rešetki metala, čime se protive kretanju dislokacija, odnosno deformaciji metala. Tako, tačkasti defekti ojačavaju metalne legure *mehanizmom ojačavanja čvrstim rastvorom*.

Metalne legure tipa čvrstog rastvora predstavljaju *jednofazne legure* (pored njih postoje i višefazne legure, o kojima će biti reči u narednom odeljku), za koje postoje određeni uslovi za neograničenu čvrstu rastvorljivost primesa u metalima (tzv. *Hjum-Roterijeva pravila*): (1) prečnici atoma dva metala ne smeju se razlikovati više od 15%; (2) metali moraju imati istu kristalnu strukturu; (3) atomi dva metala moraju imati istu valentnost; (4) atomi dva metala moraju imati skoro istu elektronegativnost. Ipak, ovi uslovi su potrebni, ali ne i dovoljni, da bi dva metala imala neograničenu rastvorljivost (npr. kod Ag-Cu legura). Otuda, relativno mali broj metalnih legura obrazuje čvrste rastvore za bilo koji sastav konstituenata (na primer Cu-Ni, v. Sl. 17.8a), dok velika većina ima ograničenu rastvorljivost, za samo određene sastave (npr. kod Cu-Zn legura do 40 težinskih % Zn obrazuju se čvrsti rastvori, dok pri sadržaju iznad 40% Zn višak Zn-atoma se kombinuje sa nekim Cu-atomima i formira takođe i intermetalno jedinjenje CuZn (Sl. 17.8b)).



**SLIKA 17.7** Šematski prikaz nekoliko tipičnih procesa livenja: (a) livenje u peščanom kalupu, nastalom očvršćavanjem peska, aditiva i vezivnih sredstava oko modela (levo); dodatno peščano jezgro se može koristiti pri formiraju odlivaka sa unutrašnjom šupljinom (desno); (b) kontinuirano (neprekidno) livenje, u kome se rastopljeni metal neprekidno uliva u metalni kalup hlađen vodom, s jedne strane, i u obliku očvrslog metalnog odlivka izvlači sa druge strane kalupa; (c) livenje pod pritiskom, pri kome se rastopljeni metal pod visokim pritiskom uliva u metalni kalup sa šupljinom složenog oblika i malih bočnih dimenzija; (d) livenje u školjkastom kalupu, u kome se oko voštanog modela formira tankozidi keramički kalup, iz koga posle zagrevanja istekne rastopljeni vosak, posle čega se u keramički kalup uliva rastopljeni metal.



*SLIKA 17.8 Dvodimenzionalni šematski prikaz struktura legura (a) Cu-Ni, neograničene rastvorljivosti, i (b) Cu-Zn sa više od 40% Zn, ograničene rastvorljivosti, sa dve faze (čvrsti rastvor Cu-Zn i intermetalno jedinjenje CuZn)*

Stepen ojačavanja metalnih legura mehanizmom čvrstog rastvora zavisi od dva faktora: (1) veća količina legirajućeg elementa i (2) veća razlika u prečniku njihovih atoma u odnosu na atome osnovnog metala daju veće ojačavanje legure, zbog većih deformacija kristalne rešetke koje otežavaju kretanje dislokacija.

Mehanizam ojačavanja primesama je slabiji od ojačavanja deformacijom na hladno (dislokacijama) ili kristalizacijom (granicom zrna)! Ipak, prednost mu je da je znatno neosetljiviji na temperaturno pogoršanje mehaničkih karakteristika, u poređenju sa ojačavanjem hladnom deformacijom.

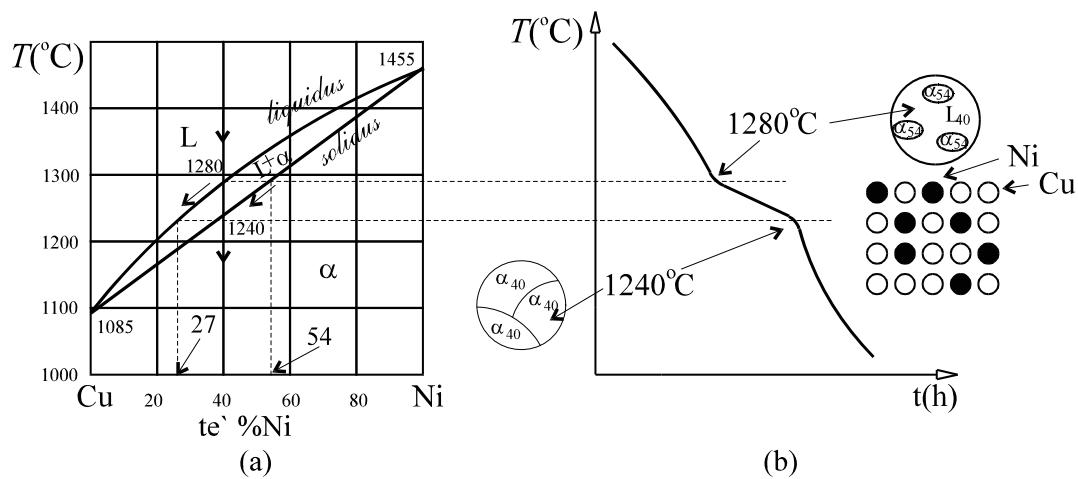
Međutim, pošto znatno smanjuje električnu provodnost u poređenju sa deformacijom na hladno (v. Sl. 17.3), ojačavanje primesama nikad se ne koristi kod Cu- ili Al-žica u elektrotehnici.

Uvođenje tačkastih defekata ne samo da menja sastav i mehaničke i električne karakteristike metala, već utiče i na način kristalizacije. Ovaj efekat ispitaćemo korišćenjem ravnotežnog faznog dijagrama temperatura-sastav, prikazanog za Cu-Ni leguru zajedno sa krivom hlađenja legure sastava Cu-40%Ni (Sl. 17.9).

Sa krive hlađenja se vidi da, za razliku od čistih metala, kod legura ne postoji određena temperatura kristalizacije, već interval temperatura unutar koga se odigrava kristalizacija (1280–1240 °C, za polazni sastav rastopa Cu-40%Ni sa Sl. 17.9b), kada unutar rastopa dolazi do nukleacije i rasta kristalnih zrna očvrslog dela legure.

Sastav očvrslih zrna unutar rastopa menja se sa hlađenjem (od 54% Ni na 1280 °C, do 40% Ni na 1240 °C, za primer sa Sl. 17.9b). On se može lako pratiti korišćenjem faznog dijagrama (Sl. 17.9a), kako će biti dalje objašnjeno.

*Fazni dijagram* pokazuje faze i njihove sastave pri bilo kojoj kombinaciji temperature i polaznog sastava legure; pri tome, kada su prisutna dva elementa u leguri, radi se o binarnom faznom dijagramu, kao što je slučaj kod Cu-Ni legure. Gornja kriva faznog dijagrama predstavlja *likvidus* temperaturu za sve Cu-Ni legure; donja kriva predstavlja *solidus* temperaturu. Oblast iznad *likvidus-krive* (*L*) označava rastopljenu leguru, dok oblast ispod *solidus-krive* ( $\alpha$ ) označava čvrstu



SLIKA 17.9 Prikaz (a) faznog dijagrama temperatura-sastav Cu-Ni legure tipa čvrstog rastvora neograničene rastvorljivosti, i (b) krive hlađenja, za leguru sastava Cu-40%Ni

fazu Cu-Ni legure tipa čvrstog rastvora. Unutar oblasti između solidus i likvidus krive koegzistiraju dve faze: tečna i čvrsta ( $L+\alpha$ ).

Često je potrebno znati koje su faze prisutne u leguri na nekoj temperaturi. Ako se planira livenje, neophodno je prethodno rastopiti sav metal; ako se planira termički tretman legure, u toku procesa ne sme doći do njenog topljenja. Svaka faza prisutna u leguri ima sastav, izražen u težinskim procentima svakog elementa u fazi. Kada je prisutna samo jedna faza u leguri ( $L$  ili  $\alpha$ ), sastav cele faze jednak je polaznom sastavu legure. Međutim, kada koegzistiraju dve faze ( $L$  i  $\alpha$ ), sastavi dva faze se razlikuju, kako međusobno tako i od polaznog sastava legure.

Ova razlika se objašnjava *Gibsovim pravilom faza* (pri konstantnom pritisku):

$$l = k - p + 1, \quad (17.2)$$

gde je  $l$  – broj stepeni slobode,  $k$  – broj komponenti, a  $p$  – broj faza. U binarnom sistemu Cu-Ni broj komponenti je 2; dakle, broj stepeni slobode u faznom dijagramu temperatura-sastav zavisiće od broja prisutnih faza na datoј temperaturi. Za slučaj Cu-Ni legure, u jednofaznim oblastima ( $L$  ili  $\alpha$ ) primena Gibsovog pravila daje  $l=2-1+1=2$  stepena slobode: temperaturu i sastav; u dvofaznoj oblasti ( $L+\alpha$ ) dobija se  $l=2-2+1=1$  stepen slobode: temperatura ili sastav! Pošto u dvofaznom delu dijagrama ima samo jedan stepen slobode, sastav dve faze je uvek fiksiran pri nekoj izabranoj temperaturi. Tako, na temperaturi od  $1280^{\circ}\text{C}$  Cu-40%Ni legura ima rastop sastava Cu-40%Ni ( $L_{40}$ ), određen sastavom presečne tačke date izoterme i likvidus-krive, i očvrsla kristalna zrna sastava Cu-54%Ni ( $\alpha_{54}$ ), određena sastavom presečne tačke date izoterme i solidus-krive (v. Sl. 17.9a). Sa daljim sniženjem temperaturu legure, očvrsla kristalna zrna rastu ali i menjaju sastav duž solidus-krive, dok rastop sve manje zapremine menja sastav duž likvidus-krive. Na temperaturi

od  $1240\text{ }^{\circ}\text{C}$  očvršćava kompletna masa legure u formi polikristalnih zrna sastava Cu-40%Ni ( $\alpha_{40}$ ), Sl. 17.13.

Konačno, potrebno je izračunati *relativne količine faza* prisutnih u leguri. U jednofaznim oblastima količina faze je 100%. U dvofaznim oblastima relativna količina dve faze određuje se tzv. pravilom poluge, koje se izvodi na sledeći način.

Neka je  $x$  – deo očvrsle legure  $\alpha$ , a  $(1-x)$  – deo neočvrslog rastopa  $L$ . Tada je ukupni % Ni u leguri jednak zbiru dva doprinosa:

$$(\%) \text{ Ni u leguri} = (\%) \text{ Ni u } \alpha x + (\%) \text{ Ni u } L (1 - x).$$

Množenjem i preuređivanjem dobija se

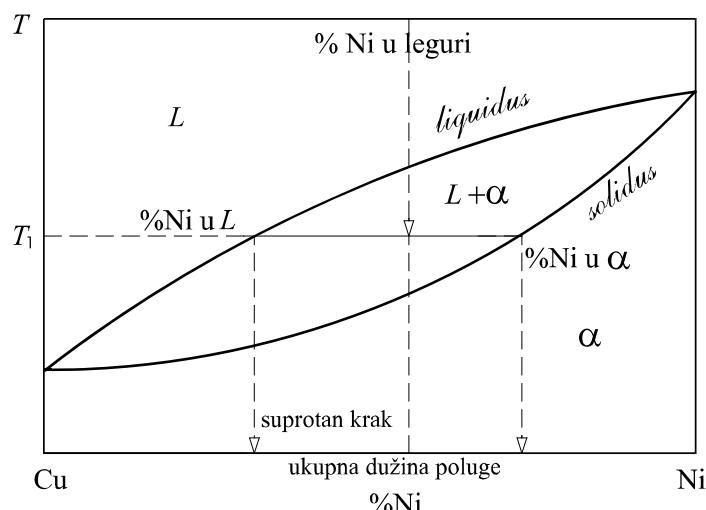
$$x = \frac{(\%) \text{ Ni u leguri} - (\%) \text{ Ni u } L}{(\%) \text{ Ni u } \alpha - (\%) \text{ Ni u } L} \quad (17.3)$$

Dobijeni rezultat može se grafički interpretirati pravilom poluge, v. Sl. 17.10. Nazovimo ukupnom dužinom poluge odsečak izoterme između presečnih tačaka na likvidus-krivoj ( $(\%) \text{ Ni u } L$ ) i solidus-krivoj ( $(\%) \text{ Ni u } \alpha$ ). Težištem poluge nazovimo tačku koja određuje polazni sastav ( $(\%) \text{ Ni u leguri}$ ). Tada se gore izvedena formula za  $x$  (deo očvrsle legure  $\alpha$ ) može interpretirati kao količnik suprotnog kraka poluge (u odnosu na sastav  $\alpha$ -faze čiji se težinski deo izračunava) i ukupne dužine poluge.

U opštem slučaju težinski procenat neke faze određen je *pravilom poluge*:

$$\text{tež } \% \text{ faze} = \frac{\text{suprotan krak poluge}}{\text{ukupna dužina poluge}} \cdot 100 \quad (17.4)$$

Pravilo poluge se jednostavno primjenjuje kod legura tipa čvrstog rastvora (v. Zad. 17.5), ali se može primenjivati i kod složenijih višefaznih sistema, na pojedine dvofazne delove njihovih faznih dijagrama, o čemu će biti reči u narednom odeljku.



SLIKA 17.10 Dijagram uz grafičku interpretaciju izraza (17.3), koja dovodi do opšteg pravila poluge (17.4).

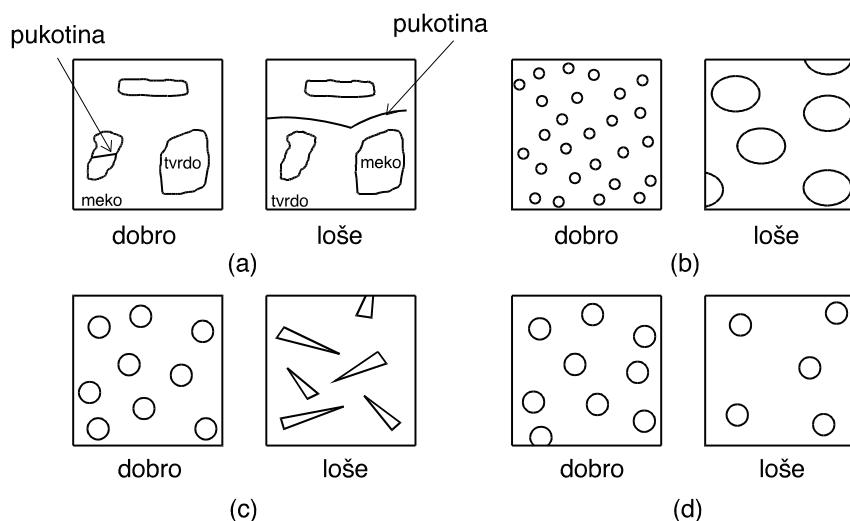
Dodajmo, na kraju, da dijagram sa Sl. 17.9(a) predstavlja *ravnotežni* fazni dijagram hlađenja Cu-Ni legure, jer je dobijen korišćenjem krivih hlađenja legura snimanih pri sporom hlađenju, što omogućava difuziju atoma u rastopu ( $L$ ) i očvrslim kristalima ( $\alpha$ ) pri promeni njihovog sastava u toku hlađenja unutar dvofazne ( $\alpha+L$ ) oblasti.

U slučaju *neravnotežnog* (brzog) hlađenja nema dovoljno vremena da se promeni sastav u  $\alpha$ -fazi (sa 54% Ni na 40% Ni, pri hlađenju od 1280 °C do 1240 °C, za leguru polaznog sastava Cu-40%Ni, Sl. 17.9), pa se dobija slojevita struktura polikristalnih zrna  $\alpha$ -faze, sa kontinuiranom promenom sastava od unutrašnjih 54% ... do spoljašnjih 40% Ni.

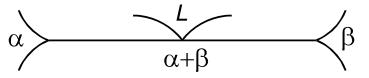
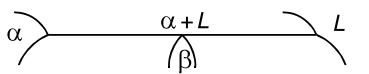
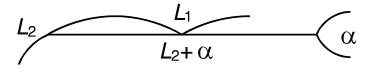
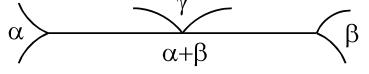
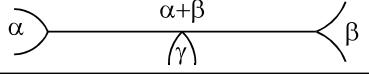
Difuziono ojačavanje metalnih legura faznim transformacijama. Kod većine metalnih legura, dodavanjem legirajućih primesa preko granice rastvorljivosti nastaje i druga faza – i formira se dvofazna legura. *Granica faza* je površina na kojoj nastaje neuređenost atomske strukture, koja se suprotstavlja kretanju dislokacija i deformaciji, dovodeći do ojačavanja metalne legure tzv. *disperzionim ojačavanjem faznim transformacijama*.

Neprekidna faza u dvofaznoj leguri naziva se *matricom*; druga faza, prisutna u manjim količinama, naziva se *precipitatom*. Kada se u nekim slučajevima dve faze simultano formiraju, njihova intimna smeša naziva se *mikrokonstituentom*.

Opšte mehaničke karakteristike dvofaznih legura određene su sledećim pravilima: (1) Matrica treba da je meka i plastična, a precipitat tvrd i krt. Tako precipitat predstavlja prepreku kretanju dislokacija, a matrica obezbeđuje donekle plastičnost cele legure (Sl. 17.11a); (2) Čestice precipitata treba da su male i brojne, čime se povećava verovatnoća da dislokacije interaguju sa njima (Sl. 17.11b); (3) Čestice precipitata treba da su okrugle, a ne igličaste ili oštredih ivica, jer okrugli oblik sa manjom verovatnoćom može inicirati pukotinu (Sl. 17.11c); (4) Veća količina



*SLIKA 17.11 Šematski prikaz odnosa matrice i precipitata, sa naznakom uticaja na mehaničku čvrstoću legura (dobro ili loše, v. tekst)*

EUTETIČKI	$L \rightarrow \alpha + \beta$	
PERITEKTIČKI	$\alpha + L \rightarrow \beta$	
MONOTEKTIČKI	$L_1 \rightarrow L_2 + \alpha$	
EUTEKTOIDNI	$\gamma \rightarrow \alpha + \beta$	
PERITEKTOIDNI	$\alpha + \beta \rightarrow \gamma$	

SLIKA 17.12 Pet najvažnijih trofaznih reakcija u binarnim faznim dijagramima

precipitata povećava jačinu legure, zbog većih prepreka kretanju dislokacija (Sl. 17.11d).

Mnogobrojne kombinacije dva elementa formiraju kod ovih binarnih legura znatno komplikovanije fazne dijagrame, u poređenju sa onim kod legura tipa čvrstog rastvora. Ovi sistemi sadrže reakcije koje obuhvataju tri različite faze (Sl. 17.12).

Na dijagramima trofaznih reakcija, prikazanim na Sl. 17.12, treba uočiti nekoliko karakteristika: (a) horizontalna linija označava temperaturu na kojoj se odigrava trofazna reakcija; (b) centralna tačka na horizontalnoj liniji predstavlja sastav pri kome se odigrava trofazna reakcija; (c) faze iznad horizontalne linije određuju početne faze u reakciji, a faze ispod linije određuju krajnje faze u reakciji.

Prve tri reakcije na Sl. 17.12 su deo procesa kristalizacije (jer je bar jedna od početnih faza rastop  $L$ ), a zadnje dve su u potpunosti reakcije u čvrstom stanju (jer su i početne i krajnje faze u reakciji legure tipa čvrstog rastvora:  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$ ).

Sve pomenute trofazne reakcije odigravaju se na fiksnoj temperaturi i sastavu, jer Gibbsovo pravilo faza (17.2) ukazuje da pri ovim reakcijama nema ni jednog stepena slobode:  $l=2-3+1=0$ .

Najčešće i najznačajnije trofazne binarne reakcije jesu eutektičke i eutektoidne. Eutektičke reakcije su posebno značajne za legure korišćene u procesima *livenja* ili *spajanja*, zbog mehaničke jačine i niske tačke topljenja legura eutektičkog sastava. Eutektoidne reakcije predstavljaju osnovu *termičkog tretmana* nekoliko vrsta legura, uključujući čelik.

**Eutektički fazni dijagram.** Fazni dijagram olovo-kalaj (Pb-Sn) legura sadrži eutektičku reakciju na temperaturi 183°C, pri sastavu Pb-61,9%Sn (v. Sl. 17.13):

$$L_{61,9\%Sn} \rightarrow \alpha_{19\%Sn} + \beta_{97,5\%Sn}, \quad (17.5)$$

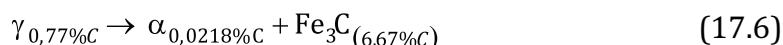
Pri tome se formira lamelarna struktura, sastavljena od naizmeničnih tankih slojeva (lamela) legura tipa čvrstih rastvora  $\alpha_{19\%Sn}$  i  $\beta_{97,5\%Sn}$ , jer nema dovoljno vremena da na duža rastojanja difunduju atomi olova i kalaja.

Fazni dijagram Pb-Sn legura (Sl. 17.13) konstruiše se korišćenjem snimljenih krivih hlađenja za legure raznih sastava od 0% do 100% Sn. Na Sl. 17.14(a) uočava se da eutektička legura kristališe u celini na eutektičkoj temperaturi transformacije, dok na primer kod podeutektičke legure postoji temperaturski interval izdvajanja i rasta primarnih  $\alpha$ -kristala, dok na eutektičkoj temperaturi transformacije ostatak rastopa kristališe u eutektičku lamelarnu leguru (Sl. 17.14b).

Eutektička lamelarna struktura obezbeđuje najveću čvrstoću legure Pb-61,9% Sn, jer ima najfiniju dvofaznu strukturu i zato se najviše protivi kretanju dislokacija – pa se kaže da je kod ove legure postignuto *disperzionalno ojačavanje faznom transformacijom*. Legure podeutektoidnog sastava (sa sadržajem Sn između 19% i 61,9%) imaju mekšu strukturu, jer se u čvrstoj eutektičkoj lamelarnoj matrici nalaze izdvojeni mekši primarni kristali  $\alpha$ -faze; slično važi za legure nadutektoidnog sastava (sa sadržajem Sn između 61,9% i 97,5%) u čijoj eutektičkoj lamelarnoj matrici se nalaze izdvojeni mekši primarni kristali  $\beta$ -faze. Još mekšu strukturu imaju legure sa sadržajem Sn između 2% i 19% (jer se u mekšoj  $\alpha$ -matrici nalaze meki primarni kristali  $\beta$ -faze), i one sa sadržajem Sn između 97,5% i 100% (koje u mekoj  $\beta$ -matrici sadrže meke primarne kristale  $\alpha$ -faze). Konačno, najmekšu strukturu imaju Pb-Sn legure sa sadržajem Sn između 0% i 2%, koje sadrže polikristalna zrna meke  $\alpha$ -faze.

Težinski procentualni udeo  $\alpha$  i  $\beta$  faza u pojedinim tipovima Pb-Sn legura lako se određuje primenom pravila poluge na fazni dijagram sa Sl. 17.13 (v. Zad. 17.6).

**Eutektoidni fazni dijagram.** Eutektoidna reakcija u čvrstom stanju omogućava *disperzionalno ojačavanje faznom transformacijom*, kroz prisustvo dve čvrste faze u formi lamelarne strukture, slično eutektičkim legurama. Kao primer, biće razmotrena eutektoidna reakcija u faznom dijagramu *gvožđe-cementit* (Fe- $Fe_3C$ , v. Sl. 17.15), koji je osnova za čelike i livena gvožđa:

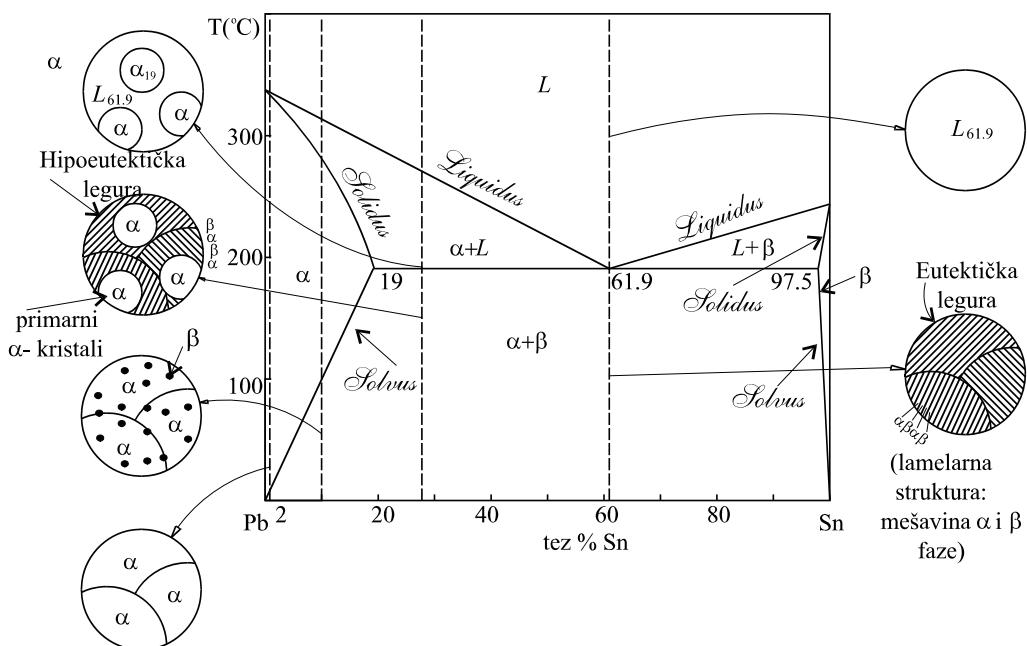


(Lako se pokazuje da sastav legure Fe-6,67%C dovodi do formiranja intermetalnog jedinjenja *cementita*  $Fe_3C$ , v. Zad. 17.7). Lamelarna struktura sastavljena od naizmeničnih slojeva  $\alpha_{0,0218\%C}$  i  $Fe_3C$  naziva se *perlit*, i predstavlja disperzionalno ojačanu leguru gvožđa i ugljenika. Pokazuje se (Zad. 17.8) da su lamele mekog i plastičnog  $\alpha$ -ferita znatno deblje od lamela tvrdog i krtog cementita  $Fe_3C$ , zbog čega je ceo perlit jak, a plastičan.

Na faznom dijagramu Fe- $Fe_3C$  uočavaju se još neke karakteristične faze:  $\delta$  ( $\delta$ -ferit),  $\gamma$  (austenit),  $\alpha$  ( $\alpha$ -ferit) i  $Fe_3C$  (intermetalno jedinjenje cementit).

Legure sa sadržajem ugljenika  $< 2,11\%$  nazivaju se *ugljenični čelici*, dok se one sa  $> 2,11\% C$  nazivaju *livena gvožđa*.

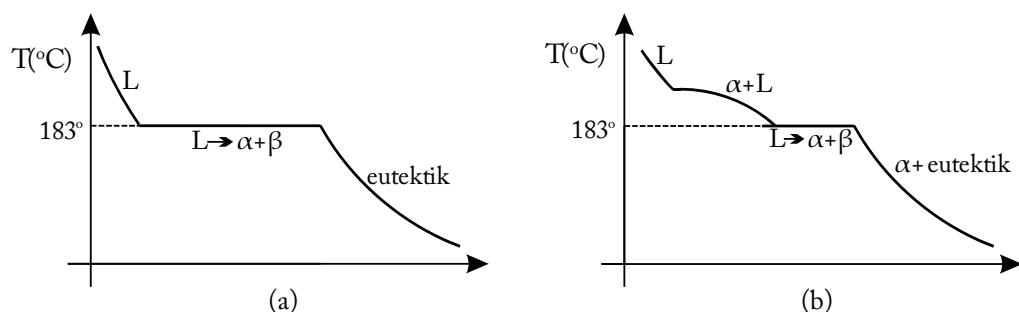
Ugljenični čelici sa sadržajem ugljenika između 0,0218% i 0,77% nazivaju se *podeutektoidni ugljenični čelici*, onaj sa 0,77% C je *eutektoidni ugljenični čelik*, a



**SLIKA 17.13** Kristalizacija i mikrostruktura nekoliko sastava olovo-kalaj legura: Pb-2%Sn; Pb 10%Sn; podeutektička Pb-27%Sn; eutektička Pb-61,9%Sn (v. četiri isprekidane vertikalne linije pomenutih sastava i odgovarajuće mikrostrukturne inserte u toku kristalizacije rastopa legure)

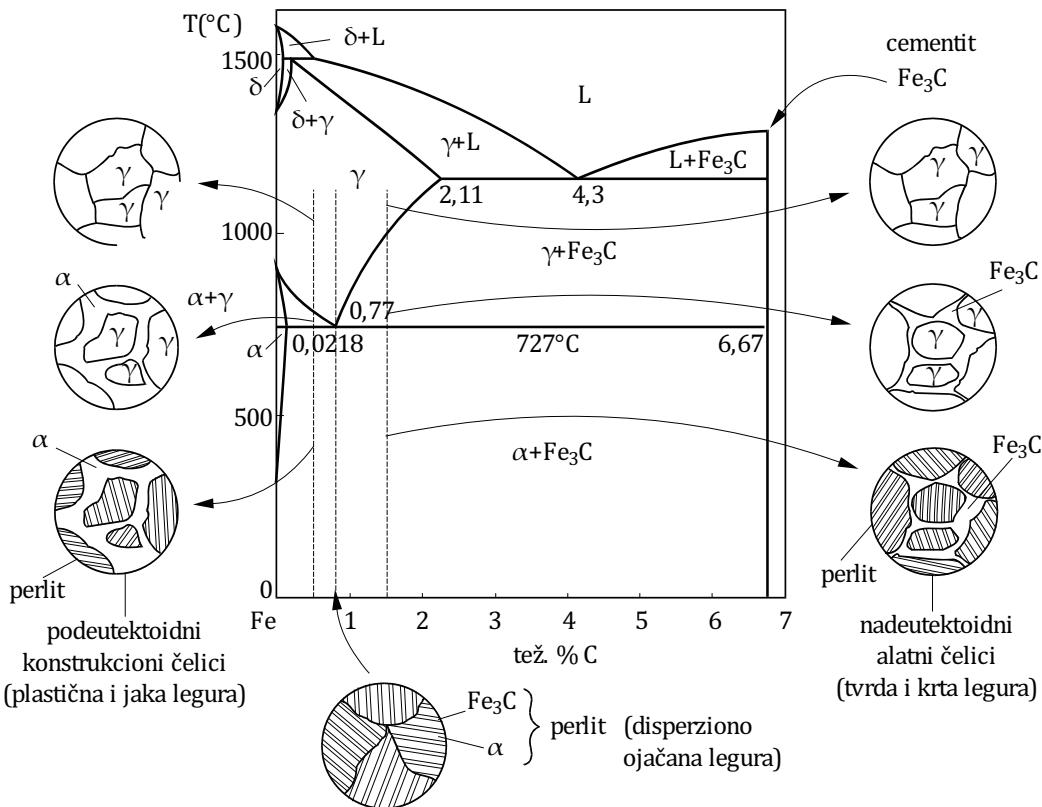
oni sa sadržajem ugljenika između 0,77% i 2,11% nazivaju se *nadeutektoidni ugljenični čelici*. Temperaturske transformacije i mikrostrukture ovih tipova čelika date su na Sl. 17.15.

Mikrostrukturni insert podeutektoidnih ugljeničnih čelika ispod temperaturе eutektoidne transformacije ( $727^{\circ}\text{C}$ ) pokazuje da ovi čelici imaju žilavu  $\alpha$ -matricu ojačanu perlitnim precipitatom (Zad. 17.9) – zbog čega su ove legure plastične i jake pa se koriste kao *konstrukcioni čelici* (nasuprot tome, nadeutektoidni ugljenični čelici imaju veoma tvrdi i krti  $\text{Fe}_3\text{C}$ -matricu sa jakim perlitnim precipitatom, zbog čega su ove legure tvrde i krte pa se koriste, posle dodatnih termičkih tretmana da bi se umanjila krtost, kao *alatni čelici*).



**SLIKA 17.14** Krive hlađenja (a) eutektičke legure i (b) podeutektičke legure

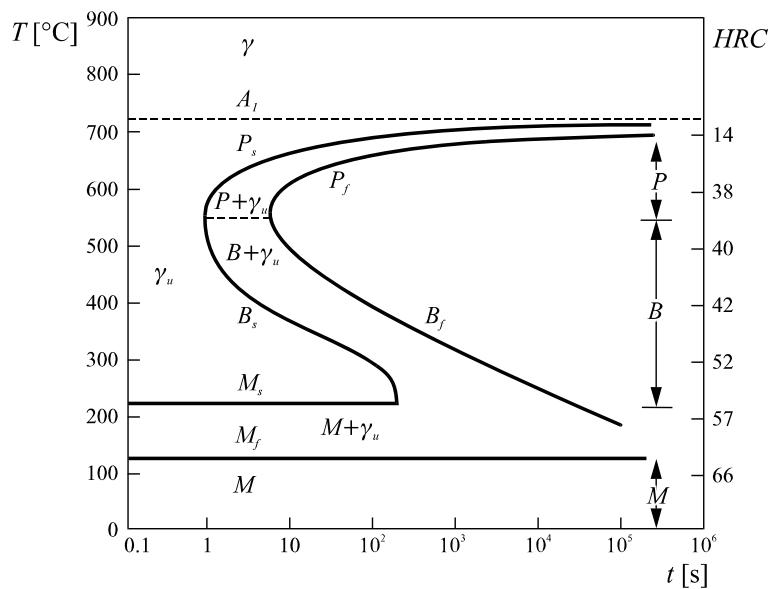
Kod legiranih čelika fazni dijagram se razlikuje u odnosu na onaj sa Sl. 17.15, time što se smanjuje eutektoidni sastav ( $< 0,77\%C$ ), povećava temperatura transformacije ( $> 727^{\circ}C$ ), a menjaju se i površine pojedinih oblasti na faznom dijagramu, zavisno od vrste i količine legirajućih elemenata.



SLIKA 17.15 Temperaturske transformacije i mikrostrukture nekoliko tipova legura gvožđe-ugljnik: podeutektoidni čelik ( $< 0,77\%C$ ), eutektoidni čelik ( $0,77\%C$ ) i nadeutektoidni čelik ( $> 0,77\%C$ ) (v. tri isprekidane vertikalne linije pomenutih sastava i odgovarajuće mikrostrukturne inserte u toku faznih transformacija legura).

**Kontrola eutektoidne transformacije.** Eutektoidna ravnotežna reakcija  $\gamma \rightarrow \alpha + Fe_3C$  u čvrstom stanju je veoma spora, pa se obično u čelicima koriste brže, neravnotežne transformacije. Pri tome, temperatura transformacije utiče na vreme transformacije, finoću strukture i raspored dve faze, kako je to prikazano na Sl. 17.16 za eutektoidni ugljenični čelik u dijagramu vreme-temperatura-transformacija. Takvim dijagramima je moguće predviđanje strukture, osobina i termičkog tretmana u čelicima (v. Zad. 17.10-11).

Na Sl. 17.16 delovi krivih označeni sa  $P_s$  i  $P_f$  označavaju početak odnosno kraj obrazovanja perlita ( $P$ ), sa  $B_s$  i  $B_f$  početak odnosno kraj obrazovanja beinita ( $B$ ), a oni označeni sa  $M_s$  i  $M_f$  početak odnosno kraj obrazovanja martenzita ( $M$ ).

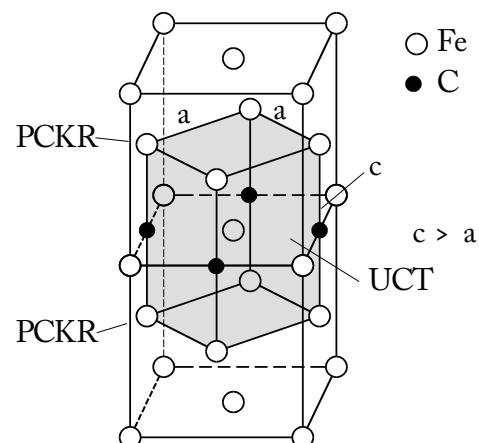


SLIKA 17.16 Dijagram vreme-temperatura-transformacija za ugljenični eutektoidni čelik (HRC je Rokvel C tvrdoča).

*Perlit* nastaje pri transformacijama manje pothlađenog austenita ( $\gamma_u$ ), pri čemu najbrže (za  $\sim 10$  s) pri najvećem pothlađenju na  $550^\circ\text{C}$  (tzv. nos krive), jer tada brže nastupa nukleacija; pri tome je difuzija atoma sporija i vreme rasta lamelarne strukture sporije, pa se zato dobija finija lamelarna struktura. Dobijeni perlit je jak i žilav.

*Beinit* nastaje pri većem pothlađenju, transformacijom pothlađenog austenita. Pošto je na nižim temperaturama difuzija sporija, to bi trebalo da se obrazuje ekstremno fina lamelarna perlitra struktura, ali bi to povećalo previše ukupnu površinu zrna – pa je termodinamički povoljnije izdvajanje cementita u vidu sitnih oblih čestica u  $\alpha$ -feritnoj matrici. Dobijeni beinit je jači i manje žilav od perlita; što je pothlađenje veće (odnosno niža temperatura transformacije), to je finija struktura, veća čvrstoća i manja plastičnost beinita!

*Martenzit* je faza koja se formira pri još većim pothlađenjima, i nastaje kao rezultat bezdifuzione transformacije u čvrstoj fazi. Pošto je reakcija bezdifuziona, ona ne zavisi od vremena nego samo od temperature! Reakcija nastaje ispod



SLIKA 17.17 Jedinična celija UCT kristalne rešetke martenzita, nastala ugrađivanjem ugljenikovih atoma između atoma gvožđa u osnovi PCKR rešetke austenita.

220°C, a sastav je isti kao kod početnog  $\gamma$ -austenita. Zbog bezdifuzione transformacije martenzit je superzasićen ugljenikom, čiji atomi se ugrađuju između atoma osnove PCKR rešetke austenita, formirajući napregnutu unutrašnje centriranu tetragonalnu rešetku (UCT), Sl. 17.17. Ova napregnuta tetragonalna struktura, kao i sitnozrnasta polikristalna struktura, omogućavaju veliku tvrdoću i malu plastičnost martenzita, jer otežavaju kretanje dislokacija. Odgrevanjem martenzita ispod eutektoidne temperature (727°C) izdvajaju se stabilne  $\alpha$  i Fe<sub>3</sub>C faze, što smanjuje čvrstoću ali povećava plastičnost čelika.

U legiranim čelicima dijagram vreme-temperatura-transformacija se modifikuje tako što se nos krive pomera udesno, ka većim vremenima transformacije, tako da je potrebno duže vreme da nastane perlit pri datom pothlađenju. Na taj način nije neophodno naglo hlađenje da bi nastale i druge stukture, kao što su beinit ili martenzit: zato je kod legiranih čelika moguće i hlađenje na vazduhu, pa da ipak nastanu ove stukture. Osim toga, snižavaju se i temperature započinjanja ( $M_s$ ) i završetka ( $M_f$ ) martenzitne transformacije.

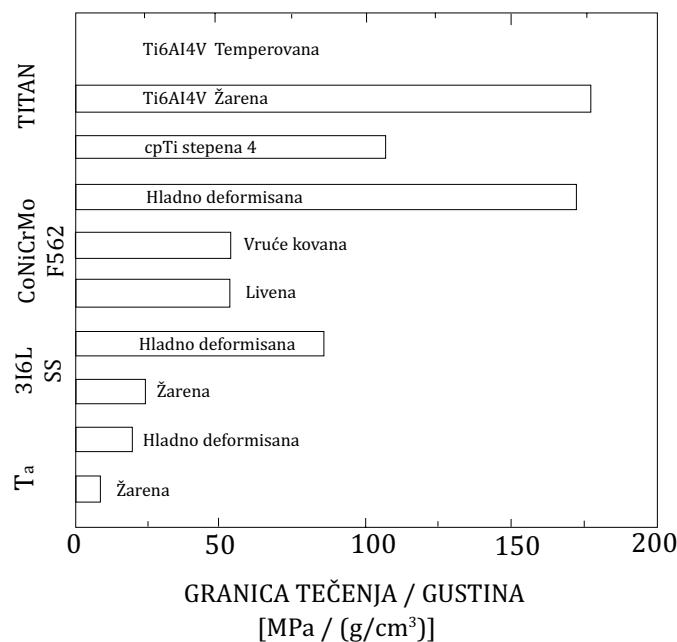
## 17.2 GLAVNI PREDSTAVNICI METALNIH BIOMATERIJALA

*Metali i metalne legure* imaju dobra svojstva [1-3], a najbolja imaju Ti i njegove legure, zbog odlične otpornosti na koroziju, biokompatibilnosti i manje kruštosti (koja omogućava najbolji prenos mehaničkih naprezanja njihovih implantata na kosti), dok TiO<sub>2</sub> na površini ima bioaktivna svojstva i indukuje rast nove kosti; značajne za primenu u ortopediji su i TiNi-legure sa efektom pamćenja oblika. Co-Cr-legure su kao i Ti pasivne u ljudskom telu, pa se veoma primenjuju u ortopediji. Nerđajući čelici se danas napuštaju zbog nedovoljne otpornosti na koroziju, i efekata hipersenzitivnosti organizma na Ni izdvojen iz čelika.

Uporedna mehanička svojstva (zatezna čvrstoća  $\sigma_m$ , granica razvlačenja/tečenja  $\sigma_{0,2\%}$ , procentualno izduženje  $\varepsilon_{izd}$  i procentualna redukcija  $\varepsilon_{red}$  pri deformaciji epruvete) odabranih predstavnika metalnih biomaterijala (nerđajućih čelika, CoCr-legura, i komercijalno čistog cpTi i Ti-legura) data su u Tabl. 17.1.

Vidi se da veći sadržaj nečistoća cpTi (od stepena 1 do stepena 4) vodi ka većoj čvrstoći i smanjenoj savitljivosti, sa vrednostima u širokom rasponu od mnogo manjih do skoro jednakih nerđajućem čeliku 316L ili CoCr-legurama; osim toga, poredeći specifičnu čvrstoću (granicu tečenja po gustini), cpTi i Ti-legure izdvajaju se od svih ostalih metalnih biomaterijala za implantate, kao što je prikazano na Sl. 17.18. No, bez obzira na sve cpTi i Ti-legure imaju slabu čvrstoću, što im smanjuje primenu za izradu zavrtnja za kosti, ploča i sličnih spojnih delova.

**Nerđajući čelici.** Prvi nerđajući čelik šire upotrebljavan za izradu implantata bio je 18-8 (tip 302 u modernoj klasifikaciji), koji je jači i otporniji na koroziju od vanadijumskog čelika (prvi put korišćenog metalnog biomaterijala za izradu ploča i zavrtnjeva kod preloma kostiju, a potom napuštenog zbog neodgovarajuće otpornosti na koroziju *in vivo*). Kasnije je uveden 18-8 Mo nerđajući čelik (poznat kao tip 316), koji sadrži mali procenat molibdena radi povećanja otpornosti na koroziju u



SLIKA 17.18 Specifična čvrstoća (granica tečenja po gustini) odabranih metalnih biomaterijala [1].

slanoj vodi. 1960-tih godina ideo ugljenika u 316 nerđajućem čeliku je smanjen sa 0,08 tež% na maksimalno 0,03 tež% (u tzv. tipu 316L nerđajućeg čelika) radi bolje korozivne otpornosti na rastvore hlorida. Minimalna efektivna koncentracija hroma u nerđajućim čelicima je 11 tež% iako je reaktivni element, ali se Cr može (kao i njegove legure) pasivizirati da bi dao izuzetnu otpornost čelika na koroziju.

TABELA 17.1 Uporedna mehanička svojstva odabranih metalnih biomaterijala [1]

		$\sigma_m$ (MPa)	$\sigma_{0,2\%}$ (MPa)	$\epsilon_{izd}$ (%)	$\epsilon_{red}$ (%)
Nerđajući čelik (316L)	kaljen	485	172	40	-
	hladna obrada	860	690	12	-
CoCrMo za oblikovanje (F75)		655	450	8	8
CoNiCrMo kovana (F562)	livena u rastvoru	793–1000	240–655	50,0	65,0
	hladna obrada i starenje	1793 min	1585	8,0	35,0
cpTi step.a 1		240	170	24	30
cpTi step. 2		345	275	20	30
cpTi step. 3		450	380	18	30
cpTi step. 4		550	485	15	25
Ti6Al4V		860	795	10	25

Pomenuti austenitni nerđajući čelici ne mogu se kaliti na visokim temperaturama, a mehanički se ojačavaju hladnom deformacijom; ova grupa nerđajućih čelika je nemagnetna i ima bolju korozivnu otpornost od svih ostalih. Odabrani udeli Cr i Ni stabilizuju austenitnu  $\gamma$ -fazu na sobnim temperaturama i povećavaju korozivnu otpornost, a dodavanje Mo takođe pojačava otpornost kroz stvaranje zaštitnog površinskog korozivnog sloja u slanoj vodi (v. Tabl. 17.2 za sastav 316L nerđajućeg čelika).

*TABELA 17.2 Sastav 316L nerđajućeg čelika [1]*

Element	Sadržaj (tež%)
C	0,03 max
Mg	2,00 max
P	0,03 max
S	0,03 max
Si	0,75 max
Cr	17,00 – 20,00
Ni	12,00 – 14,00
Mo	2,00 – 4,00

U Tabl. 17.1 date su i uporedne mehaničke karakteristike 316L nerđajućeg čelika, koje veoma zavise od uslova termičke obrade i mehaničkog ojačavanja. Dizajner zato mora biti maksimalno oprezan pri izboru materijala ovog tipa. Čak i 316L čelici mogu korodirati unutar organizma pri određenim okolnostima u visoko napregnutim oblastima (kao što su kontakti zavrtnja i frakturne ploče). Zbog toga su ovi nerđajući čelici primenljivi samo za izradu privremenih implementirajućih uređaja kao što su frakturne ploče, zavrtnji i bedreni ekseri.

**CoCr-legure.** U principu postoje dva tipa legura kobalta i hroma; jedan je Co-CrMo-legura za oblikovanje (F75) i druga vruće kovana CoNiCrMo-legura (F562). CoCrMo-legura za oblikovanje korišćena je mnogo decenija u stomatologiji i, od nedavno, u izradi veštačkih spojeva. Kovana CoNiCrMo-legura je relativno nova i koristi se za izradu osovina proteza za teško opterećene spojeve kao što su koleno i bedro.

Njihov hemijski sastav je prikazan u Tabl. 17.3. Dva osnovna elementa CoCr-legura stvaraju čvrsti rastvor sve do 65% Co, a Mo se dodaje da stvori finija zrna što dovodi do veće čvrstoće posle oblikovanja ili kovanja.

CoNiCrMo-legure veoma su otporne na koroziju u morskoj vodi (koja sadrži hlорidне јоне) u napregnutom stanju. Obrada hladnom deformacijom može znatno povećati čvrstoću legura, ali se pri tome javljaju značajne teškoće, posebno pri izradi velikih delova kao što su osovine bedrenih spojeva; zato se samo vrućim kovanjem mogu izraditi veliki implantati od ove legure. Abrazivna svojstva kovane CoNiCrMo-legure slična su svojstvima legure za oblikovanje CoCrMo; međutim ova

druga se ne preporučuje za površine ležaja spojeva u protezama zbog slabih karakteristika pri trenju sa istim ili sa drugim materijalima. Kovana CoNiCrMo-legura se primenjuje kada se traži dug rok trajanja bez loma i naprezanja (koji nastaju usled zamora materijala), kao i kada su potrebne velike zatezne čvrstoće (npr. osovine kod proteza bedrenih spojeva). Ova prednost je značajna kada je potrebna zamena implantata, jer je prilično teško ukloniti pokvarene delove implantata duboko umetnutog u srednji femoralni kanal.

*TABELA 17.3 Hemijski sastav CoCr-legura [1,7]*

Element	CoCrMo (F75)		CoNiCrMo (F562)	
	min	max	min	max
Cr	27,0	30,0	19,0	21,0
Mo	5,0	7,0	9,0	10,5
Ni	--	2,5	33,0	37,0
Fe	--	0,75	--	1,0
C	--	0,35	--	0,025
Si	--	1,00	--	0,15
Mn	--	1,00	--	0,15
W	--	--	--	--
P	--	--	--	0,015
S	--	--	--	0,010
Ti	--	--	--	1,0
Co			--	

Uporedna mehanička svojstva CoCr-legura data su u Tabl. 17.1. Kao i kod ostalih legura, porast čvrstoće je praćen smanjenjem savitljivosti. I livene i kovane legure imaju odličnu otpornost na koroziju. Eksperimentalna određivanja količina rastvorenog Ni iz CoNiCrMo-legure i 316L-nerđajućeg čelika u Ringerovom rastvoru na 37°C pokazuju zanimljive rezultate: iako kobaltna legura ima veću početnu rastvorljivost jona Ni u rastvor, intenzitet rastvaranja je bio skoro isti ( $3 \cdot 10^{-10}$  g/cm<sup>2</sup>/d) za obe legure. Ovo je iznenadujuće jer je sadržaj nikla u CoNiCrMo-leguri oko tri puta veći nego kod 316L-nerđajućeg čelika. Modul elastičnosti za CoCr-legure se ne menja promenom njihove zatezne čvrstoće: vrednosti se kreću od 220 do 234 GPa, što je više nego kod ostalih materijala, kao što su nerđajući čelici. To može imati određene primene kod veštačkih zamena za kosti, iako uticaj povećanog modula elastičnosti na učvršćenost i dugovečnost implantata još nije u potpunosti utvrđen.

**Ti i njegove legure.** Pokušaji korišćenja titana (Ti) za izradu implantata datiraju u kasne 1930-te. Otkriveno je da organizam može tolerisati Ti, kao i nerđajući čelik i Vitalijum (CoCrMo legura). Mala gustina Ti (4,5 g/cm<sup>3</sup> u poređenju sa 7,9 g/cm<sup>3</sup> za 316 nerđajući čelik i 8,3 g/cm<sup>3</sup> za livene legure CoCrMo i 9,2 g/cm<sup>3</sup> za kovane CoNiCrMo legure) i dobra mehanohemijska svojstva, glavni su razlozi za upotrebu

Ti i njegovih legura u izradi implantata. Ti pokazuje otpornost na koroziju zbog formiranja tankog čvrstog oksidnog  $\text{TiO}_2$ -sloja, što je jedini stabilni proizvod reakcije *in vivo*, koji pasivizira materijal (sam mehanizam korozivne otpornosti biće analiziran kasnije). Pa ipak, Ti takođe ume da nadražuje u dodiru sa istim ili različitim materijalom.

Postoje četiri stepena nelegiranog komercijalno čistog Ti (cpTi) za primenu za hirurške implantate (koji se razlikuju po sadržaju nečistoća, gde se O, Fe i N moraju pažljivo kontrolisati, pri čemu O posebno ima veliki uticaj na savitljivost i čvrstoću), kao i više Ti-legura od kojih se Ti6Al4V široko koristi za izradu implantata (gde su glavni elementi legiranja Al i V), v. Tabl. 17.4.

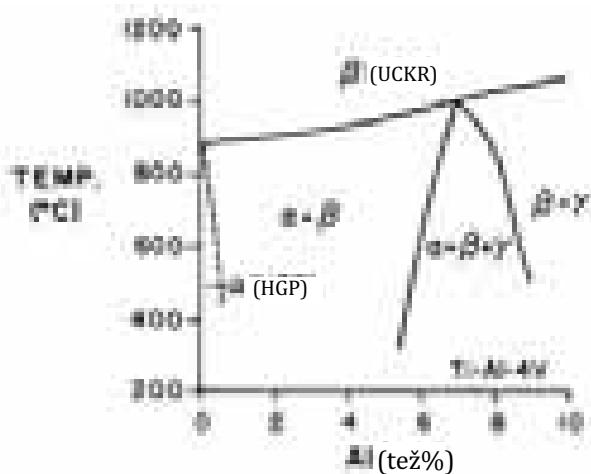
*Tabela 17.4 Hemijski sastav cpTi i Ti-legura [1]*

Element	cpTi step. 1	cpTi step. 2	cpTi step. 3	cpTi step. 4	Ti6Al4V
N	0,03	0,03	0,05	0,05	0,05
C	0,10	0,10	0,10	0,10	0,08
H	0,015	0,015	0,015	0,015	0,0125
Fe	0,20	0,30	0,30	0,50	0,25
O	0,18	0,25	0,35	0,40	0,13
Al	-	-	-	-	5,50–6,50
V	-	-	-	-	3,50–4,50
Ti	ostalo	ostalo	ostalo	ostalo	ostalo

Uporedna mehanička svojstva cpTi i Ti-legura data su u Tabl. 17.1. Iako se Ti i njegove legure izdvajaju se od svih ostalih metalnih biomaterijala za implantate (v. Sl. 17.18), nedostatak im je relativno slaba mehanička čvrstoća, što im smanjuje primenu za izradu spojnih delova za kosti.

Ti je alotropski materijal koji se nalazi u heksagonalnoj gusto pakovanoj strukturi ( $\alpha$ -Ti) do  $882^\circ\text{C}$  i u unutrašnje centriranoj kubnoj strukturi ( $\beta$ -Ti) iznad te temperature (v. Sl. 17.19). Veći sadržaj nečistoća u cpTi (od step. 1 do step. 4) vodi ka njegovoј većoj čvrstoći i smanjenoj savitljivosti.

Dodavanje legirajućih elemenata omogućuje širok spektar svojstava TiAlV-legura: (1) Al teži da stabilizuje  $\alpha$ -fazu, tj. da povisi temperaturu prelaza iz  $\alpha$  – u  $\beta$ -fazu. Stabilizirajući efekat visokog sadržaja Al daje ovoj grupi legura odlična svojstva čvrstoće i otpornosti na oksidaciju na visokim temperaturama ( $300$ – $600^\circ\text{C}$ ).  $\alpha$ -faza ima jednofaznu mikrostrukturu što pozitivno utiče na obradu zavarivanjem, ali se zbog jednofaznosti ove legure ne mogu termički obrađivati radi povećanja čvrstoće. (2) V stabilizuje  $\beta$ -fazu snižavajući temperaturu faznog prelaza  $\alpha \rightarrow \beta$ . Dodavanje kontrolisanih količina  $\beta$  stabilizatora uzrokuje povećanje čvrstoće  $\beta$ -faze ispod temperature faznog prelaza što rezultuje pojmom dvofaznog sistema. Precipitati  $\beta$  faze se pojavljuju nakon termičke obrade na temperaturi čvrstog rastvora. Ciklus starenja uzrokuje precipitaciju pojedinih finih  $\alpha$  zrna iz metastabilnih  $\beta$  zrna, povećavajući udeo  $\alpha$  strukture koja je čvršća nego kaljena  $\alpha$ - $\beta$  struktura. Veći



SLIKA 17.19 Deo faznog dijagrama Ti-Al-V legure na 4 % V [1].

procenat  $\beta$  stabilizirajućih elemenata (13% V u Ti13V11Cr3Al leguri) rezultuje u mikrostrukturnoj  $\beta$ -fazi koja može biti ojačana termičkom obradom.

Veoma interesantne su i TiNi-legure (ili NiTi-legure), koje pokazuju neobičajeno svojstvo da se nakon deformacije materijal može vratiti u prvobitni oblik usled zagrevanja, što se naziva *efekat pamćenja oblika* (SME – Shape Memory Effect) [1]. Široko poznata NiTi-legura je 55-Nitinol (55 at% Ni); ona je jednofazna, ima mehaničku memoriju, visoko prigušenje zvučnih talasa, direktnu konverziju topotne u mehaničku energiju, mali zamor materijala i malo povećanje savitljivosti usled povišenja temperature. Odstupanja od 55-Nitinola (blizu stehiometrije NiTi) u smeru obogaćivanja Ni, vode u drugu grupu legura koje su takođe nemagnetne, ali koje se razlikuju u mogućnosti povećanja žilavosti termičkom obradom; pri tome, SME opada dok raste mogućnost termičke obrade, i to veoma značajno kada sadržaj Ni dostigne 60 at% (60-Nitinol). I 55-Nitinol i 60-Nitinol imaju relativno mali modul elastičnosti i mogu biti žilaviji i otporniji od nerđajućeg čelika ili CoCr-legura. Efikasnost obnavljanja početnog oblika kod 55-Nitinola može se kontrolisati menjanjem konačne temperature kaljenja pri obradi legiranih uređaja; za najveće povećanje efikasnosti, oblik je fiksiran učvršćivanjem komada u željenom obliku i zagrevanjem između 482 i 510 °C. Ako je kaljena žica deformisana na temperaturi ispod temperature vraćanja oblika, prvobitni oblik će se vratiti usled zagrevanja ukoliko deformacija ne prevaziđa kristalografske limite naprezanja ( $\sim 8\%$  napetosti usled naprezanja). NiTi-legure imaju i dobru biokompatibilnost i otpornost na koroziju *in vivo*.

Mehanička svojstva NiTi-legure posebno su osetljiva na stehiometrijski odnos komponenata (tipični sastav je dat u Tabl. 17.5) i pojedinačnu termalnu i mehaničku predistoriju. Iako je dosta toga poznato oko prerade, mehaničkog poнаšanja i svojstava vezanih za efekat pamćenja oblika, mnogo manje je poznato o termomehaničkoj i fizičkoj metalurgiji ove legure. SME je generalno povezana sa transformacijom martenzitne faze koja je u osnovi termoelastična, pa je u cilju ra-

zvoja implantata od ovih materijala neophodno razumeti u potpunosti mehaničko i termalno ponašanje povezano sa transformacijom martenzitne faze.

*TABELA 17.5 Hemski sastav NiTi-legure [1]*

Element	Udeo, at%
Ni	54,01
Co	0,64
Cr	0,76
Mn	0,64
Fe	0,66
Ti	ostalo

**Stomatološki metali.** *Stomatološki amalgam* je legura napravljena od tečne Hg i drugih čvrstih metalnih legura Ag, Sn, Cu, ... Čvrste legure se mešaju sa (tečnom) Hg u mehaničkom mikseru i konačno dobijeni materijal se stavlja u unapred pripremljenu šupljinu. Jedna od čvrstih legura je sastavljena od najmanje 65 % Ag i ne više od 29 % Sn, 6 % Cu, 2 % Yn i 3 % Hg. Pri tome, odvija se sledeća reakcija:

$$\gamma + \text{Hg} \rightarrow \gamma_1 + \gamma_2$$

*Au i Au-legure* su korisni metali u stomatologiji zbog svoje dugovečnosti, stabilnosti i otpornosti na koroziju. Postoje Au-legure različitih sastava. Mekše legure sadrže više od 83% Au i koriste se za delove koji nisu izloženi velikom pritisku. Tvrđe legure sadrže manje Au i koriste se za izradu krunica i navlaka koje se izlažu većim pritiscima. Zlatne plombe se prave na dva načina: oblikovanjem i kovanjem. *Oblikovanje* se vrši uzimanjem voštanog otiska od pripremljene šupljine, pravljenjem kalupa, na osnovu otiska, u gipsu (koji toleriše visoke temperature) i livenjem zlatnog odlivka u kalupu. U međuvremenu, pacijent ima privremenu plombu. Au-legure se koriste jer su im mehanička svojstva daleko bolja nego kod čistog Au, a zadržana je i otpornost na koroziju zbog njihovog sastava od 75% i više Au i ostalih plemenitih metala. Cu, legiran sa Au, značajno povećava njegovu čvrstoću, kao i Pt, ali ne više od 4% jer se tačka topljenja legure može znatno povisiti. Ag kompenzuje boju bakra. Zn se može dodati u malim količinama radi sniženja tačke topljenja i čišćenja od oksida što se formiraju pri topljenju. *Kovanje* se vrši popunom šupljine čistim slojevima Au, koji se stapaju pod pritiskom na određenoj temperaturi, difuzijom atoma iz jednog u drugi sloj. Kako je za to potreban veoma blizak kontakt, posebno je važno da se slojevi ne zaprljavaju nekim drugim materijama. Čisto Au je relativno meko, tako da je ovaj postupak ograničen na delove koji ne trpe veće pritiske.

**Ostali metali.** Nekoliko ostalih metala se koristi za razne specijalne prime-ne.

*Ta* je bio ispitivan kroz ugradnju implantata životinja i pokazano je da je veoma biokompatibilan. Zbog slabih mehaničkih svojstava i velike gustine ( $16,6 \text{ g/cm}^3$ ) Ta ima ograničenu upotrebu (žice za medicinske šavove u plastičnoj hirurgiji i neurohirurgiji, radioizotopi za lečenje tumora mokraćnog mehura).

Pt i drugi plemeniti metali iz Pt-grupe ekstremno su otporni na koroziju, ali imaju slaba mehanička svojstva. Uglavnom se koriste kao legure za elektrode (kontakti u pejsmejkeru – visoka otpornost na koroziju i nizak potencijal praga).

*Termoseeds* napravljen od 70% Ni i 30% Cu ima Kirijevu temperaturu u području terapeutske hipertermije, oko 40-50°C. Pod dejstvom promenljivog magnetnog polja nastaju vrtložne struje, koje daju stalni izvor toplote, jer se materijal zagreva zbog dejstva termogenog otpora. Kada se temperatura feromagnetnog materijala približava Kirijevoj tački nastaju i promene u feromagnetskim svojstvima i smanjenje u emitovanju toplote. Time je stvoren samoregulator temperature koji se može koristiti za održavanje konstantne hipertermijske temperature, vantelesno u svakom trenutku.

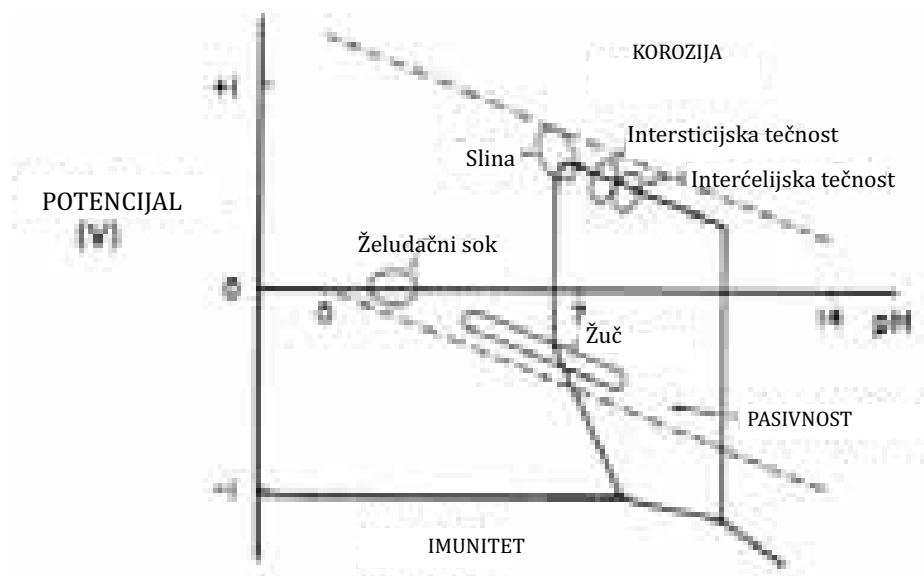
### 17.3 KOROZIJA METALNIH IMPLANTATA

Korozija je neželjena *hemijska* ili *elektrohemijska* reakcija metala sa okolinom, koja rezultira njegovom kontinualnom degradacijom u okside, hidrokside ili druga jedinjenja. Fluid u tkivima ljudskog organizma sadrži vodu, rastvoreni kiseonik, proteine i razne jone (hloridne, hidroksilne), pa *ljudsko telo* predstavlja veoma agresivnu sredinu za korišćene *metalne implantate*, zbog čega je njihova *otpornost na koroziju* veoma bitan aspekt *biokompatibilnosti* [1,2]! Detaljnije o mehanizmima i efektima korozije metala u biološkoj sredini v. Od. 9.2-3.

Niz plemenitosti metala koji se uočava u praksi (v. Tabl. 9.6), može se razlikovati od termodinamički predviđenog niza. Razlog je što pojedini metali mogu biti pokriveni slojem pasivizirajućeg filma produkata reakcije, koji štiti metal od dalje korozije. Reakcija taloženja može biti veoma irreverzibilna, tako da se mora savladati potencijalna barijera. U tom se slučaju korozija može inhibirati iako je energetski povoljno njeno odvijanje. Dakle, kinetika korozije nije određena samo termodinamikom.

**Puarbaov dijagram korozije.** Puarbaov dijagram je grafik oblasti *korozije*, *pasivnosti* i *imuniteta* u zavisnosti od *potencijala elektrode* i *pH sredine* – i dobija se iz Nernstove jednačine, rastvorljivosti produkata degradacije i konstante ravnoteže reakcije [1].

Oblast *korozije* je izabrana dogovorno da je pri koncentraciji većoj od  $10^{-6}$  gramatomu metala po litru rastvora (molarne koncentracije) u ravnoteži; to odgovara 0,06 mg/l za metale kao što su Fe i Cu i 0,03 mg/l za Al. Oblast *imuniteta* je definisana kao ravnoteža između metala i njegovih jona na manje od  $10^{-6}$  molarne koncentracije; u njoj je korozija energetski nemoguća, pa se imunitet takođe navodi i kao katodna zaštita. Oblast *pasivnosti* se definiše kao ravnoteža između metala i produkata reakcije (oksida, hidroksida, itd.) na molarnim koncentracijama manjim od  $10^{-6}$ ; u njoj su stabilne čvrste komponente oksidi, hidroksidi, hidridi ili soli metala, što je korisno ako produkti reakcije prianjaju uz metal. U primeni za biomaterijale, pasivnost može i ne mora biti adekvatna: oštećenje pasivizirajućeg sloja može dovesti do povećanja korozije, jer se ravnotežno stanje ne mora pojaviti



*SLIKA 17.20 Purbaov dijagram za Cr, sa oblastima povezanim sa dejstvom raznih telesnih fluida [1].*

ako se proizvodi reakcije uklone protokom telesnog fluida (pri čemu se materijali razlikuju po svojoj sklonosti da obnove oštećeni pasivni sloj). Pasivizirajući sloj može zaštитiti metal ispod sebe ako dobro prianja uz njega i ako nije porozan, čime je sprečena dalja korozija. Pasivizacija takođe može nastati i zbog polarizacije usled razlike koncentracija (zbog prisustva jona u blizini elektroda), što se baš i ne javlja u telu jer se joni neprestano izmenjuju i dopunjavaju. I reakcija katodne depolarizacije može doprineti pasivizaciji metala povećanjem energetske barijere što usporava hemijsku kinetiku.

Postoje dve dijagonalne linije na Purbaovom dijagramu (v. Sl. 17.20): „kiseonikova“ linija predstavlja gornju granicu stabilnosti vode (pljuvačka, međućelijska tečnost i intersticijalni fluid zauzimaju oblast u blizini „kiseonikove“ linije, jer su zasićeni kiseonikom); „vodonikova“ linija predstavlja donju granicu stabilnosti vode (u ljudskom telu urin, žuč, donji crevni trakt i sekreti žlezda zauzimaju oblast nešto iznad „vodonikove“ linije, jer su zasićeni vodonikom). Vodena korozija se javlja u oblasti između ovih dijagonalnih linija na Purbaovom dijagramu.

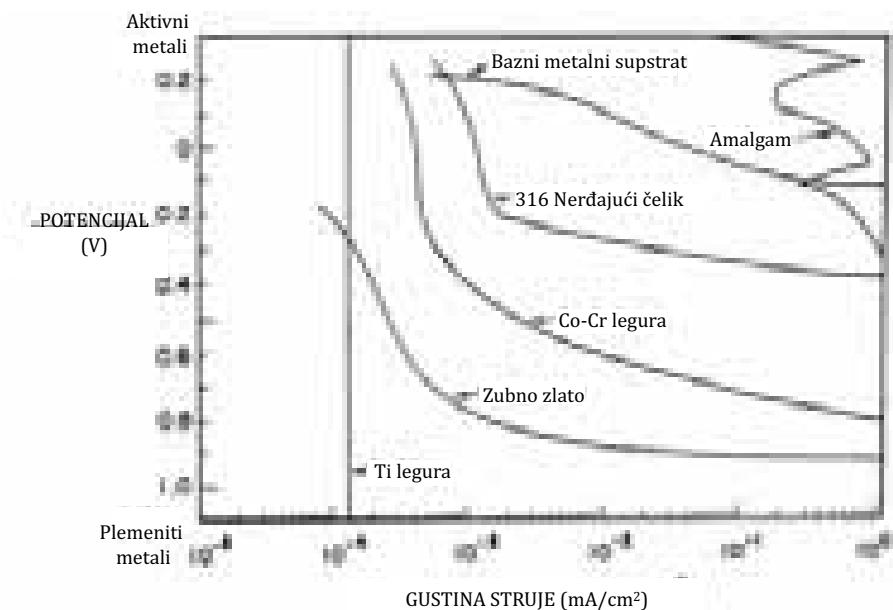
Značaj Purbaovog dijagrama je u tome da različiti delovi tela imaju različite pH vrednosti. Shodno tome metal koji se dobro ponaša (imun ili pasivan) u jednom delu tela može znatno korodirati u drugom delu. Osim toga, pH se može izrazito menjati u tkivu koje je povređeno ili inficirano. Posebno, tečnost u zdravom tkivu ima pH oko 7,4, a u povređenom tkivu pH može biti oko 3,5, dok u inficiranom tkivu pH raste do 9,0. Puarbaovi dijagrami su korisni, ali ne iskazuju sve činjenice, jer postoje nekoliko ograničenja. Dijagrami se crtaju uzimajući u obzir ravnotežu između metala, vode i produkata reakcije; prisustvo drugih jona, na primer hloridnih, može rezultirati veoma različitim ponašanjem, a i veliki molekuli prisutni u telu mogu

takođe uticati na izmenu situacije; predviđanje „pasivnosti“ može u nekim slučajevima biti optimistično, sve dok se stepen reaktivnosti ne uzima u obzir.

**Stepen korozije i polarizacione krive.** Oblasti u Puarbovom dijagramu kazuju da li se korozija javlja, ali ne govore ništa o njenom intenzitetu. Stepen korozije, izražen kao gustina struje, zavisi od potencijala elektroda što se prikazuje polarizacionim krivama (v. Sl. 17.21) [1]. Iz takvih krivih moguće je izračunati broj jona oslobođenih u tkivu u jedinici vremena, kao i do koje dubine je korozija prodrla u metal u datom trenutku. Alternativni eksperiment je merenje izgubljene mase metala usled korozije u zavisnosti od vremena.

Stepen korozije takođe zavisi od prisustva sinergetskih faktora, kao onih mehaničkog porekla. Na primer, pri koroziji zbog zamora materijala, ponavljanjuća deformacija metala u korozivnoj sredini rezultuje ubrzanjem kako korozije tako i mikrooštećenja usled zamora. Kako se u telesnoj sredini javlaju i ponavljanjuća mehanička naprezanja tako i hemijski agresivno okruženje, testiranje zamora materijala za implantate mora se uvek izvoditi pod fiziološkim uslovima: Ringeov rastvor na telesnoj temperaturi. Pri nagrizajućoj koroziji, trljanje jednog dela preko drugog poremećuje pasivizirajući sloj, dovodeći do brže korozije. U pukotinama stepen korozije se povećava lokalno, jer se hemijsko okruženje u njima razlikuje od okolne sredine; tako npr. oblast kontakta napravljene i koštane ploče, može dovesti do korozije. Lokalizovana korozija se može javiti i ako postoje nehomogenosti u metalu ili okruženju, jer granice zrna ili faza u metalu mogu inicirati koroziju pošto imaju višu potencijalnu energiju.

**Korozija metalnih biomaterijala.** Pri izboru metala za implantaciju moraju se uzeti u obzir prethodno razmatrane karakteristike korozije [1,2]. Metali koji



SLIKA 17.21 Dijagram zavisnosti potencijala od gustine struje kod nekih biomaterijala [1]

se trenutno koriste kao biomaterijali uključujući nerđajući čelik 316L, CoCr-legure, cpTi i Ti-legure, Au i stomatološki amalgam.

*Nerđajući čelik* sadrži dovoljno hroma da bi se javila pasivna otpornost na koroziju. Ali pasivni sloj nije toliko čvrst kao kod Ti ili CoCr-legura, pa su samo nerđajući čelici najveće otpornosti na koroziju pogodni za izradu implantata (austenitski tipovi 316, 316L i 317, koji sadrže Mo). Ali, čak i ovi tipovi čelika su neotporni na koroziju ako se pojave pukotine i naprsline.

*CoCr-legure* su kao i Ti pasivne u ljudskom telu, pa se veoma primenjuju u ortopediji.

*Ti* je osnovni metal u kontekstu elektrohemiskog niza; ipak kod njega se formira čvrst pasivizirajući sloj koji ostaje pasivan u fiziološkim uslovima. Korozivne struje su veoma male,  $10^{-8}$  A/cm<sup>2</sup>, pa Ti-implantati ostaju skoro nepromjenjeni u izgledu. Tako Ti nudi odličnu otpornost na koroziju, ali nije dovoljno čvrst i žilav kao čelik ili CoCr-legure.

*Plemeniti metali* su imuni na koroziju i bili bi idealni kada bi u obzir bila uzimana samo otpornost na koroziju. Tako se Au široko koristi u stomatologiji gde pokazuje odličan kvalitet i dugovečnost, ali se ne koristi u ortopedskim primenama zbog velike gustine, male čvrstoće i visoke cene.

*Stomatološki amalgam* ima pasivne faze samo u neutralnoj pH sredini. Transpasivni potencijal  $\gamma_2$ -faze se polako povećava zbog pojave interfaznih galvanskih parova ili potencijala, zbog čega amalgam često korodira i predstavlja (korozivno) najaktivniji stomatološki materijal.

Korozija metala u kliničkoj praksi može dovesti do lokalnog bola i otekline u okolini implantata, bez primetne infekcije. Takođe se mogu javiti naprsline ili ljuštenje implantata (što se da videti na rendgenskim snimcima), kao i izlučivanje nastalih metalnih jona u organizam. U hirurgiji se može uočiti siva ili crna obojenost okolnog tkiva, dok se oljušteni slojevi metala mogu naći u tkivu. Korozija takođe utiče na mehaničko propadanje ortopedskih implantata (lomovi). Većina lomova je uzrokovana zamorom, a prisustvo nagrizajuće sredine (rastvor) sigurno uvećava zamor materijala. Ipak, stepen uticaja korozije na zamor materijala još nije u potpunosti proučen.

## 17.4 TEHNOLOGIJA METALNIH IMPLANTATA

Na kraju biće razmotrone neke *specifičnosti izrade* metalnih bioimplantata [1,2].

**Nerđajući čelik.** Austenitni nerđajući čelik ne može biti obradživan hladnom deformacijom ako pre toga nije podvrgnut termičkoj obradi, koja pak ne sme da dovede do nastajanja hrom-karbida (CCr<sub>4</sub>) na granicama zrna, jer tada granica postaje siromašnija hromom i ponaša se kao anoda u odnosu na ostale delove čelika, pa interkristalna korozija oštećuje čelik po njegovoj masi. Zbog toga se implantati od austenitskog nerđajućeg čelika najčešće ne zavaruju.

Usled termičke obrade može se javiti promena sastava, ali se taj problem može rešiti kontrolom ravnomernog zagrevanja. Drugi neželjeni efekt termičke obrade je nastanak površinske oksidne ljske koja se mora ukloniti ili hemijski (kiselinom) ili mehanički (trljanjem peskom). Nakon uklanjanja ljske, površina se polira, zatim čisti, odmašćuje i pasivizira u azotnoj kiselini obrazovanjem površinskog tvrdog i neporoznog sloja hrom-nitrida. Implantat se zatim pere i čisti pre pakovanja i sterilizacije.

**CoCr-legure.** CoCrMo-legure su posebno osetljive na obradu, zbog čega se standardna procedura izrade ostalih metala kod nje ne može primeniti. Umesto toga legura se lije pomoću voštanih kalupa koji imaju oblik željene komponente (v. Sl. 17.7d).

Temperatura odlivka je oko 800-1000°C, a legure oko 1350-1400°C. Kontrola temperature utiče na veličinu zrna u konačnom odlivku. Krupnija zrna formirana na višim temperaturama smanjuju čvrstoću materijala. Međutim, obrada na višim temperaturama dovodi do stvaranja većih karbidnih precipitata sa većim rastojanjima među njima, što rezultira u manje krtom materijalu. I ovde postoji komplementarna zavisnost između čvrstoće i savitljivosti.

**Ti i njegove legure.** Titan je veoma reaktivna na visokim temperaturama i veoma oksidira u prisustvu kiseonika. Zato je potrebno obezbediti atmosferu inerntnog gasa za obradu na visokim temperaturama ili se obrada izvodi u vakuumu.

Zbog difuzije kiseonika u metal, bilo koja termička obrada se mora izvesti na temperaturi ispod 925°C. Ni obrada mašinama na sobnoj temperaturi nije rešenje, jer se brzo troše noževi za rezanje; da bi se umanjio taj efekat koristi se veoma oštar alat, sa malim brzinama. Primjenjuje se i elektrohemiska obrada.

## 17.5 PITANJA ZA REKAPITULACIJU

- 17.1 Kako se postiže ojačavanje metala umrežavanjem dislokacija?
- 17.2 Kako se postiže ojačavanje metala granicom polikristalnih zrna?
- 17.3 Kako se postiže ojačavanje metala tačkastim defektima?
- 17.4 Kako se postiže ojačavanje metala granicom faza?
- 17.5 Kako se postiže delimično ili potpuno eliminisanje efekata deformacije na hladno, uz zadržavanje male hrapavosti i odlične dimenzione tolerancije metala?
- 17.6 Kako se ojačavaju bakarne i aluminijumske žice?
- 17.7 Razmotriti različite procese livenja.
- 17.8 Šta određuje pravilo Čvorinova?
- 17.9 Kako se određuje relativna količina faza prisutnih u leguri?
- 17.10 Gde se sreće eutektoidna transformacija u čvrstom stanju?
- 17.11 Za ojačavanje legure granicama prisutnih faza kakav je neophodni odnos matrice i precipitata?
- 17.12 Koja faza je mikrokonstituent kod: (a) čelika, (b) Pb-Sn legura?

- 17.13 Koja faza je intermetalno jedinjenje kod čelika?
- 17.14 Koja je najtvrdja faza u čelicima?
- 17.15 Koji čelici imaju najbolju strukturu za konstrukcione materijale?
- 17.16 Razmotriti uporedne karakteristike i primene metalnih biomaterijala.
- 17.17 Razmotriti mehanizme i uporedne karakteristike korozije metalnih biomaterijala.
- 17.18 Razmotriti specifičnosti izrade implantata od metalnih biomaterijala.

## **17.6 LITERATURA**

1. J. B. Park, Metallic Biomaterials, in J. D. Bronzino, ed., *Biomedical Engineering Handbook* (CRC & IEEE Press, 1996), Ch. 40.
2. B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons, eds., *Biomaterials Science* (Elsevier, Amsterdam, 2004).
3. D. Raković, *Osnovi biofizike* (Grosknjiga, Beograd, 1994 / 1995).
4. D. Raković, S. Krstić, Lj. Turković, *Savremeni materijali i tehnologije* (Grosknjiga, Beograd, 1997).
5. D. Raković, *Fizičke osnove i karakteristike elektrotehničkih materijala* (Elektrotehnicki fakultet / Akademska misao, Beograd, 1995/1997; 2000).
6. D. R. Askeland, *The Science and Engineering of Materials* (PWS-KENT, Boston, 1989).

---

## KERAMIČKI BIOMATERIJALI<sup>1</sup>

Sintetički biomaterijali za supstituciju koštanog tkiva obuhvataju biokeramičke, kompozitne i polimerne materijale [1]. Potreba za korišćenjem sintetičkih koštanih supstituenata ubrzano se povećava, a pretpostavlja se da će transplantacija kosti donora i životinja (trenutno najzastupljenijeg materijala u hirurgiji) u budućnosti biti prevaziđena. Prednost sintetičkih koštanih supstituenata se ogleda u mogućnosti njihovog kreiranja tako da se prilagode pacijentu kao i odgovarajućoj hirurškoj tehnici. Osim toga što se mogu jednostavno čuvati u bolnicama, bez potrebe za koštanom bankom, oni mogu imati kontrolisan kvalitet uz optimizovane mehaničke i biološke karakteristike za specifičnu namenu. Oni takođe mogu oblikovanjem biti prilagođeni koštanom defektu uz korišćenje minimalnih invazivnih tehnika, očvršćavajući *in situ*, dajući stabilnost za bilo koju geometriju defekta. Zbog minimalno invazivnih tehnika koje se koriste kod aplikacije ovih materijala moguće je skratiti operativno vreme kao i komplikacije vezane za moguće infekcije. Pažljivi razvoj ovih novih materijala i metoda je neophodan kako bi se ustanovilo da li su sigurni za medicinsku primenu i da li imaju željene biološke i mehaničke karakteristike.

Pošto ograničena dostupnost autogenetske kosti predstavlja glavni problem za hirurgiju i pacijente, neorganski implantati bazirani na kalcijum-fosfatima sintetskog ili biološkog porekla predstavljaju dobru alternativu autogenetskom koštanom kalemljenju [2].

U hirurgiji krtih preloma, biomaterijali se još uvek retko koriste za koštanu reparaciju. Sintetički koštani supstituenti mogu imati nekoliko važnih kliničkih primena u slučaju trauma. Mogu se koristiti za premošćavanje delova defekata ubrzavajući njihovu reparaciju, a mogu služiti i kao autograftni nastavak koji može povećati efikasnost samog autografa.

Frakture sa velikim pomeranjem, sitnjenjem, gubitkom metafizalne kosti, utisnuti fragmenti zglobova, ili nestabilnost, daleko se manje uspešno tretiraju nameštanjem i stavljanjem gipsane imobilizacije. Hirurško uklanjanje cisti, gnojnih

---

<sup>1</sup>Ovo poglavlje napisali su Đorđe Janaćković i Dragan Uskoković

žarišta i malignih tumora iz koštanog tkiva ima za posledicu stvaranje defekata koji zahtevaju ispunu jer procesi koji se odvijaju tokom normalnog zalečenja kosti nisu u stanju da kompenzuju tako velike defekte. Neki defekti ovog tipa imaju zapreminu i do  $600 \text{ cm}^3$ . Isti tretman je neophodan i u slučaju kaviteta nastalih tokom lečenja zuba [10].

## 18.1 KERAMIČKI INŽENJERING

Keramički materijali jesu složena jedinjenja i čvrsti rastvori koji sadrže metalne i nemetalne elemente, spojene jonskim i kovalentnim hemijskim vezama ( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{BaTiO}_3$ , WC, TiC, SiC,  $\text{Si}_3\text{N}_4$ , BN,  $\text{YBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_{1-x}$  ...), u kristalnoj ili amorfnoj formi.

Keramike su tipično krte, tvrde, čvrste, otporne na habanje i koroziju, teško topljive, male gustine, uglavnom slabe električne i topotne provodnosti, mada su poslednjih godina otkrivene i visokotemperaturske superprovodne keramike.

Krtost keramika je posledica jonskih i kovalentnih hemijskih veza, koje onemogućavaju kretanje dislokacija pri mehaničkoj deformaciji (zbog narušenja električne neutralnosti materijala). Zato svaka pukotina pri deformaciji dovodi do loma, a ne do plastične deformacije materijala.

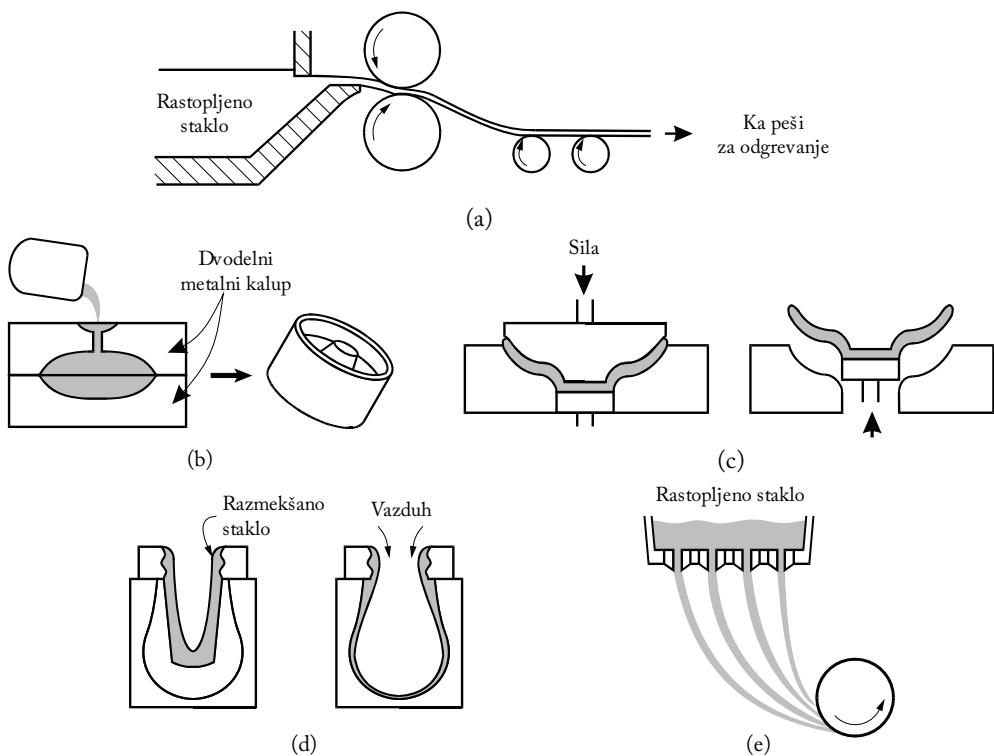
Povećanje žilavosti keramika može se ostvariti postizanjem maksimalne gustine, sinterovanjem sitnozrnog praha visoke čistoće, što onemogućava pojavu bilo kakvih pukotina. Druga mogućnost je namerna izrada mnogobrojnih mikropukotina, koje su suviše male da bi se same proširivale, ali sprečavaju pomeranje većih pukotina. Treća mogućnost je okruživanje krtih keramičkih čestica sa mekšim i žilavijim materijalom matrice (kao što je slučaj kod kermeta, za izradu reznih alata i tocila, koji su WC-Co kompoziti sa tvrdim keramičkim česticama WC i žilavom metalnom Co-matricom).

*Amorfne keramike* (stakla) izrađuju se oblikovanjem rastopljene staklene mase (valjanjem staklenih tabli, livenjem ili presovanjem različitih oblika, naduvavanjem staklenih balona, ili izvlačenjem vlakana), uz naknadno hlađenje, kako je to prikazano na Sl. 18.1.

*Polikristalne keramike* izrađuju se mešanjem i oblikovanjem sitnog praha sa vezivnim sredstvima (v. Sl. 18.2), posle čega sledi visokotemperaturski proces u toku koga difuzijom dolazi do spajanja čestica i postizanja velike gustine keramike. Ovaj postupak naziva se *sinterovanje*. Ponekad se između čestica formira staklena faza od vezivnih sredstava i nečistoća, što dovodi do formiranja tzv. *keramičke veze*.

Keramički materijali predstavljaju jedne od najvažnijih biomaterijala koji se danas koriste zbog brojnih prednosti koje pokazuju u odnosu na druge biomaterijale.

*Biokeramike* se mogu svrstati u grupu materijala sa specifičnim svojstvima u odnosu na druge biomaterijale. Iako ne tako široko zastupljene kao metalni implantati i različiti biopolimeri, biokeramike su predmet detaljnih istraživanja tokom proteklih 30 godina, što je dovelo do njihovog usavršavanja i značajne prime-



**SLIKA 18.1** Šematski prikaz nekoliko tipičnih procesa oblikovanja rastopljene staklene mase:  
 (a) valjanje staklenih ploča; (b) livenje staklenih sočiva; (c) presovanje šupljih staklenih oblika; (d) naduvavanje staklenih balona; (e) izvlačenje staklenih vlakana.

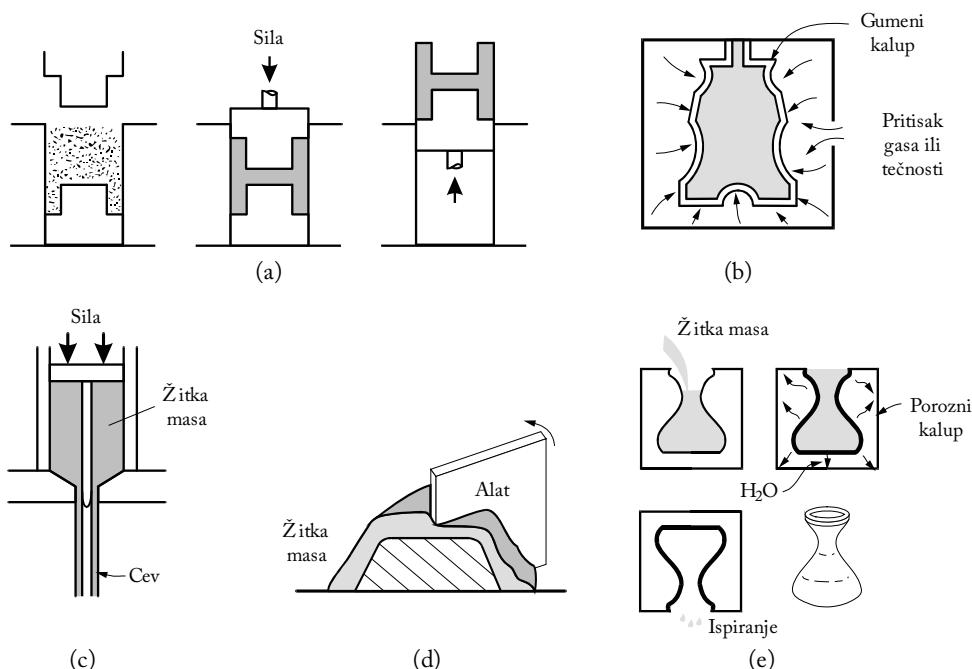
ne u ortopediji i stomatologiji. U stomatologiji, biokeramike se najčešće koriste za izradu implantata kao što su krunice i proteze, a u ortopediji za zamenu zglobova i koštanih segmenata kao i za izradu privremenih aparata za reparaciju koštanog tkiva. Biokeramički materijali se takođe koriste za izradu prevlaka implantata proizvedenih od drugih materijala u cilju obezbeđenja biokompatibilnog međuspoja sa okolnim tkivom.

Ranih 1970-ih biokeramike su počele da se koriste za izradu implantata u određenim kliničkim aplikacijama, zahvaljujući činjenici da glatka površina oksidne keramike, naročito  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , izaziva veoma malu reakciju tkiva, obezbeđujući dobru otpornost na habanje noseće površine [3]. Prvi put 1969. godine predstavljen je koncept bioaktivnih materijala, i od tada polje biokeramičkih materijala je značajno prošireno uključujući mnoge nove materijale na bazi stakla, staklo-keramika i keramika. U predstavljenom konceptu, pod bioaktivnim materijalima se podrazumevaju svi materijali koji izazivaju specifičan biološki odgovor na graničnoj površini materijala koji rezultuje formiranjem veze između tkiva i materijala. Bioaktivni materijali predstavljaju prelaz između resorbabilnih i bioinertnih materijala. Bioaktivni materijali stvaraju takvo okruženje koje potpomaže osteogenezu (rast kosti) uz mineralizaciju međupovršine do koje dolazi usled stvaranja prirodne veze između živog i neživog materijala. Ovaj koncept je proširen na veliki broj bioaktivnih materijala sa širokim opsegom u pogledu vremena vezivanja i debljine vezujućeg me-

đuspoja koji nastaje nakon implantacije samog materijala. Tu spadaju bioaktivna stakla kao što su Bioglass®, bioaktivna staklo-keramika kao što je Ceravital® apatit/volastonit staklo-kramika i gusta kalcijum-fosfatna keramika kao što je sintetički hidroksiapatit (HA), bioaktivni kompozit kao što je PE-HA mešavina i serija bioaktivnih prevlaka.

Hemija, oblik i pozicioniranje keramičkih materijala uslovljava brzinu i stepen remodelovanja. Njihova bioresorbibilnost zavisi od količine površinske oblasti koja se izlaže, a koja je, s druge strane, određena veličinom kristala, formom (parčići, blokovi ili kit) i gustinom (npr. mikroporoznost). Tako keramički materijali formirani u obliku gustih blokova imaju malu površinu, što smanjuje ili ograničava površinu koja se izlaže procesu resorpcije. Brzina kojom se implantirani materijal prilagođava šupljini i okolnom mekom tkivu i kosti od velikog je značaja [4].

Odlučujući faktori koji utiču na izbor materijala za premošćavanje praznine ili za ispunu defekta jesu: biološko okruženje praznine, lokacija (metafiza ili diafiza) i velična defekta. Jedinstvo ovih faktora redje se ostvaruje kod koštanih kalema trabekularne kosti, kod koštanih defekata veličine oko 6 cm. Ovi kritični defekti,



*SLIKA 18.2. Šematski prikaz nekoliko tipičnih procesa oblikovanja smeše sitnog praha sa vezivnim sredstvima, koji prethode visokotemperaturskom procesu sinterovanja: (a) mehaničko ili hidraulično presovanje jednostavnijih oblika; (b) izostatičko presovanje (gasom ili tečnošću) u gumenim kalupima, za dobijanje složenijih oblika homogenih karakteristika. Za smeše praha sa većim procentom vlažnosti koriste se hidroplastični procesi (c) ekstruzije cevastih oblika, (d) oblikovanja alatom, ili (e) livenja šupljih formi u poroznim kalupima (gde voda iz žitke mase praha difunduje kroz porozni kalup, formirajući uz površinu kalupa isušenu masu željene debljine, posle čega se ostatak žitke mase prosipa, a dobijena šuplja izlivena forma oslobađa iz kalupa).*

koji se po definiciji ne zalečuju spontano, mogu potencijalno biti premošćeni osteokonduktivnim *skafoldima* ('skeletima') koji potpomažu osteoinduktivne faktore i osteogenetske ćelije na mestu implantacije. Kod izostanka defekta kritične veličine uloga sredstava koji se koriste za ubrzavanje reparacije koštanih frakturna je različita. Tamo gde nema potrebe za održavanjem razmaka (razdvajanja), skafold treba da bude što brže resorbovan kako bi se izbegla interferencija sa zdravom kosti. Međutim, neophodna optimalna vremenska kombinacija za oslobođanje osteokonduktivnih faktora i degradacije skafolda predstavlja važan izazov. Alternativni pristup za ubrzavanje normalnog zalečenja koštanog tkiva uključuje perkutano ubrizgavanje regulatora koštanog rasta npr. koštanih morfogenetskih proteina (*bone morphogenic protein*, BMP) u zatvorenu frakturu [5].

Biokeramike se u zavisnosti od načina na koji ostvaruju vezu sa okolinim tkivom mogu podeliti na četiri tipa (Tabl. 18.1).

*TABELA 18.1 Načini vezivanja biokeramičkih materijala sa okolnim tkivom*

Vrsta implantata	Način vezivanja	Primer
1. Inertni	Mehaničko vezivanje (morphološka fiksacija)	$\text{Al}_2\text{O}_3$ , $\text{ZrO}_2$
2. Porozni	Urastanje tkiva unutar pora (biološka fiksacija)	Hidroksiapatit (HAp), HAp prevučeni porozni metali
3. Bioaktivni	Vezivanje sa tkivom se ostvaruje na graničnoj površini	Bioaktivna stakla, bioaktivne staklo-keramike, HAp
4. Resorbibilni	Zamenjuje se novim tkivom	Kalcijum-fosfati, bioaktivna stakla

Mehanizam vezivanja tkiva za implantat je u direktnoj vezi sa odgovorom tkiva na površinu implantata.

Faktori koji utiču na odgovor tkiva koji se javlja na međuspoju implantat-tkivo (Tabl. 18.2) takođe utiču i na tip i stabilnost veze između implantata i tkiva (Tabl. 18.2).<sup>3</sup>

*TABELA 18.2 Faktori koji utiču na odgovor tkiva na spoju implantat-tkivo*

Od strane tkiva	Od strane implantata
Vrsta tkiva	Hemski sastav implantata
Zdravlje tkiva	Faze prisutne u implantatima
Starost tkiva	Faze prisutne na granici
Prokrvljenost tkiva	Morfologija površine
Prokrvljenost tkiva na površini	Površinska poroznost
Pokretanje površine	Hemiske reakcije
Mehaničko opterećenje	Mehaničko opterećenje

Poređenje relativne hemijske aktivnosti različitih vrsta biokeramičkih materijala prikazano je na Sl. 18.3. Relativna reaktivnost prikazana na Sl. 18.3a je u korelaciji sa brzinom formiranja veza na međuspoju implantat-kost, Sl. 18.3b [3].

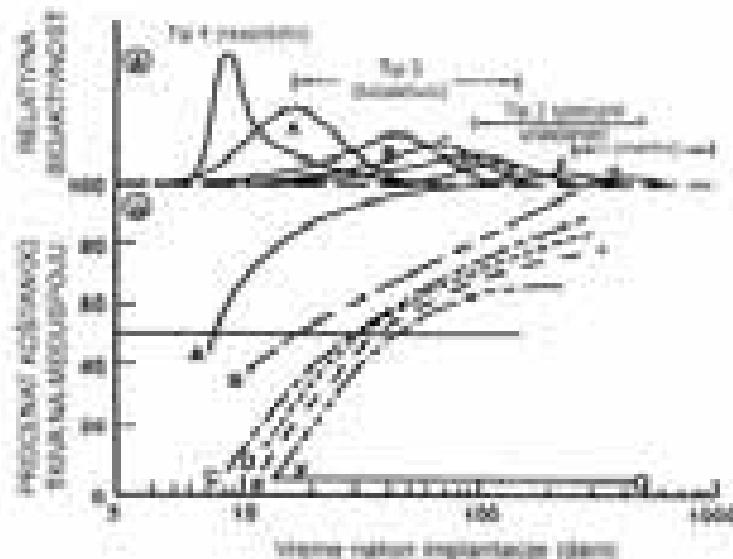
Skoro inertni implantat, Tip 1, ne formira vezu sa kosti, dok implantati Tipa 2 ostvaruju mehaničku vezu urastanjem koštanog tkiva unutar pora. Bioaktivni implantati, Tip 3, ostvaruju vezu sa koštanim tkivom kroz hemijsku reakciju koja se odigrava na površini, dok se resorbibilni implantati, Tip 4, postepeno zamenjuju novoformiranim koštanim tkivom.

Na stepen reaktivnosti implantata takođe utiče debljina sloja na međuspoju implantat-kost (Sl. 18.4) [3].

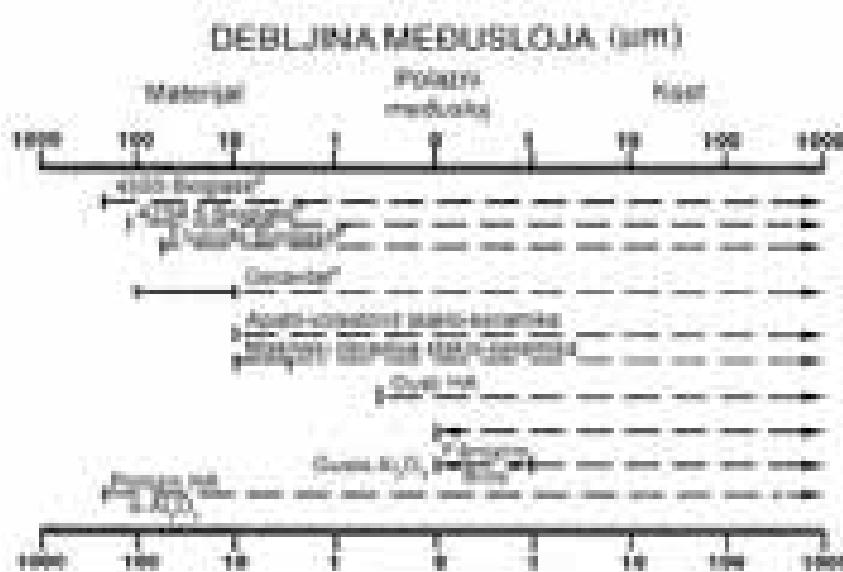
Skoro inertni implantat Tipa 1 formira na međuspoju neadherentni fibrozni sloj. Hemijski stabilan materijal kao što je alumina dovodi do formiranja tanke kapsule na međuspoju sa okolnim tkivom. Kao posledica formiranja čvrste mehaničke veze ne dolazi do pomeranja implantata tokom eksploatacije što doprinosi uspehu materijala na bazi alumine ili cirkonijum-oksida u kliničkoj primeni.

U slučaju da se implantat Tipa 1 izloži prekomernom opterećenju koje dovodi do pomeranja na međuspoju, fibroznna kapsula može postati debela nekoliko mikrona što dovodi vrlo brzo do odbacivanja implantata.

Porozna keramika Tipa 2 i HAp-prevlake na poroznom materijalu razvijene su kako bi se obezbedila bolja veza između implantata i okolnog tkiva. Rast kosti unutar površinski poroznog materijala dovodi do boljeg vezivanja između implantata i tkiva (biološka fiksacija). Veza ostvarena na ovaj način izdržava monogo veći



SLIKA 18.3 Spektar bioaktivnosti različitih bioaktivnih implantata: (a) relativna brzina bioaktivnosti i (b) vremenska zavisnost formiranja veze sa koštanim tkivom na površini implantata ((A) 45S5 Bioglass®, (B) KGS Ceravital®, (C) 55S4,3 Bioglass®, (D) Apatit-volastonit staklo-keramika, (E) HA, (F) KGX Ceravital®, i (G)  $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-Si}_3\text{N}_4$ )<sup>3</sup>



*SLIKA 18.4 Poređenje debljine reakcionog međusloja bioaktivnih implantata ili fibroznog tkiva neaktivnih biokeramičkih materijala [3]*

mehanički napon u odnosu na vezu koju obrazuju implantati tipa 1 koji ostvaruju samo morfološku fiksaciju.

Oksidne keramike se često koriste zbog relativno inertnog ponašanja. S druge strane, resorbibilne biokeramike veoma su reaktivne u fiziološkom okruženju, dok površinski aktivni materijali imaju umerenu reaktivnost sa sposobnošću da se direktno vežu za tkivo [6]. Od 1892, kada je kalcijum-sulfat,  $\text{CaSO}_4$ , počeo prvi da se koristi kao koštani cement, keramika je sve više postala zastupljena kao materijal za ispunu i fiksaciju oštećenog koštanog tkiva koji pospešuje koštani rast. U najzastupljenije bioaktivne keramike koje se široko koriste u kliničkoj praksi ubrajaju se hidroksiapatit (HAp) i apatit-volastonit staklo-keramika (AWGC). Apatit-volastonit staklo-keramika nakon implantacije formira hemijsku vezu u kratkom vremenu sa koštanim tkivom uz posredovanje apatita, pokazujući veliku mehaničku čvrstoću i nakon dužeg vremena od implantacije u uslovima povećanog opterećenja [7]. Danas se za ortopedsku primenu, pre svega za ispunu koštanih kavitetova, koristi bioaktivna keramika u različitim veličinama i oblicima (u obliku blokova, granula, guste i porozne forme) [7].

Biokeramički materijali na bazi kalcijum-fosfata imaju veliku primenu u procesu reparacije koštanog tkiva zbog sličnosti sa mineralnom komponentom kosti. Pored toga, ovi materijali su netoksični, pokazujući biokompatibilo ponašanje, integrišući se s koštanim tkivom kroz proces koji je sličan onom kog prirodne regeneracije kosti. Glavni nedostatak kalcijum-fosfatnih materijala predstavljaju njihove relativno slabe mehaničke karakteristike [8].

Porozna keramika služi kao osteokonduktivni nosač u kome proteini i ćeli-je kosti (npr. mezenhimne ćelije, osteokonduktivni faktori rasta) mogu migrirati i unutar kojih se ćelije progenitori mogu diferencirati u funkcionalne osteoblaste.

Nedostatak, vezan za keramiku koja se koristi kao samostalni supstituent, ogleda se u maloj otpornosti na lom. Zbog krte prirode, ograničeno je korišćenje keramičkih materijala u uslovima gde su izloženi torziji i pritisku, odnosno dinamičkom naprezanju [9].

Poznavanje mehanizama formiranja kosti i koštane reparacije, kao i zna-ja vezana za način na koji kost reaguje sa koštanim supstituentom, predstavljaju osnovu kliničke prakse u ortopedskoj hirurgiji. U današnje vreme nalazimo se usred intenzivnih istraživanja koja su fokusirana na polje ćelijske i molekularne biologije. Većina podataka daje informacije o odgovoru ćelija na njihovo fiziološko okruženje sa posebnim osvrtom na faktore rasta, vanćelijske matrične proteine i receptor-ćelijske interakcije koje indukuju ćelijsku diferencijaciju i/ili transforma-ciju (v. Gl. 2 i 3). Trenutno dostupni koštani supstituenti pokazuju raznovrsnost sastava i karakteristika.

## 18.2 STRUKTURA KOSTI I ZUBA

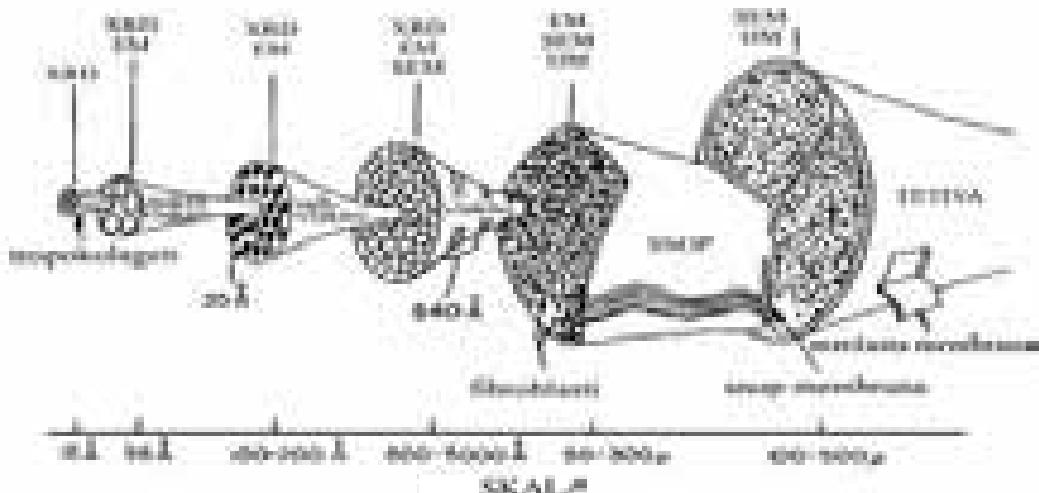
Više od bilo kog drugog biominerala, prirodna kost jasno pokazuje značajnu razliku između neorganskog i bioneorganskog materijala. Smatra se da kost pred-stavlja „živi mineral“, jer kontinualno prolazi kroz proces rasta, rastvaranja i remo-delovanja, kao odgovor na unutrašnje signale i spoljne sile, kao što je gravitacija.

Mehaničke karakteristike kosti potiču od organizovane mineralizacije HAp unutar organizovane matrice kolagenih vlakanaca, glikoproteina i mnogih drugih proteina. Kombinacija neorganske i organske komponente obezbeđuje povećanu čvrstoću u poređenju sa samim HAp [10].

Kost se može posmatrati kao kompozitni materijal izgrađen iz tri glavne komponente: organskog polimera, keramike i viskozne tečnosti. Organski polimer je kolagen, protein koji je najzastupljenija materija u telima sisara. Postoji više od dvanaest različitih vrsta kolagena, svaki determinisan tačnim sekvencama amino-kiselina u svojim molekulima [11]. Kolagen u kostima je Tipa I. Isti je pronađen i u koži, tetivama i ligamentima. Na Sl. 18.5 pokazano je kako su molekuli Tipa I kola-gena formirani u vlakna koja imaju karakterističnu dužinu trake od 68 nm.

Kada se novo tkivo kosti stvara, formiranje novih kristala HAp javlja se u intervalima od 68 nm. Pretpostavlja se da region holova vlakana kolagena može biti mesto za nukleaciju kalcijum-hidroksiapatita [12].

Činjenica da su te trake pronađene duž različitih vlakana pokazuje da vlakna nisu mehanički nezavisna jedna od drugih, već su međusobno povezana. U kostima su ova vlakanca kolagena organizovana u vlakna, koja po redu leže međusobno pa-ralelno u lamelarnoj formi, što je prikazano na Sl. 18.6. Čvrsta matrica koja sadrži šupljine različite veličine ispunjena je mekim tkivom. Ovo meko tkivo je izgrađeno



SLIKA 18.5 Kolagena struktura kosti.

od različitih koštanih ćelija i krvnih sudova kao i koštane srži koja predstavlja potpuno drugačije tkivo u odnosu na kost, a koja je u intimnom fiziološkom odnosu sa koštanim ćelijama. Neorganska komponenta kosti obuhvata različita kalcijum-fosfatna jedinjenja. Esencijalan je hidroksiapatit  $\text{Ca}_{10}(\text{HPO}_4)_6(\text{OH})_2$  sa mnogim supstitucijama unutar molekula: K, Mg, Sr, i Na umesto Ca; karbonati umesto fosfata i fluoridi umesto OH grupe [13]. Neke od ovih supstitucija imaju značajne uloge u strukturi i mehaničkim osobinama minerala kosti.

Drugi razlog zbog koga se kost može posmatrati kao kompozitni materijal proističe iz lamelarne (slojevite) strukture. Najkompaknija kost ima strukturu šperploče, gde je svaka lamela debela oko  $5 \mu\text{m}$  [10,13].

### 18.2.1 Koštano tkivo

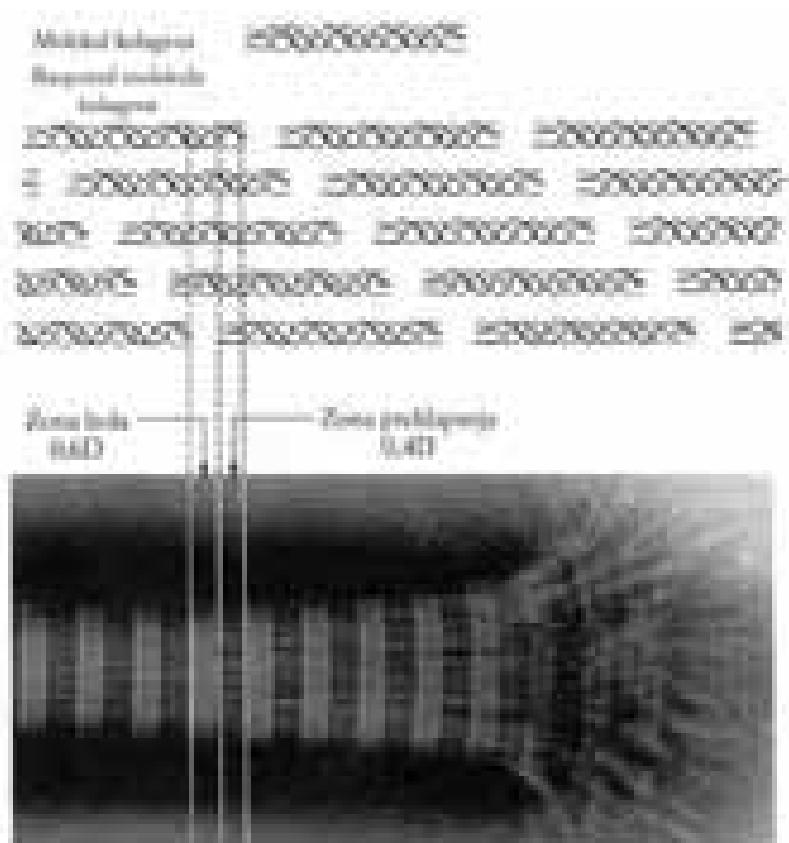
Kosti predstavljaju mezenhimno potporno tkivo; sastoje se od ćelija i međućelijske supstance, koja je u ovom slučaju čvrsta, jer su u nju uložene soli kalcijuma. Zadatak koštanog sistema je da daje potporu telu, da zaštićuje pojedine delove tela i organe u njemu i da služi kao insercija (hvatište) mišića.

Po formi se kosti mogu podeliti na duge, kratke i pločaste, a po strukturi na kortikalne i trabekularne. Kortikalna kost je guste strukture sa velikom mehaničkom čvrstoćom, dok je trabekularna kost (prisutna na krajevima dugih kostiju) porozna [14].

Koštana supstanca je u obliku kompaktne ili spongiozne strukture (Sl. 18.7) [13, 14]. Epifiza se sastoji od spongiozne supstance koja je presvučena tankim slojem kompakte, dok se diafiza sastoji od kompaktne supstance koja okružuje šupljinu ispunjenu koštanom moždinom. U spongioznoj supstanci koštane su gredice

pravilno poređane kako odgovara pritisku i vlaknu. Na taj način nastaju trajektoriji koji odgovaraju smeru delovanja najjače sile. Pločaste kosti građene su tako da imaju sa obe strane tanki sloj kompakte, a između njih se nalazi spongioza [13, 14].

Kosti se sastoje od organske i neorganske supstance. Žarenjem kostiju odstranjuje se organski deo pa kost postaje krta, a potapanjem u 5% hlorovodoničnoj kiselini odstranjuje se neorganski deo pa kost postaje elastična kao guma. Samo kombinacija organskog i neorganskog dela daje kosti elastičnost i čvrstoću. Kompaktna kost ima više neorganske materije od spongiozne kosti. Posmatrano mikroskopski, čitav skelet je izuzev ljske lavigra građen od lamelarne kosti, tj. od sistema koštanih lamele koje nastaju okoštavanjem međućelijske supstance, tj. ulaganjem kalcijumovih soli u supstancu između kolagenih fibrila. Lamele se slažu oko krvnih sudova formirajući Haversov sistem lamela koje okružuju Haversove kanale. Uz spoljašnju i unutrašnju površinu kosti postoje spoljašnje i unutrašnje osnovne lamele, a između ova dva sistema nalaze se prelazne lamele koje su rezultat pregradivanja kosti. Kroz kost prolaze i Volkmanovi kanali koji nemaju svoj sistem lamela. Haversov kanal se sistemom Haversovih lamela čini jednu jedinicu koja se naziva osteon. I u jednim i drugim kanalima nalaze se krvni sudovi. Periost šalje u koštanu supstancu fibrozne niti poznate pod imenom Šarpejeve niti. Smer tih niti uslovljen je mehaničkim momentima. U koštanoj supstanci između lamela nalaze se šupljine



*SLIKA 18.6 Periodično uređenje trostrukih heliksa u kolagenu*

sa koštanim ćelijama. Te ćelije imaju oblik sličan koštici bundeve i šalju produžetke koji anastomoziraju sa susednim ćelijama [13, 14].

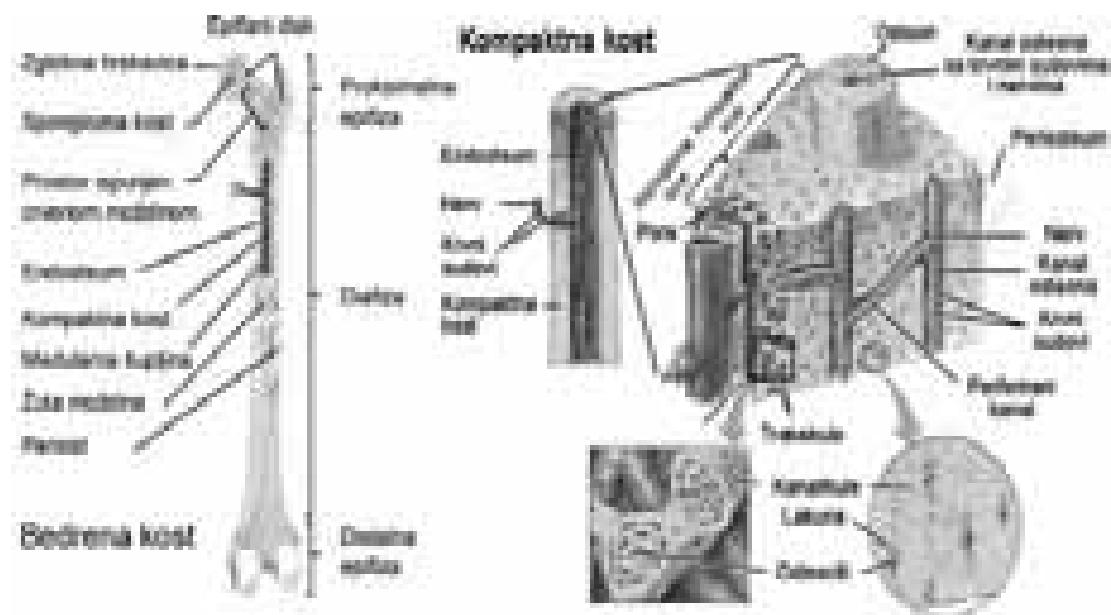
U svim šupljinama koštanog tkiva nalazi se koštana moždina, koja s jedne strane učestvuje u stvaranju u procesu osifikacije, a s druge strane sadrži matične ćelije za stvaranje krvnih ćelija. U koštanoj srži nalaze se u stromi ćelije koje učestvuju kod osteogeneze-osteoblasti, osteociti, masne ćelije, matične ćelije krvnih telašaca i napokon ćelije koje razaraju koštanu supstancu-osteoklasti [13].

Koštani sistem razvija se iz mezenhimnog tkiva, i to enhondralnom, perostalnom ili intermembranoznom osifikacijom. Enhondralno osificiraju npr. krajevi dugih kosti, periostalno dijafize dugih kostiju, a membranozno kosti kalvarije.

Jednom stvorena koštana supstanca ne miruje nego se neprestano obnavlja pod uticajem mehaničkih sila. Centralni deo kosti u dijafizama resorbuje se stvarajući tako *cavum medullare*, tj. šupljinu ispunjenu koštanom moždinom [13].

## *Građa koštanog tkiva*

Kost je vrlo specijalizovano vezivno tkivo koje se od ostalog mezenhimnog tkiva razlikuje, uz ostalo, po čvrstoći koju ima usled deponovanja minerala unutar mekog organskog matriksa. Građena je od organskog matriksa u kojem su raspoređene koštane ćelije, od koštanih minerala i od vode. Iako ćelije čine svega oko 3% ukupne zapremine kosti, uloga im je značajna jer aktivno učestvuju u stvaranju i remodeliranju koštanog tkiva. Po tipu i po funkciji koštane ćelije se dele na tri vrste: osteoblasti, osteociti i osteoklasti. *Osteoblasti* su locirani na površinama gde se stvara koštano tkivo i učestvuju u formirajući kosti. Oni imaju sposobnost lučenja kolagena i tokom svog života (oko dve sedmice) budu i same „zarobljene“ u



*SLIKA 18.7 Prikaz strukture kosti*

lakunama unutar stvorenog kolagena. Na taj način nastaju iz njih *osteociti*, tipične ćelije koštanog tkiva, koje, međutim, ne učestvuju u remodelovanju kosti. Na mestu resorpcije kosti nalaze su uvek *osteoklasti*, tj. ćelije koje u tom procesu uvek aktivno učestvuju. Mehanizam njihovog delovanja nije još sasvim objašnjen. Zna se da oni u kulturi tkiva proizvode proteolitičke enzime, a pretpostavlja se da mogu biti i u vezi sa povišenjem lokalne koncentracije kiseline. Moguće je, naravno, da deluju na nekoliko načina istovremeno. Za funkciju osteoklasta potrebna je prisutnost minerala, i ukoliko ne dođe do mineralizacije koštanog tkiva izostaje i resorpcija. Činjenica da jedan osteoklast u istoj jedinici vremena resorbuje toliko kosti koliko je 100 do 1000 osteoblasta izgradi, pokazuje izvanrednu aktivnost osteoklasta. Veruje se da osteociti odgovaraju na mehanički pritisak kojem je izložena kost, šaljući hemijske ili elektrohemski signale na površinu kosti koji onda aktivira drugi tip ćelija, osteoblaste, da započnu proces biomineralizacije. Ceo proces je veoma složen jer kroz krvne sudove kosti cirkulišu mnogi hormoni koji deluju kao hemijski okidači [10,13]. Organski deo kosti građen je pretežno od kolagena (90–95%) i mukopolisaharida (oko 5%). Iako su polisaharidi u kostima zastupljeni u relativno malim količinama, oni su važni ne samo kao „cementna supstanca“ koja ima ulogu u održavanju koštanih lamela nego i u procesu kalcifikacije. Pre početka mineralizacije kosti voda učestvuje sa 70–90% u organskoj materiji, a kad se mineralizacija završi količina vode smanjuje se na svega 2–3%. Glavni sastojci koštanih minerala jesu kalcijum-fosfati i karbonati, a manjoj meri ima Na, Mg, citrata i ostalih jona. Koštani minerali imaju strukturu HAp. Činjenica da joni na površini kristala nisu ireverzibilno vezani, ima važnu ulogu u homeostatskoj funkciji skeleta. Molekuli vode koji su vezani na površini kristala čine tzv. „vodenog omotača“, koji na nekin način kontroliše (zaštićuje) promet jona s površine kristala HAp [10, 13].

Iako postoji vrlo živ promet jona između „vodenog omotača“ i okolnog rastvora, ipak samo vrlo ograničen broj jona može prodreti u unutrašnjost kristala. Neki od njih imaju sposobnost vezivanja za površinu kristala (npr. adsorpcijom ili jonskom izmenom), a svega ih nekoliko (npr. Sr, Ra) može dospeti u unutrašnjost kristala i učestvovati u unutarkristalnoj izmeni.

### **Formiranje i resorpcija kosti**

Stvaranje kosti počinje tako da osteoblasti luče organsku supstancu, koja s vremenom prelazi iz tečnog u čvrsti oblik. Ovakva još nemineralizovana struktura organskog matriksa, poznata je pod nazivom *osteoid*. Sazrevanje osteoida ne započinje odmah. Veruje se da on pod kontrolom osteoblasta prolazi kroz neke biohemiske promene koje omogućuju nukleaciju kristala. Mineralizacija počinje tek 10-tog dana nakon stvaranja organskog dela [13]. Tzv. demarkacionom linijom označena je granica između još nemineralizovanog i mineralizovanog dela osteoida. Već 4-tog dana od početka mineralizacije deponovano je oko 75% od konačnih minerala. Njihovo dalje taloženje napreduje vrlo sporo i može trajati nedeljama, pa i mesecima. To je i razumljivo, obzirom na to da se koštani minerali šire na račun vode koja učestvuje u građi kosti. Sadržaj vode je s vremenom sve manji čime se sprečava dalji rast kristala. Mineralizacija se, po svoj prilici, odvija u dve faze.

Prvo je tzv. nukleacija, u kojoj na određenim mestima kolagena počinje stvaranje kristala HAp. Moguće je da molekuli kolagena deluju i kao enzim i kao supstrat, izvlačeći fosfat iz molekula adenozintrifosfata (ATP). Taj fosfat, zatim, dok je još u reaktivnom stanju, izaziva nukleaciju kalcijumovih soli i tako konačno dovodi do formiranja koštanih kristala. Isto tako je moguće da presudnu ulogu u stvaranju kristalne klice ima vezivanje kalcijuma za mukopolisaharide iz osnovne supstance. U drugoj fazi se bez ikakve energetske pomoći sa strane nastavlja taloženje jona na tu kristalnu klicu. Do toga najverovatnije dolazi usled prezasićenja okolnog rastvora kalcijum-fosfatima u odnosu na početni formirani kristal [13, 16].

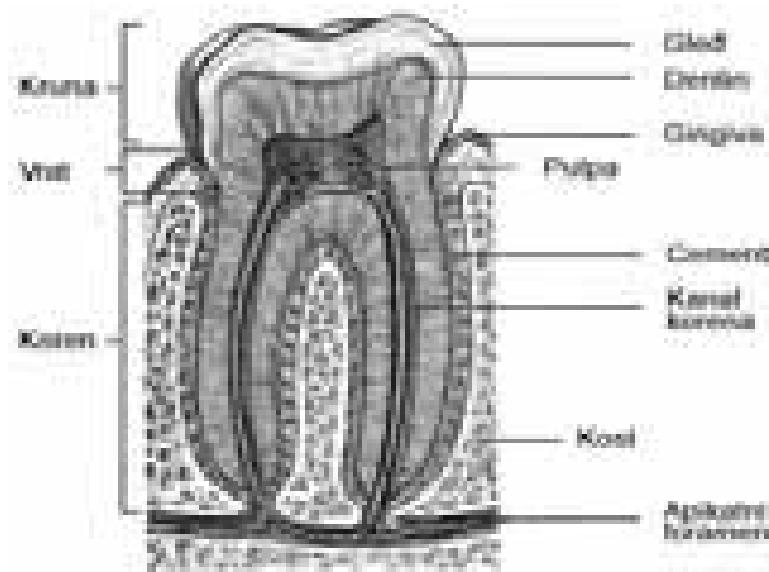
### ***Remodelovanje kosti***

Koštani sistem se pod normalnim okolnostima nalazi u stanju fiziološkog balansa, što znači da se formiranje i resorpcija kosti nalaze u ravnoteži. U fiziološkom smislu mogu se u kostima razlikovati dva tipa remodelovanja: remodelovanje usled rasta i unutrašnje remodelovanje. Prvi se tip vidi za vreme rasta skeleta na većim površinama kosti. Kod ovog tipa kombinovano je formiranje kosti sa resorpcijom kosti, na takav način da je konačan rezultata rast kosti. Vremenom polako prestaje remodelovanje ovog tipa. Unutrašnje remodelovanje je, međutim, nezavisno od rasta kosti i obuhvata unutrašnjost korteksa i veće trabekule. Proces remodelovanja zavisi od svih onih faktora koji deluju na aktivnost osteoblasta, osteoklasta i njihovog nastajanja iz ćelija mezenhima. Remodeliranje kosti ima za cilj da zadovolji homeostatske i mehaničke potrebe organizma. Kontrola remodelovanja odvija se na dva načina: jedna je sistemska, u kojoj deluju pretežno hormoni, a druga je lokalna. Ovde spadaju mehaničke sile i lokalno proticanje krvi (snadbevanje hranljivim materijama, lokalni pH faktor i pritisak kiseonika). Tako povećan dotok krvi npr. stimuliše funkciju osteoklasta, dok staza stimuliše osteoblaste. Priroda signala koje mehaničke sile prenose na ćelije je nepoznata, kao i njihova reakcija. Pretpostavlja se da kost može delovati i kao piezolelektrik, jer kada se pod uticajem spoljašnjih sila deformiše stvara mala električna polja. Moguće je, prema ovoj pretpostavci, da su i ćelijska aktivnost kao i ekstracelularna organizacija matrikasa određene lokalnim električnim poljem. Smatra se da mehaničke sile utiču na ukupno formiranje kosti [13].

### **18.2.2 Zubno tkivo**

Zub se sastoji iz dentina, kojeg u krunskom delu prekriva gleđ a u korenском cement. U središnjem delu krunkog i korenског dela nalazi se zubna pulpa koja sadrži krvne sudove i nervne završetke (Sl. 18.8). Zubi su smešteni u viličnoj kosti u alveolama i povezani su Šarpejevim nitima i cirkularnim ligamentom. Ta veza između zuba i alveole omogućava minimalnu pokretljivost pri žvakaju i amortizaciju sila koje deluju na zub [13,14].

Dentin predstavlja tkivo slično kosti, avaskularno i kalcifikovano. Organiski matriks je sastavljen od kolagena koga luče ćelije odontoblasti. Oko 70% mase



SLIKA 18.8 Prikaz strukture zuba

dentina čine soli kalcijuma (Tabl. 18.3). Nekalcifikovan je samo tanak sloj dentina (predentin) koji se nalazi neposredno uz odontoblaste. Odontoblasti su ćelije koje učestvuju u izgradnji dentina.

Dentin sadrži 23% vode po volumenu i pore napunjene vodom stvaraju difuzioni put koji je relativno mali u poređenju sa intertubularnim lateralnim mikrokanalićima (Sl. 18.9) i samim dentinskim kanalićima.

TABELA 18.3 Uporedni prikaz neorganskog sastava zuba i kosti

Sloj zuba	Mineralni sastoјci	Ca	P	CO <sub>2</sub>	Mg	N	Ca/P	Rezidualni Ca/P	P/CO <sub>2</sub>
gleđ	96,0	35,8	17,4	3,06	0,38	0,41	2,08	1,94	5,69
dentin	76,0	27,14	13,5	3,84	0,85	3,44	2,01	1,90	4,75
cement	72,7	25,93	12,4	3,42	0,78	4,28	2,08	1,93	3,64
kost	71,3	26,42	11,8	4,23	0,42	4,48	2,22	1,97	2,80

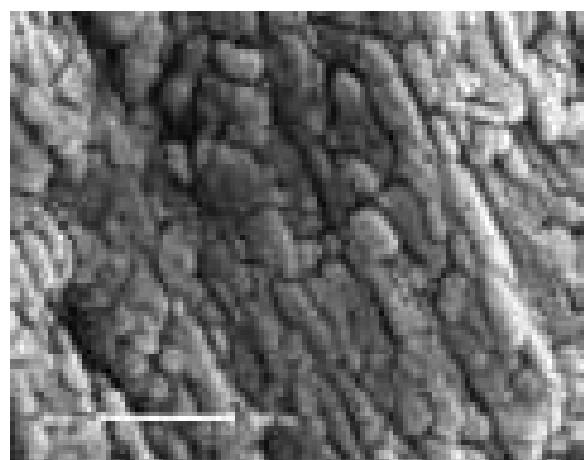
Uprkos spolnjem izgledu i gleđ i dentin imaju poroznu strukturu koja omogućuje stalno kretanje jona. Na Sl. 18.10 i 18.11 prikazan je izgled nanostrukturnih apatitnih kristala gleđi, tj gleđnih prizmi pre i nakon nagrizanja kiselinom. U kiseloj sredini dolazi do odvajanja apatitnih kristala sa površine gleđnih prizmi čime se povećava poroznost, a samim tim olakšava dalji prođor kiseline, što vodi daljom demineralizaciji gleđi. Međutim, moguće je i odvijanje suprotnog procesa remineralizacije dovođenjem jona kroz kanale. Ovaj ciklus demineralizovanja koji stalno prati remineralizovanje stalno je u normalnom oralnom okruženju, a nastanak površinskih kavita moguć je samo ako brzina i stepen demineralizovanja postanu dominantni [15].



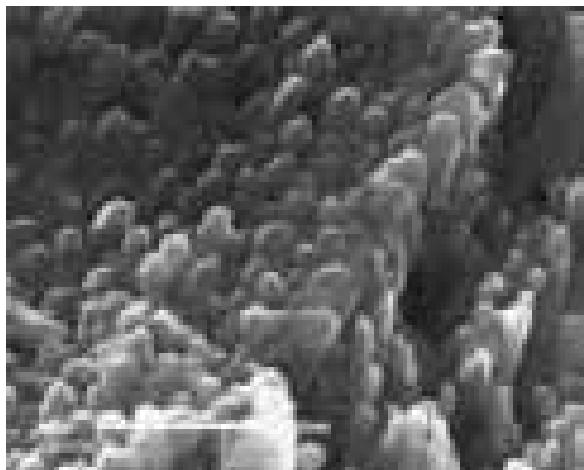
*SLIKA 18.9 Prikaz dentinskog kanalića sa složenim lateralnim kanalima koji idu od glavnog kanala*

Cement predstavlja avaskularno tkivo koje oblaže koren zuba. Sličan je tkivu kosti ali nema osteone i krvne sudove. Postoje dve vrste cementa: acelularni i celularni. Acelularni cement je tanak sloj kalcifikovanog organskog matriksa, uglavnom kolagena. Nalazi se uz dentin i čini dentnacementni sloj.

Za razliku od dentina, koji se sastoji od mineralizovane matrice kolagena, starija gleđ se sastoji gotovo u potpunosti od HAp pri čemu je svaki kristal HAp okružen slojem čvrsto vezane vode, dok samo mali deo ( $< 5\%$ ) predstavljaju organski makromolekuli. Prisutnost hidratisane ovojnica pokazuje da je kristal poseduje nanelektrisanje što mu omogućava privlačenje jona koji sprovode remineralizovanje. Preostala voda popunjava mesta između prizmi i te pore čine glavni difuzioni put u i kroz gleđ [15].



*SLIKA 18.10 Izgled kristala gledi posle prodora kiseline*



SLIKA 18.11 Prikaz frakturisane gleđi gde su vidljivi kristali koji čine gleđne prizme

Matriks formiraju specijalne ćelije, ameloblasti. Tokom razvoja one prekrivaju krunicu, a po izbijanju zuba one ubrzo nestaju i ostaje samo acelularni kalcifikovani matriks, bez vaskularizacije i inervacije. Kao i kod kostiju, makromolekuli mogu biti podeljeni na hidrofobne, u vodi nerastvorne komponente, i kisele glikoproteine. Hidrofobni protein je amelogenin, koji se, iako prisutan u relativno velikoj količini u ranoj fazi formiranja gleđi, razgrađuje i uklanja kako se kristali HAp razvijaju. Proteini se sastoje od 180 aminokiselina bogatih prolaminom, glutamatom, leucinom i histidinom. Iako su pojedini molekuli proteina relativno mali (molekulska masa je oko 25000 -otprilike 100 monomera samoudruženih u nanosferu, uniformne veličine od oko 20 nm), prostor koji oni zauzimaju ima značajnu ulogu u kontrolisanju rasta kristala HAp. Nanosfere, vezivanjem za specifične kristalografske ravni rastućih kristalita, blokiraju površinu za dalji rast, što dovodi do preferentnog rasta kristala u pravcu *c*-ose. Dva specifična domena duž polipeptidnog lanca, između 1 i 42, i 157 i 173 ostatka, važni su za odvijanje ovog procesa, što rezultuje formiranjem dugih HAp vlakana [10, 15].

### 18.3 GLAVNI PREDSTAVNICI KERAMIČKIH BIOMATERIJALA

**Biokeramički materijali na bazi kalcijum-fosfata.** Jednu od prvi studija baziranoj na korišćenju kalcijum-fosfata kao koštanog supstituenta izveli su Albe i Morrison 1920. Ipak, sve do 1970. sintetisani kalcijum-fosfat nije korišćen u većem obimu [17].

Ova vrsta materijala ima veliki značaj u medicinskoj primeni zbog velike sličnosti sa neorganskim komponentom koja predstavlja najvažniji deo većine normalnih (kosti, zubi i dr.) i patoloških (oni koji koji se javljuju kod raznih oboljenja) kalcifikovanih tkiva sisara. Na primer, arterosklerozu koja dovodi do začepljenja

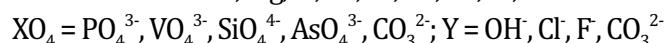
krvnih sudova uzrokovana je čvrstim kompozitom koji nastaje u reakciji holesterola sa kalcijum-ortofosfatima. Karijes i osteoporoza predstavljaju parcijalnu dekalcifikaciju zuba i kosti, koja je rezultat zamene manje rastvornog i čvršćeg biološkog apatita više rastvornim i mekšim kalcijum-hidrogenfosfatom. Prema tome, procesi normalne i patološke kalcifikacije predstavljaju *in vivo* kristalizaciju kalcijum-ortofosfata. Suprotno, zahvaljujući velikoj hemijskoj sličnosti sa biološkim kalcifikovanim tkivom, mnogi kalcijum-fosfati pokazuju značajnu biokompatibilnost i bioaktivnost.

Potencijal keramike kao biomaterijala ogleda se u njenoj kompatibilnosti sa fiziološkim okruženjem (sastoji se od jona koji se obično nalaze u fiziološkom okruženju (Ca, K, Mg, Na i dr.) i jona koji pokazuju ograničenu toksičnost u organizmu (Zr i Ti)). Čak i u slučajevima kada biokeramika nakon dužeg vremena podleže hemijskoj ili mehaničkoj degradaciji, koncentracija produkata nastalih degradacijom u okolnom tkivu se lako kontroliše prirodnim telesnim regulatornim mehanizmom.

U trokomponentnom sistemu  $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$  postoji jedanaest poznatih nesupstituisanih kalcijum-ortofosfata sa Ca/P molarnim odnosom koji se kreće od 0,5 do 2,0. (Tabl. 18.4). Najvažniji parametri, kada je reč o kalcijum-fosfatnim jedinjenjima, jesu: Ca/P odnos, bazičnost/kiselost i rastvorljivost. Ovi parametri u mnogome zavise od pH vrednosti samog rastvora. Sa smanjenjem Ca/P odnosa, kalcijum-fosfati postaju rastvorljiviji pokazujući više kisele osobine. Zahvaljući ravnoteži koja se uspostavlja između jona troprotomske kiseline, variranje pH vrednosti menja relativnu koncentraciju četiri polimorfa ortofosforne kiseline, a samim tim i hemijski sastav i količinu kalcijum-fosfata koji nastaju direktnom precipitacijom. Kratak prikaz najvažnijih kalcijum-fosfatnih jedinjenja, kao i najvažniji načini njihovog dobijanja biće prikazan u nastavku.

Najznačajnija kalcijum-fosfatna jedinjenja kalsifikovana su u tri glavna strukturna tipa: (i) apatitni tip,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{X}_2$ , koji uključuje derivate hidroksiapatita ( $\text{X}=\text{OH}^-$ ) i fluorapatita ( $\text{X}=\text{F}^-$ ), kao i one koji se odnose na strukturu apatitnog tipa, kao što su oktakalcijum-fosfat (OCP),  $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  i tetrakalcijum-fosfat (TTCP),  $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$ ; (ii) glaseritni tip, koji uključuje sve polimorfe kalcijum-fosfata (TCP),  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ; i (iii)  $\text{Ca}\text{-PO}_4$  jedinjenja koja uključuju, dikalcijum-fosfat dihidrat (DCPD),  $\text{CaHPO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , anhidrovani dikalcijum-fosfat (DCPA),  $\text{CaHPO}_4$  i monokalcijum-fosphate,  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2\cdot \text{H}_2\text{O}$  i  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ . Brojna visokohidratisana fosfatna jedinjenja svrstana su u tip kalcijum-fosfatnih jedinjenja čiji strukturni tip odgovara struvitu,  $\text{Mg}(\text{NH}_4)\text{PO}_4\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , iako ova jedinjenja ne predstavljaju čiste kalcijum-fosfate. Amorfni kalcijum-fosfat (ACP), koji se navodi kao mogući prekursor bioapatita, može pripadati jednom ili više gore opisanih strukturnih tipova [19].

**Hidroksiapatit.** Apatit je rasprostranjen mineral vulkanskih, sedimentnih i metamorfnih stena, čija je opšta hemijska formula:



Kalcijum-hidroksiapatit (HAp) je najznačajnija so kalcijuma i fosfora. Poznato je više od 200 fosfatnih minerala, međutim samo se minerali iz grupe apatita nalaze u većim količinama i mogu da posluže kao komercijalni izvor fosfora [20]. Apatiti su termodinamički najstabilnije faze među kalcijum-fosfatima zbog čega oni predstavljaju najčešći krajnji produkt mnogih reakcija [19].

Otkako je sintetisan prvi HAp sredinom 19. veka, obavljena su mnoga istraživanja HAp na geohemijskom, kristalohemijskom, biološkom i drugim poljima, pri čemu je većina biohemijskih istraživanja obavljena na sintetičkom hidroksiapatitu. Interesovanje za sintezu HAp je u velikoj meri povezano sa ulogom koju HAp ima u izgradnji koštanog i zubnog tkiva, gde predstavlja glavnu komponentu. Proteklih trideset godina HAp privlači pažnju istraživača zbog sposobnosti da selektivno absorbuje proteine, a interesantna je i njegova primena u nemedicinske svrhe kao materijala za punjenje hromatografskih kolona, kao gasnog senzora i katalizatora [19].

*Struktura hidroksiapatita.* Hidroksiapatit se javlja u tri modifikacije [21–23]:

- stehiometrijski hidroksiapatit,
- kalcijum deficitaran hidroksiapatit (CDHAp) i
- oksihidroksiapatit (OHAp).

Stehiometrijski hidroksiapatit može se predstaviti formulom  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . Do odstupanja od stehiometrijskog sastava HAp dolazi zbog prisustva malih količina karbonata kada se fosfatna grupa (tetraedarska) zamenuje karbonatnom grupom (planarnom). Kompenzacija valentnosti vrši se zamjenom dvovalentnih  $\text{O}^{2-}$  jona jednovalentnim  $\text{OH}^-$  jonima po šemici  $\text{PO}_4^{3-} \rightarrow [\text{CO}_3\text{OH}]^{3-}$ . Tako nastaje kalcijum deficitarni hidroksiapatit (CDHAp), odnosno kalcijum karbonatni HAp koji je isti kao i biološki HAp koji čini mineralnu fazu u kostima [21]. Oksihidroksiapatit (OHAp) se može predstaviti formulom  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{2-2x}\text{O}_x[\ ]_x$  gde dvovalentni kiseonični joni i šupljine zamenuju monovalentne hidroksilne jone.

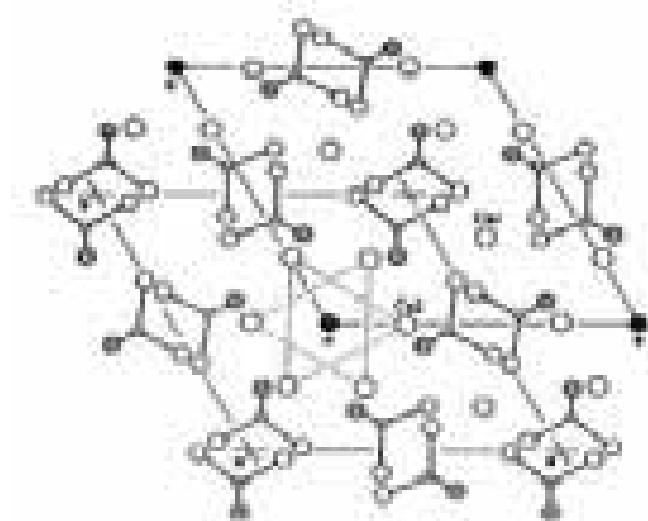
HAp kristališe heksagonalno i ima prostornu grupu  $P6_3/m^2$ . Jedinična ćelija HAp ima dve ivice iste dužine  $a = b = 0,9432$  nm, treća ivica koja je normalna na ove dve ima dužinu  $c = 0,6881$  nm. Struktura HAp predstavljena je na Sl. 18.12.

Hidroksilni joni leže u projekciji na uglovima rombične baze jedinične ćelije praveći stubove hidroksilnim grupama sa rastojanjem polovine visine jedinične ćelije. Šest jona kalcijuma je asocirano sa ovim hidroksilnim grupama praveći jednakostranične trouglove. Trouglovi su normalni na hidroksilne grupe. Susedni trouglovi su međusobno rotirani za  $60^\circ$ . Četiri kalcijumova atoma leže uzduž dva razdvojena niza koji su paralelni nizovima hidroksilnih grupa na polovini rastojanja između trouglova kalcijuma. Ovi atomi kalcijuma su koordinirani atomima kiseonika iz ortofosfornog tetraedra. Atomi kiseonika iz hidroksilne grupe pomereni su za  $0,03$  nm od ravni kalcijumovih trouglova. Hidroksilne grupe su tako orijentisane da se hidroksilna veza nalazi duž ose ali ne seče ravan kalcijumovih trouglova [21].

TABELA 18.4 Svojstva biološki važnih kalcijum-fosfata [18]

Ca/P mol. odnos	Jedinjenje	Formula	Rastvorljivost na 25°C, -log(K <sub>s</sub> )	Rastvorljivost na 37°C, -log(K <sub>s</sub> )	pH
0,5	Kalcijum-dihidrogenfosfat monohidrat (MCPM)	Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O	1,14	podaci nisu pronađeni	0-2,0
0,5	Kalcijum-dihidrogenfosfat anhidrovani (MCPA)	Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	1,14	podaci nisu pronađeni	c
1,0	Kalcijum-hidrogenfosfat dihidrat (DCPD)	CaHPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	6,59	6,63	2,0-6,0
1,0	Kalcijum-hidrogenfosfat anhidrovani (DCPA)	CaHPO <sub>4</sub>	6,90	7,02	c
1,33	Oktakalcijum-fosfat (OCP)	Ca <sub>8</sub> (HPO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	96,6	95,9	5,5-7,0
1,5	Alfa-kalcijum-fosfat ( $\alpha$ -TCP)	$\alpha$ -Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	25,5	25,5	a
1,5	Beta-kalcijum-fosfat ( $\beta$ -TCP)	$\beta$ -Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	28,9	29,5	a
1,2-2,2	Amorfni kalcijum-fosfat (ACP)	Ca <sub>x</sub> H <sub>y</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>z</sub> ·nH <sub>2</sub> O, n = 3-4,5; 15-20% H <sub>2</sub> O	b	b	5-12 <sup>d</sup>
1,5-1,67	Kalcijum-deficitarni hidroksiapatit (CDHAp)	Ca <sub>10-x</sub> (HPO <sub>4</sub> ) <sub>x</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6-x</sub> (OH) <sub>2-x</sub> (0 < x < 1)	85,1	85,1	6,5-9,5
1,67	Hidroksiapatit (HAp)	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>	116,8	117,2	9,5-12
1,67	Fluorapatit (FAp)	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> F <sub>2</sub>	120,0	119,2	7-12
2,0	Tetrakalcijum-fosfat (TTCP)	Ca <sub>4</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> O	38-44	37-42	a

<sup>a</sup> Ova jedinjenja ne mogu precipitirati iz vodenih rastvora; <sup>b</sup> Ne može biti izmerena precizno;<sup>c</sup> Stabilni na temperaturama iznad 100°C; <sup>d</sup> Uvek metastabilni.



SLIKA 18.12 Struktura hidroksiapatita (HAp)

Ako je umesto hidroksilnih grupa prisutan fluor, on će ležati u centru ovih trouglova. Kada su u strukturi apatita prisutni i fluoridni i hidroksilni joni, doći će do stvaranja vodoničnih veza i ovaj apatit ima nižu rastvorljivost u odnosu na hidroksiapatit i fluoroapatit. Najnižu rastvorljivost ima apatit u kome je odnos hidroksilnih i fluoridnih jona 1 : 1 [21].

*Biološki apatiti* koji uključuju mineralnu fazu i kalcinisano tkivo (gleđ, dentin, kost) i poneku patološku kalcifikaciju (npr. zubni kamenac, pljuvačni i urinarni kamenac) obično se navodi kao kalcijum-hidroksiapatit, HAp  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . Biološki apatit se od čistog HAp razlikuje po stehiometriji, sastavu, i kristaliničnosti kao i drugim fizičkim i mehaničkim svojstvima (Tabl. 18.5 i Sl. 18.13). Biološki apatiti su obično kalcijum-deficitareni i uvek karbonatno supstituisani. Zbog toga je mnogo pogodnije da se biološki apatit navodi kao karbonatni apatit, a ne kao hidroksiapatit ili HAp [24].

Karbonati u biološkim apatitima supstituišu primarno fosfatne grupe na udruženi način, npr. Ca za Na,  $\text{CO}_3$  za  $\text{PO}_4$ , koji se označava kao Tip B supstitucije [21, 24].

Kod apatita gledi nekih vrsta riba ili gledi ajkula, izvršena je supstitucija fluoridnim i karbonatnim jonima [26].

Neki od jona, npr. natrijum ( $\text{Na}^+$ ), magnezijum ( $\text{Mg}^{2+}$ ), kalijum ( $\text{K}^+$ ) kiseli fosfat ( $\text{HPO}_4^{2-}$ ), hlorid ( $\text{Cl}^-$ ) i flurid ( $\text{F}^-$ ) i pratećih jona, mogu biti vezani pre površinski nego u kristalnoj rešetki. Elementi vezani u kristalnoj rašetki doprineće promenama parametara kristalne rešetke, dok površinski vezani neće, ali će doprineti promenama svojstava [25].

Biološki apatiti gledi su drugačiji od onih u dentinu ili kosti u kristaliničnosti i u koncenrtraciji minornih elemenata, karbonata i magnezijuma i imaju najveće kristale u poređenju sa apatitom u dentinu ili apatitom u kostima. Kada se radi o rastvorljivosti, gledni apatit je manje rastvorljiv od dentinskog ili apatita kosti, ali

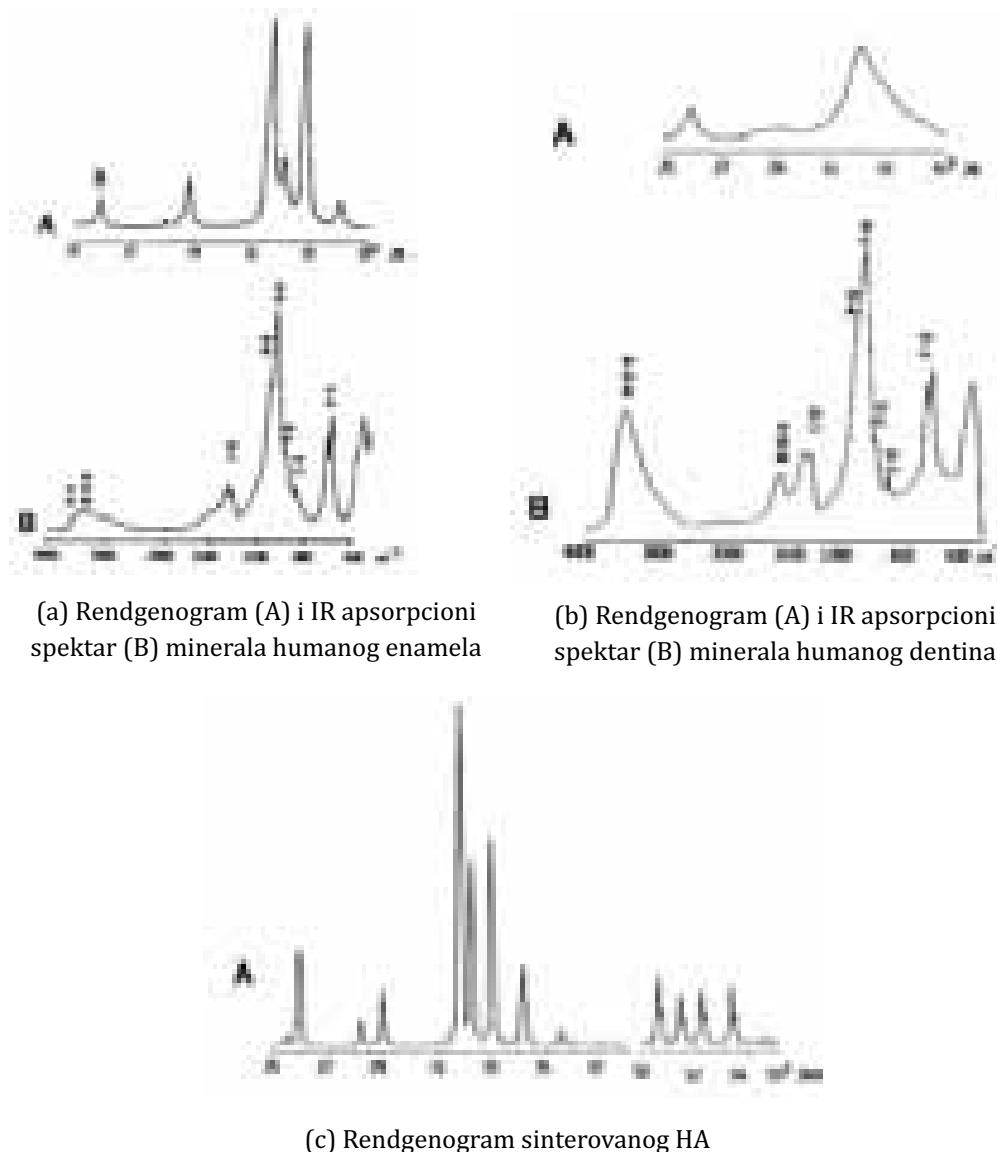
mnogo više rastvorljiv od gustog HAp koji je pripremljen na višoj temperaturi kao keramički HAp. Razlike u veličini kristala, kao i u rastvorljivosti između gleđi, dentina i kosti, mogu biti pripisane razlikama u koncentraciji karbonatnih i magnezijumovih jona. Pokazano je da magnezijumovi i karbonatni joni uzrokuju smanjenje kristaliničnosti i porast rastvorljivosti sintetičkog apatita [25].

*TABELA 18.5 Uporedni sastav, kristalne i mehaničke karakteristike humane gleđi, kostiju i sintetisanog HAp*

	Gleđ	Kost	Sintetisani HAp
<b>Sastav (tež. %)</b>			
Kalcijum, Ca <sup>2+</sup>	36,0	24,5	39,6
Fosfor, P	17,7	11,5	18,5
(Ca/P) molarni	1,62	1,65	1,67
Natrijum, Na <sup>+</sup>	0,5	0,7	tr
Kalijum, K <sup>+</sup>	0,08	0,03	tr
Magnezijum, Mg <sup>2+</sup>	0,44	0,55	tr
Karbonat CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	3,2	5,8	-
Fluorid, F <sup>-</sup>	0,01	0,02	-
Hlorid, Cl <sup>-</sup>	0,30	0,10	-
Pepeo (potpuno neorganski)	97,0	65,0	100
Organski deo	1,0	25,0	-
Absorbovana H <sub>2</sub> O*	1,5	9,7	-
Elementi u tragovima: Sr <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup> , Ba <sup>2+</sup> , Fe <sup>3+</sup> , Zn <sup>2+</sup> , Cu <sup>2+</sup>			
<b>Kristalografske osobine</b>			
Parametri rešetke (+/- 0,0003 nm)			
a-osa	0,9441	0,9419	0,9422
c-osa	0,6882	0,6880	0,6880
Indeks kristaličnosti	70–75	33–37	100
Veličina kristala, nm	130 x 30	25 x 2,5–5	
Proizvodi posle sinterovanja (950°C)	HAp + TCP	HAp+CaO	HAP
<b>Mehaničke karakteristike</b>			
Modul elastičnosti (10 <sup>6</sup> MPa)	0,014**	0,020*	0,01
Zatezna čvrstoća (MPa)	70**	150*	100

\*Vrednosti za omotač kosti [25]; \*\*Mehaničke osobine gleđi [25]

Praškasti HAp (iz guste i makroporozne forme) daje XRD dijagram koji je okarakterisan difrakcionim pikovima sa malim proširenim linijama, B<sub>1/2</sub>, visokog intenziteta, koji ukazuju na visok stepen kristaliničnosti sličan mineralu oksih-



*SLIKA 18.13 Prikaz rendgenograma i IR apsorpcionih spektara (a) humanog minerala enamel i (b).dentina, kao i (c) rendgenograma hidroksiapatita.*

droksiapatita (Holly Springer, Ga). Parametri kristalne celije (dimenzije  $a$  i  $c$  osi) su 0,9422 i  $0,6881 + 0,0003$  nm, slične mineralu HAp [25].

Deculsi i saradnici [25] ukazali su na moguće prisustvo heksagonalnih paralelopipednih defekata kristalne celije i drugih dodatnih defekata u kristalu keramičkog HAp sinterovanog na  $950^{\circ}\text{C}$ , ali ne i u onim pripremljenim na  $1250^{\circ}\text{C}$ . Moglo bi se pretpostaviti da razlike u broju i tipu defekata kristalne rešetke mogu uzrokovati razlike u reaktivnosti *in vivo*. Bilo bi za očekivati da materijal sa više defekata u kristalnoj rešetki bude reaktivniji od materijala sa manjim brojem defekata.

Ovo podržava otkriće do kojeg je došao Niwa sa saradnicima [27], da su materijali sinterovani na nižoj temperaturi mnogo reaktivniji od onih sinterovanih na višoj temperaturi.

#### *Mehaničke karakteristike hidroksiapatita*

Karakteristike apatitnog praha, pritisak i uslovi sinterovanja utiču na mehaničke osobine gustog HAp. Mehaničkih osobina, kao što je pritisna čvrstoća opadaju sa povećanjem mikroporoznosti. Gustina, veličina zrna, pritisna čvrstoća, čvrstoća na istezanje, torziona i dinamičko-torziona čvrstoća, i moduli elastičnosti na pritisak i savijanje rastu sa temperaturom sinterovanja od 1150 do 1350°C [25].

Čvrstoća na lom za HAp keramiku sinterovanu od 1100 do 1150°C raste ali nije primećana značajna promena za HAp keramiku koja je sinterovana od 1150 do 1250°C. Na temperaturama sinterovanja iznad 1250°C čvrstoća na lom opada na vrednost nižu od vrednosti koja je dobijena za HAp sinterovan na 1100°C. Prisustvo β-TCP takođe uzrokuje smanjenje čvrstoće na lom. Razlike u vrednostima mehaničkih osobina se takođe pripisuju razlikama u pripremi apatitnog praha i načinu procesiranja. Razlike u metodama pripreme uzrokuju i razlike u veličini zrna (manje veličine zrna daju veće čvrstoće na lom) i u sastavu [25].

**Ostale vrste kalcijum-fosfatnih jedinjenja.** *Kalcijum-dihidrogenfosfat monohidrat* (MCPM,  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) najkiseliji je i najrastvorljiviji kalcijum-fosfat. Dobija se taloženjem iz jako kiselih rastvora. Na temperaturam većim od 100°C oslobađa molekul vode transformišući u anhidrovani kalcijum-dihidrogenfosfat. Zbog kiselog karaktera i velike rastvorljivosti MCPM nikada nije pronađen u biološkim kalcifikacijama. Sem toga, čist MCPM nije biokompatibilan sa koštanim tkivom. Ipak, u medicini se kalcijum-dihidrogenfosfat monohidrat koristi kao komponenta nekoliko samovezujućih kalcijum-fosfatnih cemenata [18].

*Kalcijum-dihidrogenfosfat anhidrovani* (MCPA,  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ ) predstavlja anhidrovani formu MCPM. Kristalizuje pod istim uslovima kao i MCPM ali na temperaturama iznad 100°C. Kao i MCPM, MCPA nije nikad pronađen u kalcifikovanom tkivu, a zbog jako kiselog karaktera ne pokazuje biokompatibilna svojstva zbog čega do danas nije našao primenu medicini [18].

*Kalcijum-hidrogenfosfat dihidrat* (DCPD,  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), poznat kao mineral brušit, lako kristališe iz vodenih rastvora. Ovaj kalcijum-fosfat na temperaturama iznad 80°C transformiše u ahidrovani kalcijum-hidrogenfosfat. Kalcijum-hidrogenfosfat dihidrat ima veliki biološki značaj jer se često nalazi kod patoloških kalcifikacija (zubni i urinarni kalmenac), a pronađen je i kod karioznih lezija. Smatra se da DCPD predstavlja intermedijer u procesu mineralizacije kosti i rastvaranja gleđi u kiselim uslovima (zubna erozija). U medicini DCPD se koristi za dobijanje nekih kalcijum-fosfatnih cemenata i kao intermedijer za remineralizaciju zubnog tkiva, a svoju primenu je našao i kao dodatak zubnim pastama zajedno sa jedinjenjima koja sadrže fluoridne jone ( $\text{NaF}$  i  $\text{Na}_2\text{PO}_3\text{F}$ ), kao sredstvo za zaštitu od karijesa [18].

*Kalcijum-hidrogenfosfat anhidrovani* (DCPA,  $\text{CaHPO}_4$ ), poznat kao mineral monetit, predstavlja anhidrovani formu DCPD. Kao i CDPD, DCPA može kristalizovati iz vodenih rastvora ali na 100°C. Za razliku od DCPD, DCPA se ne javlja ni kod

normalnih ni kod patoloških kalcifikacija, a koristi se za dobijanje kalcijum-fosfatnih cemenata [18].

*Oktakalcijum-fosfat* (OCP,  $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) često se javlja kao nestabilni prelazni intermedijer tokom precipitacije termodinamički stabilnijih kalcijum-ortofosfata (npr. CDHA) u vodenim rastvorima. Struktruno gledano OCP se sastoji od slojeva apatitne strukture, koji su odvojeni hidratisanim slojevima (molekulima vode). OCP je od velikog biološkog značaja, jer predstavlja jednu od stabilnih komponenata zubnog i urinarnog kalmenca. Brown i saradnici prvi ukazali na precipitaciju OCP u polaznoj fazi formiranja minerala gledi i koštanog tkiva. OCP takođe igra važnu ulogu u *in vivo* procesu tokom formiranja apatitnog biominerala, zbog čega je našao svoju primenu u hirurgiji kao implantat unutar koštanih defekata [18].

*Trobazni beta-kalcijum-fosfat* ( $\beta$ -TCP,  $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) se ne može dobiti precipitacijom iz vodenih rastvora.  $\beta$ -TCP predstavlja visokotemperaturnu fazu kalcijum-fosfata, koja može jedino biti dobijena termičkim razlaganjem, npr. CDHA na temperaturama iznad  $800^{\circ}\text{C}$ , kao i kalcinacijom koštanog tkiva, zbog čega se ovakav tip  $\beta$ -TCP naziva „koštani pepeo“ [18].

Na temperaturama većim od  $1125^{\circ}\text{C}$ ,  $\beta$ -TCP transformiše u visokotemperaturnu fazu  $\alpha$ -TCP. Za razliku od  $\beta$ -TCP,  $\alpha$ -TCP je rastvorljiviji u vodi. Čist  $\beta$ -TCP se nikada ne javlja u biološkim kalcifikacijama. Jedino je Mg-supstituisana forma  $\beta$ -TCP, poznata pod nazivom vitoklit, pronađena u zubnom i urinarnom kamenu, zubnom karijesu kao i u nekim naslagama unutar mekog tkiva [18].

Postoje četiri polimorfna oblika anhidrovanog kalcijum-fosfata:  $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  ( $\alpha$ -TCP), stabilna faza između  $1120^{\circ}\text{C}$  i  $1470^{\circ}\text{C}$ , ali metastabilna ispod  $1120^{\circ}\text{C}$ ;  $\alpha'$ -TCP, faza stabilna iznad  $1470^{\circ}\text{C}$ ;  $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  ( $\beta$ -TCP) faza, stabilna ispod  $1120^{\circ}\text{C}$  i  $\beta'$ -TCP faza, stabilna na visokim pritiscima [21]. Njihova uloga u procesu biominerализacije veoma je važna, s obzirom na činjenicu da  $\alpha$ -TCP lako hidrolizuje u OCP a zatim u mineral whitlockite, koji je pronađen tokom procesa biominerализacije, i čija je struktura veoma slična onoj kod  $\beta$ -TCP [21]. Lako literatura navodi postojanje hidratisanih trikalcijum-fosfata, oni još uvek nisu jasno identifikovani kao izolovana kristalna jedinjenja [21].

$\alpha$ -TCP se najčešće dobija reakcijama u čvrstom stanju između kalcijum-fosfatnih jedinjenja, kao što su  $\text{CaCO}_3$  i  $\text{CaHPO}_4$  koji se mešaju u molarnom odnosu 1:2 i žare duže vreme na temperaturama većim od  $1350^{\circ}\text{C}$ , ili u reakciji između  $\text{CaCO}_3$  i  $\gamma\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$  ( $\text{CaCO}_3 + \gamma\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 \rightarrow \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + \text{CO}_2$ ) na temperaturi od  $1300^{\circ}\text{C}$  tokom 15 sati [28–31].  $\alpha$ -TCP može nastati i u procesu termičke degradacije kalcijum-deficitarnog hidroksiapatita na povišenim temperaturama [32–34].

*Amorfni kalcijum-fosfat* (ACP,  $\text{Ca}_x\text{H}_y(\text{PO}_4)_z \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ,  $n = 3\text{--}4,5$ ; 15–20%  $\text{H}_2\text{O}$ ) često se sreće kao prelazna faza tokom formiranja kalcijum-fosfata u vodenim rastvorima. Obično ACP predstavlja prvu fazu koja nastaje tokom precipitacije iz presišenih rastvora koji sadrže fosfatne i kalcijumove jone. ACP se formira na početku precipitacije zahvaljujući manjoj površinskoj energiji u odnosu na OCP i HAp. Stepen amorfnosti ACP raste sa povećanjem koncentracije kalcijumovih i fosfatnih jona, kao i sa povećanjem pH vrednosti rastvora i kristalizacione temperature. Kon-

tinualno umereno mešanje precipitiranog ACP u matičnom rastvoru, naročito na povišenim temperaturama, rezultuje sporom rekristalizacijom i formiranjem bolje iskristalisalih jedinjenja kao što je CDHA [18].

*Tetrakalcijum-fosfat* (TTCP,  $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$ ) predstavlja kalcijum-fosfat sa najizraženijim baznim karakterom. Ipak, rastvorljivost TTCP u vodi veća je od HAp (Tabl. 18.6). TTCP se ne može dobiti taloženjem iz vodenih rastvora, već samo reakcijama u čvrstoj fazi iznad  $1300^{\circ}\text{C}$ , npr. zagrevanjem homogene ekvimolarne smeše DCPA i  $\text{CaCO}_3$  u atmosferi vazduha ili u struji azota. Tetrakalcijum-fosfat je nestabilan u vodenim rastvorima u kojima hidrolizuje u HAp i  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , zbog čega nikada nije pronađen u biološkim kalcifikacijama [18].

*TABELA 18.6 Kalcijum-fosfati dobijeni reakcijam u čvrstom stanju na visokim temperaturama*

Ca/P	Formula	Naziv	Naziv
1,5	$\alpha\text{-Ca}(\text{PO}_4)_2$	$\alpha\text{-TCP}$	$\alpha$ -kalcijum-fosfat
1,5	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	$\beta\text{-TCP}$	$\beta$ -kalcijum-fosfat
1,67	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	SHA	Sinterovani hidroksiapatit
2,0	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	TTCP	Tetrakalcijum-fosfat

#### *Dobijanje kalcijum-fosfatnih jedinjenja*

U svetu se danas koristi veliki broj metoda za dobijanje HAp i drugih kalcijum-fosfata. Za njihovo dobijanje najčešće se koriste reakcije u čvrstom stanju i metode dobijanja mokrim postupkom, koje uključuju precipitaciju, hidrotermalne metode i hidrolizu drugih kalcijum-fosfata. Modifikacija ovih „klasičnih“ metoda (precipitacije, hidrolize ili precipitacije u prisustvu uree, glicina, formaldehida, heksametilentetraamina) [34–37] kao i alternativne tehnike, korišćene su za dobijanje HAp sa morfolojijom, stehiometrijom, jonskom supstitucijom ili stepenom kristaliničnosti potrebnim za specifičnu primenu. Pored ovih metoda opisane su: sol-gel metode [38,39], mikrotalasna iradijacija [40], freeze-drying [41], mehanohemijska metoda [42], emulzionalno procesiranje [43], sprej piroliza [44], hidroliza  $\alpha$ -TCP [34, 45, 46], ultrazvučna metoda [47] i dr.

Kako bi se izbegle greške treba napomenuti da su jedine kristalne faze koje mogu biti dobijene na temperaturi okoline ili tela kao rezultat reakcija taloženja između mešavine dva kalcijum-fosfata i vodenog rastvora HAp, CDHA, OCP i DCPD (Tabl. 18.7), dok drugu grupu kalcijum-fosfatnih jedinjenja, kao što su: TTCP,  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP i DCP nije moguće dobiti kao intermedijalni produkt bilo koje reakcije taloženja [48]. Jedini način za dobijanje druge grupe jedinjenja je reakcijama u čvstom stanju na temperaturama višim od  $750^{\circ}\text{C}$  (Tabl. 18.6).

Parametri kristalne rešetke nekih od fosfata dobijenih gore pomenutim metodama veoma su slični, što dovodi do preklapanja maksimuma rafleksije na

rendgenogramu što, u nekim slučajevima, pravi teškoće pri adekvatnoj interpretaciji rendgenografskih dijagrama praha. Pored toga što uslovi sinteze utiču veoma mnogo na veličinu kristala, morfologiju i strukturu, pažljiva karakterizacija elektronskom mikrodifrakcijom i visokorezolucionim transmisionim elektronskim mikroskopom (HRTEM) veoma je korisna za ispitivanje malih čestica i mešavina kalcijum-fosfata.

*TABELA 18.7 Kristalna jedinjenja dobijena precipitacijom na sobnoj ili temperaturi tela i pH opseg stabilnosti u sistemu  $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$*

Ca/P	Formula	Naziv	pH
0,5	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2\cdot\text{H}_2\text{O}$	MCPM	0,0–2,0
1	$\text{CaHPO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	DCPD	2,0–6,0
1,33	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$	OCP	5,5–7,0
1,5	$\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5\text{OH}$	CDHA	6,5–9,5
1,67	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	HAP	9,5–12

### *Precipitacione metode*

Metoda precipitacije predstavlja metodu kojom se relativno lako dobija HAp. Pored toga, i reakcije formiranja HAp u živim organizmima odigravaju se u vodenim rastvorima na nižim temperaturama.

Precipitacija iz rastvora podrazumeva ili simultano dodavanje soli kalcijuma i fosfatnih jedinjenja u vodu, ili dodavanje kap po kap fosfatnog rastvora u vodenim rastvorima kalcijumove soli. Najčešće soli kalcijuma koje se koriste u ovoj metodi za dobijanje HAp jesu: kalcijum-nitrat, kalcijum-hlorid ili kalcijum-acetat, dok se za obezbeđenje fosfatnih jona najčešće koriste rastvori diamonijum-hidrogenfosfata ili fosforne kiseline [49–51].

Dve reakcije koje su detaljno proučavane uključuju (i) reakcije  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  sa  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  i (ii) dodavanje fosforne kiseline u rastvor  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  [52]. Reakcija precipitacije se odvija pri pH vrednostima većim od 9, sa kontrolisanom brzinom dodavanja reaktanata uz stalno mešanje na temperaturama između 25 i  $90^{\circ}\text{C}$ . Korišćenjem fosforne kiseline u reakciji sa kalcijum-hidroksidom dobija se prinos od 87%, dok u reakciji između kalcijum-nitrata i diamonijum-hidrogenfosfata prinos iznosi 29%. U reakcijama gde prekursori sadrže amonijumov jon, kontinualno se dodaje rastvor amonijum-hidroksida kako bi se podesila pH vrednost koja se smanjuje uklanjenjem hidroksida iz rastvora tokom taloženja HAP. Odstojavanje rastvora nakon reakcije predstavlja važan stupanj kako bi se osiguralo dobijanje stehiometrijskog HAp [53]. Tokom starenja, dolazi do modifikacije oblika kristala, pri čemu sitni kristali postaju sve krupniji kako se Ca/P odnos približava vrednosti 1,67 [54].

Metode bazirane na precipitaciji iz vodenih rastvora najpogodnije su za pripremu velikih količina apatita. Nedostatak mnogih korišćenih konvencionalnih

metoda precipitacije jeste nemogućnost sinteze dobro definisanih i reproduktivnih ortofosfata. Problemi se obično javljaju usled nedostatka precizne kontrole faktora koji upravljaju procesom precipitacije, pH, temperature, Ca/P odnosa regenasa i dr., što može dovesti do razlike u stehiometriji, kristaliničnosti, morfologiji, itd., što bi moglo doprineti razlikama u ponašanju u *in vivo* i *in vitro* uslovima. U ovom kontekstu, važno je proizvesti znatne i reproduktivne količine apatita, optimizovane za bilo koju specifičnu primenu ili proces koji zahteva kontrolisani sastav, čistoću, morfologiju i kristaliničnost. Za kvanitativne reakcije u rastvoru, reaktanti moraju biti kalcijumove i fosfatne soli sa jonima koji najverovatnije neće biti inkorporirani u kristalni apatit.

### *Metoda hidrolize*

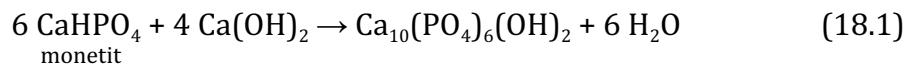
Apatit takođe može biti dobijen hidrolizom kiselog kalcijum-fosfata, npr. dikalcijum-fosfat dihidrata DCPD,  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; oktakalcijum-fosfata, OCP,  $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ; ili monetita, anhidrovanog dikalcijum-fosfata, DCP,  $\text{CaHPO}_4$  u amonijum, natrijum ili kalijum hidroksidu, karbonatnim, fluoridnim ili hloridnim rastvorima zavisno od željenog sastava apatita. Kalcijum-karbonat,  $\text{CaCO}_3$ , može takođe biti preveden u apatit u amonijačnom ili natrijum-fosfatnom rastvoru, ili u fluorapatit u fluoridnom rastvoru.  $\alpha$ -TCP ili  $\beta$ -TCP i tetrakalcijum-fosfat (TTCP) i amorfni kalcijum-fosfat (ACP) određenog sastava takođe mogu lako hidrolizovati u kalcijum-deficitarni apatit [55].

### *Reakcije u čvrstom stanju*

Metode dobijanja jedinjenja reakcijama u čvrstoj fazi generalno se koriste za dobijanje keramičkih prahova i za proučavanje fazne stabilnosti. Prahovi dobiveni ovom metodom obično imaju nepravilan oblik sa velikim kristalnim zrnima, a takođe pokazuju i nehomogenost u sastavu zbog nepotpunog odigravanja reakcije uzrokovane malim koeficijentom difuzije jona unutar čvrste faze.

Za dobijanje hidroksiapatita reakcijama u čvrstom stanju, koji je manje kalcijum deficitaran i koji pokazuje malo prisustvo  $\beta$ -TCP faze nakon sinterovanja, koriste se komercijalno dostupna kalcijum-fosfatna jedinjenja sa ili bez dodatka odgovarajuće količine  $\text{CaCO}_3$  ili  $\text{Ca(OH)}_2$  ili  $\text{CaO}$  [55].

Jedan od načina dobijanja hidroksiapatita reakcijama u čvrstom stanju je iz monetita i  $\beta$ -TCP:



Izmešana kalcijum-fosfatna jedinjenja, presuju se i sinteruju iznad  $950^{\circ}\text{C}$ . Apatit u kome je izvršena supstitucija (npr. Sr za Ca, F ili Cl za OH) takođe mogu biti sintetisani dodovanjem odgovarajućih jedinjenja [56].

## *Hidroermalne metode*

Hidrotermalna metoda omogućava dobijanje dobro kristalizovanih, po sastavu homogenih, uniformnih i lako sinterabilnih prahova zahvaljujući efektu koji ima povišena temperatura i povišeni pritisak na kome se odigravaju reakcije

Gornje reakcije se takođe mogu odigrati i hidroermalno na  $275^{\circ}\text{C}$ , pod pritiskom vodene pare od 8,3 Mpa [47,54]. Takođe je moguća i konverzija  $\beta$ -kalcijum-fosfata,  $\beta$ -TCP,  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , i tetrakalcijum-fosfata, TTCP,  $\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$ , ili  $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$ , u HAp hidroermalno pod ovim uslovima.

Kalcijum-karbonat,  $\text{CaCO}_3$ , u prisustvu odgovarajuće količine  $\text{CaHPO}_4$  ili  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  može biti transformisan u HAp na sledeći način:



Pored pomenutih metoda za dobijanje kristala HAp koriste se i druge metode kao što su: gel growth metoda i flux growth metoda. Jonson i saradnici [19] koristili su metodu dobijanja iz rastopa za formiranje kristala HAp iz stehiometrijskog rastopa. Dobijanje kristala HAp iz rastopa predstavlja veoma zahtevan proces zbog velikog temperaturnog gradijenta tokom kristalnog rasta. Praner je koristio flux growth metodu [19], koja predstavlja poboljšanje metode dobijanja iz rastopa jer fluks  $\text{CaF}_2$ ,  $\text{CaCl}_2$  i  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  pomešanih sa polaznim prahom apatita snižava temperaturu rastopa, što rezultuje dobijanjem kristala HAp sa manjim naprezanjem unutar strukture. Oishi je sa svojom grupom uspeo da dobije kristale hlor- i fluorapatita fluks metodom korišćenjem  $\text{NaCl}$ ,  $\text{KF}$  i  $\text{Ca}_2\text{ClPO}_4$ .

Apatit pripremljen prema bilo kojoj od pomenutih metoda opisanih u predhodnom delu može biti proizveden u dve forme: gusti ili makroporozni. Kao što je napomenuto ranije, gusti HAp predstavlja apatit koji ima poroznost manju od 5% zapremskih. Gusti HAp može biti opisan kao mikroporozni. Za gusti HAp maksimalna veličina pora je manja od  $1 \mu\text{m}$  u prečniku. Makroporoznost može biti namereno uneta mešenjem praha sa isparljivim komponentama, npr. vodonik-peroksidom ili naftalenom, pri čemu isparljiva komponenta isparava na temperaturama oko  $800\text{C}$  pre sinteziranja. Makroporoznost može takođe biti svojstvena orginalnom materijalu kao što je kost ili koral koji se koristi za dobijanje apatita [19].

## *Primena kalcijum-fosfatnih jedinjenja*

Jedno od najčešće korišćenih jedinjenja je HAp i kalcijum-fosfat (TCP). Biokompatibilnost HAp i sličnost između kristalne strukture HAp i koštanih minerala dovelo je do njegove široke upotrebe u rekonstruktivnoj hirurgiji. Visoko temperaturni postupci za dobijanje HAp dovode do formiranja više kristaliničnog HAp koji pokazuje slabu resorpciju tokom aktivnosti osteoklasta pri čemu HAp može ostati na mestu implantacije godinama, pa čak i decenijama. Dugotrajano prisustvo ne-resorbovanog keramičkog materijala može ići na štetu odvijanja procesa remode-

lovanja koštanog tkiva [57]. Ovakvo ponašanje može biti poželjno za određene primene, ali može imati i nedostatke u drugim slučajevima. Kod mlađih pacijenata ili dece u razvoju resorbibilni implantati su poželjni, gde se materijal vremenom menja u koštano tkivo. Ponašanje HAp male gustine sa velikom povezanom poroznošću drugačije je od onog koje pokazuje gusti HAp. Porozna struktura i njena biokompatibilnost omogućavaju rast kosti unutar implantata što pospešuje mehaničku stabilnost i reparaciju. Zahvaljujući slaboj resorbibilnosti i krtosti, HAp ne predstavlja idealan materijal za kliničku primenu bez modifikacije ili kombinacije sa kalcijum-fosfatom (TCP) ili bioaktivnim elementima [58].

Drugi kalcijum-fosfati, kao što je  $\beta$ -kalcijum-fosfat ( $\beta$ -TCP), resorbuju se brže od HAp. Međutim,  $\beta$ -TCP ne pokazuje tako dobre mehaničke osobine kao HAp. Nakon dve decenije upotrebe trikalcijum-fosfat se potvrdio kao dobar sintetički materijal za ispunu koštanih šupljina u ortopedskoj i stomatološkoj primeni. Zbog toga što se  $\beta$ -TCP rastvara relativno brzo, on lako podleže transformacijama i resorpciji pod uticajem osteoklasta, što dalje dovodi do stimulacije aktivnosti osteoblasta u procesu stvaranja kosti. Većina kalcijum-fosfatnih skafolda resorbuje se tokom 6 nedelja [59]. U cilju dobijanja keramike dobrih mehaničkih osobina i odgovarajuće resorpcije, HAp je mešan sa  $\beta$ -TCP najčešće u odnosu 60% HAp i 40%  $\beta$ -TCP. Ova keramika je poznata pod nazivom bifazna kalcijum-fosfatna keramika (BCP).<sup>19A</sup> Zahvaljujući parcijalnoj resorpciji, BCP omogućava rast kosti, obezbeđujući na taj način mehaničku stabilnost na spoju kost-implantat.

Pokazalo se da je HAp površina biokompatibilna sa nekoliko ćelijskih tipova kao što su makrofagi, fibroblasti, osteoklasti, osteoblasti, peridontalne ligamentne ćelije [25]. Povoljan odgovor u pogledu ćelijskog vezivanja i ćelijske proliferacije različitih tipova ćelija za gusti HAp i druge bioaktivne materijale bio je prikazan u mnogim studijama. Ćelije uzrokuju rastvaranje kristala HAp keramike intracelularno fagocitozom ili ekstracelularno stvaranjem kiselog okruženja koji uzrokuje parcijalno rastvaranje kristala HAp. HAp materijal dozvoljava proliferaciju fibrobalsta, osteoblasta i drugih koštanih ćelija [25]. Istraživanja su pokazala da ćelije ne razlikuju površinu HAp i kosti, što ukazuje na značajnu sličnost hemije površine [25].

**Bioaktivna stakla.** Hench i saradnici su 1969. otkrili da stakla određenog sastava mogu formirati hemijsku vezu sa koštanim tkivom. Ova grupa stakala postala je poznata pod nazivom bioaktivna stakla [60].

Glavne komponente većine bioaktivnih stakala i staklo-keramike, dobijene tradicionalnim postupkom topljenja na visokim temperaturama, izlivanjem i sinterovanjem, jesu  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{CaO}$  i  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Prvo i dobro proučeno staklo jeste 45S5 Bioglass®, koje sadrži 45%  $\text{SiO}_2$ , 24,5%  $\text{Na}_2\text{O}$ , 24,5%  $\text{CaO}$  i 6%  $\text{P}_2\text{O}_5$ , u masenim procentima [60].

Potencijalna prednost bioaktivnih stakala koje je sintetisao Hench, u odnosu na HAp i TCP, jeste u većoj mehaničkoj čvrstoći i sposobnosti obrazovanja jake hemijske veze sa koštanim tkivom. Drugi aspekt koji čini bioaktivna stakla drugačijim od bioaktivne keramike i staklo-keramike predstavlja mogućnost lakog kontrolisanja hemijskog sastava kao i brzine vezivanja za koštano tkivo, čime se stvara mogućnost dobijanja stakala sa svojstvima karakterističnim za određenu kliničku

primenu. Wilson i saradnici su pokazali da najreaktivnija biostakala formiraju stabilni, vezujući međuspoj sa mekim tkivima [61]. Bioaktivna stakla koja sadrže SiO<sub>2</sub> pokazuju sporu i nepotpunu resorpciju. Stakla koja u sebi sadrže okside kalcijuma i fosfora predstavljaju stakla sa kontrolisanim otpuštanjem jona (Controlled Release Glasses-CRG). U Tabl. 18.8 prikazana su neka od komercijalno dostupnih stakala.

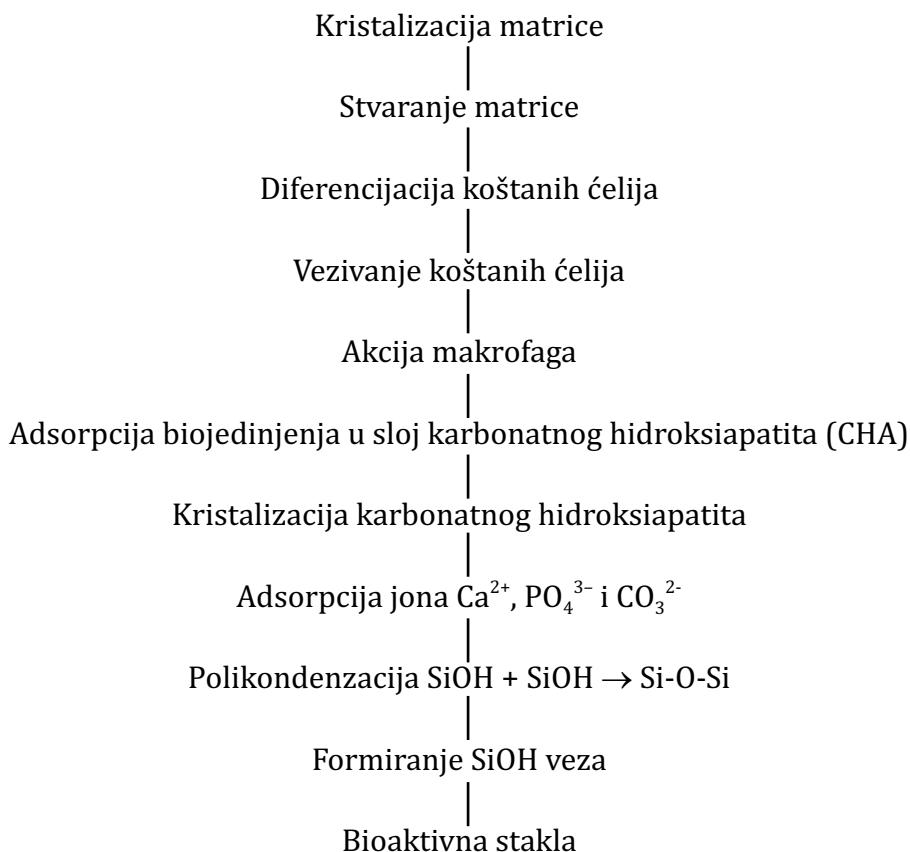
*TABELA 18.8 Komercijalno dostupna bioaktivna stakla*

Bioglass (American Biomaterials Corp., USA)	Bioaktivno staklo, 45% SiO <sub>2</sub> , 24% CaO, 24,5% Na <sub>2</sub> O, 6% pirofosfata	Orginalno staklo razvijeno od strane Larrya Hencha 1970-tih godina
Consil (Xeipon Ltd, UK)	Bioaktivno staklo	Delimično bioaktivno staklo
NovaBone (American Biomaterials Corp., USA)	Bioaktivna stakla	Služi kao punilaci i materijal za rekonstrukciju oštećenog koštanog tkiva
Biogran (Orthovita, USA)	Bioaktivno staklo sa raspodelom veličine zrna od 300–335 µm	Koristi se kao punilac u stomatologiji, dobra osteokondukcija
PerioGlass (Block Drug Co., USA)	Bioaktivno staklo, veličina zrna od 90–710 µm	Koristi se kao punilac u stomatologiji
Ceravital (E.Pfeil & H.Brshmer, Germany)	Grupa stakala i staklo keramike sa različitim sastavom	Koristi se za nanostrukturne graftove

Tokom izlaganja telesnom fluidu, biostakala na bazi SiO<sub>2</sub> stvaraju vezujući sloj karbonatnog hidroksiapatita sa podslojem silika-gela [62], dok se stakla sa kontrolisanim otpuštanjem jona potpuno rastvaraju u vodi, stvarajući kiselo okruženje [63,64]. Stakla sa kontrolisanim otpuštanjem jona pokazuju biokompatibilna svojstva, omogućavajući brži rast novoformiranog tkiva, na način sličan onom koji se dešava kod autograftova [65]. Blokovi napravljeni od bioaktivnog stakla suviše su kruti da bi se koristili za reparaciju koštanog tkiva koje je izloženo opterećenju [66]. Glavna upotreba bioaktivnog stakla je u oblasti koštanog graftinga u usnoj šupljini, a staklo-keramike u ortopedskoj hirurgiji [66].

Mehanizam vezivanja bioaktivnih stakala za živo tkivo, koji je predložio Hench, uključuje 11 sukcesivnih koraka prikazanih na Sl. 18.14.

Kako kaže Hench, svi bioaktivni materijali nakon kraćeg ili dužeg vremena od implantacije u živom organizmu formiraju na površini sloj apatita koji je sličan apatitu koštanog tkiva i preko koga se ostvaruje veza implantata sa okolnim koštanim tkivom. Formiranje koštanom tkivu sličnog apatita na sintetičkom materijalu indukovano je funkcionalnim grupama, kao što su Si-OH (u slučaju biostakala), Ti-OH, Zr-OH, Nb-OH, Ta-OH, -COOH, i -H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (u slučaju drugih materijala). Ove grupe imaju specifične strukture pokazujući negativno nanelektrisanje koje indukuje formiranje apatita preko formiranja amorfnih jedinjenja kalcijuma, npr. kalcijum-silikata, kalcijum-titanata i ACP [61].



SLIKA 18.14 Redosred reakcija na graničnoj površini uključenih u formiranje veze između tkiva i bioaktivnog stakla. Granica između „živog“ i „neživog“ javlja se negde oko 6. stepena.

**Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> keramika i keramika na bazi cirkonijum-oksida.** Gusta alumina velike čistoće (> 99,5 %) koristi se za izradu proteza za kukove i zubnih implantata, zbog odlične otpornosti na koroziju, dobre biokompatibilnosti, velike mehaničke čvrstoće i velike otpornosti na habanje (Tabl. 18.9). Iako neke zubne implantate čine pojedinačni kristali safira, većinu Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> implantata čini α-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> faza veoma fine zrnaste polikristalne strukture dobijena presovanjem i sinterovanjem na temperaturama između 1600 i 1800 °C, zavisno od svojstava polaznog materijala [67].

Vrlo mala količina MgO (< 0,5 %) koristi se kao dodatak Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> keramike, čija je uloga da spreči rast zrna i obezbedi postizanje velike gustine sinterovanog materijala sa finom zrnastom mikrostrukturom. Veoma je važno da količina prisutnog SiO<sub>2</sub> i alkalnih oksida bude ispod 0,1 %, kako se ne bi sprečila densifikacija i izazvao rast zrna. Takođe je bitno da količina CaO bude ispod 0,1 %, jer prisustvo ovog oksida smanjuje otpornost materijala na statički zamor.

Čvrstoća, otpornost na zamor, i žilavost polikristalnog α-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, jesu svojstva materijala koja su u funkciji veličine zrna i stepena sinterovanja kao i čistoće polaznog materijala. Tako npr. čista Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sa prosečnom veličinom zrna manjom od 4 μm i čistoćom većom od 99,7 % pokazuje dobru savojnu čvrstoću i veliku pritisnu čvrstoću. Ova i druga fizička svojstva prikazana su u Tabl. 18.9 za komercijalno do-

stupne implantatne materijale [67]. Iako alumina pokazuje izrazitu inertnost i otornost na habanje, ona ima umerenu čvrstoću na savijanje i žilavost. Iz ovih razloga, prečnik većine proteza je ograničen na 32 mm.

*TABELA 18.9 Fizička svojstava  $Al_2O_3$  keramike*

	Komercijalno dostupni keramički implantati na bazi $Al_2O_3$	ISO Standard 6474	Predloženi novi ISO Standard
Sadržaj alumine (mas. %)	> 99,7	$\geq 99,51$	
$SiO_2 + Na_2O$ (%)	< 0,02	< 0,1	
Gustina ( $g/cm^3$ )	3,98	$\geq$	$\geq 3,94$
Prosečna veličina zrna ( $\mu m$ )	3,6	< 7	< 4,5
Tvrdoća (Vikers, HV)	2400	> 2000	
Zamor materijala na savijanje (MP) (nakon testiranja u Ringerovom rastvoru)	595	> 400	> 450

I keramika na bazi cirkonijum-oksida pokazala se kao izuzetno inertna u fiziološkom okruženju, ali u odnosu na aluminu ova keramika ima prednosti koje se odlikuju u većoj otpornosti na lom i većoj savojnoj čvrstoći [67]. Keramika na bazi cirkonijum-oksida koja se koristi za izradu hirurških implantata može se podeliti u dve glavne grupe:

- Tetragonalna keramika na bazi cirkonijum-oksida astabilizovana itrijom; i
- Keramika na bazi cirkonijum-oksida koja je delimično stabilizovana magnezijum-oksidom.

Keramika na bazi cirkonijum-oksida pogodna je za izradu nosećih površina u protezama za zamenu kuka. Ipak, postoji nekoliko sporenja kada se radi o upotrebi keramike na bazi cirkonijum-oksida u ortopediji. Prvo koje se navodi jeste smanjenje čvrstoće sa vremenom u fiziološkom fluidu, zatim promena svojstava tokom upotrebe, kao i potencijalna radioaktivnost materijala [67]. Neželjena pojava koja utiče na čvrstoću jeste i transformacija iz tetragonalne u monokliničnu fazu u itrijum-dopiranoj keramici, uzrokovana starenjem u vodenim rastvorima.

**Apatit-vlastonit staklo-keramika.** Toplotnim tretiranjem staklo može biti prevedeno u kompozit staklo-keramika koji sadrži kristalnu fazu u različitom obliku, kontrolisane veličine i sastava. Dobijena staklo-keramika može pokazivati znatno bolja svojstva u odnosu na polazno staklo i sinterovanu keramiku. Generalno, monofazna bioaktivna keramika kao što je sinterovani HAp i staklo tipa Bioglass® ne pokazuju mehaničku čvrstoću koja odgovara čvrstoći kortikalne kosti. Kokubo i saradnici su 1982. pokušali da dobiju procesom kristalizacije stakla kompozit koji će biti što sličniji neorganskoj fazi kosti. U ovom pokušaju kao ojačavajuća faza izabran je  $\beta$ -vlastonit ( $CaO \cdot SiO_2$ ), koji ima strukturu silikatnih lanaca [68].

Matično staklo u pseudotrokomponentnom sistemu  $3\text{CaO}\cdot\text{P}_2\text{O}_5\cdot\text{CaO}\cdot\text{SiO}_2\cdot\text{MgO}\cdot\text{CaO}\cdot2\text{SiO}_2$  dobijeno je konvencionalnom metodom topljenja i brzog hlađenja. Kada se staklo zagreva do  $10500\text{C}$  brzinom od  $5\text{ 0C/min}$  dolazi do precipitacije fino zrnastog oksiapatita i vlaknastog  $\beta$ -volastonita. Međutim, tokom formiranja u središnjem delu iskristalizovanog produkta dolazi do formiranja velikih pukotina, kao posledica izdvajanja volastonita samo na spoljnim površinama stakla. Ovaj problem je prevaziđen tako što je dobijeno staklo pre topotognog tretiranja mleveno u prah do prosečne veličine zrna od  $5\text{ }\mu\text{m}$ , presovanjem oblikovano u željene forme, a nakon toga podvrgnutom istom topotognom tretmanu. Na taj način eliminisane su pukotine ali je primećen mali ideo zaostalih mikropora između zrna polaznog staklenog praha, jer apatiti i volastonit precipitiraju pre potpune densifikacije. Male količine  $\text{CaF}_2$  dodaju se u polazno staklo (oko 0,5 % mas.) čime se postiže potpuna densifikacija stakla na oko  $830\text{ 0C}$ , nakon čega oksifluorapatit ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{O},\text{F}_2)$ ) i volastonit precipitiraju sukcesivno na  $870$  i  $900\text{ 0C}$ , dajući homogenu staklo-keramiku bez pukotina i zaostalih pora [68].

Staklo keramika može biti lako mehanički oblikovana u različite forme dijamantskim alatom. Neka fizička svojstva apatit/volastonit staklo-keramike (A/V) prikazana su u Tabl. 18.10. Čvrstoća na savijanje ( $215\text{ MPa}$ ) staklo-keramike je skoro dva puta ( $115\text{ MPa}$ ) veća od gusto sinterovanog HAp i znatno veća ( $160\text{ MPa}$ ) od ljudske kortikalne kosti. Odgovarajuće staklo i staklo-keramika, kod koje precipitira samo apatit, pokazuju čvrstoću na savijanje od 72 odnosno  $88\text{ MPa}$ . Očigledno je da je veća savojna čvrstoća apatit-volastonit staklo-keramike posledica precipitacije i volastonita i apatita. Apatit-volastonit staklo keramika ima žilavost od  $2,0\text{ MPa}\cdot\text{m}^{1/2}$ , dok staklo i staklo-apatitna keramika imaju žilavost od  $0,8$  i  $1,2\text{ MPa}\cdot\text{m}^{1/2}$  [68].

*TABELA 18.10 Fizička svojstva apatit-volastonit staklo-keramike*

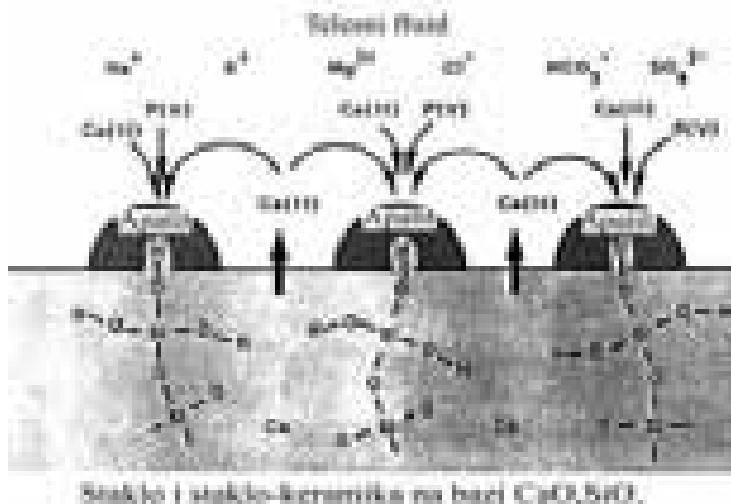
Gustina ( $\text{g/cm}^3$ )	3,07
Savojna čvrstoća (MPa)	215
Pritisna čvrstoća (MPa)	1080
Jungov modul (GPa)	118
Tvrdoća po Vickersu (HV)	680
Otpornost na lom ( $\text{MPa}^{1/2}$ )	2,0

Pod opterećenjem u normalnom fiziološkom okruženju, pomenuta staklo-keramika pokazuje smanjenje mehaničke čvrstoće (npr. zamor materijala uz sporu rast pukotina uzrokovani naponskom korozijom, sličnu onoj koja se javlja kod drugih keramičkih materijala).

Kada se A/V staklo-keramika implantira unutar koštanog defekta, na površini dolazi do formiranja tankog sloja apatita preko koga se ostvaruje veza sa okolnim koštanim tkivom. Ista vrsta apatita formira se na površini A/V staklo-keramike nakon potapanja u simulirani telesni fluid (STF). Prema difrakcionoj rendgenograf-

skoj analizi i infracrvenoj refleksionoj spektroskopiji površine A/V staklo-keramike potopljene u STF, površinski formirani sloj apatita predstavlja karbonatni hidroksiapatit male kristaliničnosti. Sastav i strukturna svojstva formiranog apatita slični su apatitu prirodne kosti. Za očekivati je da će ćelije koje formiraju koštano tkivo, osteoblasti, ubrzano proliferisati preko fibroblasta, na površini apatitnog sloja. Zbog toga, na površini sloja apatita ne dolazi do formiranja fibroznog tkiva, koje se obično formira oko stranog materijala, što omogućava rast koštanog tkiva direktno na površini apatitnog sloja [68].

Mehanizam formiranja apatita na površini  $\text{CaO}\cdot\text{SiO}_2$  stakala i staklo-keramike, uključujući i A/V staklo-keramiku nakon implantacije se može objasniti na sledeći način. Rastvaranjem stakla i staklo-keramike povećava se koncentracija kalcijumovih jona u okolnom telesnom fluidu, a hidratisani silicijum na površini stakla i staklo-keramike obezbeđuje povoljna mesta za ubrzenu nukleaciju apatita. Jednom formirani nukleusi apatita nastavljaju spontani rast zahvaljujući kalcijumovim i fosfatnim jonima koji se nalaze u okolnom telesnom fluidu (Sl. 18.15) [69].



*SLIKA 18.15 Mehanizam formiranja apatita na površini  $\text{CaO} - \text{SiO}_2$ - stakla i staklo-keramike*

## 18.4 KALCIJUM-FOSFATNI CEMENTI

Kalcijum-fosfatni materijali imaju veliku primenu u procesu reparacije koštanog tkiva zbog sličnosti sa mineralnom komponentom kosti. Pored toga, ovi materijali su netoksični, pokazujući biokompatibilno ponašanje, integrišući se s koštanim tkivom kroz proces koji je sličan onom kod prirodne regeneracije kosti. Glavni nedostatak kalcijum-fosfatnih materijala predstavljaju njihove relativno slabe mehaničke karakteristike.

Kalcijum-fosfati se obično isporučuju u obliku granula prečnika 0,5–2,0 mm, koje se pre implantacije mešaju sa krvi pacijenta i apliciraju u željeno područje. Prednost ove metode je u jednostavnosti i činjenici da je omogućen lakši rast ko-

sti između granula, Međutim, međusobno nepovezane garnule mogu migrirati sa mesta defekta. Nasuprot garnulama, kalcijum-fosfati u obliku blokova imaju veću mehaničku čvrstoću ali se ne mogu oblikovati u koštanim defektima, dok blokovi na bazi kalcijum-fosfata sa otvorenom poroznom strukturu, koja omogućava ubrzani rast kosti, pokazuju slabe mehaničke karakteristike [70]. Kao rezultat napred navedenog, ovi materijali se koriste klinički jedino za zamenu oštećenih delova kosti koji nisu izloženi velikom opterećenju.

Nemogućnost mnogih materijala da se prilagode nepravilnim defektima oštećenih delova koštanog tkiva, dovila je do otkrića samovezujućih kalcijum-fosfatnih cemenata (CPC).

Kalcijum-fosfatni cementni materijali formiraju se od praha koji se sastoji od jednog ili više jedinjenja kalcijuma i/ili fosfatnih soli i vodenog rastvora soli, koji ako se mešaju u odgovarajućem odnosu formiraju pastu, koja na sobnoj temperaturi ili temperaturi tela vezuje uz precipitaciju jedne ili više faza (jedinjenja) od kojih je najmanje jedan kalcijum-fosfat. Ovi cementi pokazuju prednost u poređenju sa kalcijum-fosfatnom keramikom, jer ne zahtevaju isporuku u obliku prefabrikata ili granula već sami mogu biti oblikovani tokom operacije ili jednostavno injektirani u koštani defekt.

Ovi cementi vezuju kao posledica istovremenog odigravanja reakcija rastvaranja i precipitacije, što ovim materijalima daje mogućnost oblikovanja u željene forme ili injektiranje unutar defekata uz minimalne invazivne metode.

Pokazalo se da su CPC veoma biokompatibilni, netoksični i nemutageni, a pošto se dobijaju na bazi kalcijum-fosfata oni su i osteokonduktivni, podložni resorpciji tokom delovanja osteoklasta *in vitro*. Takođe oni su integrabilni, transformišući se *in vivo* tokom vremena u kost [71]. Kalcijum-fosfatni cementi mogu se koristiti kao: (1) koštani kalemi, materijali za ispunu koštanih defekata, ili zamenu hirurški uklonjenih delova kosti; (2) materijal za povećanje grebena; (3) za reparaciju vilične kosti; (4) u kranialnoj i maksilofacialnoj hirurgiji; (5) kao kit cement u stomatologiji i ortopedskoj hirurgiji; (6) materijal za punjenje kanala zuba nakon lečenja; i kao (7) materijal za otpuštanje lekova u okolno tkivo [72].

Od sinteze prvog CPC objavljeno je oko 20 različitih formi koje vezuju na sobnoj ili temperaturi tela, pokazujući značajnu čvrstoću [73]. Ipak, mnogi od ovih cemenata još uvek pokazuju nedostatke pre svega zbog loših mehaničkih karakteristika.

**Kalcijum-fosfatni cementi koji vezuju *in situ*.** Brown i Chow su 1986. prvi predstavili novu formu kalcijum-fosfatnog cementa za supstituciju koštanog tkiva, koja predstavlja mešavinu tetrakalcijum-fosfata (TTCP,  $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$ ) i dikalcijum-fosfatnog anhidrida (DCPA,  $\text{CaHPO}_4$ ) ili dihidrata (DCPD,  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) sa vodenim ili razblaženim rastvorom ortofosforne kiseline (5–20 mM). Ova mešavina vezuje za 20 min obrazujući HAp, koji se razlikuje od HAp tretiranog na visokoj temperaturi u kristaliničnosti i gustini [74–76].

Resorbibilni i injektujući kalcijum-fosfatni cementi komercijalizovani su od različitih internacionalnih korporacija.

Injectabilni očvršćavajući cement Norian SRS (Norian Corporation) razvijen je kao cement za ispunu kod metafizalnih frakturnih i drugih koštanih defekata, kako bi ubrzao zaledenje kosti i poboljšao čvrstoću kod ugradnje elemenata za fiksaciju [77].

Ovaj sistem formiran iz mešavine  $\alpha$ -TCP + MCPM +  $\text{CaCO}_3$ , tokom polaznog procesa vezivanja dovodi do formiranja DCPD, dok je krajnji produkt vezivanja dalić, karbonatni HAp sa Ca/P odnosom 1,67 i 1,69 [78].

Materijal je takođe korišćen tokom tretmana frakture kuka [77]. Polazna pritisna čvrstoća očvrslog materijala slična je onoj koju ima trabekularna kost (55 MPa). Ovaj materijal podložan je resorpciji od strane osteoklasta i postepenom prodiranju okolnog tkiva [77].

U Constanz cementu [79], prvom ove vrste koji je komercijalizovan, konačan proizvod reakcije vezivanja jeste karbonatni apatit male kristaliničnosti, sa sadržajem karbonata koji dostiže 4,6%, u supstituciji fosfatnih grupa (B tip apatita), a koji je sličan apatitu koji se nalazi u kostima. Constanz cement je dobijen iz suve mešavine  $\alpha$ -trikalcijum-fosfata,  $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , kalcijum-fosfat monohidarata,  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)\cdot\text{H}_2\text{O}$ , i kalcijum-karbonata,  $\text{CaCO}_3$ . Ca/P odnos kod prve dve komponente iznosi 1,50 i 0,50, pri čemu su obe vrednosti značajno niže od vrednosti 1,67 koju ima HAp. Kao tečna faza koristi se rastvor  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , koji omogućava formiranje lako injektujuće paste. Vreme injektibilnosti takve paste se zadržava relativno dugo, odnosno onoliko dugo koliko je neophodno tokom primene u hirurgiji. Nakon 5 min cementna pasta pokazuje konzistenciju koja je odgovarajuća za injektiranje, a nakon 10 min očvršćava bez egzoternih efekata, pokazujući početnu čvrstoću od 10 MPa.

Cement pod nazivom  $\alpha$ -BSM (koji se u Evropi prodaje pod nazivom BIOBON. RTM), a koji se sastoji od dve komponente u prahu: (i) slabo iskristalisalog kalcijum-fosfata, kao glavne komponente, i (ii) dobro iskristalisalog DCPD (brušit), ima Ca/P odnos nešto manji od 1,50 [80].

Iako glavna komponenta, slabo iskristalisali kalcijum-fosfat, reaguje prilično brzo u prva 24 sata, formirajući apatitni kalcijum-fosfat  $\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5(\text{OH})$ , potpuna resorpcija kristalne komponente traje mnogo duže. BIOBON.RTM, koji se meša sa rastvorom soli, formirajući pastu, ima malu pritisnu čvrstoću (oko 10–15 MPa) nakon potpunog vezivanja, što ograničava njegovu upotrebu u aplikacijama gde se materijal izlaže velikom opterećenju [80].

Kalcijum-fosfatni cement, sa Ca/P odnosom nešto većim od 1,50, koji se sastoji od  $\alpha$ -TCP (75% mas.), TTCP (18% mas.), DCPD (5% mas.) i HA (2% mas.) je dobijen u obliku paste sa relativno koncentrovanim rastvorom hondroitin-sulfata i Na-sukcinata. Ovaj cement je poznat pod trgovackim nazivom BIOPEX.TRM (Mitsubishi Material Co.). Navodi se da je pritisna čvrstoća ovog cementa od 60 do 90 MPa, a brzina resorpcije prilično velika (oko 50% u prvih nekoliko nedelja).

Tetrakalcijum-fosfat (TTCP) i trikalcijum-fosfat ( $\alpha$ -TCP ili  $\beta$ -TCP) predstavljaju glavne konstituente kalcijum-fosfatnih cemenata razvijenih u poslednjoj deceniji [74]. Ovi kalcijum-fosfatni cementi mogu se podeliti na tri tipa na osnovu razlike u glavnim konstituentima. Prvi, samovezujući apatitni cementi koje su razvili Brown i Chow, imaju alkalni kalcijum-fosfat TTCP kao glavni konstituent,

u koji je dodat kiseli kalcijum-fosfat kao što je dikalcijum-fosfat dihidrat (DCPD), dikalcijum-fosfat anhidrovani (DCPA), oktakalcijum-fosfat (OCP), ili TCP [75,81]. Ovaj cement vezuje kada se meša sa vodom ili razblaženom fosfornom kiselinom pri čemu cementni konstituenti prelaze u apatitnu fazu. Drugi, kalcijum-fosfatni cementi, koriste  $\alpha$ -TCP kao glavni konstituent uz dodatak DCPD [81]. Ovi cementi takođe vezuju kada se mešaju sa vodom. Treći, koriste  $\beta$ -TCP i monokalcijum-fosfat monohidrat kao glavne konstituente, uz dodatak kalcijum-sulfatnog hemihidrata. Iako ovi cementi vezuju kada se mešaju sa vodom, reakcioni produkt nije apatitna faza ali jeste dikalcijum-fosfat dihidrat, u poređenju sa pedvodna dva tipa cemenata kod kojih je reakcioni proizvod apatitna faza [81].

Zbog svojih karakteristika u rastvoru,  $\alpha$ -TCP je jedna od glavnih komponenata nekoliko bioaktivnih CPC.  $\alpha$ -TCP je rastvorljiviji od HAp, i njegova hidroliza u vodenim rastvorima odvija se kroz mehanizam koji uključuje rastvaranje i sukcesivnu precipitaciju stabilnije faze [46,82].

Monma i Kanazawa su prvi opisali reakcije (18.5) vezivanja  $\alpha$ -TCP, koje su bile suviše spore za kliničku primenu  $\alpha$ -TCP, što je dovelo do dodavanja fosfata i/ili soli u rastvoru u cilju poboljšanja kinetike reakcije i obezbeđivanja bržeg vezivanja materijala [83].



Jedan od glavnih nedostataka  $\alpha$ -TCP jeste predominantna koštana resorpcija u ranim stupnjevima zalečenja oštećenog koštanog tkiva [84].

Karakteristike kalcijum-fosfatnih cemenata, kao što je vreme vezivanja i krajnja čvrstoća, mogu biti menjane kroz variranje sastava praha, tečne faze, odnosa prah/tečnost i uslova starenja [85].

Međutim, karakteristike kalcijum-fosfatnih cemenata su još uvek nedovoljne za širu primenu. Problemi leže u nedovoljnoj mehaničkoj čvrstoći i sporom vremenu vezivanja. Poboljšanja koja se odnose na skraćenje vremena vezivanja i povećanje otpornosti na pritisak, postignuta su dodavanjem različitih neorganskih, organskih i polimernih aditiva u kalcijum-fosfatne cemente.

**Glas-jonomerni cementi.** Postojeći cementi na bazi staklo-keramike, koja je sadržala cink, i silikatni cementi, koji nisu vezivali dovoljno brzo u reakciji sa poliakrilatnom kiselinom, doveli su do razvoja glas-jonomernih cemenata (GIC) kao rezultat rada Alana Wilsona i Briana Kenta kasnih 1960-tih, a koji su modifikacijom  $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$  odnosa u silikatnim staklima, uspeli da proizvedu cemente sa poliakrilatnom kiselinom [86]. Komercijalni cementi ovog tipa proizvedeni su 1975, pokazujući znatno slabije karakteristike u poređenju sa danas dostupnim materijalima.

Orginalni glas-jonomerni cementi sastoje se od vodenog rastvora poliakrilne kiseline, koncentracije oko 45%, koja reaguje sa prahom kalcijum-fluoroalumosilikatnog stakla [86,87]. Jurećiće je otkrio da geliranje koncentrovanog rastvora poliakrilne kiseline stajanjem, koje je uzrokovano vezivanjem lanaca vodoničnim vezama, može biti sprečeno korišćenjem kopolimera akrilna-itakonska kiselina [88]. Modifikacija obe komponente u GIC dovela je do razvoja velikog broja novih

cemenata. Termin jonomer se koristi za polimerne supstance koje pokazuju domene sa jonskim karakterom u matrici sa nejonskim karakterom. Iako nazvani glas-jonomerni cementi, postoje podaci da struktura ovih cemenata ne pokazuje svojstva karakteristična za prave jonomere [89].

Ovi cementi se odlikuju jedinstvenim karakteristikama kao i adhezivnim svojstvima koje ih čine pogodnim za restauraciju cervikalnih lezija [90]. Hemijska adhezija za vlažnu zubnu strukturu i metale, i postepeno otpuštanje fluora i minimalan egzotermni efekat tokom vezivanja, samo su neke od osobina koje pokazuju ovi cementi [91,92].

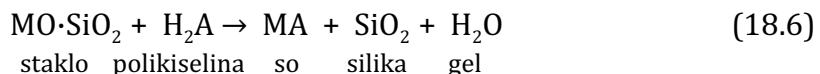
Pored toga, glas-jonomerni cementi pokazuju termičku kompatibilnost sa zubnom gleđi zbog malog koeficijenta termičke ekspanzije (sličnom zubnom materijalu), biokompatibilnost i malu citotoksičnost [93,94]. Međutim, mala mehanička čvrstoća trenutno dostupnih glas-jonomernih cemenata čini ove cemente nepogodnim za aplikaciju na mestima koja su izložena povećanom mehaničkom naprezanju.

Stakla koja se koriste u glas-jonomernim cementima uglavnom se baziraju na sledećim sastavima:  $\text{SiO}_2\text{-Al}_2\text{O}_3\text{-CaO}$  ili  $\text{SiO}_2\text{-Al}_2\text{O}_3\text{-CaO-CaF}_2$ . Ova stakla su bila istog tipa kao i stakla koja su korišćena u predhodnim silikatnim cementima, ali modifikovana tako da imaju izraženiji bazni karakter, kako bi kompenzovali smanjenu kiselost polimera u poređenju sa fosfornom kiselinom korišćenom u silikatnim cementima [93].

Vezivanje GIC odvija se preko kiselo-baznih reakcija koje se odvijaju u tri faze: rastvaranje, geliranje i očvršćavanje [95].

- *Rastvaranje:* Polikiselina (ili  $\text{H}^+$  joni) polako degradiraju površinski sloj čestica stakla uz oslobođanje jona  $\text{Ca}^{2+}$  i  $\text{Al}^{3+}$  jona. Joni kalcijuma se oslobođaju mnogo brže i oni su primarno odgovorni za reakciju sa polikiselinom. Joni aluminijuma bivaju uključeni u reakciju vezivanja u kasnijem stupnju.
- *Geliranje:* Otpuštanjem pomenutih jona u spoljašnjem sloju dolazi do formiranja hidrogela silicijuma. Tokom ovog inicijalnog procesa potrebno je obezbediti suve uslove kako bi se omogućilo formiranje gela otpuštanjem vode, nakon čega je poželjno da materijal dođe u kontakt sa vodom kako bi se sprečila dehidratacija [96]. Kalcijumovi joni reaguju sa negativno navelikrisanim grupama polimera (karboksilnim grupama kiseline) povezujući polikiseline u amorfnu mrežu zadržavajući se na mestu čestice stakla. Ova faza je veoma osetljiva na vlagu i sušenje.
- *Očvršćavanje:* Nakon 30 minuta joni aluminijuma počinju da povezuju molekule polimera, a zahvaljujući njihovom trovalentnom stanju postiže se visok stepen umreženosti. Ovaj stupanj obezbeđuje krajnju čvrstoću materijala.

Reakcije vezivanja mogu se prikazati sledećom hemijskom reakcijom:



gde MO označava metalni oksid, a A kiselinu.

Glas-jonomerni cementi mogu biti dobijeni i iz parcijalno iskristalisalih stakala, pri čemu je utvrđeno da devitrifikacija može u zнатној meri poboljšati *in vitro* biokompatibilnost GIC [91]. Svi komercijalni glas-jonomerni cementi podeljeni su u dve glavne kategorije: konvencionalne glas-jonomerne cemente (CGIC) i smolom-modifikovane glas-jonomerne cemente (RMGIC) [94].

Prvo dobijene GIC karakterisalo je sporo vreme vezivanja, relativno produžena osetljivost na vlagu, kao i netransparentnost. Ova svojstva su poboljšana pre svega uvođenjem staklenog praha izmenjenog sastava u odnosu na polazna stakla koja su korišćena za dobijanje ovih cemenata [86]. Pored ovih modifikacija uvedene su i druge, kao što su:

- korišćenje alternativnih polimera, poput akrilne i maleinske kiseline, kao polikiselinskih komponenti [97];
- upotreba osušenih polimernih prahova pomešanih sa stakлом koji su aktivirani dodatkom vode;
- razvoj *kermet* cemenata, u kojima punilac predstavlja kermet (npr. keramični-metalni hibrid koji je u ovom slučaju fluoroalumosilikatno staklo sinterovano sa srebrom) umesto čistog stakla, gde srebro ima ulogu da absorbuje mehaničko naprezanje do određene mere, a istovremeno i da smanji krtost [97]. Ovi materijali se koriste u situacijama gde se zahteva radio neprozirnost;
- metalom ojačani cementi, gde se metal, kao srebro-kalajne legure ili nerđajući čelik, dodaje u GIC u pokušaju da ojača vezujući cement;
- smolom-modifikovani cementi, u kojima su konvencionalne kiselobazne komponente komplementarne sa monomerima i inicijatorima sposobnim da fotohemski polimerizuju.

Prednosti GIC u odnosu na druge cemente leže u činjenici da ovi cementi nakon aplikacije otpuštaju fluoridne jone koji sprečavaju pojavu sekundarnog karijesa [98]. Fluoridni joni menjaju hidroksilne jone u apatitu, a visok stepen fluoridnih jona u gleđnim površinama čini ih mnogo otpornijim na kiselinsko rastvaranje pospešujući remineralizaciju, istovremeno sprečavajući formiranje plaka [98].

Utvrđeno je da relativno velika koncentracija fluoridnih jona *in vitro* deluje kao inhibitor enzima, ali *in vivo* ona stimuliše proliferaciju i aktivnost alkalne fosfataze ćelija formirane kosti [99]. Fluoridni joni takođe povećavaju gustinu trebekularne kosti sprečavajući resorpciju, zbog čega se koriste kod osteoporoze [99]. Dok se od kalcijumovih i fosfatnih jona očekuje da daju doprinos u formiranju kosti, uloga aluminijumovih jona je sporna. Pretpostavlja se da ovi joni determinišu *in vitro* biokompatibilnost, a ne fluoridni joni kako se ranije mislilo. Uloga aluminijuma, kao i fluora, zavisi od koncentracije. Utvrđeno je da niska koncentracija aluminijumovih jona stimuliše proliferaciju osteoblasta i formiranje nove kosti. Ovakav zaključak je podržan činjenicom da su u ćelijskoj kulturi osteoblasta primećene čestice aluminijuma koje ne pokazuju štetan efekat na ćelijsku kulturu i brzinu formiranja kosti [99].

Jedan od glavnih nedostataka glas-jonomernih cemenata jeste mala čvrstoća na lom (1,39 MPa), dok Jungov modul elastičnosti iznosi 4–8 GPa, a pritisna čvrsto-

ća 25–35 MPa [112]. Konvencionalni GIC imaju znatno veću otpornost na habanje u poređenju sa drugim cementima [100].

Morfološka, imunohistohemijska i mikroanalitička istraživanja implantiranih GIC pokazala su blisku asocijaciju ekstracelularnih proteina kosti sa površinom cementa. Poznato je da ovi faktori imaju važnu ulogu u osteogenezi i osteointegraciji biomaterijala, zajedno sa hidrofilnim karakteristikama površine glas-jonomernih cemenata [101]. Utvrđeno je da GIC nisu u potpunosti porozni, pri čemu su samo periferne pore delimično okupirane acelularnim kolagenskim vezivnim tkivom. Slobodne čestice stakla primećene su i u vezivnom tkivu i u gigantskim ćelijama, popunjavajući delimično ispunjene pore. Uvođenjem HAp čestica u GIC kao punioca može se značajno povećati biokompatibilnost, jer se resorpцијом HAp tokom vremena povećava poroznost GIC čime se omogućava urastanje vitalnog tkiva [101].

## 18.5 BIOAKTIVNE PREVLAKE

Nedovoljna mehanička čvrstoća keramičkih materijala (krtost itd.) dovela je do razvoja implantata koji kao osnovu imaju metal ili metalnu leguru. Titan i njegova legura Ti6Al4V predstavljaju implantate koji se najčešće koriste u ortopediji, pre svega zbog svojih dobrih mehaničkih osobina i netoksičnog ponašanja u organizmu [102, 103]. Njegovom ugradnjom ne dolazi do potrebne raspodele napona na površini implantat-kost, što može da rezultira labavljenjem implantata sa mogućom posledicom frakture veze između implantata i kosti. Pošto metalni implantati pokazuju bioinertno ponašanje sa jedne strane, i dobra mehanička svojstva nakon dužeg vremena od implantacije u organizam sa druge strane, istraživanja su bila usmerena u cilju poboljšanja mehaničkog kontakta i uspostavljanja bolje veze između metalnog implantata i koštanog tkiva. Jedan od načina rešavanja ovog problema predstavlja prevlačenje metalnih implantata bioaktivnim keramičkim materijalima koji imaju dobru adheziju za metal, a koji mogu pospešiti formiranje hidroksiapatita na površini prevlake, a samim tim i vezivanje za koštano tkivo.

Za uspešno razvijanje bioaktivnih prevlaka za implantate potrebno je ispuniti nekoliko ključnih kriterijuma tokom procesiranja ovakvih materijala: (1) termički tretman ne sme da degradira osobine metala ili prevlake, (2) termičko širenje prevlake i metala mora da bude slično da bi se izbegli velika termička naprezanja koja rezultiraju u pucanju prevlaka ili njihovom raslojavanju, (3) temperaturni režim treba da obuhvata oblast sa optimalnom adhezijom, (4) prevlake trebaju da indukuju formiranje HAp prilikom kontakta sa telesnim fluidom [104].

Najčešći biokeramički materijali koji se koriste kao prevlake metala i metalnih legura jesu HAp, bioaktivna stakla i staklo-keramika.

Klinička praksa je pokazala da je moguće obezbediti dobro vezivanje između neorganskog materijala i vitalnog koštanog tkiva, a samim tim postići osteointegraciju implantata u slučaju kada je implantat prevučen sa HAp plazma sprej metodom.

Kada se razmatra veza između implantata i kosti, npr. veza između HAp prevlake i metalnog implantata (supstrata) i veza između HAp prevlake i ležišta implantata unutar koštanog tkiva, pažnja mora biti usmerena na uspostavljanje jake veze koja bi tokom eksploatacije izdržala jake torzione sile i sile smicanja.

Utvrđeno je da se adhezija između HAp prevlake i metalnog supstrata smanjuje sa povećanjem debljine prevlake. Zbog toga maksimalna debljina prevlake treba da iznosi  $250 \mu\text{m}$  [105]. Kao i svaki drugi krti materijal i HAp je podložan pucanju na ivicama, zbog čega mora biti izbegнута појава оштих ivica na samoj prevlaci korišćenjem odgovarajućih metoda.

Za dobijanje HAp prevlaka koriste se mnoge metode, kao što su: plazma raspršivanje, dip coating, spaterovanje, biomimetička metoda, elektroforetska metoda itd.

Najčešće korišćena metoda za nanošenje prevlaka HAp na metalnom supstratu jeste plazma sprej metoda. Ipak, ova metoda može uzrokovati stvaranje neuniformnih prevlaka kada se metoda primenjuje za nanošenje prevlaka na nepravilnim ili poroznim površinama. Takođe, čestice HAp se tokom samog procesa izlažu veoma visokim temperaturama što dovodi do njihovog razlaganja [105]. Plazma-sprej prevlake, usled velike brzine hlađenja obično sadrže mešavinu amorfnih i kristalnih faza. Brzo rastvaranje amorfne faze i nekih kristalnih faza kao što je kalcijum-fosfat, degradira stabilnost prevlake. Dalje temperaturno tretiranje, da bi se poboljšala kristaliničnost prevlake, često rezultira pucanjem i gubitkom adhezije [108]. Konačno, plazma-sprej raspršivanje je tehnika koja nije pogodna za prevlake sa složenom struktururom.

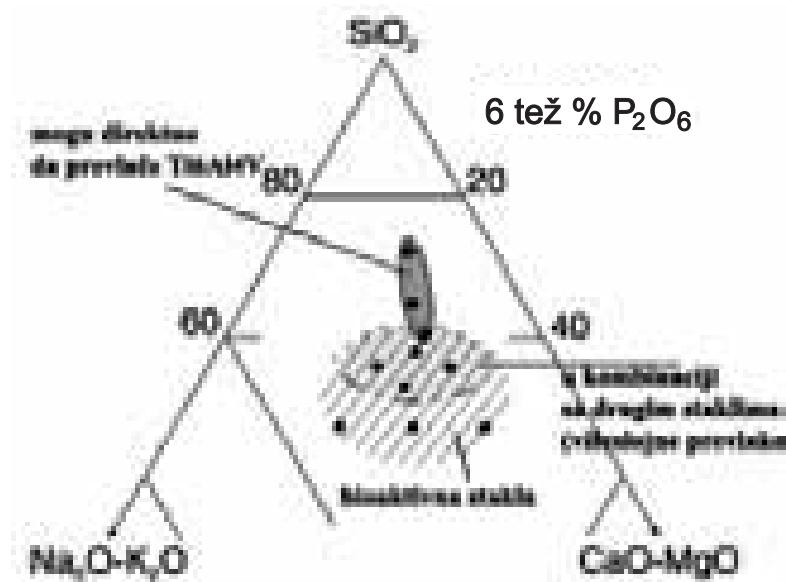
Biomimetička metoda, koju su predložili Kokubo i saradnici, predstavlja veoma dobru metodu. Utvrđeno je da izlaganje čistog Ti ili njegove legure alkalmom rastvoru dovodi do stvaranja hidrogela natrijum-titanata, na kome dolazi do formiranja sloja HAp nakon potapanja određeno vreme u simulirani telesni fluid (STF). Ipak, ova metoda ne može biti korišćena za legure od nerđajućeg čelika [105].

Metoda elektroforetskog nanošenja keramičkih prevlaka odlikuje se efikasnošću, fleksibilnošću i ekonomičnošću. Generalno govoreći, za formiranje prevlaka potrebno je veoma kratko vreme (od nekoliko sekundi do nekoliko minuta). Brzina nanošenja može biti i  $1 \text{ mm/min}$ , a moguće je i nanošenje prevlaka na supstrate nepravilnog oblika korišćenjem elektroda odgovarajućeg oblika. Ipak, veza između prevlake i metalnog supstrata prilično je slaba, zbog čega je neophodno sinterovanje [106].

Prikaz najvažnijih tehnika koje se koriste za dobijanje prevlaka, sa osnovnim prednostima i manama, dat je u Tabl. 18.11.

Alternativna metoda jeste prevlačenje implantata bioaktivnim stakлом (sposobnim da formira HAp *in vivo*), koje može da obezbedi željeno povezivanje sa kostima.

Bioaktivna stakla uglavnom su silikatna stakla sa sadržajem  $\text{SiO}_2$  ispod 60%. Većina ovih stakala kristališu na temperaturama na kojima se emajliraju (nanose na metal) [107]. Koeficijent termičkog širenja biostakla uglavnom je znatno veći nego



SLIKA 18.16 Oblast sastava stakla koje može da se koristi za dobijanje prevlaka na titanu

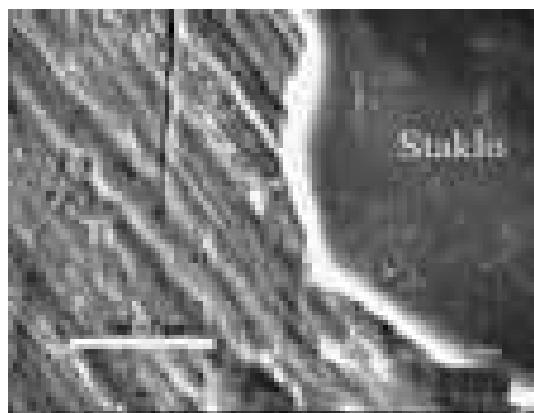
kod Ti legure. Na Sl. 18.16 pokazan je opseg u sastavu stakla koji se upotrebljava za spravljanje guste prevlake koja ne pucna na Ti leguri.

Nekoliko grupa istraživača je pokušalo da prevuče metalne implantate bioaktivnim stakлом koristeći metodu emajliranja, odnosno brzog umakanja metala u rastopljeno staklo [109–112]. Iako su neke od dobijenih prevlaka pokazivale odlično *in vitro* ponašanje, neke od staklenih prevlaka su pokazale pucanje na spoju staklo-metal [109, 111]. Naročito kod prevlačenja titana i njegovih legura, problemi su rezultirali pre svega usled stvaranja visokih termalnih naprezanja, koja potiču usled razlike u termičkom širenju stakla i metala i zbog visoke reaktivnosti titana sa staklima na bazi  $\text{SiO}_2$ .

U cilju rešavanja tog problema, Tomsia i saradnici [113] razvijali su bioaktivne staklene prevlake na leguri Ti6Al4V, koristeći jednostavnu tehniku emajliranja uzimajući u obzir neke potrebne uslove za dobijanje prevlaka što boljeg kvaliteta: sastav stakla trebalo je da bude podešen tako da se termičko širenje stakla uklopi sa termičkim širenjem metala, a u isto vreme tačka omekšavanja stakla trebalo je da bude dovoljno niska da bude ispod temperature  $\alpha \rightarrow \beta$  transformacije titana ( $955\text{--}1010^\circ\text{C}$  za Ti6Al4V) [102]. Prethodne studije pokazale su da je za ove svrhe moguće upotrebiti bioaktivna stakla iz sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-Na}_2\text{O-K}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$  koja mogu da indukuju formiranje HAp *in vitro* (stakla sa sadržajem  $\text{SiO}_2$  do 57%). Ova stakla imaju adekvatne tačke omekšavanja i koeficijent termičkog širenja blizak Ti6Al4V ( $\alpha_{\text{Ti6Al4V}} = 9,1\text{--}9,8 \cdot 10^{-6} \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$  na  $400^\circ\text{C}$ ) [114–116]. Stakla iz ovog sistema potencijalno se mogu koristiti za pravljenje prevlaka samostalno ili u mešavini sa drugim kristalnim fazama kao što je HAp, u homogenim ili slojevitim kompozitima. Na Sl. 18.17 prikazane su SEM mikrografije poprečnog preseka prevlake stakla 6P61 na leguri titana, dobijene sprej raspršivanjem na  $890^\circ\text{C}$  [117,118].

**TABELA 18.11 Različite tehnike dobijanja bioaktivnih prevlaka na metalnim implantatima**

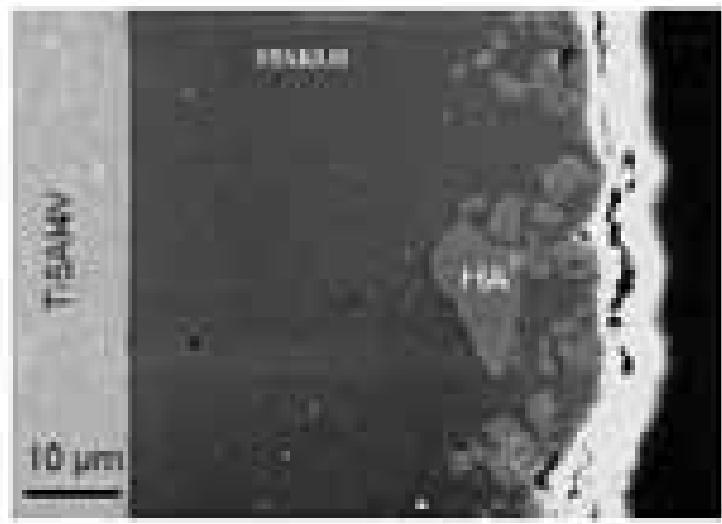
Tehnika	Debljina prevlake	Prednosti	Nedostatci
Termičko raspršivanje (Thermal spraying)	30–200 µm	Velika brzina nanošenja , niska cena	Razlaganje uslovljeno visokom temperaturom, brzim hlađenjem dobijaju se amorfne prevlake
Spaterovanje (Sputter coating)	0,5–3 µm	Uniformna debljina prevlake na ravnim supstratima, gusta prevlaka	Skupa, vremenski dug postupak, dobijaju se amorfne prevlake
Isparavanje laserskim snopom (Pulsed laser deposition)	0,05–5 µm	Prevlaka sadrži kristalnu i amorfnu fazu, gустe i porozne prevlake	Amorfne prevlake, nanošenje samo na rave površine
Metoda dinamičkog mešanja (Dynamic mixing method)	0,05–1,3 µm	Velika adhezija	Skupa, dobijaju se amorfne prevlake
Metoda potapanja (Dip coating)	0,05–0,5 mm	Jeftina, mogućnost brzog nanošenja, nanošenje kompleksnih supstrata	Zahteva sinterovanje na visokim temperaturama, razlike u koeficijentu termičkog širenja
Sol-gel metoda	< 1 µm	Prevlačenje predmeta složenih oblika pri niskim temperaturama procesiranja, jeftino u slučaju tankih prevlaka	Potrebna kontrolisana atmosfera, skupe sirovine
Elektroforetska depozicija	0,1–2,0 mm	Uniformna debljina prevlake, brzo nanošenje na predmete složenih oblika	Teško se dobijaju prevlake bez pukotina, zahteva visoke temperature sinterovanja
Biomimetičko prevlačenje (Biomimetic coating)	< 30 µm	Niske temperature procesiranja, mogućnost formiranja apatita sličnog bioapatitu, prevlačenje predmeta složenih oblika, mogu biti uključeni faktori koji stimulišu rast kosti	Dug proces, zahteva stalnu zamenu simuliranog telesnog fluida i konstantnu pH vrednost
Toplo izostatsko presovovanje (Hot isostatic pressing)	0,2–2 µm	Dobijanje gustih prevlaka	Ne može se primeniti za nanošenje prevlaka na kompleksne oblike, zahteva visoke temperature, neslaganje koeficijenata širenja, skupa, razlike u elastičnim svojstvima, uklanjanje i interakcija sa uključcima



SLIKA 18.17 SEM mikrografija poprečnog preseka prevlake stakla 6P57 na leguri titana, dobijene sprej raspršivanjem na 890oC

Veoma efikasan način za smanjenje koeficijenta termičkog širenja stakla i njegovo približavanje koeficijentu Ti6Al4V jeste povećavanje sadržaja silikata u staklu. Međutim, pokazalo se da povećanje sadržaja SiO<sub>2</sub> umanjuje bioaktivnost [119]. Tomsia i saradnici su istraživali opseg optimalnog sastava stakla iz ugla željenog stepena adhezije i bioaktivnosti. Izabrani stakleni prahovi nataloženi su na metalnu podlogu i žareni, ne bi li obezbedili dobro prijanjanje za nju. Žarenje je bilo izvršeno u vazduhu u cilju površinske oksidacije legure, ili u azotu ne bi li se oformio površinski titan nitridni sloj, koji može da spreči površinske reakcije na metalu i obezbedi dobru adheziju.

Prethodni radovi su pokazali da je nemoguće kontrolisati reakcije na međupovršini metal-staklo prilikom žarenja u inertnoj atmosferi [115, 116]. U ovom slučaju, formiranje mehurova i nusproizvoda reakcija degradira kvalitet prevlake i njenu adheziju usled odsustva tampon sloja.



SLIKA 18.18 Poprečni presek prevlake 6P57/(6P57+HAp)

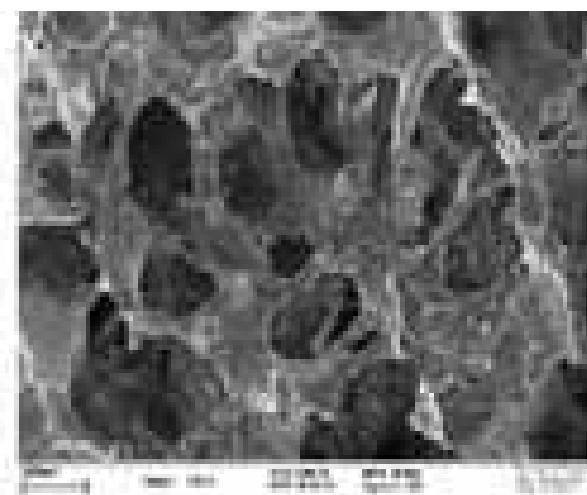
Tomsia i Gomez [120] vršili su i ispitivanja mogućnosti višeslojnog prevlačenja metalnog supstrata. Cilj njihovog rada bio je korišćenje pristupa proizvodnje višeslojne prevlake ne bi li se na spoljnoj površini našlo staklo sa malim sadržajem  $\text{SiO}_2$  (znači veća bioaktivnost), a istovremeno zadržala dobra adhezija za metal zahvaljujući unutrašnjem sloju sa stakлом visokog  $\text{SiO}_2$  sadržaja.

Istraživanja su pokazala da je veza koja se ostvaruje između HAp i kosti oko dva puta jača od veze između bioaktivnog stakla i kosti, dok bioaktivna stakla pokazuju veći indeks bioaktivnosti u odnosu na HAp. Zbog napred navedenog, može se pretpostaviti da će kompozit HAp-bioaktivno staklo pokazati odgovarajuću jačinu veze u kratkom vremenskom periodu [121]. Dobar rezultat ostvaren je sa višeslojnom prevlakom 6P57/(6P57+HAp) u kojoj su pomešane četice apatita sa stakлом. Kod ove prevlake ostvarena je dobra adhezija sa metalom, a prilikom testiranja *in vitro* prevlaka je zadržala sloj potpuno prekriven apatitom posle 30 dana u STF (Sl. 18.18).

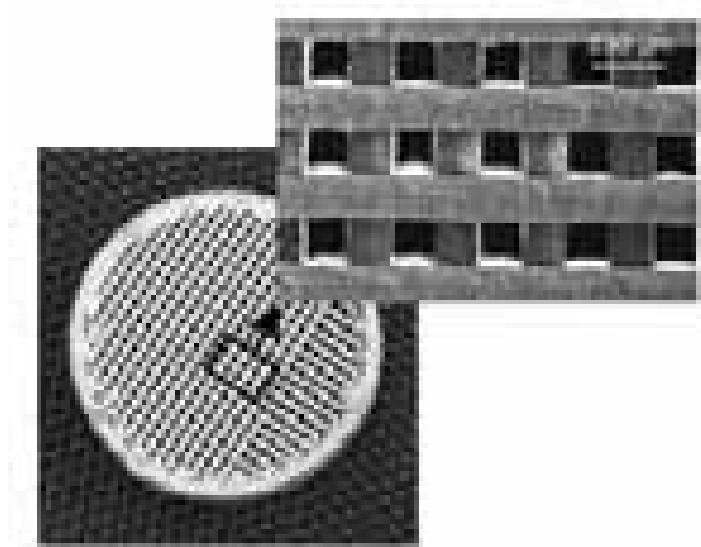
Još jedna prednost višeslojnog prevlačenja metala stakлом jeste mogućnost kreiranja prevlaka sa unutrašnjim nerastvornim staklenim slojem koji štiti metal od korozije, dok istovremeno predstavlja nosač bioaktivne površine.

## 18.6 SKAFOLDI

U procesu zalećenja oštećenog koštanog tkiva sve više se koriste osteokonduktivni porozni materijali – *skafoldi*. Za dobijanje skafolda koji se koriste u ortopediji najčešće se koriste HAp i  $\beta$ -TCP zbog ranije pomenute sličnosti sa koštanim tkivom, kao i bioaktivna stakla koja pripadaju sistemu  $\text{SiO}_2\text{--P}_2\text{O}_5\text{--CaO--MgO--Na}_2\text{O--K}_2\text{O}$  [122]. Na Sl. 18.19 i 18.20 prikazani su skafoldi na bazi HAp i staklo keramike, sa poroznošću koja odgovara poroznosti trabekularne kosti.



SLIKA 18.19 Staklo-keramika skafold sa teksturom trabekularne kosti



*SLIKA 18.20 Mikrostruktura poroznog HAp skafolda*

Esencijalna uloga osteokonduktivnih skafolda je održavanje prostora ili volumena u kome se može formirati kost. Ovo je naročito važno kod defekata „kritične veličine“ kod kojih postoji konkurenčija između rasta koštanog i mekog tkiva unutar defekta. Arhitektura skafolda značajno utiče na stepen i brzinu koštanog rasta. Dva najčešće proušavana parametra su veličina pora i mešusobna povezanost pora. Ograničenje koje se postavlja pred porozne implantate je da pore treba da budu prečnika najmanje 100 µm. Velike pore su neophodne kako bi se obezbedio dotok krvi u uraslo vezivno tkivo. Vaskularizacija se ne javlja u porama manjim od 100 µm. Mikropokretanje na međuspoju može dovesti do presecanja kapilara što dovodi do odumiranja i inflamacije tkiva i destrukcije međuspoja [123]. Mišljenje je da makroporoznost doprinosi osteogenezi olakšavajući transport ćelija i jona, dok mikroporoznost pospešuje koštani rast zahvaljujući većoj specifičnoj površini kojom se postiže bolja adsorpcija proteina, povećava rastvorljivost u mikrookruženju i obezbeđuje više mesta za vezivanje osteoblasta. Mehanička svojstva skafolda su u najvećoj meri uslovljena stepenom poroznosti. Čvrstoća skafolda se najčešće kreće od 10 do 30 MPa. Regulišući stepen poroznosti moguće je dobiti keramičke skafolde koji bi bili prilagođeni specifičnim zahtevima.

Najčešće tehnike koje se danas koriste za dobijanje skafolda su: fused deposition modelling (FDM), solvent casting/salt leaching, emulsion freeze-drying, phase separation, 3D printing and gas foaming/salt leaching [124].

## 18.7 PITANJA ZA REKAPITULACIJU

- 18.1 Šta su biokeramički materijali?
- 18.2 Navesti podelu biokeramičkih materijala.

- 
- 18.3 Koje su prednosti biokeramičkih materijala u odnosu na druge biomaterijale?
  - 18.4 Objasniti građu koštanog i zubnog tkiva.
  - 18.5 Objasniti proces formiranja i remodelovanja koštanog tkiva.
  - 18.6 Navesti koji su najznačajniji kalcijum-fosfatni biokeramički materijali?
  - 18.7 Koje se metode najčešće koriste za dobijanje kalcijum-fosfatnih biomaterijala?
  - 18.8 Šta su bioaktivna stakla?
  - 18.9 Koje su osnovne karakteristike aluminijum-oksidnih i cirkonijum-oksidnih keramičkih materijala?
  - 18.10 Šta je staklo-keramika i koji je najvažniji predstavnik ove grupe biomaterijala?
  - 18.11 Šta su kalcijum-fosfatni cementi?
  - 18.12 Navesti najvažnija jedinjenja koja se koriste za dobijanje samovezujućih kalcijum-fosfatnih cemenata.
  - 18.13 Navesti prednosti i nedostatke kalcijum-fosfatnih cemenata u odnosu na druge biokeramičke materijale.
  - 18.14 Šta su glas-jonomerni cementi?
  - 18.15 Objasniti mehanizam formiranja veze između glas-jonomernih cemenata i okolnog tkiva nakon aplikacije.
  - 18.16 Šta su bioaktivne prevlake i koje su najčešće korištene metode za njihovo dobijanje?
  - 18.17 Šta su porozni biokeramički materijali-skafoldi i koje se tehnike koriste za njihovo dobijanje?

## 18.8 LITERATURA

- 1. L. R. Barrack, Bone Graft Extenders, Substitutes, and Osteogenic Proteins, *J. Arthrop.*, 20 (2005) 94–97
- 2. C. T. Laurencin, M. A. Ambrosio, M. D. Borden, J.A. Cooper, Tissue engineering: orthopedic applications. *Ann. Rev. Biomed. Eng.*, 1 (1999) 19–46
- 3. S. F. Hubert, The use of alumina and zirkonia in surgical implants, An introduction to bioceramics, Advanced Series in Ceramics (Vol. 1)
- 4. D. A. Puleo, A. Nanci, Understanding and controlling the bone-implant interface, *Biomater.*, 20 (1999) 2311–2321
- 5. J. R. Jones, L. L. Hench, Regeneration of trabecular bone using porous ceramics, *Curr. Opinion Sol. Sta. Mater. Sci.*, 7 (2003) 301–307
- 6. J. F. Shackelford, Bioceramics—Application of ceramic and glass materials in medicine, 293, *Mater. Sci. Forum*, Trans Tech Publication
- 7. N. Ikeda, K. Kawanabe, T. Nakamura, Quantitative comparison of osteoconduction of porous, dense A-W glass-ceramic and hydroxyapatite granules (efects of granule and pore sizes), *Biomater.* 20 (1999) 1087–1095

8. M. Bohner, P. Landuyt, H. P. Merkle, J. Lemaitre, Composition effects on the pH of a hydraulic calcium phosphate cement, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 8 (1997) 675 – 681
9. J. S. Temenoff, A.G. Mikos, Injectable biodegradable materials for orthopedic tissue engineering, *Biomater.*, 21 (2000) 2405–2412
10. S. Mann, Biomaterialization-Principles and concepts in bioinorganic materials chemistry, Oxsford University Press, 2001.
11. R. B. Martin, Bone as a Ceramic Composite Material, in *Mater. Sci. Forum*, 293 (1999) 5–16
12. R. H. Garrett, C.M. Grisham, Biochemistry, Sanders College Publishing, 1999.
13. Medicinska enciklopedija, Jugoslovenski leksikografski zavod, Zagreb, 1969
14. Muscle and Skeleton for Biochemistry II, Canada High School, <http://www.lcusd.com/lchs/mewoldsen/Muscle&Skeleton.htm>
15. G. J. Mount, Bioaktivnost glasjonomera, *Stomatolog*, 75 (2005) 38–40
16. [http://training.seer.cancer.gov/module\\_anatomy/unit3\\_2\\_bone\\_tissue.html](http://training.seer.cancer.gov/module_anatomy/unit3_2_bone_tissue.html)
17. J. P. Schmitz, J. O. Hollinger, S. B. Milam, Reconstruction of bone using calcium phosphate bone cements: A critical review, *J. Oral Maxillofacial Surg.*, 57, (1999) 1122–1126
18. S. V. Dorozhkin, Calcium orthophosphates, *J. Mater. Sci.*, 42 (2007) 1061–1095
19. K. Byrappa, I. Yoshimura, M. Yoshimura, Hand book of Hydrothermal Technology: Technology for Crystal Growth and Materials Processing, William Andrew Inc. 2001.
20. M. L. Power, R. P. Heaney, H. J. Kalkwarf, R. M. Pitkin, J. T. Repke, R. C. Tsang, J. Schulkin, The role of calcium in health an desease, *Am. J. Obstetrics. Gynecol.*, 185 (1999) 1560–1569
21. M. Mathew, S. Takagy, Structures of Biological Minerals in Dental Research, *J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol.* 106, (2001) 1035–1044
22. W. G. Perdok, J. Christoffersen, J. Arends, The thermal lattice expansion of calcium hydroxyapatite, *J. Cryst. Grow.*, 80 (1987) 149–154
23. W. L. Suchanek, K. Byrappa, P. Shuk, R. E. Riman, V. F. Janes, K. S. TenHuisen, Mechano-chemical-hydrothermal synthesis of calcium phosphate powders with coupled magnesium and carbonate substitution, *J. Sol. Sta. Chem.*, 177 (2004) 793–799
24. R. Z. LeGeros, Apatites in Biological Systems, *Prog. Crystal. Growth. Charact.*, 4 (1981) 1–45.
25. R. Z. LeGeros J. P. LeGeros, Dense hydroxyapatite, in An introduction to bioceramics, Advanced Series in Ceramics-Vol.1, (1993)
26. S. Bose, S. K. Saha, Synthesis of Hydroxyapatite Nanopowders via Sucrose-Templated Sol-Gel Method, *J.Am.Ceram.Soc*, 86 (2003) 1055–1057
27. E. C. Shors, R. E. E. Holmes, Porous hydroxyapatite, in An introduction to bioceramics, Advanced Series in Ceramics, 1 (1993)
28. L. A. Santosa, R.G. Carrodfueguas, S. O. Rogero, O. Z. Higa, A. O. Boscid, A. C. F. Arruda,  $\alpha$ -Tricalcium phosphate cement: “in vitro” cytotoxicity, *Biomater.*, 23 (2002) 2035–2042

29. P. Leamy, P.W. Brown, K. TenHuisen, C. Randall, Fluoride uptake by hydroxyapatite formed by the hydrolysis of alpha-tricalcium phosphate, *J. Biomed. Mater. Resear.*, 42 (1998) 458–64
30. S. Takagi, L. C. Chow, K. Ishikawa, Formation of hydroxyapatite in new calcium phosphate cements, *Biomater.*, 19 (1998) 1593–9.
31. S. Kevor, T. Huisen, P. W. Brown, Formation of calcium-deficient hydroxyapatite from  $\alpha$ -tricalcium phosphate, *Biomater.*, 19 (1998) 2209–2217
32. J. Zhou, X. Zhang, J. Chen, S. Zeng, L. DeGroot, High temperature characteristics of synthetic hydroxyapatite, *J. Mat. Sci. Mat. Med.*, 4 (1993) 83–85
33. R. M. Wilson, J. C. Elliott, S. E. P. Dowker, Rietveld refinement of the crystallographic structure of human dental enamel apatites, *Am. Mineralog.*, 84 (1999) 1406–1414
34. T. A. Cuneyt, Synthesis of biomimetic Ca-hydroxyapatite powders at 37 degrees C in synthetic body fluids, *Biomater* 21 (2000) 1429–38
35. T. A. Cuneyt, X-ray diffraction data for flux-grown calcium hydroxyapatite whiskers, *Powder Diffraction*, 16 (2001) 102–106
36. M. A. Vergés, C. F. González, M. M. Gallego, S. I. Cachadiña, E. Matijevic, A new route for the synthesis of calcium-deficient hydroxyapatites with low Ca/P ratio: Both spectroscopic and electric characterization, *J. Mater. Resear.*, 15 (2000) 2534–2539
37. T. Nakajima, M. Kandori, K. Ishikawa, T. Yasukawa, A. Matsuura, Preparation of non-stoichiometric calcium hydroxyapatite using formamide, *Mater.Resear.Bull.*, 34 (1999) 589–601
38. P. Layrolle, A. Ito, T. Tateishi, Sol-Gel Synthesis of Amorphous Calcium Phosphate and Sintering into Microporous Hydroxyapatite Bioceramics, *J. Am. Ceram. Soc.*, 81 (1998) 1421
39. W. Feng, L. Mu-sen, L. Yu-peng, Q. Yong-xin, A simple sol-gel technique for preparing hydroxyapatite nanopowders, *Mater. Lett.*, 59 (2005), 916–919
40. Y. Fang, D. K. Agrawal, D. M. Roy, R. Roy, Fabrication of porpus hydroxyapatite ceramics by microwave processing, *J. Mater. Res.* 7 (1992) 490.
41. K. Itatani, K. Iwafune, F. S. Howell, M. Aizawa, Preparation of various calcium-phosphate powders by ultrasonic spray freeze-drying technique, *Mat. Res. Bull.*, 35 (2000) 575–585
42. K. C. B. Yeong, J. Wang, S. C. Ng, Mechanochemical synthesis; Nanocrystalline hydroxyapatite;  $\text{CaO} \cdot \text{CaHPO}_4$ , *Biomater.*, 22 (2001) 2705–2712
43. G. K. Lim, J. Wang, S. C. Ng, C. H. Chew, L. M. Gan, Processing of hydroxyapatite via microemulsion and emulsion routes, *Biomater.*, 18, (1997) 1433–1439
44. J. Nicolopoulos, M. G. Calbet, M. P. Alonso, G. M. T. Ríos, M. I. Frutos, M. V. Regí, Characterization by TEM of Local Crystalline Changes during Irradiation Damage of Hydroxyapatite Compounds, *J. Sol. State Chem.*, 116 (1995) 265–274
45. C. Durucan, P. W. Brown, a-Tricalcium phosphate hydrolysis tohydroxyapatite at and near physiological temperature, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 11 (2000) 365–71.

46. B. Jokic, I. Jankovic-Castvan, Dj. Veljovic, R. Petrovic, S. Drmanic , Dj. Janackovic, Preparation of  $\alpha$ -TCP Cements from Calcium Deficient Hydroxyapatite obtained by Hydrot-hermal Method, *Key Engin. Mater.*, 309–311 (2006) 821–824.
47. Y. Fang, D. K. Agrawal, D. M. Roy, R. Roy, P. W. Brown, Ultrasonically accelerated synthesis of hydroxyapatite, *J. Mat. Rese.*, 7 (1992) 2294–2298
48. E. Fernandez, F. J. Gil, M. P. Ginebra, F. C. M. Driessens, J. A. Planell, S. M. Best, Calcium phosphate bone cements for clinical applications Part II: Precipitate formation during setting reactions, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 10 (1999) 177–183
49. M. V. Regi, L. M. R. Lorenzo, A. J. Salinas, Synthesis and characterisation of calcium deficient apatite, *Sol State Ionics*, 101–103 (1997) 1279–1285
50. M. Okazaki, Y. Miake, H. Tohda, T. Yanagisawa, J. Takahashi, Fluoridated apatite synthesized using a multi-step fluoride supply system, *Biomater.*, 20 (1999) 1303–1307
51. D. Tadic, F. Peters, M. Epple, Continuous synthesis of amorphous carbonated apatites, *Biomater.*, 23 (2002) 2553–2559
52. A. Osaka, Y. Miura, K. Takeuchi, M. Asada, K. Takahashi, Calcium apatite prepared from calcium hydroxide and orthophosphoric acid, *J. Mat. Sci. Mater. Med.*, 2 (1991) 51–55.
53. T. Honda, M. Takagi, N. Uchida, K. Saito, K. Uematsu, Post-compositional control of hydroxylapatite in an aqueous medium, *J Mat. Sci. Mater. Med.*, 1 (1990) 114–117.
54. L. M. Rodriguez-Lorenzo, M. Vallet-Regi, Controlled crystallization of calcium phosphate apatites, *Chem. Mater.*, 12 (2000) 2460–2465
55. R. Ramachandra Rao, H. Nroopa, T. S. Kannan, Powders of pure  $\beta$ -tricalcium phosphate ( $\beta$ -TCP), hydroxyapatite (HAP) and a biphasic composite mixture of HAP+ $\beta$ -TCP, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 8 (1997) 511–518
56. T. Kanno, J. I. Horiuchi, M. Kobayashi, Y. Motogami, Characteristics of the carbonate ions incorporated into calcium-, partially-strontium-substituted, *J. Mat. Sci. Lett.*, 1999
57. C. P. A. T. Klein, J. M. A. Blieck-Hogervorst, J. G. C. Wolke, K. Groot, Studies of the solubility of different calcium phosphate ceramic particles in vitro, *Biomaterials* (1990)
58. D. G. Wallace, H. McMullin, G. Chu, Injectable ceramic compositions and methods for their preparation and use, October 4, 1994, US Patent 5,352,715
59. E. Truumees, H. N. Herkowitz, Alternatives to autologous bone harvest in spine surgery, *Univ. Penn. Orthop. J.*, 12 (1999) 77–88
60. G. Gheysen, P. Ducheyne, L. L. Hench, P. Meester, Bioglass composites: a potential material for dental application, *Biomaterials*, 4 (1983) 81–84
61. J. Wilson, A. Yli-Urpo, R. P. Happonen, Bioactive glasses: Clinical applications, *Bioceramics, Adv. Ser. Ceram.* 1
62. J. Wilson, A. E. Clark, M. Hall, Tissue respons to Bioglass endosseous ridge maintenance implants, *J. Oral Implant*, 19 (1993) 295–302
63. T. Gilchrist, D. M. Healy, C. Drake, Controlled silver-releasing polymers and there potential for urinar tract infection control, *Biomater.*, 12 (1991) 76–78
64. I. Ahmed, M. Lewis, I. Olsen, J. C. Knowles, Phosphate glasses for tissue engineering: Part 1. Processing and characterisation of a ternary-based  $P_2O_5$ – $CaO$ – $Na_2O$  glass system, *Biomater.*, 25 (2004) 491–499

65. P. Virolainen, J. Heikkil, A. Yli-Urpo, Histomorphometric and molecular biologic comparison of bioactive glass granules and autogenous bone grafts in augmentation on bone defect healing, *J. Biomed. Mater. Res.*, 35 (1997) 9–17.
66. D. C. Greenspan, Bioactive ceramic implant materials, *Curr. Opin. Sol. Sta. Mater. Sci.*, 4 (1999) 389–393.
67. S. F. Hulbert, The use of alumina and zirconia in surgical implants, *Bioceramics, Adv. Ser. Ceram.* 1
68. T. Kokubo, S. Ito, S. Sakka, T. Yamamuro, Formation of high-strength bioactive glass-ceramic in the system  $MgO-CaO-SiO_2-P_2O_5$ , *J. Mater. Sci.* 21 (1986) 536–540
69. T. Kokubo, A/W glass-ceramic:processing and properties, *Bioceramics, Adv. Ser. Ceram.* 1
70. M. Bohner, Implant comprising calcium cement and hydrophobic liquid, US Patent 6,642,285, Nov. 4, 2003.
71. H. Haoa, N. Amizukaa, K. Odac, N. Fujiib, H. Ohnishib, A. Okadab, S. Nomurab, T. Maedaa, A histological evaluation on self-setting a-tricalcium phosphate applied in the rat bone cavity, *Biomater.*, 25 (2004) 431–442
72. K. P. Liu, S. T. Chung, H. Harvey, Resorbable bioactive calcium phosphate cement, US Patent 5,149,368 September 22, 1992
73. F. C. M. Driessens, Chemistry of Calcium phosphate cements, *Fourth Euro Ceram.*, 8 (1995) 77–83
74. W. E. Brown, L. C. Chow, A new calcium phosphate setting cement, *J. Dent. Resear.*, 62 (1983) 672
75. W. E. Brown, L. C. Chow, Dental restorative cement pastes, US Patent 4,518,430, May 21, 1985
76. W. E. Brown, L. C. Chow, Combinations of sparingly soluble calcium phosphates in slurries and pastes as mineralizers and cements, US Patent 4,612,053, Sept. 16, 1986
77. S. B. Goodman, T. W. Bauer, D. Carter, Norian SRS cement augmentation in hip fracture treatment. Laboratory and initial clinical results. *Clin. Orthop.*, 348 (1998) 42–50.
78. Norian Corporation, 1025 Terra Bella Ave, Mountain View, California 94043. US Patents 4-880-610
79. B. R. Constantz, B. Barr, K. McVicker, Intimate mixture of calcium and phosphate sources as precursor to hydroxyapatite, US Patent 5,053,212 October 1, 1991
80. D. D. Lee, C. Rey, M. Aiolova, T. Aliassghar, Methods and products related to the physical conversion of reactive amorphous calcium phosphate, US Patent September 12, 2000 6,117,456
81. F. C. M Driessens, M. G. Boltong, O. Bermudez, J. A. Planell, Formulation and setting times of some calcium orthophosphate cements: a pilot study, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 4 (1993), 503–508.
82. C. Durucan, P. W. Brown, a-Tricalcium phosphate hydrolysis to hydroxyapatite at and near physiological temperature, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 11 (2000) 365–71.

83. H. Haoa, N. Amizukaa, K. Odac, N. Fujiib, H. Ohnishib, A. Okadab, S. Nomurab, T. Maedaa, A histological evaluation on self-setting a-tricalcium phosphate applied in the rat bone cavity, *Biomater.*, 25 (2004) 431–442
84. B. Jokic, I. Jankovic-Castvan, Dj. Veljovic, D. Bucevac, K. Obradovic-Djuricic, R. Petrovic, Dj. Janackovic, Synthesis and Settings Behaviour of  $\alpha$ -TCP from Calcium Defficient Hyroxyapatite otained by Hydrothermal Method, *J.Optoelectronics and Advanced Mater.*, (2006), (prihvaceno za štampu).
85. M. P. Ginebra, F. C. M. Driessens, J. A. Planell, Effect of the particle size on the micro and nanostructural features of a calcium phosphate cement: a kinetic analysis, *Biomater.*, 25 (2004) 3453–3462
86. J. W. Nicholson, Chemistry of glass-ionomer cements: a review, *Biomater.*, 19 (1998) 485–494
87. M. J. Bertolini, M. A. Zaghete, R. Gimenes, R. F. Souza, L. G. Vaz, Preparation of new glass systems by the polymeric precursor method for dental applications, *J. Non-Cryst. Solids*, 344 (2004) 170–175
88. D. C. Smith, Development of glass-ionomer cement system, *Biomater.* 19 (1998) 467–478.
89. L K. A. Milne, N. J. Calos, J. H. O'Donnell, C. H. L. Kennard, S. Vega, D. Marks, Glass-ionomer dental restorative Part I: a structural study, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 8 (1997) 349– 356
90. H. K. Yipa, F. R. Taya, H. C. Ngob, R. J. Smalesb, D. H. Pashleyc, Bonding of contemporary glass ionomer cements to dentin, *Dent. Mater.*, 17 (2001) 456–470
91. K. Hurrell-Gillingham, I. M. Reaney, C. A. Millera, A. Crawford, P.V. Hatton, Devitrification of ionomer glass and its effect on the in vitro biocompatibilityof glass-ionomer cements, *Biomater.*, 24 (2003) 3153–3160
92. Y. Hibino, K. Kuramochi, T. Hoshino, A. Moriyama, Y. Watanabe, H. Nakajama, Relationship between the strength of glass ionomers and their adhesive strength of metals, *Dent. Mater.*, 18 (2002) 552–557.
93. M. G. Gandolfi, S. Chersoni, G. L. Acquaviva, G. Piana, C. Prati, R. Mongiorgi, Fluoride release and absorption at different pH from glass-ionomer cements, *Dent. Mater.*, 22 (2006) 441–449
94. D. Xie, W. A. Brantley, B. M. Culbertson, G. Wang, Mechanical properties and microstructures of glass-ionomer cements, *Dent. Mater.*, 16 (2000) 129–138
95. S. Belli, S. Inokoshi, F. Özer, P. N. Pereira, M. Ogata, J. Tagami, The effect of additional enamel etching and a flowable composite to the interfacial integrity of Class II adhesive composite restorations, *Oper. Dent.* 26 (2001) 70–75.
96. U. Lohbauer, J. Walker, S. Nikolaenko, J. Werner, A. Clare, A. Petschelt, P. Greilc, Reactive fibre reinforced glass ionomer cements, *Biomater.*, 24 (2003) 2901–2907
97. R. Guggenberger, R. May, K. P. Stefan, New trends in glass-ionomer chemistry, *Biomater.*, 19 (1998) 479–483
98. W. Chan, L. Yang, W. Wan, A. Rizkalla, Fluoride release from dental cements and composites: A mechanistic study, *Dent. Mater.*, 22 (2006) 366–373.

99. I. M. Brook, P. V. Hatton, Glass-ionomers: bioactive implant materials, *Biomater.*, 19 (1998) 565–571.
100. C. J. Kleverlaan, R. N. B. Duinen, A. J. Feilzer, Mechanical properties of glass ionomer cements affected by curing methods, *Dent. Mater.* 20 (2004) 45–50
101. A. U. J. Yapa, Y. S. Pekd, R. A. Kumare, P. Cheange, K. A. Khore, Experimental studies on a new bioactive material: HAionomer cements, *Biomater.*, 23 (2002) 955–962
102. D. Benjamin, ed., *Metals Handbook*. Vol. 03, 9th ed., Metals Park, OH: American Society for Metals, 1980, pp. 372–406.
103. H. S. Dobbs, Fracture of titanium orthopaedic implants, *J. Mater. Sci.*, 17 (1982) 2398–2340.
104. S. Lopez-Esteban, E. Saiz, S. Fujino, T. Oku, K. Suganuma, A.P. Tomsia, Bioactive glass coatings for orhopedic metallic implants, *J.Europ.Ceram.Soc.*, 23 (2003) 2921–2930
105. G. Williman, Coating of implants with hydroxyapatite-material connections between bone and metal, 1 (1999) 95–101
106. M. Wei, A. J. Ruzs, B. K. Milthorpe, C. C. Sorrell, J. H. Evans, Electrophoretic deposition of hydroxyapatite coatings on metal substrates: A nanoparticulate dual-coating approach, *J. Sol-gel Sci. Tech.* 21 (2001) 39–48
107. L. L. Hench, *Bioceramics*, *J.Am. Ceram. Soc.*, 81 (1998) 1705–1728.
108. A. Pazo, E. Saiz, A. P. Tomsia, Silicate glass coatings on Ti-based implants. *Acta Mater.*, 46 (1998) 2551–2558
109. A. Pazo, E. Saiz A. P. Tomsia, Bioactive coatings on Ti and Ti6Al4V alloys for medical Applications, In: A. P. Tomsia, A. M. Glaeser, eds., *Ceramic microstructures*, New York, Plenum Press, 1998. pp. 543–550.
110. S. Lopez-Esteban, E. Saiz, S. Fujino, T. Oku, K. Suganuma, A.P. Tomsia, Bioactive glass coatings for orhopedic metallic implants, *J.Europ.Ceram.Soc.*, 23 (2003) 2921–2930.
111. J. P. Gomez-Vega, E. Saiz, A. P. Tomsia, Structural Characterization of the metal/glass interface in bioactive glass coatings on Ti6Al4V, *Biomed. Mater. Res.*, 12 (2001) 412.
112. J. H. Chern Lin, K. S. Chen, C. P. Ju, Corrosion behavior of hydroxyapatite/bioactive glass plasma sprayed on Ti6Al4V. *Mater. Chem. Phys.*, 41 (1995) 282–289.
113. J. M. Gomez-Vega, E. Saiz, A. P. Tomsia, Glass-based coatings for titanium implant alloys, Materials Science Division, Lawrence Berkeley National Laboratory, 1998, 550–559.
114. A. I. Andrews, Porcelain enamels. The preparation, applications, and properties of enamels. Champaign, IL: The Garrad Press; 1961, 53
115. T. Oku, K. Sugunama, L. R. Wallenberg, Structural characterization of the metal-glass interface in bioactive glass coatings on Ti6Al4V, *J. Mater. Sci.*, 12 (2001) 413–417.
116. A. P. Tomsia, J. A. Pask, Chemical reactions and adherence at glass/metal interfaces: an analysis. *Dent. Mater.*, 2 (1986) 10–16.
117. D. Stojanovic, B. Jokic, Dj. Veljovic, R. Petrovic, P. S. Uskokovic, Dj. Janackovic, Bioactive glass-apatite composite coating for titanium implant synthesized by Electrophoretic Deposition, *J.Europ.Ceram.Soc.*, 27 (2007) 1595–1599.

118. Y. Tang, C. P. Tsui, Dj. Janackovic, P. S. Uskokovic, Nanomechanical properties evaluation of bioactive glass coating on titanium alloy substrate, *J.Optoelectronics and Advanced Mater.*, 8 (2006) 1194–1199
119. L. L. Hench, Bioceramics: From concept to clinic, *J.Am.Ceram.Soc.*, 74 (1991) 1487–1510.
120. J. M. Gomez-Vega, E. Saiz, A. P. Tomsia, G. W. Marshall, S. J. Marshall, A multilayer approach to fabricate bioactive glass coatings on Ti alloys, *Materials Science Division*, 1–6.
121. A. Pazo, C. Santos, F. Guitian, A. P. Tomsia, J. S. Moya, HA-bioactive glass composites:high temperature reactivity and in vitro behaviour, *Scripta Materialia*, 34 (1996) 1729–173
122. C. Vitale-Brovarone, E. Verné, L. Robiglio, P. Appendino, F. Bassi, G. Martinasso, G. Muzio, R. Canuto, Development of glass-ceramic scaffolds for bone tissue engineering: Characterisation, proliferation of human osteoblasts and nodule formation, *Acta Biomaterialia* 3 (2007) 199–208.
123. E. Saiz, L. Gremillard, G. Menendez, P. Miranda, K. Gryn, Preparation of porous hydroxyapatite scaffolds, *Materials Science and Engineering: C*, Volume 27, Issue 3, 2007, 546–550
124. H. Chim, D. W. Hutmacher, A. M. Chou, A. L. Oliveira, R. L. Reis, T. C. Lim, J. T. Schantz, A comparative analysis of scaffold material modifications for load-bearing applications in bone tissue engineering, *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 35(10) (2006) 928–934.

---

## POLIMERNI MOLEKULI I BIOMATERIJALI<sup>1</sup>

Polimeri čine jednu od tri osnovne grupe materijala, gledano sa fundamentalnog stanovišta hemijskih veza koje dominiraju njihovom stруктуром. Za razliku od metalne i jonskih veza kod druge dve osnovne grupe materijala, kod polimera su dominantne kovalentne veze. Relativni iznos prostora u kome elektroni koji grade ove veze menjaju položaj, s obzirom na njihove kvantne karakteristike, vrlo je ograničena. Iz toga se odmah mogu izvesti zaključci o slaboj električnoj i toplotnoj проводљивости која карактерише полимерне материјале као и о неким njihovim optičkim i механичким карактеристикама. Међутим, veliki broj atoma koji grade polimerne molekule, njihova lančasta структура i različiti начини просторне организације, znatno otežavaju ovakvo доношење заклjučака о својствима, на основу првих principa.

Većina polimernih molekula može se shvatiti kao mikro-termoдинамиčки sistemi, sastavljeni od dovoljno velikog broja elemenata da se svojstva samih molekula a pogotovo materijala, određuju kao *neto* efekti mnogobrojnih i složenih interakcija, statističkim metodama [1]. Tako механичке карактеристике (које зависе од gustine unutrašnjih polja interakcija) u takvom mikro-termoдинамиčkom систему a pogotovo u materijalu као целини, могу веома да варирају за хемијски исту supstancu. На primer, данас се од од поли(етилена) могу правити материјали из групе најслабијих (нпр. ambalažне кесе и фолије за једнократну upotrebu) и групе најјачих (нпр. specijalna vlakna i zaštitni šlemovi oko 10 puta јачи од челика, нормирено на масу материјала). Овако изузетна својства као и generalno mala gustina polimera, njihova otpornost на корозију i otpornost на udar (што су нпр. слабе таčке метала u prvom i keramike u drugom slučaju) od velikog су значаја u savremenoj tehnici. Proizvodnja sintetskih polimera која започинje oko 1910. godine за nepunih 100 godina koliko je protekло (што је веома мало u односу на hiljade godina razvoja keramike i metala), достигла је највећу stopu rasta ne само u хемијској industriji već u bilo kojoj industrijskoj i занатској proizvodnji do sada.

Ipak, zavisnost savremenih tehnologija па и brzo uspostavljena vezanost savremenih životnih navika за polimere која poprima civilizacijski karakter, nosi

---

<sup>1</sup> Ovo poglavlje napisao je Milenko Plavšić.

i opasnosti jer je današnja proizvodnja polimera uglavnom bazirana na nafti kao sirovini. Međutim, iscrpljivanje rezervi nafte ne mora da dovede do propasti proizvodnje savremenih polimernih materijala jer se polimeri takođe nalaze u prirodnim, obnovljivim sirovinama biljnog i životinjskog porekla. Upravo taj aspekt ih vezuje i za nastanak i razvoj biomaterijala. Očigledne su činjenice da čovek već hiljadama godina pokušava da raznim materijalima zameni delove ili oštećene funkcije organizma. Ipak tek su razvoj sintetskih polimera i širenje njihove upotrebe u savremenoj civilizaciji doveli do definisanja pojma bioinertnosti, biodegradabilnosti i biokompatibilnosti, pa i formalnog nastanka termina „biomaterijali“ pre nekih 50 godina.

U ovom tekstu će stoga biti prikazani kako primena polimera i njihovi udeli u savremenim biomaterijalima, tako i bazni principi strukture polimernih molekula i materijala i njihovih veza sa svojstvima. To je neophodno za razumevanje mogućnosti njihove upotrebe, razvoja i kreiranja novih rešenja u polimernom inženjerstvu kako makromolekula tako i materijala uopšte [2–6].

## 19.1 POLIMERNI INŽENJERING

Opis razvoja materijala istorijskim praćenjem baznih otkrića ima prednosti koliko i nedostataka. Koliko su ova otkrića uticala na razvoj civilizacije govori činjenica da su pojedine epohe nazvane po materijalima čija je proizvodnja ili prerada tad otkrivena npr. bronzano doba, gvozdeno doba itd. Neki autori 20. vek nazivaju doba plastike, želeći da naglase veliki uticaj ovih novih polimernih materijala na svakodnevni način života, ali i civilizacijske navike savremenog čoveka i pored istovremene visokog stepena razvoja i uticaja drugih naučnih oblasti i tehnologija. Ali ovo otkriće sinteze plastičnih masa i kaučuka iz petrohemijских sirovina u 20. veku ne znači da polimerni materijali nisu prisutni u tehnici i društvenoj prizvodnji opšte gledano, već mnogo godina.

U drevnom Egiptu u doba kad je započinjala i proizvodnja gvozdenih materijala, neke od mumija premazivane su sokom biljke *Liquidambar orientalis* koja i danas raste u Maloj Aziji. Ovaj sok se na vazduhu pretvara u čvrstu smolu i zovu ga stiraks ili balsam. Danas znamo da je taj sok bogat stirenom koji polimerizuje na vazduhu u zaštitnu prevlaku sličnu mnogim proizvodima od plastičnih masa na bazi stirena dobijenog iz krekovane nafte, koje srećemo svuda oko nas. Drevno pleme Maja otkrilo je da sok *Hevea brasiliensis* na vazduhu daje gumaste materijale, od kojih su pravili lopte korišćene u verskim ritualima ali kasnije i kao materijale u domaćinstvu. Par takvih lopti doneo je Kolumbo u Evropu. Kortez je zabeležio da su Acteci primili ove drevne tehnologije od Maja, a neke indijanske lepotice su mu rekle da su sačuvale svoje sjajne zube žvakanjem gume od sličnih materijala (baš kao u reklamama za savremene žvakaće gume). Lakovi za prepariranje i ukrašavanje drveta u drevnoj Kini pravili su se od polimera dobijenih od insekata i bilja, a životinjski lepkovi, svila, vuna i koža kao i pamuk i drvo su prirodni polimerni materijali. Razni celulozni materijali korićeni su u starom Egiptu još pre pronalaska

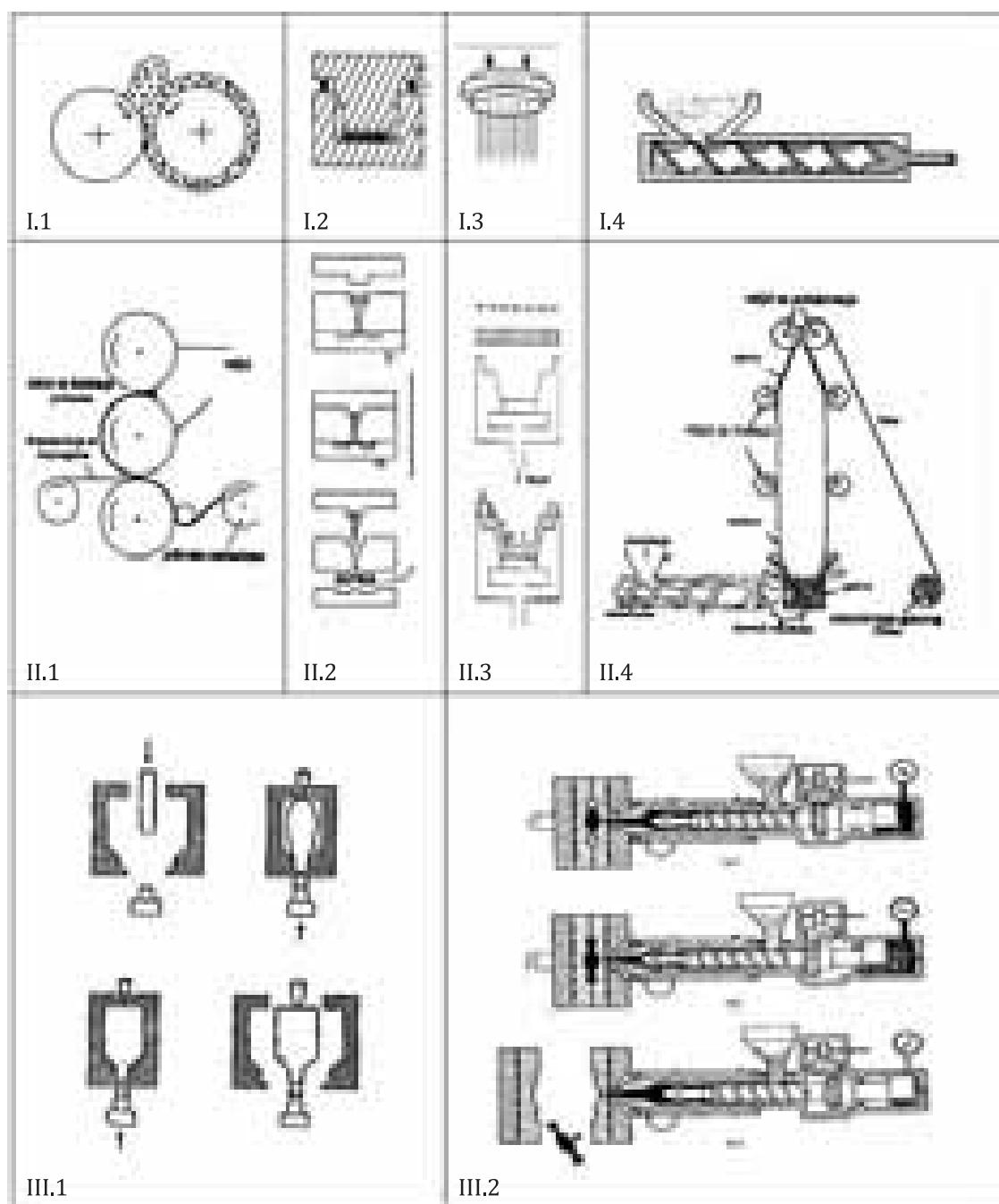
točka, i izgleda da su igrali značajnu ulogu u tadašnjoj tehnici za građevinske i poljske radove a kroz milenije u antičkim zanatima i srednjevekovnim manufakturama sve do danas u raznim granama inženjerstva.

Razmatranje svih navedenih činjenica neizbežno nameće nekoliko fundamentalnih pitanja: (a) Zašto su se plastične mase ili šire gledano odgovarajuća klasa polimernih materijala javili tako kasno? (b) Koliko su doprinela razvoju ovih materijala naučna otkrića a koliko potrebe i napor industrije? (c) Koliko su ovi materijali stvarno uticali na društveni prosperitet u poređenu sa drugim klasama materijala? (d) Zašto plastiku i danas prate atributi manje kvalitetnog ali jeftinog materijala odnosno manje vrednog materijala u odnosu na neke tradicionalno cenjene metale, porcelanske keramike itd.? (e) Do koje je mere koincidencija u otkrićima i napretku polimernih materijala sa naprecima u drugim oblastima (npr. biomaterijalima) slučajnost, a koliko plod dubljih zakonitosti razvoja? (f) Kakva je budućnost industrije polimera s obzirom da ona danas bazira na petrohemijskim sirovinama?

Pažljiva poređenja izvora sa današnjim iskustvom ukazuju da se od rađanja prvih hemičarskih ideja u drevnom Egiptu (doduše u senci raznih rituala), pa preko sačuvanih zapisa alhemičara, pionirskih poduhvata industrijske revolucije i početaka modernog inženjerstva, srećemo sa podacima koji indirektno govore o polimerima. Oni se mogu podeliti u dve grupe. Prvu grupu čine podaci o eksperimentima u kojima se polimeri javljaju kao nusproizvodi: kao nerastvorni talozi ili nestabilni gelovi. Ovi talozi su opisani kao neizmenjive i nepreradive supstance, inertne na poznata hemijska dejstva, pa su stoga prosto mehanički uklanjani iz sistema i bacani. S druge strane, gelovi su opisani kao produkti veoma promenjivih svojstava koji ne odgovaraju niti tečnostima niti čvrstim materijalima, pa ih je veoma teško definisati a nemaju cene karakteristike za materijale tog doba (osim izvesne lekovitosti). Uprkos napretku organske i fizičke hemije i razvoju metode razdvajanja (npr. destilisanjem) i prečišćavanja (npr. prekristalisanjem), određivanja molekulske mase i niza drugih parametara, sve je to bilo neupotrebljivo za ovakve sisteme.

Drugu grupu čine pokušaji u već razvijeno doba industrijske proizvodnje, da se sintezom ili modifikovanjem materijala dobiju produkti koji bi odgovarali i nadoknadiли sve veću nestaćicu prirodnih polimernih materijala ili polimernih kompozita (svile, kože, slonove kosti itd.). Uspešni pronašlači u drugim oblastima, kakvi su Parkes (mesing) ili kasnije Bekeland (fotografska ploča), nisu odoleli ovakovom izazovu. Tako su npr. nastale prve gumirane ili bolje rečeno nepromočive tkanine-impregnirane polimerom i bakelitni češljevi, ukrasi i izolacioni delovi za priključke u električnu mrežu. Ovako modifikovani polimerni materijali nalazili su sve širu primenu u tehnici, upravo u tada novim oblastima što je opet podstaklo razvoj gumarstva, posebno istraživanja Gudjira i Henkoka. Rađale su se nove tehnologije i nova industrijsaka oprema za njih. Na Sl. 19.1 u prvom redu tabele prikazane su mašine bazirane na 4 osnovna idejna rešenja prerade polimernih materijala, čiji su principi razvijeni u to doba: oblikovanje polimernih materijala valjanjem (I.1), presovanjem u kalupe (I.2), livenjem ili izvlačenjem (I.3) i ekstruzijom (I.4).

Razvoj ovih tehnika uzvratio je podršku koju je dobio od tadašnjeg inženjerstva novim beneficijama za čovečanstvo. Tako je razvoj ekstrudera u gumarstvu omogućio postavljanje prvog telegrafskog kabla ispod kanala Lamanš. Neke od tih



SLIKA 19.1 Osnovni postupci prerade polimera (objašnjenje u tekstu)

beneficija koristimo i danas. Kombinacija elastičnih i gaso-nepropustljivih svojstava gume, omogućila je razvoj gumenih obloga na točkovima i podstakla dalji razvoj automobilske industrije. Kombinacija elastičnih i vodootpornih svojstava gume omogućila je zaptivanje vodovodne i drugih infrastrukturnih mreža i savremeni

konfor pa i opstanak u velikim gradovima. Kombinacija elastičnih i elektroizolacionih svojstava gumastih obloga bila je neophodna za razvoj savremene električne mreže.

Ali, objektivno gledano, kvalitet i izgled mnogih od prozvoda koji su bili prvi cilj ovog inženjerskih napora nije ostvaren. Dobijene analoge bile su daleko ispod kvaliteta i lepote navedenih prirodnih polimernih materijala. Mnogi naporci u razvoju tehnike prerade nisu poboljšavali, nego su čak pogoršavali kvalitet proizvoda. Sintetski kaučuci proizvedeni kao rekonstrukcija hemijskog sastava i očekivanih svojstava na osnovu eksperimentalne analize prirodnog kaučuka i primene opštih hemijskih principa na projektovanje sinteza, daleko su zaostajali za njim u industrijskim kvalitetima prerade i primene u proizvodima. Mnoga svojstva gelova i dalje su bila neobjašnjiva. Kako sve to objasniti? Opisani razvoj uglavnom je bazirao na empiriji. Osnovna struktura ovih materijala nije bila jasna. Očigledno, bio je potreban visok nivo hemije i inženjerskih znanja da bi čovek manipulisao i definisao ovakve sisteme, i shvatio da su i vitalni delovi njegovog organizma načinjeni upravo od ovakvih molekula. Polimeri ne predstavljaju pod-oblasc u koju se mogu smestiti supstance sa anomalnim ponašanjem u odnosu na tada razvijene bazne principe organske i fizičke hemije. Oni predstavljaju jedan od tri osnovna vida u kome se javlja svet na molekulskom nivou. To zahteva duboko razumevanje građe makromolekula. Kad je taj nivo znanja dostignut razvojni događaji počeli su da se ređaju velikom brzinom.

Ipak, posle tako dugog perioda teškoća i inercije trebalo je imati veliku i naučnu i tehničku širinu znanja da se prepozna taj trenutak, kao i ljudske hrabrosti za veliki zaokret. Otuda je razumljivo da je samo nekoliko ljudi tada shvatilo da je nastupio kritični momenat za otvaranje jedne nove oblasti, a među njima su nesumnjivo Staudinger, Karoders i Flori. Isto je tako razumljivo da su se ova istovremena istraživanja, kako bazne strukture tako i veze sa inženjerskim problemima, odvijala paralelno na čuvenim univerzitetima i industrijskim centrima odnисно velikim hemijskim kompanijama kao Du Pont, ICI, I.G. Farben-Industrie. Visok nivo drugih, posebno tehničkih disciplina u 20. veku koje su pružile podlogu ovim istraživanjima, kao i aktiviranje empirijskih znanja akumuliranih kroz pomenuti niz godina, omogućili su ovaj brzi napredak. S druge strane, visoki kvalitet i neka neobična i do tada neostvariva svojstva (postignuta npr. u radu pomenutih naučnika) kod pojedinih materijala već u prvim godinama, podstakla su širenje interesa u naučnim kao i u tehničkim krugovima za dalja ekstenzivna istraživanja ovih materijala i njihovih mogućih primena. Jedan od primera je polimer koji je poslužio već prvih godina za izradu „nevidljivih“ odn. providnih čarapa i izazvao veliko uzbuđenje na tržištu, posebno ženske publike. Ali isti materijal je odmah zatim iskorišćen za izradu ležišta u mašinstvu koja ne treba podmazivati, tzv. „samopodmazujućih“ ležišta, kao i izradu tzv. „bioinertnih“ medicinskih konaca i katetera kao i izolacija za električne uređaje (o čemu će još biti reći). Bio je to veliki izazov kako za istraživače tako i za industriju. S druge strane, mnogi hemičari su shvatili da je broj organskih molekula sa grupama koje omogućavaju polimerizaciju (kao i molekula za koje se mogu vezati ovakve grupe) relativno veliki (kod neorganskih molekula taj broj je mnogo manji). Ovakva jedinjenja otvaraju mogućnosti za sintezu sasvim novih polimera odn.

limera kakvi ne postoje u prirodi, pa se samim tim mogu očekivati od njih i sasvim nove osobine. Tako se broj novosintetizovanih polimera neprestano povećavao.

Ova dva suprotna trenda u razvoju polimernih materijala, čiji su se nagovestaji javili već u prvim godinama po definisanju polimerne strukture, imaju duboke korene. Oni leže upravo u tumačenju te strukture i novim inženjerskim pristupima kreiranju materijala. Već pomenuta izuzetna svojstva polimernih materijala za modernu tehniku, učinila su neke od polimera kao poli(etilen) i stiren-bitadienski kaucuk (SBR) strateškim materijalima u Drugom svetskom ratu To je dalje omogućilo podizanje značajnih industrijskih kapaciteta i usavršavanje tehnologije proizvodnje (npr. emulzionale polimerizacije za dobijanje SBR). U narednom periodu razvoja proizvodnje polimera 1950-ih, pored pomenutih potencijala u naučnim otkrićima i ekonomski faktori su odigrali značajnu ulogu. Ubrzo je postalo jasno da već podignuti kapaciteti i razvijene tehnologije mogu da opstanu a polimerni materijali zauzmu odgovarajuće mesto, ako se tržištu ponude jeftini proizvodi za masovnu upotrebu od ovih materijala. U prilog tome govorilo je više faktora: pored već pomenutih izuzetnih svojstava, to su bile jeftine naftne sirovine i lako oblikovanje proizvoda od polimera. Tako npr. termoplasti mogu da se pretope kao i metali, ali na temperaturama za oko  $1000^{\circ}\text{C}$  nižim od odgovarajućih metala, što sve olakšava i pojednostavljuje preradu. Pored toga, većina njih se i rastvara u organskim rastvaračima. Tržište je bilo gladno za proizvodima za masovnu potrošnju, npr. lako dostupnom i higijenski zaštićenom hranom u urbanim sredinama, jeftinom odećom i obućom, priborima za olašavanje rada u domaćinstvu i gradnju novih stanova i porušenih gradova. Za sve to mogli su da posluže polimerni materijali. Osnovnu teškoću predstavljali su složeni i skupi postupci industrijske sinteze polimera. Podizanje postrojenja za sintezu novih i sve složenijih po sastavu polimera dalje bi povećalo ove troškove. S druge strane, mogućnosti proizvodnje što šireg spektra proizvoda od istog osnovnog materijala znatno bi snizile troškove po jedinici mase proivedenog polimera. To bi se realizovalo povećanjem kapaciteta istih postrojenja uz primenu sve veće automatizacije pogona u to doba. Ali uz dodatni odgovor: kako od istog osnovnog polimera načiniti jeftine materijale za jednokratnu upotrebu, i visoko kvalitetne materijale upotrebljive u mašinskim konstrukcijama, medicini i građevinarstvu.

To je zahtevalo kako duboko poznavanje fizičko-hemijskih zakonitosti polimerne strukture tako i inženjerskih metoda delovanja na materijal i menjanja njegove strukture. Trebalo je detaljno ispitati ta nova i neobična svojstva ovih materijala, okarakterisati ih adekvatnim parametrima, i razviti metode za precizno određivanje tih parametara. Dalje, trebalo je s jedne strane povezati te parametre sa već uobičajenim veličinama u tehnici, radi lakše primene polimera u raznim inženjerskim disciplinama, a s druge strane povezati ih sa molekulskim modelima polimernog ponašanja da bi se računski predvidelo i vremenski procenilo ponašanje novih materijala u novoj inženjerskoj primeni. Primera radi, pored podele modula materijala po geometriji deformisanja (modul istezanja, modul smicanja, modul kompresije), postavlja se pitanje koliko je modula potrebno definisati zavisno od vremenskih promena deformacije, a sve to s obzirom na izraženu viskoelastičnost polimera. Dalje, kako povezati ove module sa standardnim kvalitetima u klasičnom inženjerstvu, kao što je postojanost oblika proizvoda (eng. stiffness) i ži-

lavost materijala (eng. toughness), i kako kvantifikovati već pomenutu lakoću prerade materijala (eng. processability). Ubrzo je postalo jasno da pri preradi polimernih materijala u proizvode, ne samo da im dajemo oblik već menjamo i strukturu u širokom opsegu – bili toga svesni ili ne. Na primer, različitim brzinama hlađenja materijala (posebno zbog uštete u vremenu trajanja proizvodnog ciklusa u industriji) kod nekih polimera bitno menjamo kristaliničnost, a time i svojstva naizgled istog prizvoda. Promenom brzina smicanja pri tečenju i izvlačenju materijala menjaju se orientacija i ravnotežna konformacija lanaca, što dalje ostaje „zapamćeno“ u njemu. Primeri za to su procesi u drugom redu Sl. 19.1 (tj. II.1–4). Ovako duboko ulaženje u molekulsku strukturu nije bilo uobičajeno u tehniči. Ova nova disciplina koja detaljno ulazi u strukturu polimernih materijala (i dalje u ciljno menjanje te strukture – strukturiranje polimera u sintezi i preradi), kao i u inženjersku primenu tako ostvarenih svojstava, nazvana je *polimerno inženjerstvo*. Ovakva kombinacija teorijskih pristupa i industrijskih razvojnih istraživanja ponoviće se kasnije u razvoju tzv. „visokih tehnologija“ u raznim oblastima modernog inženjerstva, pa neki smatraju polimerno inženjerstvo prvom „visokom tehnologijom“. Kao ilustracija ostvarenih rezultata, može se navesti već pomenuti primer poli(etilena) gde se od supstance istog hemijskog sastava prave najslabiji i najači materijali u tehniči (računato po jedinici težine) kako je opisano u uvodnom delu, kao i stopa rasta industrije polimera do tada nezabeležena u svetu. Kapaciteti industrijske proizvodnje desetak polimera neprestano rastu od čega posebno veliki ideo ima proizvodnja tzv. velike četvorke: poli(etilen) (PE), poli(propilen) (PP), poli(vinil-hlorid) (PVC) i poli(stiren) (PS). Katalitički efekti otkriveni 1950-tih omogućili su stereoregularnu sintezu poliolefina i dalju visoku inženjerizaciju proizvodnje polimera kako kroz čitav niz generacija katalizatora i odgovarajuće usavršavanja sinteze, tako i kroz dalje dizajniranja materijala iz ovako „skrojenih po želji“ molekula. Tekst koji sledi baviće se najvećim delom tumačenjem zavisnosti strukture i svojstava polimernih materijala, neophodnih kako za dizajniranje polimera kao biomaterijala tako u polimernom inženjerstvu uopšte [3–5].

Ovde treba dodati da je i drugi pomenuti pristup razvoju sintetskih polimera dao plodne rezultate. Ovaj pristup baziran na variranju sastava lanaca, posebno aktivnih grupa, hemiskim i bio-hemijskim metodama sinteze, našao je posebnu primenu u modifikovanju biopolimera u vidu tzv. genetskog inženjeringu pa i fino strukturiranje polimera uopšte kroz tzv. molekulski inženjering.

## 19.2 OSNOVNI POJMOVI

Polimeri su lančasti molekuli velike molarne mase, koji se sastoje od mnogo jednakih delova (što je analogno karikama u lancu). Otuda njihov naziv poli-mer (grčki πολι – mnogo, μερός – deo). Ovi delovi tj. meri se mogu razlikovati po sastavu. Tako u lancu može da se javi samo jedan tip ili nekoliko tipova mera koji se ponavljaju mnogo puta. Molekuli kod kojih se javlja samo jedan tip mera nazivaju se homopolimeri, a za dva i više tipova kopolimeri. Mali molekuli čijom ugradnjom na-

staju meri nazivaju se monomeri. Broj i vrsta atoma u monomeru i meru mogu biti identični, ali je razlika u hemijskim vezama. Kod nekih polimera meri se razlikuju po broju atoma od monomera, i otud nazivaju monomerni ostatak. Ukoliko su lanci kratki (obično par desetina mera) nazivaju se oligomeri. S druge strane, ukoliko su meri sastavljeni od velikog broja atoma, nazivaju se makromonomeri. Neki polimerni lanci nastaju od oligomernih lanaca koji imaju reaktivne grupe na krajevima. Ovi oligomeri nazivaju se pretpolimeri. Ako se u atomskoj građi lanca određen broj grupa i veza među njima stalno ponavlja, tu najmanju celinu koja se ponavlja nazivamo osnovni motiv lanca. Osnovni motiv po broju atoma može biti veći, jednak ili manji od mera. Na krajevima lanca prirodno dolazi do promene u sastavu osnovnog motiva, i to nazivamo krajnjim grupama. Stepenom polimerizacije naziva se broj karika koje čine lanac. To se može ilustrovati jednostavnim primerom u kome se  $n$  mera reda u nizu i gradi tzv. gladak lanac:



gde A označava monomer,  $(-A-)$  je mer, dok su  $A'$  i  $A''$  karike na krajevima lanca koje su modifikovani monomerni ostaci, a  $x$  je stepen polimerizacije. U ovom jednostavnom slučaju generisanja lanca je  $n=x$ . O složenijim slučajevima biće reči kasnije.

Na primer, u organskoj hemiji (a ogromnu većinu polimernih lanaca za koje danas znamo grade atomi ugljenika) mali molekuli neke supstance definišu se određenim brojem i vrstom atoma, kao i tipom i prostornom organizacijom veza među njima. Odatle sledi i tačno definisana masa molekula kao osnovni parametar u hemijskim i inženjerskim proračunima. Međutim, kod polimera stepen polimerizacije, pa time i masa pojedinačnih lanaca, mogu da se razlikuju – a oni se ipak smatraju istom supstancom. Razlog je jednostavan. Ovi molekuli su toliko veliki da razlike u broju karika u lancu, do određenog nivoa, ne utiče bitno na svojstva materijala. Ove razlike u stepenu polimerizacije nazivaju se polidisperznost lanaca. Ali, ovi stavovi nameću i potrebu definisanja novih parametara za rad sa ovakvim supstancama. Tako su uvedeni stepeni polimerizacije usrednjeni po broju i težini. Ako odredimo koliki je broj molekula u sistemu koji imaju određeni stepen polimerizacije i to saberemo po svim postojećim stepenima polimerizacije u tom sistemu i normiramo po ukupnom broju molekula, dobićemo srednji stepen polimerizacije usrednjen po broju molekula. To je u stvari usrednjeni zbir stepena polimerizacije po datim udelima lanaca u sistemu. Ako pak odredimo kolika je masa lanaca sa datim stepenom polimerizacije i to normiramo po ukupnoj masi sistema, dobićemo njegov stepen polimerizacije usrednjen po masi molekula. Odavde se lako izvode molarne mase datog polimera usrednjene po broju tj.  $\bar{M}_n$  i težini molekula tj.  $\bar{M}_w$  koje se izračunavaju po formulama:

$$\bar{M}_n = \frac{\sum n_i M_i}{\sum n_i} \quad \text{i} \quad \bar{M}_w = \frac{\sum w_i M_i}{\sum w_i} \quad (19.2)$$

gde je  $n_i$  broj lanaca iste dužine koji čine frakciju  $i$ ,  $M_i$  masa jednog lanca u frakciji  $i$ ,  $w_i$  masa frakcije  $i$ . Odnos  $PI = \bar{M}_w / \bar{M}_n$  naziva se indeks polidisperznosti.

Već nekoliko navedenih parametara omogućavaju da se izvede niz korisnih zaključaka o materijalu za koji su određeni. Veće dužine lanaca, odnosno veće molarne mase, obezbeđuju veći broj interakcija i verovatnoću prepletaja kod gipkih lanaca u materijalu. To mu daje veću čvrstoću i elastičnost kao i niz drugih svojstava. S druge strane, tečljivost rastopa ovakvih materijala drastično opada kad lanci postanu jako dugi, što otežava oblikovanje materijala u finalne proizvode. Stoga se traže kompromisne vrednosti ovih parametara, koje optimizuju dati skup svojstava. Tipične vrednosti za linerane polimere koji se danas koriste za biomaterijale jesu za  $\bar{M}_n$  u opsegu 25.000 do 100.000 relativne molekulske mase, što skraćeno pišemo RMM. To je masa molekula podeljena jednom dvanaestinom mase ugljenika  $^{12}\text{C}$ . Optimalna  $\bar{M}_w$  je u opsegu 50.000 do 300.000. Sledi da indeks polidisperznosti može jako da varira npr. od oko 1 do preko 50. U idealnom slučaju kada su svi lanci iste dužine, lako se vidi iz jednačine (2) da je  $PI = 1$ . Variranje indeksa polidisperznosti pruža dodatnu slobodu u dizajniranju polimernih materijala. Veća polidisperznost obezbeđuje npr. bolju preradljivost. Objašnjenje ovog fenomena u osnovnim crtama leži u činjenici da su kraći lanci lakše pokretljivi u rastopu i služe kao „podmazivači“ pri kretanju dužih lanaca ili njihovih agregata.

Kao što se vidi, primena statističkih usrednjenja strukturnih parametara i njihovi odnosi, veoma su važni u raznim granama nauke o polimerima. Takođe se iz predhodno izloženog nameće i pitanje: do koje su mere dozvoljena druga variranja u strukturi polimernih molekula (osim dužine lanaca) a da se oni mogu smatrati istom supstancom? Kratko rečeno, i ovde se mogu primeniti isti statistički principi i ispitati stepen odstupanja od traženih svojstava materijala ili molekula uopšte. Opaženo je da je identitet pojedinačnog molekula u odnosu na supstancu više vezan za pravilnosti u građi, posebno u ponavljanju motiva u lancu, nego u veličini molekula. Ove motive treba shvatiti u širem strukturnom smislu tj. oni mogu da budu konstitutivni, konfiguracioni i konformacioni.

Konstituciju lanaca čini njihov hemijski sastav. Osnovni motivi kod kopolimera mogu da se ređaju po slučajnom redosledu u lancu, i takvi molekuli se nazivaju statističkim kopolimerima. Pored statističkih, razlikujemo alternirajuće, kalemljene i blok kopolimere. Kod alternirajućih koplimera sa dva tipa mera, oni se ređaju u lancu naizmenično. Kod blok kopolimera, javljaju se kao motivi veći broj mera iste vrste povezanih u blok, a dva ili više ovakvih blokova smenjuju se u lancu. Kod kalemljenih kopolimera, na osnovni lanac jednog tipa građe, vezuju se bočni lanci drugog tipa građe.

Konfiguracija lanca je raspored njegovih karika u prostoru koji se ne može menjati bez raskidanja hemijskih veza. Tačnije, konfiguracije odgovaraju mogućim formama uspostavljanja kovalentne topološke organizacije (odn. prostornog vezivanja) elemenata lanca. Na primer, kod dva mera ugrađena u lanac vinilnih polimera opšte formule -(CH<sub>2</sub>-CHR-)<sub>x-2</sub> grupa R može se javiti sa iste ili različitih strana lanca (posmatrano za lanac razvijen u jednu ravan). Vinilni lanci kod kojih su sve bočne grupe sa iste strane lanca (u predhodnom smislu), nazivaju se izotaktni lanci. Vinilni lanci kod kojih se bočne grupe naizmenično ređaju sa različitim strana, nazivaju se sindiotaktni lanci. Vinilni polimeri kod kojih se bočne grupe ređaju sa jedne ili druge strane po slučajnom redosledu, nazivaju se ataktni lanci [3,6,7,9].

Konformacija lanaca je prostorni raspored njihovih elemenata koji se može menjati bez raskidanja kovalentnih veza lanca, tj. menjaju se rotacijom oko jednostruktih veza. Tipični konformacioni motiv je spiralna, npr. spiralno uvijen ceo vinilni lanac ili njegovi delovi uvijeni u spirale tako da voluminozne bočne grupe štrče iz nje, i time izazivaju najmanje sterne smetnje u molekulu [1–3, 7–11].

Od pravilnosti ređanja konstitutivnih, konfiguracionih i konformacionih motiva, zavise mnoge interakcije u lancu i materijalu kao celini i time niz svojstava. Na primer, formiranje polimernih kristala direktno je uslovljeno regularnim ređanjem motiva sva tri tipa. Poznavanje mehanizama konformacionih promena lanca uslov je za predviđanje svojstava i molekulsko inženjerstvo polimera, npr. poznavanje dipolnih karakteristika i tenzora polarizabilnosti lanca omogućava predviđanje kohezionih i optičkih svojstava, dielektričkih i reakcionih karakteristika itd. [1, 3–5, 7–11]

Javljanje opisanih motiva, odnosno pravilnosti u građi lanaca, duboko je povezano sa načinom njihove sinteze odnosno zakonitostima nastanka. Hemijske reakcije kojima se molekuli monomera povezuju u polimerne molekule, nazivamo jednostavno reakcije polimerizacije. Razlikujemo dva osnovna mehanizma po kojima se one odvijaju. Jedan je spajanje aktiviranih centara na monomerima (sparivanjem ili izmenom eksitiranih elektrona) preko novih kovalentnih veza, koje povezuju ovako izmenjene monomere u lanac. Sama reakcija je kinetički gledano sukcesivnog tipa, sa mnogo istih koraka vezanih za isti aktivni centar. To je poseban tip lančane reakcije, pa se i ovaj tip polimerizacije u celini naziva lančana polimerizacija. Drugi tip su reakcije polikondenzacije monomera. One su vrlo slične reakcijama kondenzacije kod malih organskih molekula. Ovde je uslov da monomeri imaju bar dve aktivne grupe na krajevima tj. da budu dvofunkcionalni. Reakcijama odgovarajućih grupa monomera nastaju nove grupe koje postaju deo kovalentnog lanca, a izdvajaju se i nus-produkti u vidu malih molekula koji se u principu uklanjuju iz reakcione smeše. Ovaj tip polimerizacije naziva se reakcija polikondenzacije. Kinetički gledano, to su stupnjevite reakcije pa se nazivaju i stupnjevite polimerizacije, o čemu će biti detaljnije reči kasnije. Reakcije polimerizacije nisu retke, javljaju se u prirodi a hemičari su ih nesvesno izvodili stotinama godina pri raznim eksperimentima koji su imali drugi cilj. Prema ostavljenim zapisima, uglavnom su dobijali pri tim eksperimentima nerastvorne taloge u laboratorijskim posudama, koje su bacali ne mogavši da protumače da je došlo da reakcija koje smo opisali u prethodnom tekstu. Početkom 20. veka nekoliko hemičara uspelo je da iz ovakvih taloga izdvoji materijale slične prirodnom kaučuku i životinjskim kostima, i da razvije empirijske postupke njihove sinteze. Prve egzaktne radove o sintezi polimera objavili su 1920-ih Staudinger (o lančanoj polimerizaciji) radeći u Evropi i Karoder (o polikondenzaciji) radeći u Americi, a prve precizne definicije polimerne strukture dao je Flory radeći kao mlad fizikohemičar u grupi Karodera. Ovde treba dodati da su prvi Staudingerovi radovi naišli na nerazumevanje njegovih kolega i vrlo oštru kritiku od strane nekih vodećih hemičara tog vremena. Teško se probijala ideja da postoji klasa tako velikih molekula neobičnih svojstava, i da oni nastaju pri postupcima vrlo sličnim dobijanju običnih organskih molekula. Na žalost, njegovo hrabro za-stupanje tih novih ideja donelo mu je lično niz neprijatnosti u tom periodu. Pristupi

Karodersa i Florija bili su u mnogome komplementarni. Zajednički rad ova dva velika naučnika u tom periodu je urođio posebnim sinergizmom. Zahvaljući tome iz njihovih istraživanja usmerenih na fundamentalna pitanja egzistencije polimerne supstance proizišli su ne samo hemičarima očigleni dokazi da takvi molekuli postoje, već i komercijalni materijali načinjeni u njihovoј grupi u velikoj hemiskoj firmi Dipon, kao što su nylon-6,6 i hloroprenski kaučuk, teflon i polilaktid. Svaki od njih i danas spada u vrhunske materijale u svojoj klasi. Dobro postavljeni teorijski osnovi i ovi praktični rezultati dali su snažan podstrek za nagli razvoj nauke i industrije polimera, o čemu je već bilo reči u uvodnom delu.

Do sada je uglavnom bilo reči o lančastom karakteru polimernih molekula. Međutim, posmatrajući strukturu ovih molekula u celini, treba naglasiti da se oni mogu sastojati od jednog ili više lanaca. Polimerni lanci mogu biti razgranati ili glatki, tj. bez bočnih grana. Ako su grane duge, one takođe imaju karakter polimernih lanaca, tako da se najduži lanac naziva osnovni lanac a grane se nazivaju bočni lanci. U principu struktura osnovnog i bočnih lanaca odnosno grana je ista. Međutim, neki monomeri pri polimerizaciji ne grade lance već trodimenzionalne (3D) mreže, čiji segmenti između čvorova mreže imaju lančastu strukturu. Takođe, veze među atomima u lancu imaju u principu kovalentni karakter, ali to ne znači da polimeri imaju isključivo kovalentnu strukturu. Helati, kao što je npr. poli[nikal-bis(8-hidrohino-lin)], i elektron-deficitarne strukture, kao berilijum-hlorid, grade polimerne lance. Idući ovom logikom dolazi se brzo do primera kao što su koordinacione rešetke, kod nekih neorganskih jedinjenja. Ako se one shvate kao polimerne strukture, pojam polimer počinje jako da se širi i postaje „difuzan“. Tada je teško utvrditi precizne fizičkohemijske zakonitosti kojima se karakteriše cela grupa. Stoga je u svojim definicijama Flori pošao od lanca kao osnovne polimerne strukture, čije se bočne grupe odn. razgranatost ne ponavljaju regularno, a dužina segmenata između čvorova grananja ili dužina zatvorenih, prstenastih lančastih struktura, jeste mnogo veća od veličine atoma ili grupe koje čine njene osnovne gradivne elemente. Kako su kasnije istakli mnogi autori [3, 5, 6, 12, 13], ovim su izbegnute mnoge zamke i zablude izazvane primerima i svojstvima iz graničnih oblasti nauke o polimerima, i omogućen pomenuti brzi razvoj struke.

Iz svega predhodno rečenog sledi da za izgradnju lančanih struktura nije neophodan ugljenik, već postoje polimerni lanci neorganske strukture. Staudinger je u početku verovao da je hemija polimera samo (mali) deo organske hemije, odnosno da je uslovljena hemijom ugljenika. Međutim, postoje i neorganski polimeri kao i polimeri sastavljeni od neorganskih i organskih segmenata ili grupa tzv. element-organski polimeri. Tako se danas postojeći polimeri mogu podeliti prema grupama periodnog sistema kojima pripadaju osnovni elementi koji grade lanac. Lanci sastavljeni samo od jednog elementa nazivaju se izo-lanci. Takve lance pored ugljenika grade sumpor, selen i fosfor. Druga moguća podela je na tipove lanaca koji imaju iste kombinacije elemenata. Među ovakvim hetero-lančanim polimerima posebno važnu grupu čine silikoni (koji sadrže -Si-O- veze u lancu), polifosfati (-P-O-) i fosfazi (-P=N-). U element-organske polimere ubrajaju se lančasti molekuli sastavljeni pored ugljenika iz „organogenih“ elemenata (vodonik, azot, kiseonik i sumpor) ili halogena, silicijuma, fosfora i dr. Dele se na četiri osnovne grupe: (1) polimer sa

ugljeničnim lancem i element-organskim supstituentima, (2) heteroatomni lanci sastava -El-R-El-R- gde je R organska grupa a El neki drugi element, (3) izoatomni lanci neorganskog sastava sa organskim bočnim grupama, (4) heterolanci ali isključivo neorganskog sastava sa organskim bočnim grupama. Kao zaključak, može se reći da nauka o polimerima ne samo da nije podoblast organske hemije već je opštijeg karaktera od nje, i obuhvata znanja kako o organskim tako i neorganskim kao i o lancima mešovitog sastava. Veličina i specifičnosti građe tih molekula često izazivaju odstupanja od principa klasične fizičke hemije, pa nije čudo da stotinama godina hemičari nisu uspevali da rastvore, izoluju iz opisanih taloga i okarakterišu njihova svojstva, i samim tim identifikuju ovako važnu grupu u svetu molekula.

Poseban značaj polimerima daje činjenica da molekuli koji čine esencijalne elemente građe živih organizama imaju lančastu strukturu, veoma veliku molarну masu i niz drugih karakteristika zajedničkih sa opisanim polimerima, pa ih često nazivaju biopolimeri. Za razliku od sintetskih polimera (čiji su gradivni elementi samo nekoliko tipova mera u pojedinom lancu) pojedine grupe biopolimera (kao što su proteini) imaju lance sa znatno većim brojem tipova mera. Ti meri su aminokiselinski ostataci polikondenzovani stvaranjem tzv. peptidnih veza odn. -(C=O)-N-grupa. Stoga se pokazalo kao korisno proširiti klasu lančanih molekula da obuhvati sve navedene molekule iste bazne strukture. Tako dolazimo do pojma makromolekula, gde spadaju i sintetski organski i neorganski i biopolimeri, a takođe prelazni oblici kao element-organski polimeri. Biopolimere možemo dalje podeliti na četiri osnovne grupe: proteine, polinukleotide, polisaharide i poliprene.

U poliprene spada prirodni kaučuk koji je po sastavu 1,4-cis-poli(izopren) i dobija se iz mlečnog soka koji pri ozledi kore luče neke od biljaka (lateks). Polisaharidi su homo- ili ko-polimeri čije mere čine ostatci monosaharida. Tu spada celuloza, koja je strogo uzevši poli[ $\beta$ -(1→4)-D-glukopiranosa]. Celuloza je glavna komponenta ćelijskih zidova biljaka, ali mali je broj biljaka koje sadrže navedeni čist homopolimer glukoze. Većine sadrže i druge šećere, ali se svi ovi kopolimeri ubrajaju u celulozu. Polinukleotidi su poliestri fosforne kiseline i monosaharida riboze (ribonukleinske kiseline – RNK) ili 2-deoksiriboze (deoksiribonukleinske kiseline – DNK). Obe pentoze javljaju se u furanoznom obliku, i nose purinske ili pirimidinske baze kao supstituente. Nihov izuzetan značaj bazira na činjenici da se genetska informacija koju svaka vrsta čuva u DNK, pomoću RNK prenosi sintezom na proteine. Proteini su kopolimeri  $\alpha$ -aminokiselina i vezivanjem ovih monomera nastaje peptidna grupa u lancu. To je široka klasa jedinjenja, koja su osnovni sa stojak protoplazme i zato nephodan u ljudskoj ishrani, zbog čega im je i dato to ime. Kao što vidimo, nomenklatura polimera ima razne izvore. IUPAC je formulisao pravila za nomenklaturu po hemijskom sastavu, ali su u upotrebi i trivijalna imena nastala u svakodnevnom životu i tradicionalni nazivi iz ranog perioda razvoja ove discipline. Pojedinačna imena sintetskih polimera vezuju se za imena monomera od kojih su nastali, koja se pišu u zagradi sa prefiksom poli npr. poli(etilen) ili skraćeno PE. Zbirna imena se vezuju za karakteristične grupe zajedničke za celu klasu, i pišu bez zgrade npr. poliamidi, poliestri, vinilni polimeri itd.

### 19.3 SINTEZA POLIMERA

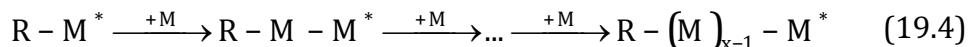
Kinetički gledano reakcije polimerizacije se mogu podeliti u dva osnovna tipa: (I) reakcije lančane polimerizacije i (II) reakcije stupnjevite polimerizacije.

**(I)** Lančana polimerizacija je poseban tip lančanih reakcija, koje uključuju nekoliko vrsta elementarnih reakcija vezanih za stvaranje jednog aktivnog centra. Iz tog jednog centra i skupa elementarnih reakcija, nastaje jedan lanac tražene supstance. Ove elementarne reakcije nastupaju po određenom redosledu, kroz tri reakcione faze: (1) inicijacija, (2) propagacija i (3) terminacija rasta lanca.

1. Inicijaciju čine reakcije započinjanja rasta lanca. Kada neki aktivni centar  $R^*$  (npr. aktivna čestica nastala raspadom molekula inicijatora) reaguje sa molekulom monomera M tada dolazi do prenosa aktivnog centra na tako nastali mer  $M^*$ , što se može prikazati šematski:



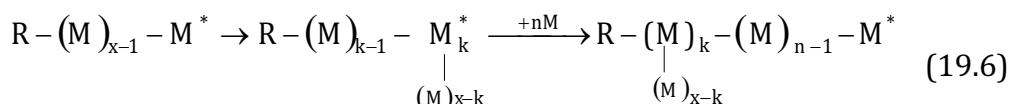
2. Propagaciju čine reakcije rasta lanca, pri čemu se prvo novi monomer adira na aktivnu česticu nastalu u fazi inicijacije, a aktivni centar premešta na tako nastali mer. Ove reakcije pripajanja novih monomera i premeštanja aktivnog centra ponavljaju se mnogo puta:



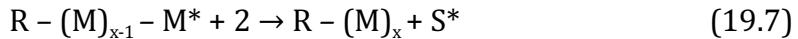
3. Terminaciju čine reakcije prekida rasta lanca. One mogu nastupiti pri sudaru aktivnih centara na krajevima dva lanca koji rastu, ili pri sudaru kraja lanca sa nekim novim aktivnim centrom na nepolimernoj čestici prisutnoj u reakcioni smeši, ili pri sudaru sa molekulom neke supstance T unetim u reakcionu smešu radi deaktivacije aktivnog centra i time kontrolisanja stepena polimerizacije:



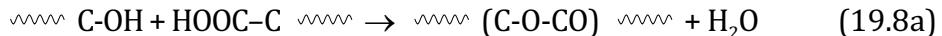
4. Da bi objasnio pojavu grananja lanca pri ovakvim reakcijama, kao i neka odstupanja zavisnosti između srednjeg stepena polimerizovanja i odnosa brzina inicijacije, propagacije i terminacije (tzv. kinetička dužina lanca), koji sledi iz navedene šeme elementarnih reakcija, Flori je 1937. ukazao na potrebu uvođenja još jednog tipa elementarnih reakcija u opisanu šemu. To su reakcije prenosa odnosno transfera lančane aktivnosti. Faze razvoja u prethodnoj šemi zajedničke su za sve lančane reakcije, dok su reakcije transfera specifične za polimere. Ukoliko se aktivni centar prenosi na neki mer  $M_k$  u sastavu istog lanca (npr. usled termičkih kretanja koja savijaju lanac i dovode do sudara kraja lanca sa tim merom), lanac prestaje da raste na kraju a nastavlja da raste na tom novonastalom aktivnom centru. Deo lanca od mera  $M_k^*$  do prvobitnog kraja lanca tako je postao grana.



Ukoliko se aktivni centar prenosi na neki drugi molekul S prisutan u reakcionej smeši, nastaje novi aktivni centar  $S^*$  za koji se vezuju monomeri, i raste novi lanac dok se rast prvog lanca završava:



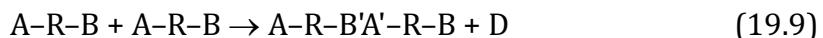
**(II)** Drugi osnovni tip reakcija polimerizacije čine reakcije stupnjevite polimerizacije. One se odvijaju po mehanizmu kondenzacije grupa, koji je već poznat iz organske hemije. Ovde dolazi do kondenzacije grupa koje su na krajevima reaktanata, pri čemu nastaju nove grupe sa kovalentnim vezama koje se ugrađuju u lanac. Pri ovakvoj kondenzaciji izdvaja se jedan broj atoma, gradeći male molekule kao nus-proizvode reakcije, ili premešta na neki drugi deo lanca. Na primer, reakcijom hidroksilne grupe i karboksilne grupe u prisustvu vodoničnih jona kao katalizatora (oni se ne ugrađuju u produkt!), nastaje estarska grupa koja se ugrađuje u lance poliestara i izdvaja voda kao nus-proizvod:



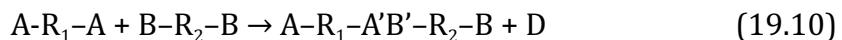
što se može prikazati šematski sa:



gde A i B predstavljaju aktivne grupe,  $A'B'$  njihove ostatke odnosno novonastalu grupu ugrađenu u lanac, D nastali nus-proizvod a  $\sim\sim$  ostatak molekula za koji su grupe vezane. Razlikujemo dva osnovna tipa monomera, prema vrsti aktivnih grupa. Prvi tip su monomeri koji nose dve vrste grupe na krajevima, i mogu da grade lanac sa istovetnim monomerima:



Drugi tip čine monomeri koji imaju jednu vrstu grupe na oba kraja, i mogu da grade lance samo sa monomerima koji imaju grupe druge vrste na sebi reaktivne sa njihovim grupama pod datim uslovima:



Takođe, razlikujemo dva osnovna tipa monomera gledano po broju aktivnih grupa na njima, odnosno po njihovoj funkcionalnosti. Za stvaranje lanca neophodno je da monomeri imaju dve funkcionalne grupe, svaku na po jednom kraju molekula tj. da su dvo-funkcionalni, što ubrajamo u prvi od navedenih tipova. Drugi tip čine monomeri sa više aktivnih grupa tj. tro-funkcionalni, četvoro-funkcionalni i sl. koji grade polimerne mreže umesto linearnih molekula.

Reakcijom po dva dvo-funkcionalna monomera nastaje dimer, koji je takođe dvo-funkcionalan. On može da reaguje dalje sa novim monomerom u smeši gradeći trimer, ili može da sa isto tako nastalim dimerom gradi tetramer. Dalje su moguće reakcije sa nekom većom strukturom, koje daju oligomer pa i polimerni lanac (sve zavisi do kog stepena su odmakle reakcije u sistemu). Sve ove korake u nastajanju

željenog proizvoda nazivamo stupnjevi polimerizacije. Zbirno, reakcije monomera sa istovrsnim i različitim grupama na sebi možemo prikazati šematski



Praktično gledano, ovaj tip reakcije polimerizacije odvija se tako da koncentracija monomera vrlo brzo pada u reakcionom sistemu, što ukazuje na brzo odvijanje prvih stupnjeva, ali za to je potrebno dugo vremena da nastane dug lanac, odnosno za više stupnjeve reakcije. Za nastajanje lanaca velikih molekulske masa neophodan je vrlo visok stepen reagovanja funkcionalnih grupa što postavlja stroge zahteve u vođenju procesa (odsustvo sporednih reakcija, uklanjanje nus-produkata da bi se što više pomerila ravnoteža kod povratnih reakcija itd.). Stoga se relativno mali broj od poznatih reakcija kondenzacije koristi za sintezu polimera, i potrebno je precizno definisati uslove izvođenja reakcije. S druge strane, ovaj tip polimerizacije daje lance pravilne građe, odnosno kristalinične materijale od kojih se prave vrlo kvalitetni proizvodi kao što su Nylon vlakna, Kevlar vlakna, poliestarski čamci, brodovi itd.

Za razvoj stupnjevite polimerizacije bila je vrlo značajna (i hrabra) Florijeva teorijska postavka da reaktivnost funkcionalnih grupa ne zavisi od veličine lanca na kome se oni nalaze. Kasniji eksperimenti su ukazali da je to veoma dobra aproksimacija, koja efikasno i jednostavno opisuje ukupan efekat vrlo složenih procesa. Za detaljniji uvid u razvoj naučne misli o polimerima, posebno u tom periodu, ovde treba istaći da su ne samo problemi reaktivnosti već i stabilnosti celog molekula sa porastom dužine lanca, u to vreme bili veliki kamen spoticanja. Sam Staudinger je pisao da je „dobro poznato da stabilnost parafina opada sa porastom broja karika... Oni sa 30 do 40 ugljenikovih atoma degradiraju već na 400–500°C... pa se za veću molekulsku težinu može očekivati degradacija već na 100°C...“ Ovo su neki protivnici ideje o polimerima kao veoma velikim molekulima koristili kao jak argument da tako dugi ugljenikovi lanci kakvim se predstavljaju polimeri uopšte i ne postoje. Šta više, u tom ranom periodu Staudinger je pisao da „polikondenzacija ne može da dovede do proizvoda velike molekulske težine... pošto reaktivnost polimernih molekula opada naglo sa porastom dužine lanca“.

Razmatrajući predhodne klasifikacije reakcija, treba obratiti pažnju na mnogobrojne međuzavisnosti kinetike, reakcionih mehanizama, strukture monomera i formiranih aktivnih centara, s jedne, i struktura kao i svojstava stvorenih lanaca, s druge strane. Posebno: stepena polimerizacije, razgranatosti i pravilnosti ređanja karika u lancu [2, 5, 6, 14–16]. Prve izraze za raspodelu dužine lanaca, odnosno stepena polimerizacije u reakcionom sistemu, izveli su Flori za polikondenzaciju i Šulc za radikalnu polimeruzaciju, upavo polazeći od uslova jednakе reaktivnosti aktivnih centara u datom sistemu. To je normalna ili najverovatnija raspodela kako ju je nazvao Flori.

Prema tipu svojih reaktivnih centara, monomeri se mogu podeliti u tri osnovne grupe: monomeri koji nose dve ili više funkcionalnih grupa, monomeri sa

nezasićenim (dvostrukim i trostrukim) vezama, i ciklični monomeri sa heteroatomnim prstenovima (od kojih su neki i pod naponom, zbog malog broja veza koje ih čine). Polazeći od ove klasifikacije koriste se i termini: polimerizacija otvaranjem prstena, polimerizacija raskidanjem veza i polimerizacija kondenzacijom grupa.

Prema tipu aktivnih centara na lancu koji raste, polimerizacije delimo na: radikalne, anjonske, katjonske i koordinacione (koje sve idu lančano) i preko funkcionalnih grupa (koja ide stupnjevito). Gledano sa aspekta stehiometrije reakcije kojom se formira lanac, polimerizacije se mogu podeliti na adicione i kondenzacione. U adpcionim reakcijama se monomeri sa kompletnim brojem svojih atoma dodaju (adiraju) lancu koji raste. Kod kondenzacionih dolazi do kondenzacije funkcionalnih grupa na krajevima po dva monomera u novu grupu, koja se ugrađuje u lanac ali ima manje atoma od grupe od kojih je nastala. Preostali atomi mogu da se izdvajaju, gradeći nuz-prodakte reakcije ili se premaštaju na drugo mesto u lancu (npr. pri sintezi poliuretana).

Očigledno, jedan te isti proces javlja se u više klasifikacija, zavisno od aspekta posmatranja reakcija. To je razumljivo, s obzirom na raznovrsnost i složenost procesa koje polimerizacija obuhvata. Teško da se može ostvariti klasifikacija koja je jedinstvena i sveobuhvatna, a pregledna i jednostavna za pamćenje. Šta više, različite klasifikacije osvetljavaju isti proces iz različitih aspekata, pomažući njegovom razumevanju i ocenjivanju njegovog značaja i primene u različitim situacijama. Tako npr. treba uočiti da u fazi inicijacije označenoj sa **(I)**1 u prethodnom tekstu, nastajanje aktivne čestice  $R^*$  može da ide stvaranjem radikala (npr. raspadom inicijatora koji su nestabilna jedinjenja kao organski peroksidi, nitrili i sl.), ili katjona ili anjona u odgovarajućoj sredini i uslovima ili dejstvom fotona različitih nivoa energije. To sve može da bude od velikog uticaja na uslove rada i zdravlje pacijenta npr. kod primene za biomaterijale.

Dalje se poređenjem ovih klasifikacija može uočiti da polimerizacija otvaranjem prstena može da se odvija ili kao stupnjevita ili kao lančana reakcija, zavisno od uslova i vrste inicijatora. Treba takođe uočiti da olefinske  $\pi$ -veze mogu da se otvaraju homolitički i heterolitički, pa se polimerizacije alkena mogu inicirati kako preko radikala tako i preko jona. Koji je mehanizam inženjerski najpovoljniji zavisi od niza faktora (vrste supstituenata na monomerima i polarizacije dvostručnih veza, stabilizacije aktivnih centara itd.). Kad nema odgovarajućih strukturnih faktora za ovakvo dizajniranje procesa, opet je moguće neke monomere ugraditi u organo-metalne komplekse i tako uticati na stabilizaciju i prostorne orientacije kod aktivnih kompleksa pri običnim (bliskim sobnim) vrednostima temperature i pritiska kao kod Cigler-Nata koordinacione polimerizacije. To je veoma značajno za proizvodnju lanaca regularne građe i materijala visokih kvaliteta.

## 19.4 STRUKTURA I SVOJSTVA POLIMERNIH MOLEKULA

Struktura polimernih molekula može se posmatrati na 4 nivoa organizacije. Tako govorimo o primarnoj, sekundarnoj, tercijarnoj i kvaternarnoj strukturi.

*Primarna struktura* opisuje atome i grupe od kojih je lanac sastavljen, hemijske veze između njih opisane jačinom i dužinom veze, uglovima između veza, uglovima torzije (rotacije oko) veza itd.

*Sekundarna struktura* opisuje organizacione celine koje su manje od lanca ali znatno veće od primarnih elemenata. Tako npr. često su delovi (segmenti) lanca uvijeni u spiralu. Pojava spirale posledica je kako načina ređanja elemenata primarne strukture na prostornoj skali segmenta, tako i sekundarnih sila privlačenja i sternalih smetnji na skali veličine segmenta.

*Tercijarna struktura* opisuje lanac u celini. On može biti sastavljen od više segmenata različite sekundarne strukture organizovanih u prostoru i vremenu fizički precizno mada geometrijski nesimetrično (odn. „neuređeno“). Takva tercijarna struktura je npr. globularna struktura kod proteina, gde svaki protein ima precizno određen način slaganja elemenata sekundarne strukture izuvijanih tako u prostoru, da u svim slučajevima u prirodi daju približno loptast izgled skupčanog lanca. Otuda naziv globula (loptica). Međutim, ako se pomenute interakcije između elemenata sekundarne i primarne strukture naruše, tercijarna struktura se menja npr. iz globularne u rastresiti slučajno skupčani lanac u prostoru tzv. statističko klupko. To menja svojstva molekula (naročito biološka – dolazi do denaturizacije). Takvi denaturisani proteini (promenom pH sredine ili grejanjem, zračenjem itd.) ne mogu da učestvuju u životnim procesima i organizam ih tretira kao mrtav deo i odbacuje. S druge strane, statističko klupko je tipična tercijarna struktura za većinu sintetskih polimera. Tercijarne strukture se obično dele pored skupčane na opružene i is(pre)savijane, koje se dalje dele na lamelarno i globularno isavijane. Opružene se takodje mogu podeliti na štapićaste i spiralne.

*Kvaternarna struktura* se javlja samo kod nekih tipova lanaca npr. kod proteina i DNK. Nju čine po nekoliko lanaca povezanih u celine hemijskim i/ili fizičkim vezama. Primer je dvojna spirala DNK sastavljena od uporedo uvijena dva lanca u spiralu. Kvaternarna struktura nekih biopolimera može da se ruši i uspostavlja (npr. pri replikaciji DNK uz pomoć enzima) a kod nekih promena kvaternarne strukture dovodi do gubljenja funkcionalnih svojstava molekula kao pri opisanom rušenju tercijarne strukture. U novije vreme se javlja i termin *pentamerna struktura* ali to izlazi iz okvira ovog teksta [3, 11]. Logički se nameće i pitanje mehanizma nastanka i mogućnosti ponovnog uspostavljanja ovih struktura fizičko-hemijskim delovanjem npr. na proteine. Da je to moguće kod nekih enzima, pokazao je svojim čuvenim eksperimentima Anfinsen, za koje je dobio Nobelovu nagradu. Ali pitanje razumevanja mehanizma, njegovih principa i ovladavanja njime, i danas je jedan od najvećih izazova u nauci [5, 6, 17–19].

Kao što se vidi, prostorna organizacija i savitljivost lanaca, kao i njihova dužina odnosno molarna masa, jesu bitne karakteristike polimernih molekula. Najjednostavniji parametar koji opisuje ove karakteristike, gledane kroz zbirni geometrijski efekat, jeste vektor koji spaja krajeve lanca, ovde označen sa  $\mathbf{r}$ . Odavde sledi da je koren njegovog skalarnog proizvoda sa samim sobom mera rastojanja u molekulu, bilo da je to rastojanje krajeva lanca tj.  $(\mathbf{r}^2)^{1/2} = r$ , ili rastojanje kraja lanca koji je postavljen u koordinatni početak i neke karike i tj.  $r_i$ . Promena oblika kod

gipkih lanaca može se opisati promenom  $r$ , a karakteristični parametar je vrednost  $\langle \mathbf{r}^2 \rangle$  po prostoru ili vremenu, u skladu sa Boltzmanovom ergodičnom teoremom.

Ovde treba uočiti još jedan važan aspekt molekulske organizacije polimera. Dugi polimerni lanci sa opisanim nivoima interakcije i unutrašnje organizacije, odnosno navedenim nivoima strukture, bitno se razlikuju u svojoj dinamici od malih molekula koji ih okružuju npr. u rastvoru. S druge strane, oni su ipak molekulska entiteta koji su dovoljno mali da podležu molekulskim termičkim kretanjima. Jedna od manifestacija takvih kretanja je Braunovo kretanje sitnih čestica u rastvoru, koje je prvi uočio botaničar Braun još 1827. Ajnštajn je početkom 20. veka razvio teoriju koja objašnjava Braunovo kretanje, i pri tome izveo izraz za viskoznost disperzija  $\eta$  sfernih čestica u fluidu u obliku:

$$\eta = \eta_0 (1 + 2,5v_p) \quad (19.12)$$

gde je  $\eta_0$  viskoznost disperzionog fluida, a  $v_p$  zapreminska udeo čestica u njemu. Idući tom logikom Staudinger je prepostavio da će viskoznost razblaženih polimernih rastvora biti znatno veća od rastvarača. Kao merilo viskoznosti on je koristio granični viskozitetni broj  $[\eta]$  definisan sa:

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \left[ (\eta - \eta_0) / \eta_0 \right] c = \lim_{c \rightarrow 0} \left[ \eta_{sp} / c \right] \quad (19.13)$$

Dalje je prepostavio da se granični viskozitetni broj linearno menja sa molarnom masom polimera tj.  $[\eta] = K \rightarrow M$ , gde je  $K$  konstanta. Međutim, Kun, Mark i drugi su kasnije pokazali da ova zavisnost nije linearna već podleže stepenom zakonu  $[\eta] = K \rightarrow M^a$  gde su  $K$  i  $a$  karakteristični parametri za svaku polimernu supstancu. Čime objasniti ovakvo ponašanje polimera? Kako povezati karakteristične parametre strukture kao što je  $\langle \mathbf{r}^2 \rangle$  sa merljivim svojstvima kao  $[\eta]$ ? Očigledno, potrebno je razviti modele koji povezuju ove veličine.

Prvi model polimernog lanca ponudio je Kun. On je svakoj vezi lanca pridružio vektor čiji je modul jednak dužini veze a pravac odgovara pravcu veze, tako da je zbir tih vektora jednak  $\mathbf{r}$ . Neka je jedan kraj takvog lanca fiksiran u početku Dekartovog koordinatnog sistema. Prepostavlja se da se drugi kraj slobodno kreće, sa jedinim ograničenjem da se dužine veza ne menjaju. Drugim rečima, uglovi između veza i uglovi rotacije između veza slobodno se menjaju, pa se ovaj model naziva modelom slobodno povezanog lanca. Za njega važi:

$$\langle \mathbf{r}^2 \rangle_f = nl^2 \quad (19.14)$$

gde je  $n$  broj veza,  $l$  dužina veze u lancu.

Drugi pristup ovom problemu je preko Gausovskog modela lanca. U njemu se polazi od prepostavke da je lanac dovoljno gibak i dug, da se slobodni kraj lanca čiji je drugi kraj fiksiran u koordinantnom početku nalazi u položaju čija je verovatnoća određena Gausovom funkcijom raspodele:

$$\langle \mathbf{r}^2 \rangle = \int_0^\infty \mathbf{r}^2 p(\mathbf{r}) 4\pi r^2 dr \quad (19.15)$$

gde je  $p(\mathbf{r})$  gustina raspodele tačaka u kojima se može naći slobodni kraj lanca, data Gausovom funkcijom. Ali iz kvantne hemije i teorije hibridizacije koju je postavio Pauling znamo da su uglovi između veza C atoma strogo određeni, a logički se na meće i fundamentalno pitanje delovanja okoline odnosno različitih drugih molekula koji ga okružuju, na konformaciju lanca. Sve to nije uključeno u predhodna dva modela.

Prvi fizički realan model polimernog lanca postavio je Flori sredinom 20. veka svojom *Teorijom isključene zapremine*. U razvoju ove teorije on se oslonio i na druge dve svoje teorije, čiju zajedničku nit čine konformacione karakteristike lančastih molekula. Ovako stvorena teorijska podloga poslužila je kao osnov za izgradnju savremene nauke o polimerima, za šta mu je dodeljena 1974. Nobelova nagrada.

Prva od dve pomenute teorije je *Teorija rastvora polimera* Florija i Haginsa. Ona bazira na statističko-mehaničkom modelu rešetke. Kao rezultat, daje promenu Gibsove slobodne energije mešanja  $\Delta G_M$  pri rastvaranju polimera u organskim rastvaračima:

$$\Delta G_M = \Delta H_M - T\Delta S_M = k_B T (N_1 \ln v_1 + N_2 \ln v_2 + \chi_1 N_1 v_1) \quad (19.16)$$

gde su  $\Delta H_M$  i  $\Delta S_M$  promene entalpije i entropije pri mešanju,  $T$  absolutna temperatura,  $k_B$  Boltzmanova konstanta,  $N_1$  i  $N_2$  brojevi molekula rastvarača i polimera,  $v_1$  i  $v_2$  njihovi zapreminske udeli u rastvoru, dok je  $\chi_1$  Florijev parametar interakcije koji karakteriše međudejstvo molekula polimera i rastvarača.

Druga od pomenutih teorija je *Teorija entropske elastičnosti polimera*, baziрана na nezavisnim radovima Florija, Kuna, Marka i drugih. Flori je za elastičnu silu koja sklupčava lanac u gumolikim sistemima pri termičkim kretanjima izveo izraz:

$$\partial \Delta G_{el} / \partial \alpha = 3k_B T (\alpha - 1/\alpha) \quad (19.17)$$

gde je  $\alpha$  koeficijent zapreinskog širenja klupka.

Prema Teoriji isključene zapremine, molekuli rastvarača prodiru u statističko klupko polimernog molekula pod dejstvom promene slobodne energije opisane jednačinom (19.16). Tako oni teže da zauzmu isti prostor koji su popunili atomi polimera, ili prostor iz koga su lanci svojim kretanjem istiskivali druge molekule. Sav ovaj prostor nazivamo isključena zapremina, koja se može odrediti iz:

$$u = \int_0^{\infty} (1 - f_b) 4\pi b^2 db \quad (19.18)$$

gde je  $f_b$  relativna verovatnoća da se centar mase nekog molekula  $l$  nađe na rastojanju  $b$  od centra mase molekula  $k$  u sloju homogene gustine njegovih segmenata. Ovo prodiranje molekula rastvarača u polimerno klupko izaziva ekspanziju klupka, čemu se polimerni lanac opire silom opisanom jednačinom (19.17). Ukupna promena slobodne energije je tada:

$$\Delta G_i = \sum_j \Delta G_{Mj} + \Delta G_{el} \quad (19.19)$$

gde je  $\Delta G_{Mj}$  promena slobodne energije za svaki element zapremine  $j$  ovakvog sistema, usled mešanja karika lanca i molekula rastvarača. Iz jednačina (19.16–18) i jednačine (19.19), dobija se za ceo sistem:

$$\Delta G = -k_B T \left[ N_2 \ln V + \sum_{i=0}^{i=N_2-1} \ln \left( 1 - \frac{iu}{V} \right) \right] + const \quad (19.20)$$

Imajući u vidu da je

$$-\frac{1}{V_1} \left( \frac{\partial \Delta G}{\partial n_1} \right)_{T, p, n_2} = -\frac{\mu_1 - \mu_1^0}{V_1} = \Pi \quad (19.21)$$

gde je  $n_1$  broj molova supstance 1,  $V_1$  njena molarna zapremina, a  $\mu_1$  odgovarajući hemijski potencijal, dok je  $\Pi$  osmotski pritisak. Na osnovu jednačina (19.20) i (19.21) dobija se:

$$\frac{\Pi}{c} \approx RT \left[ \frac{1}{M_2} + \frac{N_A u}{2M_2^2} c \right] \quad (19.22)$$

gde je  $N_A$  Avogadrovo broj,  $R$  gasna konstanta,  $c$  koncentracija, a  $M_2$  molarna masa polimera usrednjena po broju tj.  $M_n$ . Sa druge strane razvijanjem izraza  $\Pi/c$  u red može se dobiti jednačina analogna virijalnom izrazu za  $pV$  realnog gasa:

$$\frac{\Pi}{c} = RT (A_1 + A_2 c + A_3 c^2 + \dots) \quad (19.23)$$

Još je Noler sredinom 18. veka opisao kako se „životinjske mešine nalivene alkoholom nadimaju pri dodiru sa vodom“. To je kasnije objašnjeno difuzijom molekula vode kroz polupropustljive zidove mešine, čije su pore suviše male da omoguće izlazak molekula alkohola. Ovo nadimanje bio je ustvari osmotski pritisak koji se stvarao mešanjem molekula alkohola i vode. Vant Hof je ovaj proces opisao jednačinom analognom gasnoj tj.  $\Pi V = n_2 RT$ . Polazeći od ovih principa i koristeći jednačine (19.19) do (19.23) možemo da napišemo za rastvor polimera:

$$\frac{\Pi}{c} = RT \left( \frac{1}{M_n} + A_2 c \right) \quad (19.24)$$

gde je drugi virijalni koeficijent  $A_2$  određen sa:

$$A_2 = \frac{\bar{v}_2^2}{N_A V_1} \left( \frac{1}{2} - \chi_1 \right) \quad (19.25)$$

Iz prethodne jednačine se vidi da za  $u = 0$  odnosno  $\chi_1 = 1/2$  postaje  $A_2 = 0$ . Drugim rečima, pod ovim uslovima gubi se efekat isključene zapremine, a drugi virijalni koeficijent koji opisuje interakcije polimera i rastvarača postaje nula. Sistem se ponaša kao idealan, analogno idealnom gasu. Tada jednačina (19.24) postaje  $\Pi = CRT$  gde je  $C$  molarna koncentracija polimera dok je  $T=\theta$  što se naziva Florijeva temperatura a ovo stanje u celini, teta uslovi. Teta-temperatura je analoga Bojlovoj tački kod gasova. U ovom slučaju konformacija lanca zavisi samo od interakcija bli-

skog dejstva, odnosno rotaciono stanje veze zavisi samo od interakcija neposrednih suseda. Ovo se naziva neporemećeno stanje i uzima kao referentno stanje koje karakteriše polimer analogno modelu idealnog gasa (koji je bio polazna osnova za razvoj velikog dela savremene termodynamike i fizičke hemije!). Flori je pokazao da se koeficijent širenja lanca može odrediti iz  $\alpha^2 = ([\eta]/[\eta]_0)^{2/3}$  gde indeks  $\theta$  odgovara teta uslovima. On je dalje teorijski izveo jednačinu koja povezuje granični viskozitetni broj sa molarnom masom ( $\Phi$  je tzv. univerzalna ili Florijeva konstanta):

$$[\eta] = \Phi \frac{\langle r^2 \rangle^{3/2}}{M} \quad (19.26)$$

Ova jednačina daje odgovor na pitanja od kojih smo pošli na početku ovog odeljka i predstavlja očigledan i jednostavan primer uticaja strukture polimernog lanca na makro-svojstva sistema. U konkretnom slučaju, to je veza viskoznosti rastvora sa molarnom masom i konformacijom lanca. Specifičnosti strukture gipkog lanca izazvale su odstupanje od opših fluidnih karakteristika disperzija koje je postavio Ajnštajn, odnosno protivurečnosti (i dileme) u radovima Staudingera, Kuna, Marka i drugih autora u to doba. Danas to izgleda sasvim prirodno, jer je ljudska misao tad po prvi put formulisala pojam makromolekula, kao jedan od tri osnovna vida u kome se manifestuje materija na molekulskom nivou. Za doprinos toj pionirskoj fazi stvaranja pojma makromolekula dodeljena je Staudingeru 1953. Nobelova nagrada. Još jedan Nobelovac dao je krupan doprinos savremenoj naučnoj misli, polazeći od Florijeve teorije isključene zapremine. To je teorijski fizičar De Žen, koji je Florijevu relaciju između dimenzija klupka (izraženih bilo preko  $r$  ili  $RG$  -što je radius rotacije klupka) i stepena polimerizacije  $N_p$ , napisanu u obliku:

$$R_G = LN_p^D \quad (19.27)$$

interpretirao kao univerzalnu formu *Zakona skaliranja za polimere*, koji proističe iz njihove lančane strukture. Ono što važi za sve gipke lance je Florijev eksponent  $D$ , koji se naziva globalnim svojstvom polimera, a parametar koji karakteriše svaku pojedinačnu polimernu supstancu je prefaktor  $L$ , koji se naziva lokalnim svojstvom [20–23].

Gledano sa druge, aplikativne strane, merenjem osmotskog pritiska (pri sve većem razblaženju i ekstrapolacijom na nullu koncentraciju) može se iz jednačine (19.24) odrediti molarna masa polimera i drugi virijalni koeficijent (odnosno kvalitet rastvarača). Ovde treba dodati da su osmotske karakteristike polimernih rastvora istovremeno i očigledan dokaz teze o veličini njihovih molekula. Iz jednačina (19.13) i (19.26) moguće je jednostavnim merenjima proceniti strukturu dobijenih polimera, a iz jednačina (19.14) i (19.27) stepen krutosti polimernih lanaca. Za ocenu pojedinačnih supstanci se tako uvodi relacija  $\langle r^2 \rangle = C_\infty n l^2$  gde se  $C_\infty$  naziva Florijev koeficijent gipkosti lanca. Iz jednačina (19.16) i (19.20) izvode se principi stvaranja polimernih materijala blendovanjem (što je analogija sa stvaranjem legura kod metala) i razdvajanja lanaca po veličini tzv. frakcionisanja. Ukratko, to su principi na kojima počiva industrijska proizvodnja savremenih visoko kvalitetnih polimernih materijala [2–6, 14, 15].

Ovde treba ukazati na još jedan fundamentalni pristup ispitivanju strukture polimera. On bazira na rasejanju svetlosti pri propuštenju zraka kroz razblažene rastvore polimera. Korišćenjem jednačine (19.23), Debaj je izveo izraz koji povezuje Rejlejev odnos intenziteta rasejanog  $I$  i ulaznog zraka  $I_0$  tj.  $R_\theta = r_d^2 I / I_0$  sa molarnom masom  $M_w$  polimera i drugim virijalnim koeficijentom  $A_2$ :

$$\frac{K^* c}{\Delta R_\theta} = \frac{1}{P(\theta)(1 + \cos^2 \theta)} \left[ \frac{1}{M_w} + 2A_2 c \right] \quad (19.28)$$

U predhodnoj jednačini  $\Delta$  označava razliku Rejlejevog odnosa za rasejanje u polimernom rastvoru i čistom rastvaraču. Debaj je uveo faktor  $P(\theta)$  koji je funkciju od ugla  $\theta$  pod kojim se meri rasejanje u odnosu na pravac primarnog zraka. On opisuje efekte interferencije rasejanih zraka izazvane lančastom strukturom polimera. Tako ona povezuje vrednosti ugla  $\theta$  sa  $r$  odnosno  $R_\theta$  parametrima lanca. Sa  $c$  je označena masena koncentracija polimera (npr. g/cm<sup>3</sup>),  $r_d$  je rastojanje tačke posmatranja od mesta nastanka rasejanja, dok  $K^*$  sadrži sve karakteristike mernog sistema koje se održavaju konstantnim za taj eksperiment. Kasnije je Cim razvio metod dvojne ekstrapolacije rezultata rasejanja na uslove  $c = 0$  i  $\theta = 0$  koji omogućava određivanje parametara  $M_w$ ,  $\langle r \rangle$  i  $A_2$  iz istog seta merenja, a eksperimentalni postupci su modifikovani i usavršavani [5, 14, 15, 20].

Fluktuacija gustine odnosno fluktuacija dielektrične konstante, koja je razlog rasejanja svetlosti u tečnostima, može se povezati korišćenjem Maksvelove relacije sa priraštajem indeksa refrakcije rastvora pri porastu koncentracije polimera. Merenje ovog priraštaja koristi se i za razdvajanje lanaca na frakcije određene molarne mase metodom gel-propusne hromatografije (Gel Permeation Chromatography – GPC).

Ova moderna metoda GPC-frakcionisanja sastoji se u propuštanju njihovih razblaženih rastvora kroz kolonu napunjenu poroznim zrnima. Najveći polimerni molekuli najmanje ulaze u pore zrna i bivaju najpre propušteni kroz kolonu. Što su manje dimenzije polimernog klupka, ono ulazi dublje u pore i sporije se inspira iz njih. Praćenjem vremena zadržavanja u koloni i merenjem bilo promene indeksa refrakcije bilo graničnog viskozitetnog broja izlaznog rastvora, danas se lako dobiju frakcije polimera određene molarne mase (u uskom opsegu), što sve doprinosi visokom kvalitetu novih materijala.

## 19.5 STRUKTURA I SVOJSTVA POLIMERNIH MATERIJALA

### 19.5.1 Struktura polimernih materijala

**Nivoi strukture** na kojima se može posmatrati organizovanost kod polimernih materijala jesu: submolekulski, molekulski, intermolekulski, supermolekulski i makro nivo [3, 5, 20–40].

*Submolekulska strukturu čine iste komponente koje čine i primarnu strukturu polimernih molekula, s tom razlikom da se ovde ubrajaju i elementi građe ne-polimernih molekula koji su u sastavu polimernog materijala (tj. ulaze u njih kao punila, plastifikatori itd.).*

*Molekulska strukturu čine polimeri, dodaci u materijalu, nečistoće i prisutne hemikalije. Oni se svi zajedno nazivaju ingredijentima (lat. „koji ulaze u sastav“) tog materijala. O strukturi polimernih molekula bilo je reči u prethodnom odeljku. Dodacima se nazivaju komponente polimernog materijala, koje se ciljno mešaju sa osnovnom polimernom supstancom koja čini matricu materijala. Matrica daje osnovne karakteristike a dodaci ih dopunjaju, modifikuju ili zamenjuju deo matrice, uz što manju promenu tih karakteristika. Dodaci se mogu klasifikovati po svojstvima materijala na koja su namenjeni da utiču, ili kraće „po nameni“, po hemijskom sastavu, po svom agregatnom stanju (koje može biti čvrsto, tečno i gasovito) itd. [3-5, 7, 20, 32].*

Po nameni, dodaci se dele na punila (neaktivna i aktivna), plastifikatore, sredstva za poboljšanje preradivosti materijala (sredstva za pranje, sredstva za razdvajanje površina, podmazivači-lubrikanti, sredstva za podešavanje viskoznosti i tiksotropije i sl.), anti-elektro-statička sredstva, anti-orošavajuća sredstva, sredstva za stvaranje penaste strukture, sredstva protiv starenja, sredstva protiv gorenja materijala, pigmenti za bojenje materijala i ukrasni dodaci, biocidi i dodaci specijalne namene. S obzirom na značaj dodataka u dizajniranju materijala, ove grupe biće detaljnije opisane na kraju ovog odeljka, gde se govori o klasifikacijama polimernih materijala [3, 20, 22-24].

Nečistoće su neželjeni ingredijenti u polimernom materijalu. To su najčešće zaostali monomeri i rastvarači (koji nisu uklonjeni posle sinteze), voda, hloridni joni, katalizatori, inicijatori i disperganti. Zaostali monomeri mogu da izazovu naknadne promene u strukturi, što pogoršava mehanička i toplotna svojstva materijala. S obzirom na svoju reaktivnost i pokretljivost difuzijom, mogu da budu opasni zbog toksičnosti ako pređu u hranu, lekove ili živo tkivo kod biomaterijala. Oni menjaju i boju materijala, utiču na starenje i stvaraju neprijatan miris. Zaostali rastvarači izazivaju slične efekte i deluju kao eksterni plastifikatori. Voda koja zaostaje iz faze polimerizacije i pranja ili je apsorbovana iz atmosfere za vreme lagerovanja ili upotrebe, takođe deluje plastifikujuće kod nekih polimernih materijala, a zatim isparavanjem izaziva teškoće pri preradi. Ona kvari mehanička svojstva, dimenzionalnu stabilnost, električna svojstva, a može da inicira hidrolitičku degradaciju nekih polimera. Hlorni joni kvaraju elektro svojstva, izazivaju koroziju i toksičnost materijala. Katalizatori i inicijatori ili produkti njihove razgradnje (peroksiidi, jedinjenja prelaznih metala i organska azo-jedinjenja), takođe izazivaju toksičnost, kvaraju termičku stabilnost, elektro svojstva i otpornost na atmosferilije. Mogu da izazovu naknadne promene u intermolekulskoj strukturi. Disperganti su zaostali iz procesa polimerizacije kao emulgatori i stabilizatori (npr. sapuni, metil-silikoni, barijum-sulfat itd.) i pogoršavaju svojstva bilo direktno bilo privlačenjem vlage, a posebno uticajem na strukturu pri formiranju prevlaka i pena [3,5,26,29].

Hemikalije se dodaju polimernim materijalima, u cilju stvaranja strukture uglavnom na intermolekulskom nivou. Skup hemikalija čijim dejstvom dolazi do

umrežavanja lanaca naziva se sistem za umrežavanje. Tu ulaze supstance koje grade mostove između lanaca (tzv. sredstva za umrežavanje ili „otvrdnjivač“ kod smola ili „sredstva za sušenje“, što je stari trivijalni naziv u tehnologiji nekih prevlaka), katalizatori procesa, disperganti (katalizatora) i sl. Naprimer, u sistem za vulkanizaciju ulazi kao sredstvo za umrežavanje uglavnom čist rombični sumpor, ali se koriste i jedinjenja donori sumpora a u nekim slučajevima hinoni, diimini, dimaleinimiidi, polihalogena organska jedinjenja, fenol-formaldehidne ili epoksidne smole, a u nekim slučajevima i analoge sumpora u periodnom sistemu (selen i telur). U ovaj sistem sa sumporom kao katalizatori ulaze tzv. aktivatori, ubrzivači, disperganti i usporivači. Kao aktivator koristi se uglavnom cink-oksid, kao njegov dispergant stearinjska kiselina, a kao ubzivači merkaptobenzotiazoli, a mogu i sulfenamidi, gvanidini, ksantogenati, dietilkarbamati, tiuramdisulfidi itd. Kao otvrdnjivači za epoksidne smole koriste se dve grupe jedinjenja, vrlo raznolike po sastavu. U prvu spadaju tercijarni amini kao benzildimetilamin, trimetilamin, piridin, dietiletanolamin i sl. zatim sekundarni i primarni amini i amidi ali i neke neorganske baze. U drugu grupu spadaju  $\text{BF}_3$ -monoetyl amin i helati aluminijuma i gvožđa, a zatim fenoli, dvobazne organske kiseline i anhidridi kiselima. Prva grupa se može okarakteristi kao grupa baznih umreživača a druga kiselih (imajući u vidu da su tercijarbi amini Luisove baze a pomenuta fluorna i helatna jedinjenja Luisove kiseline). Polietilen može da se umrežava dejstvom organskih peroksida kao i zračenjem. Ovde treba ukazati da većina pomenutih hemikalija može biti štetna po organizam, o čemu se mora voditi računa pri dizajniranju biomaterijala [3, 5, 6, 23–29].

*Intermolekulska* struktura predstavlja nivo organizacije koju čini veći broj polimernih lanaca u materijalu. Primeri takve strukture su kristali i polimerne mreže. U početku je bilo pretpostavki da polimeri kao veliki molekuli grade vrlo velike kristale, ali nije tako. Sintetski polimeri u principu grade male submikroskopske kristale, lamelarne (pločaste) ili fibrilarne (vlaknaste) morfologije koje nazivamo kristaliti. Krupni koraci u objašnjenju ovog fenomena učinjeni su oko 1960. g. kada je Keler kristalisanjem polietilena iz razblaženih rastvora, pri vrlo sporom hlađenju dobio pločaste monokristale velikih romboidnih površina. Iznenađenje je izazvala činjenica da su u njima lanci bili poređani po debljini tj. najmanjoj dimenziji ploče. Keler je to objasnio mehanizmom kristalisanja po kome se jedan te isti lanac oštro previja na površini ovakvog kristalita i ponovo vraća u njega. Ovakvom modelu kristala usprotivio se Flori argumentima termodynamičkog karaktera. On je ponudio i drugo rešenje. Polazeći od činjenice da je brzina kristalisanja mnogo veća od brzine difuzije lanaca u polimernom rastopu, on je zaključio da će se mali segmenti lanaca koji dođu na blisko rastojanje, usled polja jakih interakcija organizovati u lamelarni kristalit. Ostali delovi ovih lanaca nemaju vremena da se probiju kroz rastop i saviju oštro u lamelu. Oni ostaju u amorfnom sloju oko lamele, ili sa drugim segmentima grade druge isto tako tanke lamele. Važno je uočiti da prema Florijevom modelu polimernih kristala, jedan lanac ulazi u sastav više kristalita što je obrnuto od kristalisanja malih molekula gde mnogo molekula grade jedan kristal. Danas se veruje da su moguća oba mehanizma odnosno da se javljaju kristaliti oba tipa. U razblaženom rastvoru lanci su dovoljno pokretljivi da mogu da se oštro previjaju

prema Kelerovom modelu, dok u rastopu dolazi do formiranja kristalita po Florijevom modelu [3, 5, 34–36].

Druga važna forma u kojoj se javljaju polimerne intermolekulske strukture jesu polimerne mreže. One mogu biti sastavljene u celosti od kovalentnih veza, ali neki kovalentni lanci formiraju mreže jonskim vezama. Neki blok kopolimeri grade mreže tako što blokovi na krajevima lanaca formiraju grozdove staklaste faze dispergovane po celom materijalu, ili pak kristališu i grade po celoj zapremini materijala kristalite koji služe kao čvorovi mreže. Između ovakvih čvorova u amorfnoj fazi su vrlo elastični, pokretni segmenti. Zagrevanjem ovakve mreže, čvorovi fizičkog umreženja se tope i ona reverzibilno prelazi u tečno stanje. Ovi materijali se nazivaju termoelastoplasti. Svojstva svih opisanih mreža su slična, ali ovde će se kao najčešće i najvažnije prikazati mreže potpuno kovalentne submolekulske građe. Ovakve mreže ne mogu reverzibilno da pređu u rastvor ili rastop (zato je potrebno razoriti kovalentne veze). Ali one upijaju rastvarače u kojima su lanci od kojih su nastale bili rastvorni i pri tome se šire u prostoru tj. bubre u meri koliko to dozvoljava konformaciona gipkost ili krutost njihovih lanaca. Tada se nazivaju gelovi. Struktura polimernih mreža može se okarakterisati brojem čvorova po jedinici zapremine materijala tj. gustinom čvorova, dužinom lanaca između čvorova tj. srednjom molarnom masom i raspodelom molarne mase segmenata mreže kao i brojem lanaca koji izlaze iz jednog čvora tj. funkcionalnošću čvorova [2–5, 20–29].

Polimerne mreže klasifikuju se prema pravilnosti građe, prema mogućnosti rasta, prema dimenzionalnosti i sl. Po pravilnosti građe, delimo ih na statističke (neregularne), delimično uređene i regularne. Kao delimično regularne smatraju se makroporozne mreže u kojima polimerna supstanca nije statistički raspoređena po celoj zapremini materijala, već one imaju pore kroz koje lako prolaze fluidi. Ove mreže se koriste kao jonoizmenjivači i u gel propustljivoj hromatografiji. Prema mogućnosti rasta, mreže se klasifikuju u četiri tipa: nultog, prvog, drugog i trećeg reda. Nultog reda su mreže koje ne mogu da rastu u prostoru, npr. mreža adamantana je u obliku kaveza, pa se tako zatvara u samu sebe i kažemo da ona ima nulti pravac rasta. Primer za mrežu prvog reda jeste lestvičasta aromatična mreža, dobijena kondenzovanjem dva lanca sindiotaktnog 1,2-poli(butadiena) u drugom stupnju polimerizacije i dalje dehidrogenizacijom. Primer za mreže drugog reda su dvodimenzionalne listaste ili slojevite mreže sa retkim vezama između slojeva, kakve gradi npr. grafit. Mreže trećeg reda su najčešće i dobijaju se povezivanjem lanaca, npr. kaučuka po sva tri pravca u prostoru.

Najčešći vid intermolekulske strukture jeste amorfna struktura polimera. Ovaj, treći osnovni vid intermolekulske strukture, karakteriše odsustvo prostorne uređenosti lanaca u materijalu. Lanci su gusto isprepletani i kohezione sile, koje su dominantno van der Valsovog tipa, drže ih na okupu. Postavljajući Teoriju isključene zapremine, Flori je zaključio da u ovakovom stanju, pod ujednačenim dejstvom sila na segmente sa svih strana, tačnije u srednjem polju dejstva, lanci ako su izloženi samo termalnim kretanjima imaju neporemećene dimenzije, što je De Žen nazvao Florijeva teorema. Tada nije bilo mogućnosti da se ona eksperimentalno proveri i mnogi su je osporavali. Šta više, sa razvojem elektronske mikroskopije, (pogrešno) interpretirajući dobijene rezultate, neki autori su postavili teorije po kojima i u

amorfnom stanju polimera postoji intermolekulska organizacija u vidu uređenosti u snopove, globule i sl., čemu se Flori žestoko protivio termodinamičkim argumentima. Sa razvojem tehnike merenja rasejanja neutrona na polimerima, postalo je moguće odrediti parametre neporemećenog stanja npr.  $\langle r^2 \rangle_0$  i za čvrste materijale, u principu isto kao iz jednačine (19.28). Dobijeni rezultati su bili praktično identični onim iz merenja u razblaženim  $\theta$ -rastvorima, što je još jedna potvrda Teorije isključene zapremine [3, 20–24].

*Supermolekulska* struktura opisuje organizovanje delova intermolekulske strukture u veće celine u materijalu. Tako npr. lamelarni kristaliti nekih polimera slažu se u uređene 3D strukture približno loptastog oblika, tzv. sferulite. Pri mešanju dva polimera u kompaktnu celinu koja čini materijal nazvan blenda, veoma često dolazi do razdvajanja faza. Ovakve faze mogu imati mrežastu intermolekulsку strukturu, pa fazna morfologija ovde predstavlja organizaciju višeg reda tj. supermolekulske strukturu. Očigledno je da se u okviru supermolekulske strukture može izvršiti podela na hemijski homogene a fizički heterogene strukture, i na hemijski i fizički heterogene strukture. Sferuliti su sastavljeni od makromolekula iste hemijske građe ali nisu homogene kristalne građe, i spadaju u prvu grupu. Umrežene blende polimera spadaju u drugu grupu [3, 5, 27–29].

*Makrostruktura* je najviši oblik organizacije koji može da uključuje sve pretvodno opisane nivoje strukture. Svojstva materijala obično se posmatraju nezavisno od veličine i oblika proizvoda. Međutim, sve više se nameće činjenica da polimerni proizvodi različitih dimenzija i mase nemaju homogenu strukturu po celoj zapremini, već ona zavisi od načina kako je materijal oblikovan u proizvod, koja dimenzija dominira itd. Tako se može govoriti o specifičnostima strukture vlakana, polimernih prevlaka kao i površinskih delova, ivica i jezgra, kod 3D polimernih proizvoda. Da je ovo ispravan put u analizi i dizajniranju polimernih struktura i proizvoda, ukazuje činjenica da u prirodi često nailazimo na makrostrukturu biopolimera. Ona se može opaziti kod vlakana vune i pamuka, kose, kože i kostiju, što je posebno važno pri strukturiranju biomaterijala i proizvodnji implantata. Primer takve strukture su kolagenska vlakna u organizmu. Kolagen koji čini jednu trećinu polimerne supstance u ljudskom organizmu, ima sledeću strukturu: lanci kolagena sastoje se od monomernih ostataka glicina (Gly) prolina (Pro) i drugih aminokiselina (što čini primarnu strukturu lanca odnosno submolekulsku strukturu materijala). Pri tome svaki treći mer je Gly a može se uočiti motiv Gly-X-Y, ako se ima u vidu da X i Y mogu biti bilo koji drugi aminokiselinski ostaci, ali je X najčešće Pro a Y hidroksiorolin (Hyp). U svom najvećem delu svaki ovakav lanac je uvijen u spiralu u pravcu levog zavrtnja (što predstavlja vidove sekundarne strukture molekula). Tri ovakva lanca koji ni po stepenu polimerizacije ne moraju da su isti (kod kolagena tipa I, dva su sa istim brojem mera a jedan kraći), međusobno su isprepletani i premošćeni retkim vezama, tako da svi zajedno formiraju strukturu u obliku snopa. U snopu se svaki od lanaca opet spiralno uvija oko centralne molekulske ose ali u smeru desnog zavrtnja, stvarajući kvaternarnu strukturu. Ovako formirani snop se naziva tropokolagen (što je kvaternarna struktura molekula kolagena u ovakovom sistemu). Tropokolagen ima naizmenične polarne i nepolarne regije, i dipolnim interakcijama ali i kovalentnim vezama gradi subfibrilu kao intermolekulsku struk-

turu (kovalentno umreženje je razlog nerastvorljivosti kolagena u vodi; sa starenjem gustina umreženja raste, pa je to razlog što je meso starijih životinja „žilavije“ tj. tvrde). Subfibrile se međusobno ukrštaju, gradeći fibrilu kao supermolekulsku strukturu. Fibrile dalje grade kolagensko vlakno kao makrostrukturu, v. Sl. 19.1 [3, 11, 17, 30, 33–40].

U skladu sa opisanim nivoima strukture, pojedine merne tehnike koje omogućavaju određivanje sastava, interakcija i prostorne organizacije na različitim nivoima, dobijaju poseban značaj za polimere. Na primer, uspon spirale lanca kolagena je 0,286 nm po aminokiselinskom ostaktu, diametar preseka protofibrile je 1,25 nm, za subfibrilu je oko 200 nm, a za fibrilu 2.000 nm; makrostruktura kakvo je kolagensko vlakno pripada skali od 20.000 nm. Razumljivo je stoga da su strukture kolagena ispitivane difrakcijom X-zraka i elektronskom mikroskopijom, ali i ultramikroskopom i optičkim mikroskopom jer ove tehnike odgovaraju navedenim skalama po istom redosledu posmatranja. Uz to, ispitivanja su vršena IR i NMR spektroskopijom kao i hemijskim metodama razlaganja i analize fragmenata [3–6, 20, 30–40].

**Metodi ispitivanja strukture.** Uopšteno govoreći možemo izdvojiti 5 metoda kao posebno značajne za ispitivanje strukture polimernih materijala. *Infracrvena spektroskopija* (engl. Infrared Spectroscopy – IR) omogućava karakterisanje submolekulske i molekulske strukture polimera, određivanje sastava karakterističnih grupa i tipa hemijskih veza, ali i karakterisanje konformacije segmenata. Predstavnici ruske škole izučavanja polimera Voljkenštajn i Ptigin su započeli svoj pristup polimerima preko izučavanja IR spektara. Kasnije su Gribov i sar. [30–32] razvili metod za proračunavanje IR spektara teorijskim putem. *Nuklearno-magnetsna rezonantna spektroskopija* (Nuclear Magnetic Resonance – NMR) omogućava ispitivanje submolekulske i molekulske strukture, i to sastava i prostorne organizacije ali i lokalnih interakcija polimera. *Rasejanje X-zraka pod velikim uglovima* (Wide Angle X-Ray Scattering – WAXS) omogućava ispitivanje uređenosti polimernih molekula na intermolekulskom i supermolekulskom nivou, npr. građe kristalne rešetke polimera ali i konformacije lanca u rešetki. *Rasejanje X-zraka pod malim uglovima* (Small-Angle X-Ray Scattering – SAXS) omogućava ispitivanje intermolekulske i supermolekulske strukture, npr. fazne morfologije polimernih blendi, veličine oblika čestica i aglomeracije punila i nekih drugih dodataka i sl. Elektronska mikroskopija se deli na dva osnovna metoda: transmisionu elektronsku mikroskopiju (Transmission Electron Microscopy – TEM) i skenirajuću elektronsku mikroskopiju (Scanning Electron Microscopy – SEM). One omogućavaju ispitivanje morfoloških karakteristika materijala, od intermolekulske preko supermolekulske do nekih makro struktura, ali pružaju podatke različitog karaktera u smislu prikazivanja prostornih relacija [3–6, 30–40].

**Klasifikacija polimernih materijala** se može izvršiti na više načina: po nameni, po sastavu, po termomehaničkim svojstvima, po poreklu itd. *Prema nameni* dele se na: materijale za masovnu upotrebu (tzv. „masovni polimeri“), inženjersku plastiku, gumu, termoočvršćavajuće smole, vlakna, prevlake i specijalne materijale. *Prema sastavu* dele se na: dominantno-jednopolimerne (praktično čist polimer); obogaćene dodacima (v. pasus o dodacima); blende (tj. smeše dva i više polimera

koji čine kompaktnu celinu, slično legurama kod metala) i kompozite (polimera sa drugim materijalima npr. metalima, staklenim vlknima ili keramikom). *Prema hemijskoj građi* organski polimeri dele se na: poliolefine, vinilne polimere, poliamide, zasićene i nezasićene poliestre, polietre, celulozu i derivate, kaučuke, fenol-formaldehydne smole, amino-smole, epoksidne smole, poliuretane itd. *Prema termomehaničkim svojstvima* dele se na: plastomere (termoplastične mase), elastomere (gumasti materijali) i duromere (tvrdna nerastvorna plastika odnosno termoumrežene smole). *Prema poreklu* dele se na: materijale prirodnog i sintetskog porekla [2-6, 20]

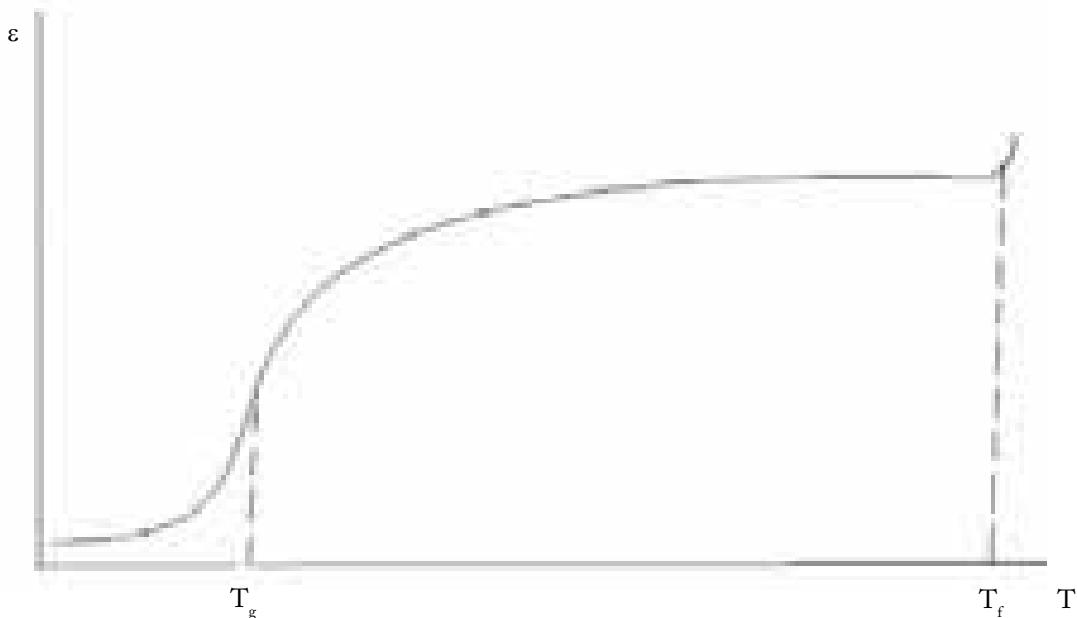
**Dodaci** polimerima su već podeljeni u grupe prema nameni, kada je govoreno o molekulskom nivou strukture materijala. Ovde će detaljnije biti prikazana svaka grupa prema toj klasifikaciji, uz odgovarajuće primere sastava dodataka. *Punila* se dodaju kao zamena u materijalu za deo polimerne supstance (koja je u principu skuplja od njih). Neaktivna punila tako deluju kao razblaživači u sistemu, koji daju potrebnu masu i/ili zapreminu materijalu uz što manje pogoršanje (na prvom mestu mehaničkih) svojstava. Najčešće se koriste kalcijum-karbonat, kaolin (tj. hidratisani alumo-silikati), silicijum-dioksid i čađ krupnijih zrna, staklena vuna, staklene kuglice i opiljci,drvno brašno itd. Međutim, neka punila veoma sitnih čestica kao aktivna čađ i silicijum-dioksid, ne samo da zamenjuju polimer (npr. kaučuk u gumi) već i znatno poboljšavaju mehanička svojstva, pa se i stoga zovu aktivna punila. *Plastifikatori* su supstance malih molekula, koji se umeću između polimernih lanaca, solvatizuju ih i čine pokretljivijim i time materijal mekšim. Ali zbog smanjenih intermolekulskih sila između lanaca, ovakvim umetanjem mehanička svojstva materijala opadaju. Za podešavanje solvatacije se uglavnom za polarne polimere koriste polarni, a za nepolarne polimere nepolarni plastifikatori. Najčešći plastifikatori su derivati nafte (parafinska i naftenska ulja), ftalati (npr. dioktilftalat tj. DOP za PVC), epoksidirani estri, kao i neki plastifikatori polimerne strukture (ali kratkih i gipkih lanaca). Za *olakšavanje postupaka prerade* koriste se vrlo različiti dodaci. Za sprečavanje lepljenja polimera za kalup, dodaju se organski fosfati ili olefini. U principu, interakcije ovih dodataka i polimera zavise od temperature. Na temperaturi dodavanja oni se dobro mešaju i ulaze u masu polimera, a na temperaturi korišćenja mešanje je loše pa ovi dodaci difunduju na spoljnu površinu i podmazuju njen dodir npr. sa metalom mašine. Stoga se zovu *podmazivači*. Neka jedinjenja kao N-4-dinitrozo-N-metilanilin poboljšavaju kontakt kaučuka sa punilima posebno čađu, pa se nazivaju *sredstva za prijanjanje*. Obrnuto, stearati, silikonska ulja, voskovi i dr. dodaju se za sprečavanje lepljenja polimera za druge materijale i nazivaju *sredstva za razdvajanje površina*. Organo-silani, modifikovane masne kiseline i sl. koriste se za *sniženje viskoznosti* polimera npr. PVC pri preradi. Dodatkom amida masnih kiselina, odgovarajućih estara, finih čestica silicijum-dioksida pa i fluoro-polimera, suzbija se efekat *slepljivanja* polimera zbog nagomilavanja statičkog elektriciteta. Zbog nagomilavanja *statičkog elektriciteta* polimerne površine takodje privlače prašinu, a tkanine iritiraju kožu. Zato se dodaju materijalu *antistatička sredstva* npr. polialkoholi, kvaternarne amonijum soli i dr. Budući da polimeri slabo provode toplotu, na filmovima za pakovanje i drugim proizvodima dolazi do *kondenzacije vlage* u vidu kapljica, što se može sprečiti dodatkom hidrofobnih estara masnih kiselina.

Većina polimera ima laku zapaljivost i dobru gorivost. Zaštitu materijala od gorenja moguća je po tri osnovna mehanizma: stvaranjem gasne faze, koja guši širenje plamena; stvaranjem čvrstog sloja na površini, koji dovodi do ugljenisanja i umrežavanja polimera; i endoternnim delovanjem jedinjenja, koja se pirolitički dekomponuju pri paljenju materijala i hlade polimerne slojeve ispod temperature paljenja. Razna organohalogena jedinjenja deluju po mehanizmu gasne faze. Organofosforna jedinjenja deluju po mehanizmu čvrste faze, a aluminijum-3-hidrati hlade materijal i uklanjuju dim. U industriji polimera upotrebljava se više od 200 različitih grupa *pigmenata za bojenje*, a dodaju se isparljivi estri isparljivog sastava radi prijatnog *mirisa* proizvoda. U cilju zaštite od dejstva mikroorganizama, insekata i životinja dodaju se *biocidi* tj. organska jedinjenja vrlo složene strukture, sprečavajući njihovu agresiju na materijal [3–6, 20–29].

### 19.5.2 Toplotna svojstva polimernih materijala

Važnost toplotnih svojstava ogleda se već u nazivima „plastične mase“ odn. termo-plastične mase, plastika itd. koji apostrofiraju mogućnost rezervabilnog prevođenja ovih polimernih materijala u meko, plastično stanje i preoblikovanja u tom stanju što je bitna razlika u odnosu na druge dve osnovne grupe materijala (metale i keramiku). Ova lakoća prerade odigrala je i značajnu ulogu u naglom razvoju sintetskih polimera u 20. veku. Međutim, ona se može shvatiti i kao nedostatak pri upotrebi polimera, jer se lako deformišu, pale i degradiraju, što nije poželjno za konstrukcione materijale [3–6, 16, 26, 34].

Ponašanje polimernih materijala pod dejstvom topline lako je pratiti preko tzv. termo-mehaničkih krivih. Na Sl. 19.2 šematski je prikazana takva kriva za jedan polimer amorfne strukture. Prve krive ovog tipa dobili su Kargin i sar. merenjem relativne dubine  $\varepsilon(\%)$  prodiranja tega sa šiljkom u polimerni uzorak na datoj temperaturi  $T$ , za neko referentno vreme. Na krivoj se mogu izdvojiti tri zone ponašanja. U prvoj zoni niskog  $T$ , dubina prodiranja je vrlo mala, što je tipično za tvdu, staklastu, plastiku. Ali ponašanje se naglo menja od neke temperatute  $T_g$ , u čijoj zoni materijal postaje mek a deformacije kao kod gumastih materijala. Posle gumastog platoa, teg još više tone u materijal od neke temperatute  $T_p$  od koje se polimer ponaša kao tečnost. On pod datim uslovima prelazi u rastop. Ove promene prirodno je poređiti da promenama faznih stanja nekih supstanci npr. vode, koja zagrevanjem prelazi iz čvrstog-kristalnog u tečno i dalje gasovito stanje. Polimeri ne mogu da pređu u gasovito stanje zbog težine svojih molekula. Ali kakav je karakter prelaza na  $T_g$  i  $T_p$ ? Nijedna od ovih temperatura ne odgovara tački topljenja, jer je materijal amorfan odn. isto-neuređene strukture u sve tri zone (što se može dokazati npr. difrakcijom X-zraka). Povrh toga, kako objasniti ovako velike promene svojstava bez promene strukture? Prvo, objašnjenje ponudio je Flori sa saradnicima sredinom 20. veka. Njihova merenja na raznim polimerima pokazala su da je udeo slobodne zapremine bio na  $T_g$  uvek isti. Pošto je slobodna zapremina merilo pokretljivosti molekula u materijalu, Flori je temperaturu  $T_g$  označio kao stanje iste pokretljivosti lanaca, od-



SLIKA 19.2 Termo-mehanička kriva za amorfne polimere

nosno prelaz pri kome se pokretljivost polimera naglo menja od vrlo male pokretljivosti veza, koja karakteriše staklasto stanje, u velika termička kretanja segmenata lanca od 20 do 30 veza, koja karakterišu gumasto stanje. Na temperaturi  $T_f$  se opet menja pokretljivost, jer pored segmentalne pokretljivosti sad lanci u celini postaju pokretni odn. počinju da teku. Drugim rečima,  $T_g$  i  $T_f$  nisu fazni već relaksacioni prelazi, za šta je kasnije nađeno još niz dokaza. Doduše,  $T_g$  se može teorijski shvatiti kao „echo faznog prelaza u stanje nulte konformacione entropije“, koje ne može da se realizuje kod realnih lanaca zbog njihove veličine i inertnosti.

Korisno je pomenute promene stanja pod dejstvom topote povezati jednom klasifikacijom u 5 fizičkih stanja polimera: *tečno* (nema uređenosti velikih razmara u sistemu, ali ima pokretljivosti segmenata i lanaca u celini), *staklasto* (nema uređenosti većih razmara, niti pokretljivosti segmenta ni lanaca u celini), *kristalno* (postoji uređenost većih razmara, ali nema pokretljivosti segmenata ni lanaca u celini), *gumasto* (nema uređenosti, ima pokretljivosti segmenata ali ne lanaca u celini) i *tečno-kristalno* stanje (postoji uređenost većih razmara, i pokretljivost lanaca u celini ali ne segmentalna pokretljivost). U ovoj klasifikaciji posebno je interesantno definisanje svojstava tečno-kristalnog stanja polimera. Ovo stanje predviđao je u svojim teorijama Flori niz godina pre praktične realizacije ovakvih sistema. Ali kad su oni ostvareni dobijeni su materijali izuzetnih svojstava, kao što su Kevlar vlakna koja su preko 5 puta jača od čelika, računato na istu težinu materijala. Prema Floriju prvi uslov za prelaz polimera u tečno-kristalno stanje jeste krutost lanaca ili bar njihovih odgovarajućih segmenata za tu fazu. To je različito od Majer-Sopeove teorije za male molekule gde uslove diktiraju neke intermolekulske interakcije.

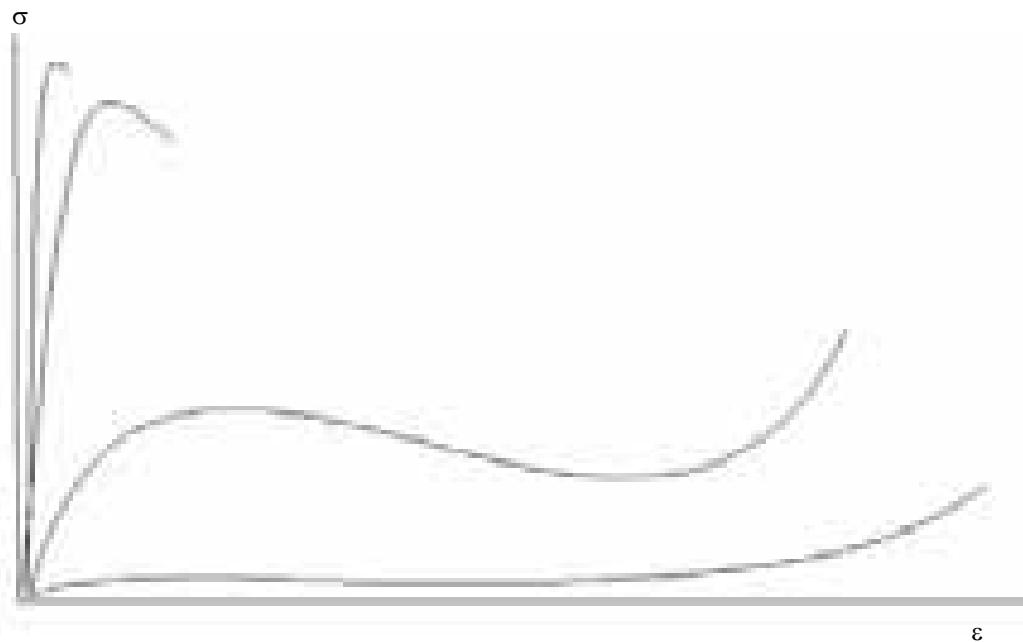
Osnovne metode za karakterisanje termičkih svojstava polimernih materijala jesu diferencijalna termalna analiza (differential thermal analysis – DTA), di-

ferencijalna skenirajuća kalorimetrija (differential scanning calorimetry – DSC), termogravimetrija (thermogravimetry – TGA) i termomehanička analiza (thermo-mechanical analysis – TMA), kojima se danas lako izvode opisani eksperimenti i dobijaju odgovarajući parametri [3–6, 22–26].

### 19.5.3 Mehanička svojstva polimernih materijala

Prvi polimerni materijali sintetskog porekla bili su jeftini ali loših mehaničkih svojstava, kako u odnosu na duge dve osnovne grupe materijala tako i na prirodne polimerne materijale kakvi su svila, koža i kaučuk. To je stvorilo loš utisak o inferiornosti plastike u odnosu na druge konstruktivne materijale, što je pogrešno. Primer je PE od koga se danas prave najslabiji polimerni materijali za jednokratnu upotrebu (npr. kese) i najači (vlakna oko 10 puta jača od čelika). Očigledno da nije hemijski sastav nego inženjersko strukturiranje materijala odgovorno za ove razlike u svojstvima. Stoga je veoma bitno proučavanje veza mehaničkih svojstava i strukture polimernih materijala [3–6, 26–29].

Na osnovu svakodnevnog iskustva lako je izdvojiti tri svojstva koja karakterišu mehaničko ponašanje plastomera: promena dimenzija sa vremenom pri većem ali konstantnom opterećenju (tzv. puzanje), smanjenje sila kojima se materijal opire deformaciji stalne veličine (relaksacija materijala) i javljanje zaostale deformacije pri cikličnom, elastičnom istezanju ili pritiskanju materijala (histerezis). Ova istovremena pojava i elastičnih i plastičnih (viskoznih) svojstava naziva se viskoelastičnost i posebno je izražena kod polimera. Ona se može opisati vremenskim funkcijama mehaničkih svojstava na šta upravo ukazuju opisi puzanja i relaksacije napona. Tako je potrebno da module delimo ne samo po geometriji deformisanja materijala (tj. module istezanja, smicanja i kompresije) već i po promeni sile deformisanja u vremenu (stalno opterećenje i oscilatorno opterećenje). Promena otpora materijala deformisanju u vremenu opisana je relaksacionim modulima (npr. relaksacioni modul pri smicanju označava se sa  $G(t)$  a pri istezanju sa  $E(t)$ ). Moduli koji karakterišu oscilatorno deformisanje materijala u formi su kompleksnih brojeva i nazivaju se dinamički moduli. Na primer, dinamički modul na smicanje prikazuje se formulom  $G^* = G' + iG''$ . Realna komponenta ovog modula  $G'$  (koja je u fazi sa silom deformisanja) opisuje elastični deo mehaničkog odgovora materijala i naziva se modul akumulacije, dok imaginarna komponenta  $G''$  opisuje rasejanje energije izazvano viskoznim (plastičnim) odgovorom i naziva se modul gubitaka. Za dublje razumevanje veze ovih parametara sa strukturom treba uočiti dve oblasti viskoelastičnog ponašanja, tj. ponašanje pri malim i velikim deformacijama. Ponašanje u prvoj oblasti naziva se linearna a u drugoj nelinearna viskoelastičnost. U prvoj oblasti javlja se linearna veza napona i deformacije, što se vidi npr. iz Sl. 19.3 za istezanje materijala (ali ovi nagibi nisu konstantni već se menjaju sa vremenom i temperaturom). U nelinearnoj oblasti ona je složena funkcija, na šta ukazuju oblici krive na Sl. 19.3.



Slika 19.3 Osnovni tipovi zavisnosti napon-deformacija za polimere

Ovde je posebno važno uočiti pojavu da se isti efekti izmene mehaničkih svojstava postižu bilo promenom vremena (tj. trajanja opterećenja) bilo temperaturom materijala. Objasnjenje ulazi u fundament tumačenja viskoelastičnosti polimera. Ono se kod linerane viskoelastičnosti može shvatiti kroz dominantan uticaj konformacionih promena na mehanička svojstva. Kratko rečeno: isti mehanički efekat se postiže ako lancima damo dovoljno vremena da pod datim opterećenjem promene konformaciju i relaksiraju unutrašnje napone, ili ako im dovedemo dovoljno toplotne energije da se ta promena odmah izvrši. Ove zakjučke su i matematički formulisali Feni i sar. kao jednačine tzv. temperaturno-vremenske superpozicije. Kod nelinerane viskoelastičnosti proces je složeniji i uključuje mehanizme samo-obječavanja i hladnog tečenja materijala, na koje ukazuje stvaranje jakog suženja na epruveti tzv. vrata pri istezanju u ovoj oblasti.

Govoreći o uticaju konformacionih promena na mehanička svojstva polimera neophodno je ukazati na još jedan fenomen. To je tzv. visoka elastičnost polimera odn. sposobnost gumastih polimernih materijala na veoma velike, povratne deformacije. Ove deformacije su utoliko veće i izrazito povratne (npr. povratne deformacije pri istezanju preko 1000%, za razliku od viskoelastičnih konformacionih efekata) kod umreženih polimernih materijala u gumastom stanju, koji se jednostavno zovu – guma. Prvu ideju za tumačenje ovih izuzetnih karakteristika koje se javljaju kod nekih polimera ponudili su Majer i Mark kroz prepostavku da dovoljno dugi lanci ili segmenti u mreži koji su sklupčani, pri istezanju daju tako velike deformacije a potom se po prestanku dejstva sile istezanja vraćaju (elastično) usled termičkih kretanja u entropijski najpovoljniju, prvobitnu, sklupčanu konformaciju. Dokaze za

ovo prepostavku i molekulsko tumačenje dali su u svojim radovima Kun i Flori, v. Od. 19.4. Zbog dominantno entropijskog uticaja na ovakvo elastično ponašanje, ovaj fenomen se pored visoke elestičnosti često naziva i entropijska elastičnost.

Sve ovo ukazuje kako na potrebu razvoja tehnika za precizno merenje ovih efekata, tako i razvoja mikro-reoloških modela za povezivanje dobijenih vrednosti sa parametrima strukture [3, 5, 20, 27, 37, 38]. Pored klasičnih tehnika mehaničkog ispitivanja (istezanjem na dinamometrima i sl.) danas se koristi mehanička spektrometrija i Vajsenbergova reognometrija kao i dinamička mehanička analiza (dynamical mechanical analysis – DMA) [3–6, 24–29].

## 19.6 DOBIJANJE I DIZAJNIRANJE POLIMERNIH MATERIJALA I PROIZVODA

Savremeni **polimerni materijali** su *prirodног* i *sintetskог* porekla (pa bi to bila i osnovna podela po načinu dobijanja), ali metodi dobijanja su vrlo raznovrsni. Postoji veliki broj industrijskih postupaka (znatno više nego kod druge dve grupe osnovnih materijala) i danas su vrlo veliki industrijski kapaciteti podignuti u svetu za sintezu i preradu polimera. U ovakovom tekstu ne može se ulaziti detaljnije u ove postupke, ali treba naglasiti njihove osnovne karakteristike i podele [3–5,37].

Polazeći od ***prirodnih sirovina*** postupci dobijanja mogu se podeliti na sledeći način: dobijanje *polimera* u prirodi, npr. prirodnog kaučuka sa plantaža, dobijanje *monomera* npr. stirena iz biljaka (još u starom Egiptu), dobijanje *polimernih materijala* u prirodi (uz malu doradu) npr. vune i svile, proizvodnja *modifikovanih prirodnih materijala* npr. štavljene kože i mercerizovanog pamuka, industrijska *prerada prirodnih polimera* u materijale npr. vulkanizovanje prirodnog kaučuka (tj. proizvodnja gume) i proizvodnja viskoznih vlakana od drveta.

Polazeći od ***industrijske sinteze*** govorimo o: petrohemijskoj sintezi monomera i polimera (npr. krekingom nafte dobija se propilen a polimerizacijom poli(propilen) tj. PP) i sintezi neorganskih i element-organskih monomera i polimera, npr. silikona i silikonskih kaučuka i sintezi polimera modifikovanjem već postojećih sintetskih polimera npr. proizvodnja poli(vinilalkohola) iz poli(vinilacetata). Industrijske sinteze polimera mogu se podeliti u *četiri osnovne grupe polimerizacije*: u masi, rastvoru, emulziji i suspenziji. *Polimerizacija u masi* odigrava se u homogenoj sredini koju čini (tečan ili rastopljen) monomer u kome je rastvoren i iniciator a često se rastvara i novonastali polimer. Prisustvo nečistoća je ovim svedeno na minimum, ali je otežana kontrola zagrevanjem i mešanjem, jer se reakcioni sistem obično brzo zgusne i teško dovodi do visokih stepeni reagovanja. *Polimerizacijom u rastvoru* otklanja se većina ovih teškoća, ali se pojavljuju problemi rada sa zapaljivim i toksičnim organskim rastvaračima i problemi njihovog kasnijeg uklanjanja. Stoga je pogodno emulgovati monomer u vodi (tzv. *emulziona polimerizacija*) što omogućava i dobru temperaturnu kontrolu i tečljivost, ali stvara probleme kod zastalih emulgatora u polimeru. Zato je nekad ovakve heterogene reakcione sisteme

me potrebno održavati dejstvom spoljnih sila, npr. energičnim mešanjem u vidu različitih suspenzija (*suspensiona polimerizacija*). Postoje razne podvarijante ovih postupaka, posebno u pogledu uklanjanja polimera iz reakcione smeše i stanja katalitičkog sistema. Jedan te isti polimer može se nekad dobiti raznim postupcima sinteze, što daje različite srednje molarne mase i raspodele, stepene čistoće i razlike u finoj strukturi materijala, i mora se uzeti u obzir pri izboru ovakvih tipova polimera i dizajniranju biomaterijala.

Dobijanje **polimernih proizvoda** i *materijala* nekad je povezano u *isti postupak*, npr. vulkanizacijom kaučuka stvara se guma čija je osnovna struktura kovalentna mreža u materijalu a istovremeno se u kalupima za vulkanizaciju daje oblik proizvodu (koji ostaje fiksiran umrežavanjem). Slično je sa sa proizvodima od duromera. Ipak su najčešće *postupci formiranja materijala* i njegovog *oblikovanja u gotov proizvod* razdvojeni, pa čak spadaju u različite industrijske grane (npr. petrohemidska sinteza polimera u vidu prahova i zatim njihova prerada (često manufaktorna) u proizvode od plastike).

**Postupci prerade** polimera u proizvode mogu se dalje deliti, zavisno od tipa polimera i/ili proizvoda, nivoa složenosti operacija itd. Tako govorimo o *metoda oblikovanja* valjanjem, livenjem, presovanjem u kalupe, i ekstruzijom. Kombinovanjem ovih osnovnih metoda oblikovanja dobijaju se znatno složeniji, i efikasniji postupci, na mašinama bitno drugačije konstrukcije, npr. u injekcionim presama se kombinuju metode oblikovanja ekstruzijom i presovanjem u kalupe, v. Sl. 19.1 deo III.2. Treba naglasiti da navedeni postupci, npr. injekciono presovanje, uključuju pored metoda davanja oblika proizvodu i promene u strukturi materijala (npr. kristalisanje u kalupu do određenog stepena i u određenoj morfologiji, orijentisanje lanaca u materijal pri tečenju koje ostaje zamrznuto u čvrstom proizvodu itd.), što nazivamo strukturiranje materijala u postupcima prerade. O svemu tome mora se voditi računa pri dizajniranju biomaterijala za odgovarajuće proizvode [3, 33–40].

## 19.7 PRIMENA POLIMERA ZA BIOMATERIJALE

U prethodnom tekstu videli smo da se polimeri javljaju u različitim tipovima klasifikacije materijala (npr. po tipu veza kao kovalentni). Gledajući po primeni oni su prisutni i u biomaterijalima. Tako je u predhodnom tekstu, govoreći o svojstvima polimera i mogućnostima njihove primene, bilo (indirektno) već dosta reči o polimernim biomaterijalima [3–5, 30–40].

Ovde će biti ukazano na još neke važne činjenice. Primena polimera u proizvodima koji se ugrađuju ili vezuju za organizam, često zahteva doradu proizvoda nakon oblikovanja, i naknadno strukturiranje materijala. Kao prvo, potrebna je sterilizacija tih proizvoda pre ugradnje. Ona se može izvesti suvim zagrevanjem, parom, hemikalijama i ozračivanjem. Kao što smo videli svi ovi postupci ostavljaju izvesnog traga na polimere, pitanje je u kojoj meri i koliko to utiče na funkciju proizvoda. Istoriski, među prvim primenama bilo je korišćenje poli(2-hidroksietil metakrilata), HEMA, za meka kontaktna sočiva. Ona se proizvode u staklastom stanju,

blago umrežena, doradjuju mehaničkom obradom i tek onda bubrenjem prevode u stanje za konačnu upotrebu. Pri svakoj od ovih faza dolazi do strukturiranja i mogu se promeniti svojstva materijala. Neki polimeri su dizajnirani da se ponašaju kao inteligentni materijali u prizvodima [3,33–38]. Na primer ortopedski implantati od kompozita hidroksiapatit/poli(L-laktid) mogu biti tako strukturirani da im kristalna faza daje čvrstoću u prvom periodu upotrebe, ali omorfna faza omogućava biorazgradnju takvom brzinom da stvara prostor za tkivo koje se regeneriše. Sve ovo otvara velike mogućnosti za dalje usavršavanje biomaterijala u kooperaciji sa polimernim inženjerstvom [3, 40].

## 19.8 PITANJA ZA REKAPITULACIJU

- 19.1 Definisati pojmove polimera i makromolekula.
- 19.2 Objasniti pojmove konstitucije, konfiguracije i konformacije lanca.
- 19.3 Objasniti mehanizme lančane polimerizacije i polikondenzacije.
- 19.4 Izvesti izraz za granični viskozitetni broj.
- 19.5 Objasniti osnovne strukturne modele polimernog lanca.
- 19.6 Opisati modele koji definišu interakciju polimernih lanaca sa okolinom i njihovu primenu u karakterisanju.
- 19.7 Objasniti nivoe strukture polimernih materijala.
- 19.8 Opisati osnovna topotorna svojstva polimernih materijala.
- 19.9 Opisati osnovna mehanička svojstva polimernih materijala.
- 19.10 Opisati osnovna svojstva polimera od značaja za njihovu primenu u biomaterijalima.

## 19.9 LITERATURA

1. P.J. Flory, *Statistical Mechanics of Chain Molecules*, Interscience-Wiley, New York (1969).
2. P.J. Flory, *Principles of Polymer Chemistry*, Cornell University Press, New York (1953).
3. M. Plavšić, *Polimerni materijali-nauka i inženjerstvo*, Naučna knjiga, Beograd (1996).
4. D. Raković, S. Krstić, Lj. Turković, *Savremeni materijali i tehnologije*, Grosknjiga, Beograd (1997).
5. K. Matyjaszewski, Y. Gnanou, L. Leibler, *Macromolecular Engineering*, Vol. I-IV, Wiley, New York (2007).
6. H.G. Elias, *Macromolecules*, Vol. I, *Structure and Properties*, Vol. II, *Synthesis and Materials*, Plenum, New York (1984).
7. E. Saiz, J.P. Hummel, P.J. Flory, M. Plavšić, Direction of the dipole moment in the ester group, *J. Phys. Chem.* 85, 3211–3217 (1981).

8. Y. Yarim-Agaev, M. Plavšić, P.J. Flory, Conformational analysis and dipole moments of oligomers of poly(methyl acrilate), *Polym. P.(ACS)* 24, 233–235 (1983).
9. M. Plavsic, Molecular Engineering of polymer Materials, *Mat. Sci. Forum* 214, 123–131 (1996)
10. M. Dugić, D. Raković, M. Plavšić, The Polymer Conformational Stability: A Quantum Decoherence Theory Approach, in *Finely Dispersed Particles: Micro-, Nano- and Ato-Engineering*, A. M. Spasic, J. P. Hsu, Eds., CRC Taylor and Francis, pp. 217–233, New York (2006).
11. M.B. Plavsic, New Catalytic Systems Based on Immobilized Enzymes and Some Fundamental Issues of Enzyme Catalysis, in *New Challenges in Catalysis IV*, P. Putanov Ed., pp. 141–169, SASA, Belgrade (2005).
12. C.J. Brinkel, G.W. Scherer, *The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing*, Academic Press, Boston (1990).
13. L.C. Klein, *Thin Films, Fibers, Preforms, Electronics and Speciality Shapes*, N.P. Ridge, New York (1988).
14. J. Veličković and M. Plavšić, Synthesis and solution properties of poly(diphenil itaconate), *Europ. Polym. J.* 12, 151–155 (1976)
15. J. Veličković and M. Plavšić, Synthesis and solution properties of poly(ditoluil itaconates), *Europ. Polym. J.* 19, 1171–1174 (1983)..
16. J. Veličković, J. Filipović, M. Plavšić, D. Petrović-Đakov, Z. Petrović, J. Budinski-Simendić, Glass Transition Temperatures Tg of poly(tolylmethacrylates) and poly(dyphenyl itaconates), *Polimer Bulletin* 27 331–337(1991).
17. D. Raković, *Osnovi biofizike*, Grosknjiga, Beograd (1995); IAEC & IEFPG, Beograd (2008).
18. D. Raković, M. Dugić, M. Plavšić, Polymer conformational transitions: A quantum decoherence theory approach, *Mat. Sci. Forum* 453–454, pp. 521–528 (2004).
19. D. Raković, M. Dugić, M.B. Plavšić, Biopolymer Chain Folding and Biomolecular Recognition: a Quantum Decoherence Theory Approach, *Mat. Sci. Forum* 494, pp. 513–518 (2005).
20. M.B. Plavsic, Interactions of Nanostructured Fillers with Polymer networks – transitions from nano to micro-scale, in *Finely Dispersed Particles: Micro-, Nano- and Ato-Engineering*, A.M. Spasic, J.P. Hsu Eds., CRC– Taylor and Francis, pp. 131–158, New York, (2006).
21. P.G. de Gennes, *Scaling Concept in Polymer Physics*, Cornell Univ. Pr, New York (1979).
22. M.B. Plavšić, N.L. Lazić, Nanostructure of Silica Fillers and Reinforcement of SBR Elastomers-A Fractal Approach, *Materials Science Forum* 413, 213–238 ( 2003).
23. M.B. Plavsic, I. Pajic-Lijakovic, N. Lazic, Scaling of Network Segment Dimensions in Hyperelastic Composites, *Mat. Sci. Forum* 494, 463–468 (2005).
24. N.L. Lazic, J. Budinski-Simendic, Z. Petrovic, M.B. Plavsic, Modification of Dynamic Properties of the SBR Rubber Composites with Silica Fillers, *Mat. Sci. Forum* 518, 417–423 (2006).

25. R.S. Popović, M. Plavšić, Blends of dissimilar rubbers-cure characteristics and vulcanizate properties of NR:MQ blends, *Kautschuk-Gummi-Kunststoffe* 44, 336–342 (1991)
26. R. Ristić, Lj. Vrhovac, M. Plavšić, The Influence of Stabilizers on Mechanochemical Processes in SBR Rubbers, *Journal of Applied Polymer Science* 72, 835–847 (1999).
27. M.B. Plavšic, I. Pajic-Lijakovic, P. Putanov, Chain Conformational Statistics and Mechanical Properties of Elastomer Blends, in *New Polymeric Materials*, L. S. Korugic-Karasz, W. J. MacKnight and E. Martuscelli Eds., pp. 252– 268, American Chemical Society and Oxford University Press, Oxford (2005).
28. R.S. Popović, M.B. Plavšić, R.G. Popović, The Resolution of Natural Rubber/Polydimethyl-siloxane Binary Blend Properties by Stress-Strain Modellin, *Kautschuk-Gummi-Kunststoffe* 49, 826–830 (1996).
29. R.S. Popović, M.B. Plavšić, R.G. Popović, M. Milosavljević, Mechanical Properties, Crosslink Density and Surface Morphlogy of SBR/Silicone RubberBlends, *Kautschuk-Gummi-Kunststoffe* 50, 861 (1997).
30. M.V. Volkenshtein, *Biofizika, Tom I Molekularnaya biofizika, Tom II Obschaya biofizika*, Nauka, Moskva (1975).
31. M.V. Volkenshtein, L.A. Gribov, M.A. Elyashevich, B.I. Stepanov, *Kolebaniya molekul*, Nauka Moskva (1972).
32. D. Raković, I. Božović, S.A. Stepanyan, L.A. Gribov, A theoretical study of the infrared absorption in trans(-CH)x and trans(-CD)x, *Phys. Rev. B* 21, 1997–2000 (1983)
33. B. Bugarski, L. Sajc, M. Plavšic, M. Goosen, G. Jovanovic, Semipermeable Alginate-PLO Microcapsules as a Bioartifical Pancreas u *Animal Cell Technology: Basic and Applied Aspects*, K. Funatsu, Y. Shirai and T. Matsuhita Eds., Kluwer Academic Pub, pp. 479–495, London (1997).
34. C. Ristic, M. Plavšic, D. Antonovic, B. Bugarski, An investigation of synthesis and degradation og poly(DL-lactide)and controlled relese of albumin from biodegradable poly(DL-lactide)cylinders, in *Chemical and Process Engineering*, I.Pasquon, Ed., AIDIC Seris ERIS C.T. Milano pp. 295–310 (1995)
35. N. Ignjatović, S. Tomić, M. Dakić, M. Miljković, M. Plavšić, D. Uskoković, Synthesis and properties of hydroxyapatite/poly-L-lactide composite biomaterials, *Biomaterials* 20, 809– 820 (1999)
36. N. Ignjatović, V. Savić, S. Najman, M. Plavšić, D. Uskoković, A study of HAp/PLLA composite as a substitute for bone powder, using FT – IR spectroscopy, *Biomaterials* 22, 571-577 (2001).
37. M.B. Plavšić, R.S. Popović, R.G. Popović, *Elastomerni materijali*, Naučna knjiga, Beograd (1995).
38. I. Pajić-Lijaković, B. Bugarski, V. Nedović, M. Plavšić, Rheological Quantification opf Liposome Aggregation, *Minerva Biotechnologica* 17, 245–249 (2005)
39. I. Pajić-Lijaković, M. Plavšić, B. Bugarski, V. Nedović, Ca-alginate hydrogel mechanical transformations, *J. Biotecnology* 129(3), 446–452 (2007)
40. R. Langer, N.A. Peppas, Advances in Biomaterials, Drug Delivery and Bionano-tecnology, *AICh EJ.* 49, 2990–3007 (2003)

# 20

## KOMPOZITNI BIOMATERIJALI<sup>1</sup>

Kompoziti se dobijaju kombinovanjem dva materijala, tako da se ostvare osobine koje nema nijedan od dva materijala pojedinačno. Kompoziti mogu imati neobičnu kombinaciju krutosti, čvrstoće, male gustine, visoke radne temperature, otpornosti na koroziju, tvrdoće ili provodnosti.

Kompoziti mogu biti metal/metal, metal/keramika, metal/polimer, keramika/polimer, keramika/keramika ili polimer/polimer.

Po konstrukciji, kompoziti mogu biti čestični, vlknasti ili slojeviti. Čestični kompoziti se najčešće koriste za izradu brzoreznih alata, dok se vlknasti pretežno koriste kao izuzetni konstrukcionalni materijali.

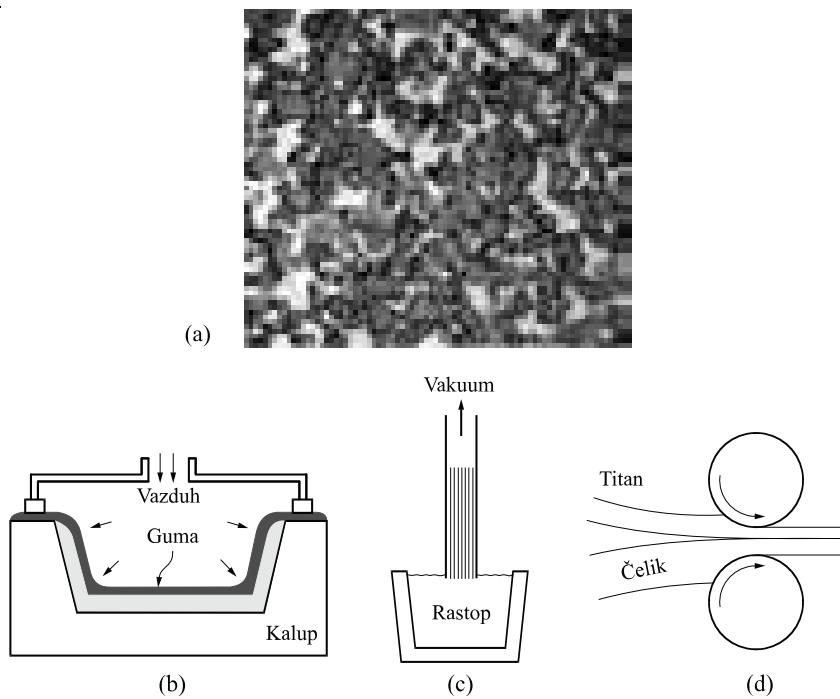
Kompoziti se izrađuju specijalnim tehnikama, zavisno od vrste. Prvo se izrađuju čestice i vlakna, a posle se ugrađuju u matricu, dok se kod slojevitih spajaju slojevi dve vrste materijala (v. Sl. 20.1).

Matrica u kompozitu ima veću plastičnost i žilavost, dok su čestice, vlakna ili pojedini slojevi povećane čvrstoće i krtosti. Na taj način, dobija se materijal izuzetne kombinacije čvrstoće, tvrdoće, plastičnosti i žilavosti, a ukoliko je matrica laka – i male težine! Matrica sprečava kretanje dislokacija, lanaca ili pukotina iz tvrđeg materijala kroz žilaviju matricu (zavisno od strukture kompozita!).

Postoji veliki broj vrsta i grupa kompozitnih biomaterijala sa različitim namenama. Do sada je ostvarena sinteza kompozitnih biomaterijala tipa metal/metal, metal/polimer, metal/keramika, keramika/keramika, keramika/polimer, keramika/prirodni, polimer/polimer kao i sve varijante njihovih kombinacija. Kompozitni biomaterijali trenutno predstavljaju najinteresantnije biomaterijale sa kojima bi se mogla izvršiti reparacija koštanog tkiva. Posebno interesantnu vrstu predstavljaju kompozitni biomaterijali na bazi hidroksiapatita (HAp), jer on predstavlja glavni sastojak prirodnog koštanog tkiva.

Na Sl. 20.2 prikazana je zavisnost modula elastičnosti od zatezne čvrstoće, različitih grupa kompozitnih biomaterijala, odakle se uočava da su HAp/polimer kompoziti bliski sa svojstvima prirodnom koštanom tkivu.

<sup>1</sup>Ovo poglavlje napisali su Nenad Ignjatović i Dragan Uskoković.

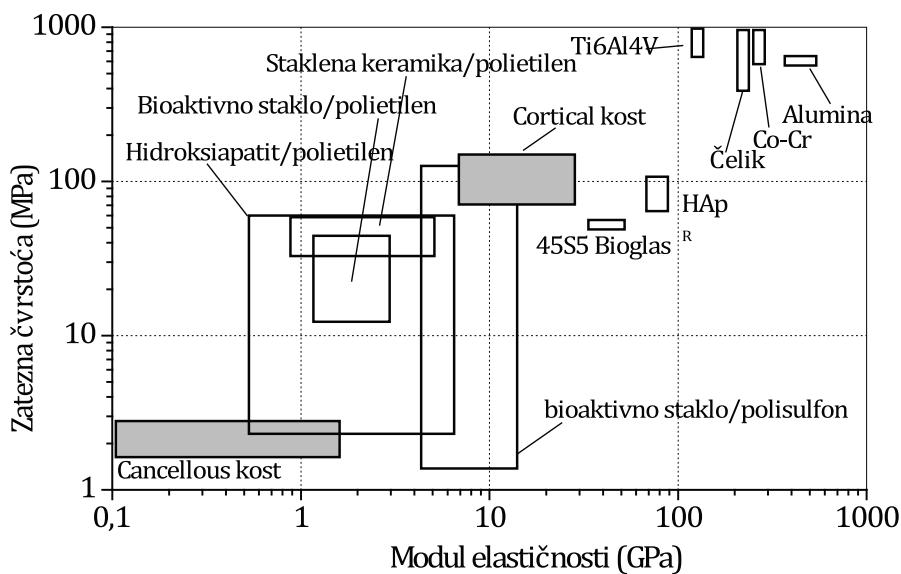


*SLIKA 20.1 Šematski prikaz: (a) strukture čestičnog kompozita kermeta, dobijenog presovanjem čestica WC i praha Co iznad temperature topanja kobalta, koji posle očvršćavanja čini kobaltnu matricu u kermetu; (b) livenja pod pritiskom vlaknastog kompozita u polimerskoj matrici; (c) vakuumske infiltracije rastopljenog metala u vlaknastom kompozitu sa metalnom matricom; (d) spajanja valjanjem, na toplo ili hladno, dva sloja metala u slojevitom kompozitu.*

Na površini biomaterijala preovladava HAp, čija koncentracija se ka unutrašnjosti smanjuje u korist titana. Povećanje mehaničkih svojstava HAp ostvareno je dodatkom Ni<sub>3</sub>Al u prahu HAp [2]. Nakon homogenizacije praha HAp i Ni<sub>3</sub>Al, smeša je toplo presovana na 1100 °C a dobijenom kompozitu ispitana je savojna čvrstoća u zavisnosti od udela Ni<sub>3</sub>Al. Na osnovu dobijenih rezultata, dodatkom 10 vol% Ni<sub>3</sub>Al ostvareno je maksimalno povećanje savojne čvrstoće. HAp se može ojačati i metalnim vlaknima, a takva vrsta vlaknastog HAp/metal kompozita sa 20–30% metalnih vlakana, može da ima žilavost od 6–7,4 MPam<sup>1/2</sup>.

## 20.1 GLAVNI PREDSTAVNICI KOMPOZITNIH BIOMATERIJALA

**Keramika/prirodni kompoziti.** Keramika/prirodni kompoziti označeni kao bioaktivni kompoziti u najvećoj meri se odnose na kalcijum fosfat (CP) / kolagen kompozite [3]. U poređenju sa čistim HAp, HAp/kolagen kompoziti izazivaju minimalnu inflamatornu reakciju, koja nakon 16 nedelja *in vivo* ispitivanja potpuno

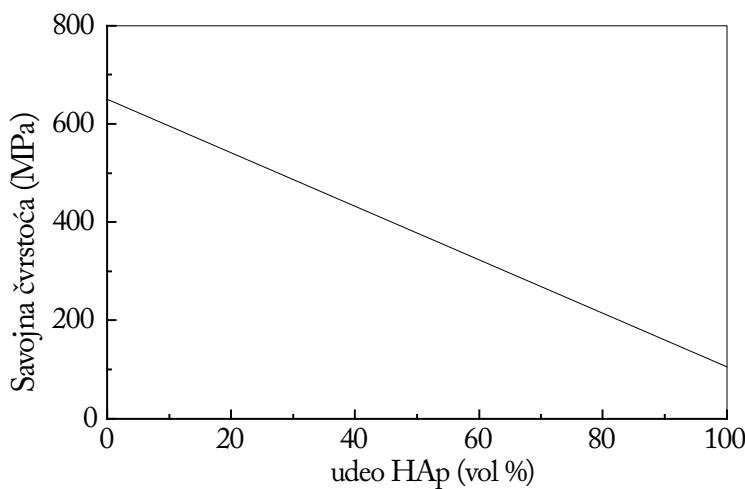


SLIKA 20.2 Modul elastičnosti i zatezna čvrstoća različitih materijala [1]

nestaje. Čestice HAp i trikalcijum fosfata (TCP) koje se nalaze u trodimenzionalnoj matrici od kolagena formiraju trokomponentan kompozit HAp/TCP/kolagen koji može poslužiti za reparaciju različitih koštanih defekata. Tokom *in vivo* ispitivanja ovog kompozita utvrđeno je da tkivo prvo dolazi u dodir sa kolagenom ispod koga se nalaze čestice HAp i TCP. Kolagen omogućava dobru adherenciju i integraciju kompozita sa okolnim tkivom. Nakon 6 nedelja ispitivanja uočava se stvaranje novog tkiva i kompletna integracija implantata. Supstitucija koštanog tkiva obavljena je i sa HAp/elastin kompozitom, kod koga su čestice HAp fino dispergovane u osnovi od elastina. Tokom ispitivanja *in vivo* utvrđena je dobra adherencija osteoblasta na kompozitu, kao i njihova proliferacija.

**Keramika/keramika kompoziti.** Keramika/keramika kompozitni biomaterijali najvećim delom odnose se na TCP/HAp, HAp/ $\text{Al}_2\text{O}_3$ , HAp/ $\text{SiO}_2$  i slične kompozite. Povećanje mehaničkih karakteristika HAp ostvareno je sintezom HAp/keramika kompozita sa  $\text{Al}_2\text{O}_3$  keramikom kao ojačavajućom komponentom. Na Sl. 20.3 prikazana je zavisnost savojne čvrstoće HAp/ $\text{Al}_2\text{O}_3$  od zapremskog udela HAp u kompozitu sa 70 vol%. Uočava se da savojna čvrstoća raste sa povećanjem vol%  $\text{Al}_2\text{O}_3$  u kompozitu i obrnuto.

Zbog sličnog hemijskog sastava HAp-u je dodata komponenta TCP i dobijen je HAp/TCP kompozit. U međufaznoj površini ovog kompozita ostvaruje se relativno blizak kontakt komponenti, bez pojava pukotina. Međutim postoje različita mišljenja o osteoinduktivnom potencijalu i biokompatibilnim osobinama ovog kompozita. Grupa istraživača je ispitala mogućnost adhezije, proliferacije i diferencijacije različitih faktora odgovornih za proces inflamacije kod kompozita HAp/TCP [5]. Razmatrani faktori su interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) i tumorni nekrotični faktor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Na osnovu dobijenih rezultata uočeno je da se stvaranje TNF- $\alpha$  kod HAp/TCP kom-



SLIKA 20.3 Zavisnost savojne čvrstoće od vol% HAp u HAp/ $\text{Al}_2\text{O}_3$  kompozitu [4]

pozita odvija na isti način kao i kod čistog HAp dobijenog sinterovanjem na 900°C i 1200°C. Iste zavisnosti su uočene i kod stvaranja IL-1β. Keramičku komponentu u HAp/keramika kompozitima može da predstavlja i  $\text{ZrO}_2$ ,  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{CaSO}_4$  ili vlakna HAp. Dodatkom različitih vrsta keramike u HAp povećavaju se njegove mehaničke karakteristike ali ujedno se smanjuje biokompatibilnost kompozita i povećavaju teškoće procesiranja zbog čega ova vrsta kompozita nije našla šиру kliničku upotrebu [1].

**Keramika/bioaktivno staklo kompoziti.** Keramika/bioaktivno staklo kompoziti zauzimaju visoko mesto kao biomaterijali koji se trenutno najviše koriste za zamenu malih kostiju srednjeg uva. Keramička komponenta je najvećim delom kod ove vrste kompozita CP, BCP ili HAp. Ova vrsta kompozita pokazuje visoku biokompatibilnost i bioaktivnost, što rezultira čvrstom vezom implantat-tkivo [3].

Nakon četiri nedelje *in vitro* ispitivanja uočava se indukcija i rast kristala HAp na površini HAp/bioaktivno staklo kompozita, koja je potvrđena rendgenskom analizom. Analizirano bioaktivno staklo sadrži 45,5 mol%  $\text{P}_2\text{O}_5$  i 54,5 mol% CaO. Bioaktivnu staklenu komponentu u kompozitu mogu da predstavljaju različite vrste bioaktivnih stakala. U zavisnosti od udela i vrste bioaktivnog stakla dobijene su različite vrste kompozita HAp/bioaktivno staklo [3]. U Tabl. 20.1 prikazana su svojstva najčešće do sada korišćenih komercijalnih keramika/bioaktivno staklo kompozita.

**Keramika/polimer kompoziti.** Keramika/polimer kompoziti su po mehaničkim osobinama najpričližniji osobinama prirodnog koštanog tkiva (Sl. 20.2). Najveći problem kod ove vrste kompozita predstavlja toksičnost polimera i njegova nepostojanost tokom starenja. Najveći broj polimera koji se koristio za sintezu keramika/polimer kompozita, tokom aplikacije u živom organizmu oslobađao je proizvode koji su negativno uticali na metabolizam okolnog tkiva ili je tokom perioda aplikacije umnogome menjao strukturu a time i osobine.

TABELA 20.1 Svojstva komercijalnih kompozita HAp/bioaktivno staklo [3]

Svojstvo	Ceravital	Cerabone A/W	Implantat I	Bioverit
gustina (g/cm <sup>3</sup> )	-	3,07	-	2,8
tvrdoća (HV)	-	680	-	500
kompresiona jačina (MPa)	500	1080	-	500
savojna čvrstoća (MPa)	-	215	160	100 – 160
Jungov modul (GPa)	100 – 150	218	-	70 – 88
jačina na kidanje (MPam <sup>1/2</sup> )	-	2,0	2,5	0,5 – 1,0

Struktura kompozita HAp/polimer najviše podražava strukturu prirodnog koštanog tkiva. Kontinualna matrica od polimera u kojoj je raspoređena HAp komponenta podseća na kolagensku komponentu u kojoj su fino distribuirane čestice kristala HAp. U zavisnosti od strukture, osobina i ponašanja tokom *in vitro* i *in vivo* uslova, polimeri mogu biti bioneresorbilni i bioresorbibilni.

**HAp/bioneresorbibilni polimer kompoziti.** HAp/polietilen (HAp/PE) kompoziti upotrebljavaju se za zamenu koštanog tkiva pod komercijalnim nazivom Hapex™ [6]. Granule ili prah HAp su mešane sa polimerom PE visoke gustine. Odnos udela polimera i HAp ima odlučujuću ulogu u formiranju mehaničkih karakteristika kompozita. U zavisnosti od udela PE kompozit ima različite mehaničke karakteristike. Na Sl. 20.4 prikazana je zavisnost Jungovog modula elastičnosti od udela HAp u kompozitu HAp/PE. Na osnovu rezultata sa slike uočava se da modul elastičnosti raste sa povećanjem udela HAp u kompozitu. Uzorci kompozita C i D sačinjeni su od PE niže molske mase (200.000 g/mol) dok uzorci A i B sadrže viši (270.000 g/mol). Srednja veličina čestica HAp kod uzoraka A i C (4,14 µm) niža je nego kod uzoraka B i D (7,32 µm). Pored povećanja vrednosti modula elastičnosti sa udelom HAp u kompozitu HAp/PE, raste i njegova biokompatibilnost.

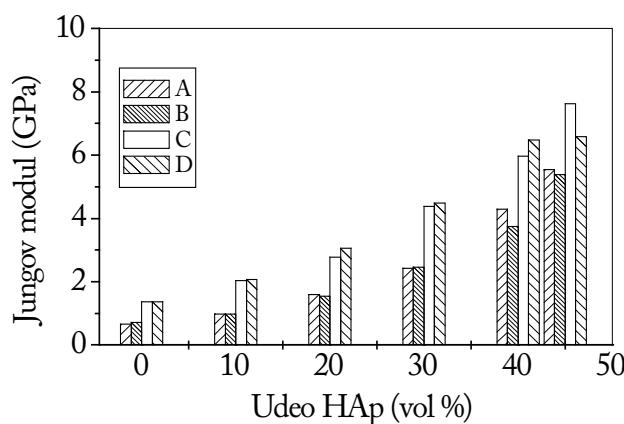
Površina čestice HAp u kompozitim HAp/bioneresorbibilni polimer može se uspešno modifikovati (silanizirati) slojem koji pospešuje adheziju u kompozitu. Ovakvim pristupom obezbeđuje se potencijalno jaka veza između HAp i polimera preko polimerne prevlake. Polimer ostvaruje jaču vezu sa polimernom prevlakom, a prevlaka sa HAp. Sistem HAp-prevlaka-polimer koji tada postoji u kompozitu omogućava više vrednosti mehaničke čvrstoće nego sistem HAp-polimer. Silanizirana površina HAp može da utiče na povećanje mehaničkih osobina kompozita.

**HAp/bioresorbibilni polimer kompoziti, „živi“ biokompoziti.** Sintezom i dizajniranjem kompozitnog biomaterijala sa HAp i bioresorbibilnim polimerom ostvaren je sasvim nov koncept biomaterijala. Biomaterijali ovog tipa postaju „živi“, vremenski se razvijaju i menjaju, a nakon završenog procesa reparacije defekta nestaju i „umiru“. Osnovna ideja sadržana je u tome da se nakon implantacije u koštani defekt polimerna komponenta sa kojom je ojačan HAp, bioresorbuje ustupajući na taj način mesto novoformiranom tkivu. Keramička komponenta HAp može da bude bioresorbibilna ili bioneresorbibilna, pa samim tim ona može a i ne mora da ostane u tkivu [8].

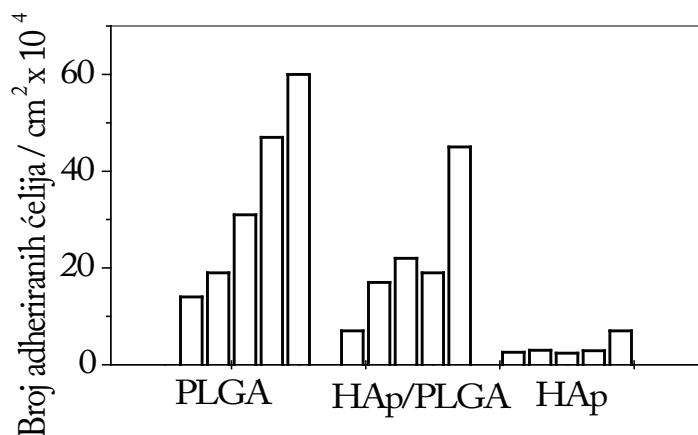
U *in vivo* uslovima na površini granula HAp i smeše HAp i polilaktid-co-glikolida (PLGA) ispitivana je diferencijacija i promena broja ćelija osteoblasta [9]. Rezultati istraživanja ukazali su da smeša HAp i PLGA indukuje stvaranje većeg broja osteoblasta nego sam HAp. Rezultati ovih istraživanja prikazani su na Sl. 20.5. Aktivnost alkalne fosfataze je jedan od odlučujućih faktora od kojih zavisi diferencijacija osteoblasta i ekspresija gena.

U istraživanjima istih autora zabeležena je veća aktivnost alkalne fosfataze na površini HAp/PLGA kompozita nego na površini PLGA. Sintetisan je i HAp/PLGA kompozitni biomaterijal kod koga se HAp komponenta u kompozitu nalazi u obliku vlakna [10]. Kratka vlakna HAp prosečne dužine 45 µm i prečnika 15 µm pomešana su sa rastvorenim biokompatibilnim polimerom PLGA i želatinom. Ova smeša podvrgнутa je vakuumskom uparavanju, nakon čega je presovana. Dobijeni krajnji proizvod je dosta porozan, pa se iz tih razloga može uspešno primeniti u inženjerstvu tkiva kao nosač različitim ćelijskim kulturama. Kratka vlakna HAp koja se nalaze u kompozitu mogu da poboljšaju osteokondukciju, ali zbog malih vrednosti mehaničke čvrstoće ova vrsta kompozita se ne može uspešno primeniti u reparaciji tvrdog koštanog tkiva. Veličina pora ovog kompozita može se po želji formirati dodatkom soli NaCl ili želatina i ona se nalazi u intervalu od 300–500 µm. NaCl se nakon „solvent-casting“ postupka ekstrahuje iz sistema, a na njegovom mestu ostaju naznačene pore. U zavisnosti od masenog odnosa komponenti polimera (PLGA) i keramike (HAp) kompozitni biomaterijal ima različite vrednosti kompresione čvrstoće, koja je prikazana na Sl. 20.6. Kompresiona čvrstoća ove vrste kompozitnog biomaterijala ima vrednosti od 1–3,0 MPa što je malo u odnosu na kompresionu čvrstoću prirodnih kostiju koja najčešće iznosi od 100–150 MPa. Najviša vrednost kompresione čvrstoće zabeležena je za udeo PLGA od 30% i HAp od 35%, dok ostatak sačinjava želatin ili NaCl pomoću koga se formira poroznost sistema.

Važnost udela i veličina pora naznačen je u istraživanjima u kojima je sintetisan kompozit HAp/PLGA [11]. Za sintezu su korišćene čestice HAp veličina od 74–104 µm i PLGA molske mase 50.000 g/mol. U ovim istraživanjima ukazano je na važan uticaj pora kompozita na proces reparacije defekta i integracije implantata.



SLIKA 20.4 Uticaj udela HAp u kompozitu HAp/PE na Jungov modul smicanja za kompozite A, B, C i D [7]



*SLIKA 20.5 Broj ćelija na površini PLGA, HAp/PLGA i HAp nakon 1, 2, 3, 5, i 7 dana in vitro ispitivanja [9]*

Dobijeni su kompozitni biomaterijali sa različitim vrednostima poroznosti koja je formirana sinterovanjem smeše HAp, PLGA i NaCl. Nakon sinteze blokova NaCl je uklonjen a na njegovom mestu ostale su pore. Dobijene su dve vrste blokova sa poroznošću od 33 i 22 %, a veličina prečnika pora bila je u intervalu od 50–450  $\mu\text{m}$ . Maksimalni dobijeni modul elastičnosti kompozita u ovim istraživanjima iznosio je oko 1,5 GPa. Ostale mehaničke osobine u ovim istraživanjima nisu analizirane niti ispitane. Dobijeni modul elastičnosti od 1,5 GPa dosta je niži nego kod prirodnih kostiju koji je u intervalu od 10–20 GPa. *In vitro* istraživanja ukazala su na adherenciju ćelija osteoblasta na površini blokova HAp/PLGA biokompozita, kao i na njihovu proliferaciju.

**HAp/PLLA biokompoziti. Sinteza, struktura i svojstva.** Bioresorbibilni sintetski polimeri na bazi poli-l-laktida (PLLA) imali su do sada široku primenu u medicini zato što su krajnji proizvodi njihove razgradnje netoksični i pri tome ne remete metabolizam okolnog tkiva. Biodegradabilni polimeri na bazi PLLA na svojoj površini omogućavaju dobru adheziju osteoblasta kao i adheziju proteina i faktora rasta odgovornih za reparaciju koštanog tkiva. Za dobijanje ove vrste kompozita mogu se upotrebiti i drugi bioresorbibilni polimeri kao što su poliglikol (PGA), poli(d,l-laktid) (DLPLA), poli( $\epsilon$ -kapralakton) (PCL), poli(d,l-laktid-co-glikolid) (DLPLG), polialkil-2-cianoakrilat, poliglikol (trimetilenkarbonat), poli-l-laktid(dl-laktid), polilaktid( $\delta$ -valerolakton), poli- $\beta$ -hidroksibutarat, poli- $\beta$ -maleinska kiselina, poli-p-dioksanon, poli(amino kiseline), polivinilalkohol itd., tako da se PLLA može zameniti u sintezi kompozita sa bilo kojim drugim bioresorbibilnim polimerom.

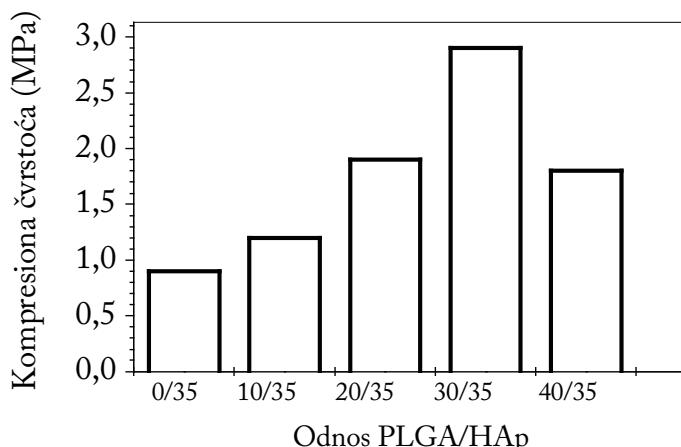
Sintetski HAp, vrlo sličan prirodnom koštanom HAp, takođe je pokazao izuzetna osteokonduktivna svojstva tokom predkliničkih i kliničkih istraživanja. U međufaznoj površini između tkiva i površine HAp dolazi do direktnе konekcije i adhezije, pa se iz tih razloga i kaže da je HAp osteokonduktivan i bioaktiv. Različite grupe autora su sa manje ili više uspeha ispitale mogućnost sinteze kompozita HAp/PLLA.

Morfologija dobijenih kompozitnih biomaterijala HAp/PLLA je različita. Komponente HAp i PLLA u okviru kompozita mogu biti ponaosob kontinualne i diskontinualne. Posebna vrsta kompozita predstavljena je jednom kontinualnom komponentom (najčešće PLLA) u kojoj se nalazi druga (najčešće HAp). Geometrijski posmatrano najjednostavniji način je ostvaren dobijanjem kompozita HAp/PLLA kod koga se smenjuju slojevi HAp i PLLA, tzv. direktni ili kontaktni laminati. Blokovi HAp sa slabijim mehaničkim osobinama ojačavani su sa različitim polimerima, od kojih jednu grupu sačinjavaju polimeri na bazi PLA. Ojačavanje je obavljeno povezivanjem blokova HAp sa poli-l-laktidom (PLLA), a ovako dobijeni kompozit je lamelarne strukture. U bloku se komponente HAp i PLLA sukcesivno smenjuju, a njihov međusobni maseni odnos može se unapred definisati. Naznačena struktura dobija se tako što se tanki slojevi polimera u vidu folije slažu na površinu bloka HAp, a nakon toga pod uticajem pritiska kompaktiraju. Ovakav postupak se može ponoviti više puta, u zavisnosti od željenog broja slojeva za nanošenje polimernih folija na površinu HAp.

U istraživanjima je dobijen kompozit HAp/PLLA u kome je maseni udeo čestične komponente HAp bio promenljiv po želji [12]. Ispitana je mogućnost dobijanja kompozita HAp/PLLA sa česticama HAp veličine 45 nm u trodimenzionalnoj osnovi od PLLA molske mase oko 200.000 g/mol. Sinteza kompozita je ostvarena dodavanjem čestica HAp u monomer l-laktid i naknadnom polimerizacijom smeše. *Ring-opening* polimerizacija je iskorišćena u cilju dobijanja HAp/PLA kompozita sa bliskim kontaktom faza. Polimerizacija je okarakterisana sledećom zavisnošću:

$$P_N = \frac{[L]}{[X] + [HA]_{eff}}$$

$$\frac{1}{P_N} = \frac{[X]}{[L]} + \frac{[HA]_{eff}}{[L]} = \frac{1}{P_N^0} + \frac{[HA]_{eff}}{[L]}$$



*SLIKA 20.6 Vrednosti kompresione čvrstoće kompozitnog biomaterijala HAp/PLGA u zavisnosti od odnosa PLGA/HAp [10]*

gde je  $[L]$  koncentracija monomera,  $[X]$  koncentracija polimera,  $[HA]_{\text{eff}}$  koncentracija HAp sa kojom se izvodi polimerizacija,  $P_N^0$  početni stepen polimerizacije, a  $P_N$  trenutni stepen polimerizacije u sistemu.

Kompozitni biomaterijal HAp/PLLA može se dobiti i kovanjem smeše PLLA sa nekalcinisanim i nesinterovanim HAp [13]. Smeša HAp i PLLA sa masenim udjelima HAp od 20–50% se ekstruduje u lističe koji su toplim kovanjem prevode u blokove. Kovanje se odvija na temperaturama nižim od temperature topljenja PLLA. Komponentu HAp koja je u obliku agregata veličina od 5–50 μm, sačinjavaju čestice HAp širine 0,3–0,5 μm i visine 2–3 μm. Ovako dobijeni kovani kompozit ima kompresionu čvrstoću blisku onoj kod prirodnog koštanog tkiva, pa ga iz tih razloga autori nazivaju i ultravisoko jaki kompozitni biomaterijal HAp/PLLA. Na Sl. 20.7 prikazani su neki od oblika ovako dobijenog kompozita.

Mogu se dobiti i višekomponentni kompoziti na bazi HAp i PLLA, koji se sastoje iz tri komponente. Komponenta A je PLLA, komponenta B je kalcijum fosfatna keramika HAp, a komponenta C može biti polietilenglikol, poli-N-vinilpirolidon ili nijihova smeša. Maseni odnos A/B+C je u intervalu od 99/1 do 50/50. Najoptimalniji odnos koji se preporučuje je od 95/5 do 60/40. Smeša komponenti A, B i C u željenom odnosu se rastvori u rastvaraču, nakon čega se komponenta HAp disperguje u rastvoru. Rastvor se podvrgava sušenju pod normalnim ili smanjenim pritiskom. Kompozitni biomaterijal može se dobiti i drugim postupkom koji obuhvata mešanje smeše komponenata A, B i C u željenom odnosu na temperaturi koja nije niža od temperature topljenja PLLA. Kompozit se može ekstrudovati na ekstruderu sa željenim parametarima procesa.

Dvostepenim postupkom mogu se dobiti blokovi kompozita HAp/PLLA višoke čvrstoće, sa visoko ili nisko kristaličnom HAp komponentom. U prvom stepenu optimalnim procesiranjem dobija se visoko porozni kompozit sa željenim odnosom komponenti, veličinom čestica HAp i molskom masom PLLA. U drugom stepenu se dizajniraju osobine blokova kompozita kompaktiranjem hladnim i toplim presovanjem. Toplim presovanjem je moguće uticati na promene poroznosti, molske mase



*SLIKA 20.7 Različiti oblici implanata od kompozitnog biomaterijala HAp/PLLA koji su dobijeni kovanjem [13]*

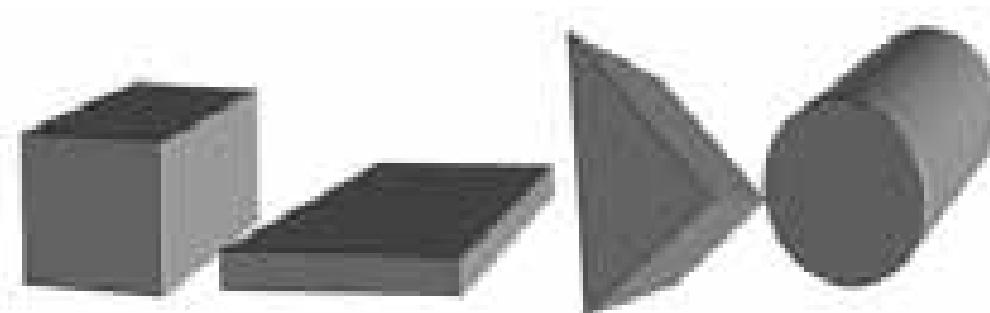
PLLA i odnosa kristalinično/amorfno što do sada nije bio slučaj [14–17]. Dobijene mehaničke karakteristike blokova kompozitnog biomaterijala HAp/PLLA bliske su prirodnom koštanom tkivu. Na Sl. 20.8 prikazane su neke vrste i oblici blokova sa različitim mehaničkim svojstvima.

Krajnja svrha razvoja kompozita HAp/PLLA jeste njegova aplikacija u živi organizam u cilju različitih vrsta reparacija. Pri tome, tkivo i organizam u koji se implantira biomaterijal postavljaju niz zahteva za strukturom i osobinama kompozitnog biomaterijala. Načini dizajniranja strukture od koje zavise osobine, međusobno se dosta razlikuju. Da bi se uspešno mogla analizirati obavljena istraživanja uticaja različitih načina dizajniranja na strukturu kompozita, izvršena je podela prema nivou organizacije strukture na koju se dizajniranjem utiče. Organizacija strukture je analizirana hijerarhijski od nižih ka višim nivoima. U okviru nivoa strukturne organizacije na koji se utiče, navedeni su vidovi i načini strukturiranja realizovani u raznim istraživanjima.

**Submolekulski nivo.** U okviru kompozita HAp/PLLA mogu se dispergovati molekuli faktora rasta, antibiotika ili hormona, koji u svojoj submolekulskoj strukturi poseduju elemente različite od elemenata HAp i PLLA.

**Molekulski nivo.** Molska masa PLLA ima odlučujući uticaj na tačke ostakljenja i topljenja polimera, kao i na mehaničku čvrstoću. PLLA veće molske mase ima bolje mehaničke osobine nego PLLA sa nižom molskom masom. Oblik molekula PLLA tokom dizajniranja takođe utiče kako na strukturu tako i na osobine kompozita. Za dobijanje kompozitnog biomaterijala različiti autori su koristili PLLA različitih molskih masa, u intervalu od 10.000–500.000 g/mol. Za dobijanje kompozita HAp/PLLA mogu se koristiti različite veličine čestica HAp. Veličina čestica može biti od nekoliko nm pa do granula veličina 1–2 mm.

**Intermolekulski nivo.** Stepen kristaličnosti komponente HAp ima odlučujući uticaj na osobine tokom *in vitro* i *in vivo* istraživanja. Iz ovih razloga pojedini istraživači govore o bioresorbibilnom i bioneresorbibilnom HAp. Za sintezu kompozitnog biomaterijala može se upotrebiti slabo kristalni kalcijum fosfat, ili apatit ( $\text{Ca}_{16,3}(\text{PO}_4)_{4,3}(\text{HPO}_4, \text{CO}_3)_{1,7}(\text{OH}, \text{CO}_3)_{0,3}$ ) sa amorfnošću od preko 75%, koji se brzo resorbuje. U slučajevima kada u kompozitu HAp egzistira u visoko kristalnoj formi stepen kristaliničnosti PLLA ima odlučujuću ulogu u bioresorpciji. Kao što je i ranije naznačeno biresorpcija počinje u amorfnim regionima PLLA, pa je neophodno



SLIKA 20.8 Trodimenzionalni blokovi kompozita HAp/PLLA koji su dobijeni toplim presovanjem

poznavati odnos amorfno/kristalinično u polimeru. Iz ovih razloga može se zaključiti da vreme bioresorpcije PLLA, a samim tim i proliferacija novoformiranog tkiva i integracija implantata od HAp/PLLA, zavisi od odnosa kristalinično/amorfno u PLLA. Pored odnosa kristalinično/amorfno u PLLA, orijentacija njegovih molekulskih lanaca ima bitan uticaj na mehaničke osobine kompozita, ali i na njegovu bioresorpciju. Generalno posmatrajući, orijentacija lanaca se vrši u pravcu delovanja mehaničke sile, primenjene tokom procesiranja. Na ovom nivou strukture bitno je izučiti intermolekulske efekte (interakcije) koji se javljaju između molekula HAp i PLLA. Izučavanje ove vrste efekata bitno je za analizu međupovršine između komponenti HAp i PLLA. Interakcije se mogu javiti u vidu fizičkih ili hemijskih veza između HAp i PLLA u međufaznoj površini i one predstavljaju osnovu mehaničkih karakteristika kompozita koje se registruju na makro nivou. Veličina čestica HAp u kompozitnom biomaterijalu direktno se odražava na ukupnu međufaznu površinu. Sa smanjenjem veličine čestica HAp, povećava se površina na kojoj dolazi do interakcija HAp i PLLA i obrnuto.

Stepen kristaliničnosti kompozitnog biomaterijala HAp/PLLA imao je značajan uticaj na bioresorpciju i integraciju implantata [11]. Za predviđanje strukture i osobina kompozita HAp/PLLA u potencijalnoj aplikaciji, vrlo je veliki značaj poznavanja i projektovanja početne vrednosti stepena kristaliničnosti kompozitnih biomaterijala. Postupkom toplog presovanja uz varijaciju vremena i pritiska toplog presovanja, dobijeni su blokovi u kojima se stepen kristaliničnosti PLLA može smanjivati do željenih vrednosti [17].

**Supermolekulski nivo.** Kristaliti polimera PLLA mogu se organizovati u viši nivo strukture, sferulite. Formiranje sferulita je uslovljeno različitim faktorima, od kojih dominiraju brzina hlađenja nakon zagrevanja i masa. Tanki slojevi PLLA drugačije kristališu od masivnih zapremina PLLA, pa samim tim i formiranje sferulita zavisi od toga. Supermolekulsku strukturu srećemo i kod heterogenih smeša sa PLLA matricom i fino dispergovanim česticama HAp, koje mogu aglomerisati u njoj. Na taj način struktura nekih kompozita HAp/PLLA smatra se tipom supermolekulске strukture. U cilju matematičkog modelovanja osobina kompozita HAp/PLLA, neophodno je da njegova struktura odgovara polifaznom sastavu na supermolekulskom nivou. Blokovi kompozita HAp/PLLA mogu u sebi sadržati koštani morfogenetski protein (BMP) ili druge osteoinduktivne faktore. Dodati biološko aktivni agensi moraju da se homogeno rasporede u smeši i moraju da daju biološki, fiziološki, farmakološki i terapeutski efekat na reparisani koštani defekt, koji se u prikazanim istraživanjima odnosi isključivo na animalni svet. Biološko aktivni agensi koji se dodaju mogu biti fibronektin, humani hormon rasta, interleukin i sl. Moguće je dodati i anti-bakterijske agense kao što su penicilin, cefalosporin, baktrin i sl. Dodavanjem različitih faktora rasta u kompozit HAp/PLLA, generalno posmatrano želi se olakšati prirodan proces reparacije koštanog defekta uz istovremeno ubrzavanje i favorizovanje prirodnih procesa koji se dešavaju tokom regeneracije.

**Makro nivo.** Struktura kompozitnog biomaterijala HAp/PLLA nije homogena po čitavoj zapremini. U zavisnosti da li je dobijen tanak sloj, vlakno ili trodimenzionalni blok, može se analizirati specifičnost njegove makrostrukture. Takođe, struktura PLLA nije uniformna po celoj njegovoj zapremini, posebno kod vlakana.

Standardnom tehnologijom koja se primenjuje u tekstilnoj industriji dobijen je kompozit HAp/PLLA. Beskonačno dugo vlakno PLLA se namotava oko bloka HAp u željenom smeru. Namotavanje može biti u jednom smeru, ali se vlakna PLLA mogu namotavati normalno jedna na druga. Ovakvim postupkom moguće je dobijanje cilindričnih oblika kompozita sa različitom orijentacijom vlakana. Debljina polimerne komponente zavisi od debljine vlakna i najčešće se nalazi u intervalu od 0,1–2 mm. Sličnom tehnologijom dobijeni su blokovi dimenzija (30 x 10 x 4 mm). Ukupna otvorena poroznost ovako dobijenih kompozita nalazi su u granicama od 20–70 %. Upotreboom visoko gусте HAp keramike moguće je dobiti isti blok u besporoznom stanju (sa beznačajnom poroznošću čija vrednost u prikazanim istraživanjima nije navedena). PLLA povezuje blokove HAp i ima ulogu adheziva u kompozitu.

**Mehanička svojstva i poroznost.** Osnovna teškoća u istraživanjima razvoja biomaterijala kao zamene tvrdog koštanog tkiva je kako dobiti kompozitni biomaterijal keramika/bioresorbibilni polimer, koji bi po svojim mehaničkim karakteristikama bio blizak mehaničkim osobinama prirodnog koštanog tkiva. Pored navedenog zahteva neophodno je omogućiti takvu vrstu dizajniranja koja omogućava projektovanje što više osobina kompozita bitnih za njegovu aplikaciju. Mehanička čvrstoća, modul elastičnosti kao i ideo i raspodela poroznosti imaju značajnu ulogu u periodu implantacije i eksploracije biomaterijala. U cilju optimalne raspodele napona koji se javljaju tokom naprezanja i opterećenja implantata, neophodno je da kompozitni biomaterijal keramika/bioresorbibilni polimer ima mehaničke osobine bliske koštanom tkivu koje zamenjuje. Mehanička svojstva prirodnog koštanog tkiva koje je kompozitnog sastava i strukture prikazana su u Tabl. 20.2.

Tabela 20.2 Mehanička svojstva koštanog tkiva [18]

Tkivo	Modul elastičnosti [GPa]	Zatezna čvrstoća [MPa]	Kompresiona čvrstoća [MPa]
<b>Nožna kost</b>			
Butna	17,2	121	167
cevanica	18,1	140	159
fibula (manja kost)	18,6	146	123
<b>Kosti ruku</b>			
humerus (ramena)	17,2	130	132
radijalna	18,6	149	114
ulna	18,0	148	117
<b>Kičma</b>			
vrat	0,23	3,1	10
krsta	0,16	3,7	5
sundjerasta (spongy)	0,09	1,2	1,9
<b>Zubi</b>			
gledj	48	241	
dentin	13,8	138	

Kompozitni HAp/PLLA dobijen postupkom kovanja, u zavisnosti od mase- nih udela HAp u kompozitu, ima mehaničke karakteristike prikazane u Tabl. 20.3. Molska masa PLLA iznosila je oko 200 KDa, a veličina čestica HAp od 20–30 µm. Na osnovu rezultata iz Tabl. 20.3 može se zaključiti da se variranjem masenih udela HAp i PLLA u kompozitu može ostvariti različita vrednost mehaničkih karakteristi- ka blokova kompozitnog HAp/PLLA.

*TABELA 20.3 Uticaj sadržaja HAp u kompozitu na mehanička svojstva [13]*

Materijal	HAp/ PLLA	S <sub>b</sub>	E <sub>b</sub>	St	E <sub>t</sub>	S <sub>c</sub>	E <sub>c</sub>	S <sub>s</sub>	T <sub>s</sub>	S <sub>i</sub>	H <sub>v</sub>
PLLA	0/100	258	6,5	154	1,3	123	4,8	93	6,6	76	20,2
HAp 20	20/80	252	7,0	152	2,0	114	5,3	127	6,8	-	20,8
HAp 30	30/70	269	7,6	121	2,3	106	5,6	126	6,6	166	22,9
HAp 40	40/60	270	9,1	110	2,3	107	6,1	127	6,0	90	23,8
HAp 50	50/50	267	12,3	103	2,4	115	6,5	143	4,0	30	26,3

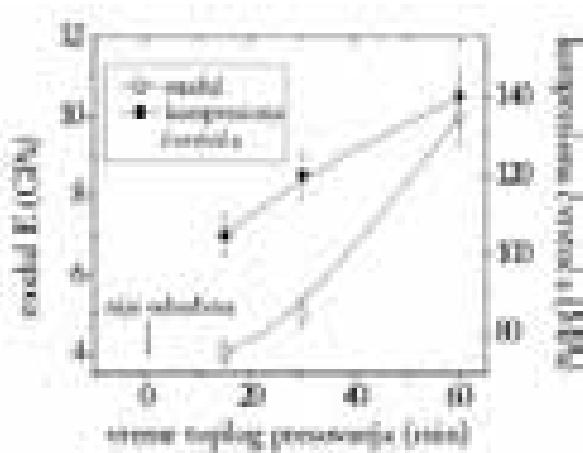
S<sub>b</sub> (MPa) – savojna čvrstoća, E<sub>b</sub> (GPa) – modul savijanja, S<sub>t</sub> (MPa) – zatezna čvrstoća, E<sub>t</sub> (GPa) – modul zatezanja, S<sub>c</sub> (MPa) – kompresiona čvrstoća, E<sub>c</sub> (GPa) – kompresioni modul, S<sub>s</sub> (MPa) – smicajna čvrstoća, T<sub>s</sub> (kgcm) – torziona čvrstoća, S<sub>i</sub> (kj/cm<sup>2</sup>) – udarna jačina, H<sub>v</sub> – Vikersova tvrdoća

Kao što se uočava iz Tabl. 20.3, sa povećanjem sadržaja HAp u kompozitnom HAp/PLLA, vrednosti savojne i kompresione čvrstoće se povećavaju, kao i vredno- sti njihovih modula. Zbog ovakvih mehaničkih svojstava neki autori predlažu naziv ultra visoko jaki kompozitni HAp/PLLA za ovu vrstu blokova.

Procesiranjem toplim presovanjem može se dobiti širok opseg različitih tro- dimenzionalnih blokova kompozita HAp/PLLA sa različitom gustinom, poroznošću, kompresionom čvrstoćom i modulima elastičnosti. Variranjem parametara toplog presovanja kao što je temperatura, pritisak i vreme mogu se projektovati svojstva blokova [14–17]. Na mehanička svojstva utiče i veličina čestica HAp kao i molska masa upotrebljenog PLLA. Na Sl. 20.9 prikazane su vrednosti kompresione čvrsto- će i modula elastičnosti koje su dobijene za različita vremena toplog presovanja, odakle se uočava da je toplim presovanjem moguće dobiti blokove sa kompresio- nom čvrstoćom od 140 MPa i modulom elastičnosti 10 GPa što predstavlja vrednost blisku kompresionoj čvrstoći prirodnog koštanog tkiva.

Mehanička svojstva zavise od međusobnih udela HAp i PLLA, kao što je i ranije navedeno. U zavisnosti od udela HAp i PLLA ali i od primjenjenog postupka dobijanja blokova, može se uticati na mehanička svojstva. Na Sl. 20.10 prikazan je uticaj udela HAp u kompozitu, ali i načina dobijanja na modul zatezanja. Kompozit A je dobijen *solvent-casting* postupkom, za razliku od kompozita B koji je dobijen kovanjem [13, 19].

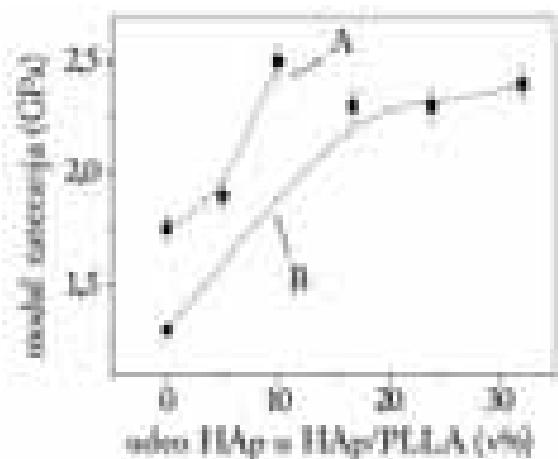
Pored udela HAp u HAp/PLLA može se i drugačijim načinima uticati na vred- nosti modula elastičnosti. Za isti ideo HAp u kompozitu (80 tež%), procesiranjem toplim presovanjem [16] a promenama vremena toplog presovanja mogu se dobiti



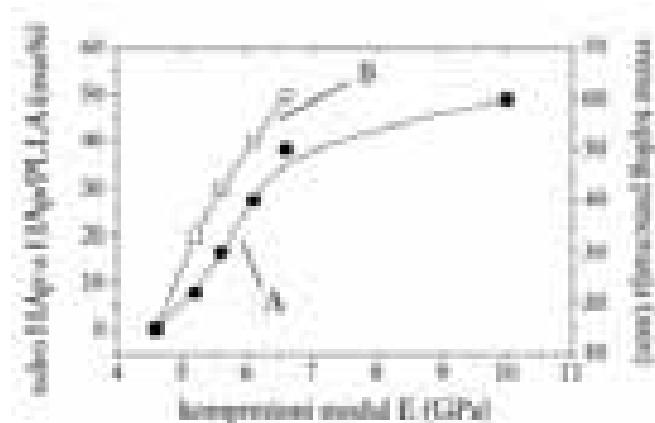
SLIKA 20.9 Zavisnost kompresione čvrstoće i modula elastičnosti blokova kompozitnog HAp/PLLA od vremena toplog presovanja [16]

blokovi sa različitim vrednostima kompresionog modula. Na Sl. 20.11 prikazane su vrednosti kompresionih modula za različite udele HAp i za različito procesiranje (A toplo presovanje, B kovanje) u kompozitu. Sa Sl. 20.11 može se uočiti da se postupkom toplog presovanja, za isti udeo HAp može dobiti širi opseg kompresionih modula nego promenom udela HAp u HAp/PLLA dobijenog kovanjem.

Poroznost direktno utiče na mehaničke osobine kompozitnog biomaterijala HAp/PLLA tako da se mehaničke osobine smanjuju sa porastom poroznosti i obrnuto. U okviru dobijanja lamenarnog tipa kompozita HAp/PLLA, čiju strukturu obeležavaju makro slojevi HAp i PLLA, ostvareno je delimično projektovanje poroznosti tako što se čestice natrijumhlorida prosečne veličine 100 µm dodaju polimeru u



SLIKA 20.10 Uticaj u dela HAp na modul zatezanja zavisno od dobijanja [13,19] A-livenje, B-kovanje



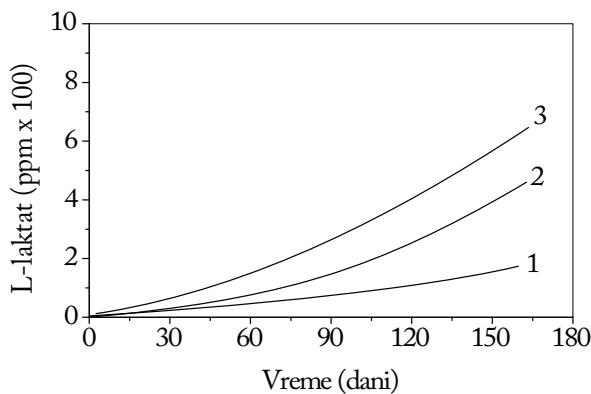
SLIKA 20.11 Uticaj parametara dobijanja na kompresioni modul [13,16] A-toplo presovanje, B-kovanje

količini od 60 mas% pre dejstva pritiska. Nakon dobijanja višeslojne forme kompozitnog biomaterijala, blok se tretira destilovanom vodom u toku 6 časova, a nakon sušenja on ima otvorenu poroznost od 20%. U određenim istraživanjima dobijene su pore prosečnog prečnika od 1–1000 µm. Poroznost je projektovana dodavanjem nove komponente, tzv. agenasa za formiranje pora. Nakon aplikacije kompozitnog biomaterijala agensi se uklanjuju, a prostor u kome su se nalazili ostaje prazan. Agensi za formiranje pora su različiti i u najvećem broju slučajeva u te svrhe se koriste dekstroza, natrijumhlorid, polivinilalkohol, natrijumkarbonat, hidroksipro-pilceluloza i polietilenglikol.

**In vitro i in vivo istraživanja.** *In vitro* istraživanja mogu poslužiti kao osnova za kliničku primenu kompozita. Realno ponašanje kompozita dobija se u *in vivo* uslovima. Kada se kompozit implantira u organizam on biva izložen dejstvu složenih enzimskih sistema i metabolizmu organizma. Definisanje ovog procesa prikazuje realnu sliku kvaliteta kompozita HAp/bioresorbibilni polimer. *In vivo* ispitivanja nose u sebi niz kompleksnih medicinskih ali i pravnih problema, pa je nekada i opravdano što ih je teško sprovesti.

Rezultati *in vitro* početnih istraživanja utvrdili su da tokom vremena potencijalne eksploracije dolazi do promena pH sredine i molekulske mase PLLA [12]. Hidroliza PLLA tokom ispitivanja definisana je merenjem koncentracije oslobođenog monomera l-laktida iz PLLA u ispitivanom rastvoru, što je prikazano na Sl. 20.12.

Rezultati *in vitro* ispitivanja ukazali su da dolazi do očekivane hidrolize PLLA iz kompozita HAp/PLLA, koja je definisana smanjenjem molekulske mase i povećanjem koncentracije monomera l-laktata u okolnom rastvoru. Tokom hidrolize PLLA dolazi do oslobođenja H<sup>+</sup> jona u okolini kompozita HAp/PLLA, što smanjuje pH. Faza HAp u kiselim sredinama je nestabilna i počinje da se rastvara. Iz tih razloga koncentracija Ca<sup>2+</sup> jona se u ispitivanom rastvoru povećava, a njegovo poreklo je iz faze HAp. Tokom 180 dana *in vitro* ispitivanja utvrđeno je da dolazi do površinskog



SLIKA 20.12 Oslobađanje l-laktida iz HAp/PLLA kompozita tokom *in vitro* ispitivanja:  
(1) sa 50 mas% HAp, (2) sa 30 mas% HAp, (3) čist PLLA [12]

rastvaranja faze HAp i da fenomeni rastvaranja zavise od okolne sredine. U pufer-skim sistemima rastvaranje HAp je kontrolisano i omogućeno je njegovo zaustavljanje.

Tokom narednih *in vitro* istraživanja analizirana je promena molske mase i kristaliničnosti PLLA tokom 60 nedelja istraživanja [13]. Tokom tretmana blokova na 37°C u SBF rastvoru dolazi do smanjenja molske mase PLLA sa različitim brzinama, koje zavise od masenog sadržaja HAp u kompozitu HAp/PLLA. Biodegradacija počinje u amorfnim regionima PLLA, pa je tokom vremena ispitivanja i za očekivati porast kristaliničnih regiona koji ostaju nakon nestanka amorfnih.

*In vivo* ispitivanja kompozita HAp/PLLA vršena su na miševima singenog soja *Balb/c* [20]. FTIR spektroskopija je potvrdila bioresorpciju PLLA iz kompozita tokom vremena, uz istovremeno nastajanje novog vezivnog tkiva. Nakon 3 nedelje kolagen je u najvećoj meri zamenio PLLA. Postavljena fenomenologija je potvrđena SEM analizom istih uzoraka, a njeni rezultati prikazani su na Sl. 20.13. Na Sl. 20.13a



SLIKA 20.13 SEM prelomne površine kompozitnog biomaterijala HAp/PLLA: (a) pre implantacije, (b) nakon 21 dana od implantacije [20]

uočava se mikrostruktura granule HAp obložene kontinualnom polimernom komponentom PLLA koja je u bliskom kontaktu sa HAp.

Nakon 3 nedelje *in vivo* testa dobijena je mikrostruktura prikazana na Sl. 20.13b, pri čemu se uočava da su značajnije promene vezane za polimernu komponentu. Primećuje se nestanak polimerne PLLA komponente, i ujedno nastanak na njenom mestu novih vlaknastih struktura koje dobro adheriraju po površini HAp. Vlakna povezuju granule HAp i prema predhodnim rezultatima FTIR spektroskopije kolagenske su prirode. Na mestima gde se nalazio bioresorbibilni PLLA, unutar kompozitnog biomaterijala, došlo je do stvaranja kolagenskih vlakana [21,22].

Nakon sprovedenih *in vitro* istraživanja kompozita BCP/DLPLG na ćelijskim kulturama fibroblasta miša (L929) i čoveka (MRC-5), dobijene vrednosti citotoksičnosti značajno su niže od dozvoljenih, što ukazuje na visoku biokompatibilnost ovog biomaterijala [23, 24].

Sa istim kompozitnim biomaterijalom nakon izvršenih *in vivo* istraživanja na miševima singenog soja *Balb/c*, sprovedena su klinička istraživanja u cilju zбрињavanja infrakoštanih defekata pacijenata. Na Sl. 20.14 prikazan je prosečan slučaj pilot studije primenljivosti kompozita BCP/DLPLG pri rekonstrukciji infrakoštanih džepova. Sl. 20.14a prikazuje infrakoštani džep frontalnog zuba gornje vilice. Nakon podizanja trapezastog mukoperiostalnog režnja, otklanjanja periapikalnog procesa i kiretaže džepa do zdravog tkiva, infrakoštani defekt je ispunjen BCP/DLPLGA kompozitom (Sl. 20.14b). Nakon rekonstrukcije defekta mobilisan je, vraćen i šavovima fiksiran trapezasti mukoperiostalni režanj (Sl. 20.14c). Na retroalveolarnom (Sl. 20.14d) rentgenogramu urađenom 12 meseci nakon intervencije uočava se formirano novo koštano tkivo oko nadoknađenog kanala frontalnog zuba.

## **20.2 INJEKTABILNI KOMPOZITNI BIOMATERIJALI ZA REKONSTRUKCIJU KOŠTANOG TKIVA**

Kompozitni biomaterijali u zavisnosti od željene funkcionalnosti i svrhe upotrebljavaju se i u obliku injektabilnih punilaca, gelova, pasta ili cementa. Sa puniocima se rekonstruišu različiti koštani defekti u ortopediji i maksilosofacialnoj hirurgiji. U smeši sa fiziološkim rastvorom punioc koji je u prahu poprima konzistenciju paste ili injektibilnog punioca, tako da se može injektibilno aplikovati što ima praktičan značaj. U zavisnosti od sadržaja tečne faze kompozit može biti i u formi gita (mali sadržaj tečnosti). Injektabilni kompozit može imati različitu svrhu tokom i nakon aplikacije. On se upotrebljava za fiksaciju različitih vrsta proteza u ortopedskoj hirurgiji, ali i za ispunu šupljina u tvrdom i mekom tkivu. Postoji širok spektar različitih podela i vrsta. Prema resorpciji postoje biodegradabilni i bione-degradabilni injektabilni kompozitni biomaterijali. Takođe oni mogu biti bioaktivni ili bioinertni u zavisnosti od odgovora organizma na njih.

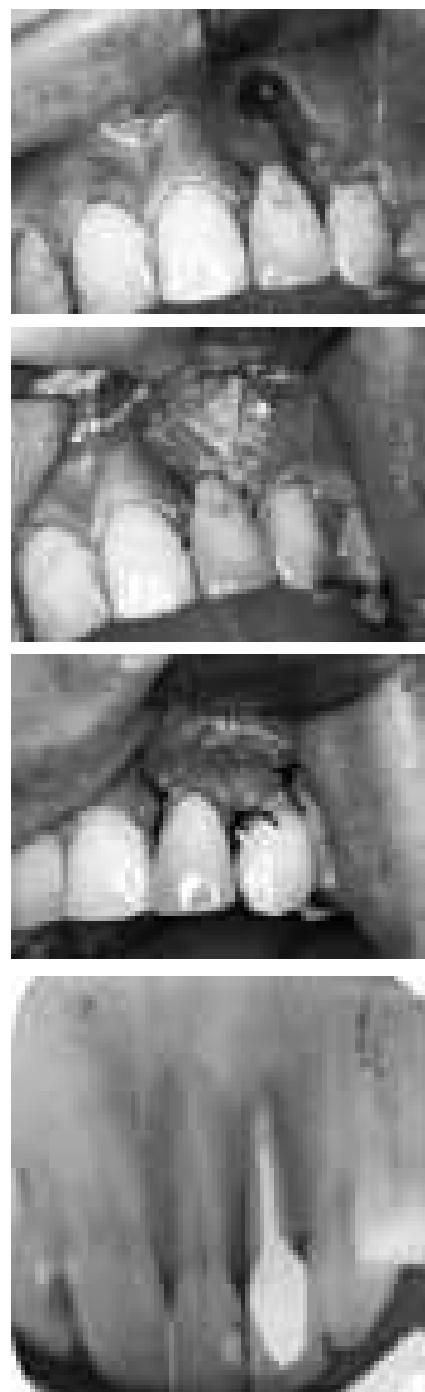
Injektabilni biodegradabilni kompozitni biomaterijali primenjuju se u inženjerstvu tkiva. U rekonstrukcijama kostiju i hrshavice injektabilni kompozitni

biomaterijali na bazi bioaktivnog stakla i poli( $\epsilon$ -kapralakton-ko-d,l-laktida) pokazali su dobru osteokonduktivnost [25]. Dobijanje bioaktivnih injektibilnih kompozita ostvareno je sintezom  $\text{CaO-SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5$ , koji pored svoje biokompatibilnosti indukuje stvaranje kalcijum-hidroksiapita, neorganske komponente kostiju [26].

Posebnu grupu injektibilnih kompozitnih biomaterijala predstavljaju oni koji su većim delom sačinjeni od kalcijum-fosfata (CP). Ova vrsta ispoljava minimalni inflamatorni odgovor organizma prilikom upotrebe u mekim tkivima [27]. Reparacija facijalnih defekata izvršena je sa injektibilnim kompozitom od HAp, koji je pokazao izuzetna osteoinduktivna svojstva. Do sada najtipičniji kalcijum fosfatni cementi sačinjeni su od više komponenti koje omogućavaju dobra biokompatibilna, bioaktivna, osteoiduktivna kao i mehanička svojstva. To su smeše sačinjene od  $\text{CaHPO}_4\text{xH}_2\text{O}$ ,  $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$ ,  $\text{CaHPO}_4$ ,  $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6\text{xH}_2\text{O}$ ,  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2\text{xH}_2\text{O}$  i TCP [28]. Tokom aplikacije apatitnih injektibilnih kompozita može doći do različitih vrsta infekcija, koje mogu da se negativno odraze na odgovor organizma i tako daju pogrešnu sliku o kvalitetu upotrebljenog cementa. Iz ovih razloga, određeni autori upotrebljavaju smešu antibiotika sa cementima. Tako se npr. upotrebljava TTCP-DCPP apatitni kompozit koji u sebi sadrži vankomicin, a koristi se u ortopedskoj hirurgiji.

Prilikom sinteze injektibilnih kompozita kao matriks mogu se upotrebiti različiti polimeri. Tako je ostvareno dobijanje polimer/kermika injektibilnih kompozita. Dobijen je kompozitni cement od PMMA sa različitim udelima HAp. Na ovakav način dobijen je širok spektar različitih osobina jedne iste vrste kompozitnog cementa. Sa HAp i polietilenom (HDPE) dobijeni su bioinertni, a sa polilaktidima (PLA) bioaktivni injektibilni kompoziti.

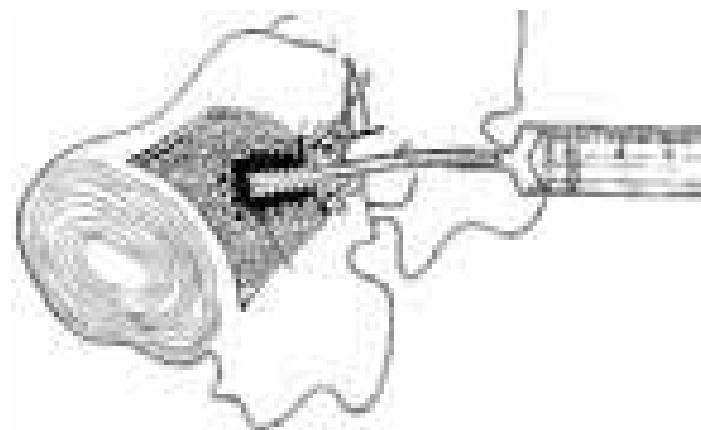
Razvojem medicine i hirurgije proširili su se zahtevi za kvalitetom i načinom aplikacije injektibilnih kompozita. Posebno pri upotrebi za ispunu šupljina i reparaciju mekih i tvrdih tkiva, gde se prilikom reparacije teži izbegavanju



*SLIKA 20.14 Rekonstrukcija infrakoštanog defekta sa BCP/DLPLG: (a) infrakoštani defect, (b) aplikacija BCP/DLPLG, (c) završena rekonstrukcija, (d) radiološki snimak nakon 12 meseci [23]*

hirurške intervencije. Želja je da se u šupljinu ili defekt, putem injekcije, injektira rastvor koji zatim kontrolisano očvrne i ostvari potrebne funkcionalne, biokompatibilne i bioaktivne postavljene zahteve (Sl. 20.15). Iz ovih razloga razvijaju se injektabilni kalcijum fosfatni cementi za upotrebu u ortopedskoj hirurgiji. Dobar primer za ovu vrstu cemenata su injektibilni cementi od methylhydroxypropylcelullose sa HAp i trilkalcijum fosfatom. Cement je razvijen kao polimer/keramika sistem koji očvršćava nakon injektiranja *in vivo*. Poslednjih godina polisilosanski polimeri, zbog svojih dobrih biokompatibilnih svojstava, široko se upotrebljavaju u medicini kao polimerni biomaterijali. Neobična kombinacija neorganskog osnovnog lanca i organskih supstituenata kod polisilosana rezultira u veliku elastičnost, dimenzionalnu stabilnost, hidrofobnost, otpornost na agresivne hemikalije, biokompatibilnost, propustljivost na gasove, što je posebno značajno za mogućnost prenosa koseonika. Injektibilni kompozitni biomaterijali sa polisilosanima i HAp pokazali su dobra injektivna i biokompatibilna svojstva [29]. Kompozit se može injektirati u živi organizam, nakon čega slede reakcije umrežavanja na temperaturi organizma ( $37^{\circ}\text{C}$ ) koje za krajnji cilj imaju očvršćavanje kompozita uz predhodno željeno trodimenzionalno oblikovanje. Projektovanje biokompatibilnosti ostvareno je sa menjanjem sadržaja HAp u biokompozitu.

**Injektibilni nano-kompozitni biomaterijali.** Nano čestice (NPs) CP ili kompozitnih biomaterijala na bazi CP u smeši sa tečnom fazom kao što je fiziološki rastvor, krvna plazma, faktor rasta itd. mogu predstavljati idealnu formu injektibilnih nano-biomaterijala sa projektovanim hidro-dinamičkim svojstvima. Injektiranjem ove vrste biomaterijala mogao bi se unaprediti proces rekonstrukcija određenih koštanih defekata. Dodavanjem faktora rasta kao nove komponente kompozitnog biomaterijala omogućilo bi se usmeravanje dobrih osteokonduktivnih svojstava CP ka osteoinduktivnim [30]. Način odgovora organizma zavisi od interakcije biomaterijala sa okolnim tkivom i načinom uspostavljanja adhezije ćelija organizma sa biomaterijalom. Pored sastava i morfologije, veličina čestica kompozita ima ključnu ulogu u ovim fenomenima. Nano-čestice imaju niz prednosti u odnosu na mikro-čestice u interakcijama biomaterijala sa organizmom. Novi putevi u

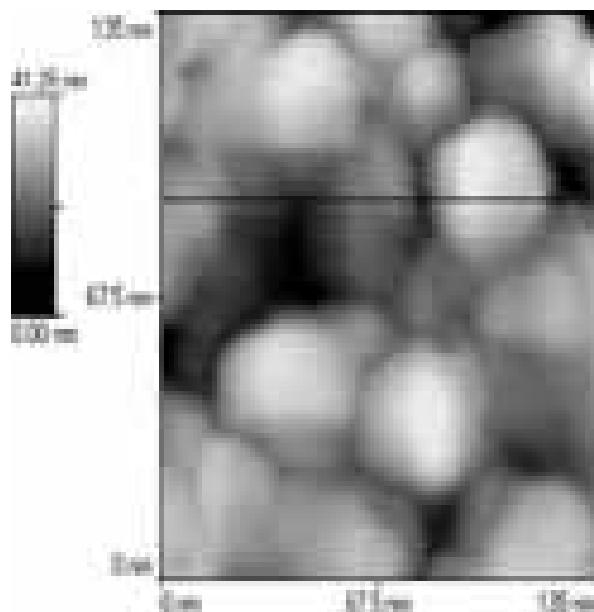


SLIKA 20.15 Aplikacija injektabilnog kompozitnog biomaterijala

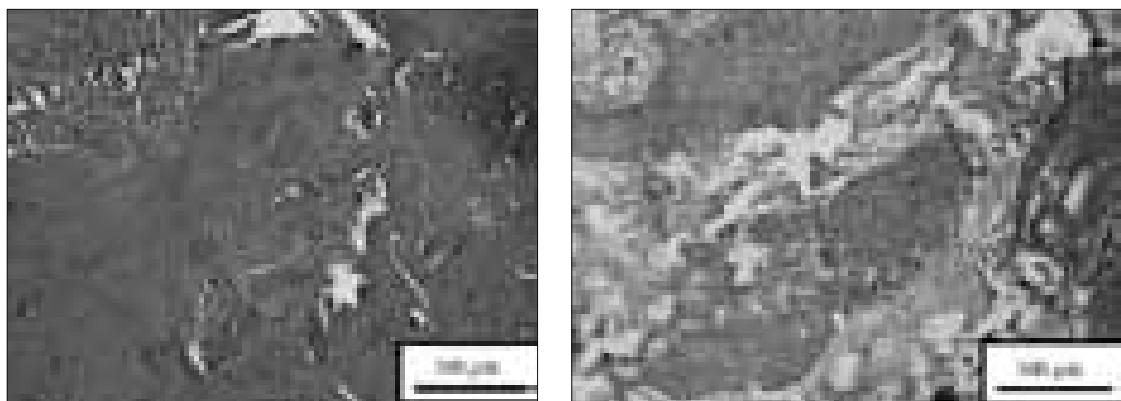
hemoterapiji i lečenju kancera zasnivaju se na upotrebi sfernih nano-čestica DLPLG i aktivne lekovite supstance [31]. Čestice kompozita manje od 100 nm minimalno utiču na iritaciju imunog sistema, što predstavlja prednost u smanjenom ili nepoštojećem odgovoru organizma. Injektabilni nano-kompozitni biomaterijali na bazi CP i bioresorbibilnog/bioneresorbibilnog polimera do sada su bili predmet određenog polja istraživanja u cilju dobijanja injektibilnog biomaterijala sa zadovoljavajućim mehaničkim ali i biloškim svojstvima. Poseban interes ove vrste kompozita je njegova primena u supstitucijama koštanog tkiva podjednako u stomatologiji i medicini zbog lakoće i brzine formiranja novog koštanog tkiva.

Injektabilni nano-kompozitni biomaterijali na bazi CP i bioresorbibilnog polimera od naročitog su i interesa u inženjerstvu koštanog tkiva. Svoja napredna svojstva ostvaruju u dobrim mehaničkim osobinama, biokompatibilnosti i lakoći regeneracije defekta. Kao primarna strategija u cilju poboljšanja svojstava injektibilnih kompozita na bazi CP, neki istraživači [32] ukazuju na važnost veličina čestica na svojstva kompozita. Proteklih godina sve više se poklanja pažnja izučavanju kalcijum fosfatnih biomaterijala u smeši sa bioresorbibilnim polimerima, koji su neophodni u lečenju šireg spektra koštanih defekata [33]. Na Sl. 20.16 prikazan je AFM nano-čestica praha CP/DLPLG koji u smeši sa fiziološkim rastvorom formira injektibilni nano-kompozitni biomaterijal željenih svojstava [34]. Nano-čestice CP obložene su bioresorbibilnim polimerom DLPLG, a veličina kompozitnih čestica je od 30 do 40 nm. Od nano-čestica HAp i polisaharida načinjene su nano-injektibilne paste koje se mogu upotrebiti u rekonstrukcijama alveolarne kosti [35].

Nakon aplikacije nano-kompozitni biomaterijal CP/DLPLG indukovao je brže stvaranje kosti (korteksa) u poređenju sa istom vrstom mikro- ili submikro-kompozita (Sl. 20.16).

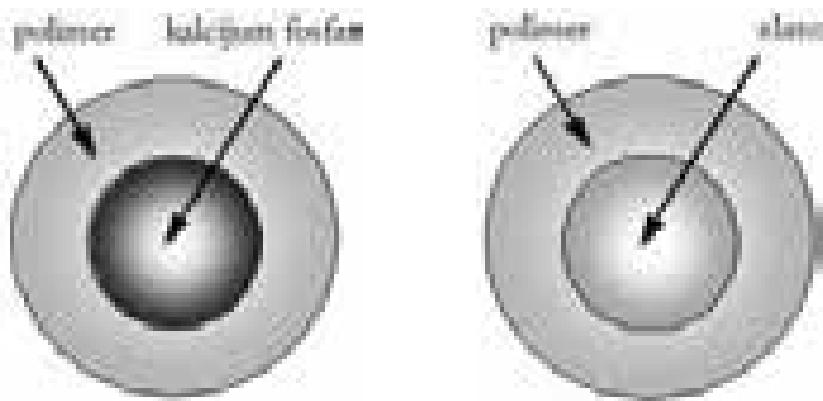


SLIKA 20.16 AFM nano-kompozitnog biomaterijala [34]



*SLIKA 20.17 Histološki preparat nakon 6 nedelja primene CP/DLPLG:  
(a) nano (b) mikro [36]*

Upotrebom nano-kompozita CP/DLPLG ostvaren je brži proces reparacije. Uz prisustvo faktora rasta i hemokina, koji privlače ćelije sa izraženim proteolitičkim svojstvima i aktivnom ulogom u angiogenezi i transportu osteoprogenitornih ćelija, došlo je do pospešnje ćelijske proliferacije, diferencijacije i stvaranja nove nelamelarne kosti, koja je u procesu intenzivnije remodelacije uslovila stvaranje lamelarne a zatim kortikalne kosti sa najpravilnijom strukturom (Sl. 20.17a). Ovakvo intenzivna osteogeneza u odnosu na mikro-kompozit CP/DLPLG, verovatno je posledica udruženog dejstva inflamatornog procesa u okolini, minimalnog međuprostora između lokalne kosti i paste nano-kompozita koja je dobro komprimovana, zatim veličine prosečnog prečnika sfernih čestica sa prevlakom od polimera na svojoj površini, što omogućuje dobru adheziju osteoprogenitornih ćelija koje uslovjavaju intenzivniju ćelijsku proliferaciju, diferencijaciju i osteogenezu tj. stvaranje nove kosti [36, 37].



*SLIKA 20.18 Šematski prikaz organizacije obloženih nano čestica  
a) CP sa DLPLG b) zlata sa polimerom [38, 39]*

U današnje vreme se vrše brojna istraživanja u cilju sinteze i primene različitih kompozitnih biomaterijala sa prosečnim prečnikom čestica manjim od 100 nm. Pored pomenutih keramičkih čestica obloženih polimerom (slika 20.18a) posebnu pažnju privlače metalne i semikonduktorske nano-čestice (zlata, srebra, platine, gvožđe oksida, silicijum oksida itd) obložene polimerima (slika 20.18b) zbog potencijalne primene u fotermalnim terapijama kancera i njegove fotodijagnostike [38, 39]. Radijus nano-čestice (Rb) kao i debljina sloja polimera (dp) imaju odlučujući uticaj na svojstva kompozitnog biomaterijala. Pod uticajem svetlosti ovi parametri rukovode procesima generisanja topote i potencijalnog uništenja ćelija tumora.

## 20.3 MODALITETI POVEĆANJA EFIKASNOSTI KOMPOZITNIH BIOMATERIJALA

Nakon ugradnje kompozitnih biomaterijala organizam se ponaša prema njima kao prema stranom telu. Od primarnog je značaja prihvatanje biomaterijala od strane organizma i suočenje negativnog odgovora organizma na minimum. Postoje brojni faktori koji utiču na odgovor organizma, a njihovo dejstvo je sinergetsko, međusobno zavisno i kompleksno. U cilju postizanja što efikasnije primene kompozitnih biomaterijala, mogu se primeniti različiti fizikalni agensi kao što su fototerapijski, magnetoterapijski, elektroterapijski, sonoterapijski itd. [40, 41]. Posebna važnost usmerena je ka granici između okolnog tkiva i kompozitnog biomaterijala, jer okolno tkivo prvo dolazi u interakciju sa površinom biomaterijala.

Od kada je 1997. FDA odobrio primenu lasera definisane talasne dužine u medicini, laseroterapija kao deo fototerapijskih agenasa [42] naišla je na značajniju primenu u medicini. Laseri male snage (niskoenergetski laseri) pri snazi od 10 mW mogu imati dubinu prodora u tkivo od 5–7 mm (InGaAl), 3 cm (GaAlAs) do 5 cm (GaAs). Laseri male snage (*soft LASER*) dovode do određenih biostimulativnih efekata bez morfoloških promena tkiva i primjenjenog kompozitnog biomaterijala (Sl. 20.19). Biostimulativni efekti podrazumevaju pojavu analgezije, antiinflamatornog delovanja i poboljšanja regenerativnih sposobnosti tkiva.

Osnove mehanizma delovanja lasera male snage, odnose se na fotofizičke i fotohemijske reakcije. Pretpostavljeni mehanizam delovanja je dvojak. S jedne strane stoje lokalna zbivanja u vidu metaboličkih izmena unutar tkiva, a usled promena bioenergetskog stanja. S druge strane su refleksna zbivanja, bilo da su nastala primarnim delovanjem laserske svetlosti na aferentne ekscitabilne strukture, ili da su nastala kao odgovor na primarna metabolička zbivanja. U procesima regeneracije koštanih defekata laseri male snage u velikoj meri poboljšavaju proliferaciju fibroblasta, reprodukciju kolagena, enzimsku aktivnost, učešće imunokompetentnih ćelija, mikrocirkulaciju itd [42]. Primarni efekti dejstva se u najvećoj meri odnose na fotohemijske (zasnivaju se na stimulaciji oslobođanja hemijskih medijatora i ubrzavanja sinteze vitamina A i D) i fotoelektrične. Sekundrani efekti unapređuju ćeljski metabolizam (energijom koju ćelije prime od lasera što na kraju dovodi do sti-



*SLIKA 20.19 Tretman laserom male snage nakon rekonstrukcije sa kompozitnim biomaterijalom CP/DLPLG*

mulacije ćelijskog disanja) i stimulišu mikrocirkulaciju (povećavaju koncentraciju histamina koja direktno utiče na arteriolarnu dilataciju). Laseri male snage (HeNe i GaAlAs) ne samo da stimulišu regenerativne procese koštanog tkiva nego poboljšavaju i oseointegraciju kompozitnih biomaterijala korišćenih u reparaciji [43].

Magnetno polje u medicini se koristi već više hiljada godina. Drevni lekar Ebers u Egiptu je 3.600 godina pre Hrista, zapisao na papirusu recept za lečenje povreda glave materijalom artpet – meteoritom slabe magnetne aktivnosti. Dosađašnje teorije mehanizma delovanja magnetnog polja polaze od toga da je ćelijska membrana ključno mesto na koje magnetno polje deluje. Delujući na strukturnu organizaciju lipoproteina magnetno polje menja permeabilnost ćelijske membrane i utiče na ravnotežu jona između njene spoljašnje i unutrašnje sredine. Magnetno polje menja distribuciju jona na obe strane ćelijske membrane i tako deluje na potencijalne zapaljenske procese nakon rekonstrukcije tkiva sa kompozitnim biomaterijalima, koje se inače odlikuju promenom jonske ravnoteže. Prilikom rekonstrukcije koštanog tkiva, magnetno polje stimuliše osteogenezu na taj način što u predelu rekonstrukcije indukuje piezoelektrični efekat, izaziva hipervaskularizaciju, bolji prenos kiseonika itd. Magnetno polje ne izaziva hipertermički efekat (lokalno povećanje temperature) [41] i iz tih razloga pogodno je za primenu kod rekonstrukcija tkiva sa kompozitnim biomaterijalima koji se sastoje od termosenzibilnih faza (npr. bioresorbibilnih polimera).

## 20.4 PITANJA ZA REKAPITULACIJU

- 20.1 Koje su najvažnije grupe kompozitnih biomaterijala?
- 20.2 Koje su prednosti/mane keramika/polimer kompozitnih biomaterijala?
- 20.3 Na osnovu čega je izvršena podela keramika/polimer kompozitnih biomaterijala?

- 20.4 U okviru kojih nivoa strukturne organizacije je moguće uticati na strukturu-svojstva-primenu kompozitnih biomaterijala?
- 20.5 Koja je provera svojstava kompozitnih biomaterijala najadekvatnija i zašto?
- 20.6 Šta su injektabilni kompozitni biomaterijali?
- 20.7 Po čemu su nano-kompozitni biomaterijali karakteristični?
- 20.8 Koje se procedure mogu primeniti u cilju povećanja efikasnosti kompozitnih biomaterijala i zašto?
- 20.9 Kakav kompozitni biomaterijal bi ti osmislio i zašto?
- 20.10 Napravi kratak seminarски rad na temu *Novi trendovi u sintezi, svojstvima i primeni kompozitnih biomaterijala.*

## 20.5 LITERATURA

1. W. Suchanek, M. Yoshimura, Processing and properties of hydroxyapatite – based biomaterials for use as hard tissue replacement implants, *J. Mater. Res.*, 13 (1998) 94–117
2. J. Choi, Y. Kong, H. Kim, I. Lee, Reinforcement of hydroxyapatite bioceramics by addition of Ni<sub>3</sub>Al and Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, *J. Am. Ceram. Soc.*, 81 (1998) 1743–1748
3. L. Hench, Bioceramics, *J. Am. Cer. Soc.*, 81 (1998) 1705–1728
4. J. Li, B. Fortash, L. Hermansson, “Hydroxyapatite-alumina composites and bone-bonding”, *Biomaterials*, 16 (1995) 417–422
5. Y. Harada, J. Wang, V. Doppalapudi, A. Willis, M. Jasty, W. Harris, M. Nagase, S. Goldring, Differential effects of different forms of hydroxyapatite and hydroxyapatite/tricalciumphosphate particulates on human monocyte/macrophages in vitro, *J. Biomed. Mater. Res.*, 31 (1996) 19–26
6. W. Bonfield, Design of bioactive ceramic-polymer composites in *An introduction to bio-ceramic*, Ed. L. Hench, J. Wilson (World Scientific, Singapore, 1993)
7. M. Wang, C. Berry, M. Braden, W. Bonfield, Yong's and shear moduli of ceramic particle filled polyethylene, *J. Mater. Sci.: Mat. Med.*, 9 (1998) 621–624
8. N. Ignjatović, *Doktorska disertacija*, TMF, Beograd (2001)
9. H. Elgendi, M. Norman, A. Keaton, C. Laurencin, Osteoblast-like cell (MC3T3-E1) proliferation on bioerodible polymers: an approach towards the development of a bone-bioerodible polymers composite materials, *Biomaterials*, 14 (1993) 263–269
10. L. Lu, A. Mikos, The importance of new processing technique in tissue engineering, *MRS Bull.*, 21 (1996) 28–31
11. C. Laurencin, M. Borden, M. Attawia, F. Ko, G. Morrill, Polymer based tissue engineering of bone, *Polymer Preprints*, 39 (1998) 122–123
12. C. Verheyen, C. Klein, J. de Blieckhogervorst, J. Wolke, C. van Blitterswijn, K. de Groot, Evaluation of hydroxyapatite/poly(l-lactide) composites: physico chemical properties, *J. Mater. Sci.: Mat. Med.*, 4 (1993) 58–65

13. Y. Shikinami, M. Okuno, Bioresorbable devices made of forged composites of hydroxyapatite (HA) particles and poly-l-lactide (PLLA): part I. Basic characteristics, *Biomaterials* 20 (1999) 859–877
14. N. Ignjatovic, S.Tomic, M. Dakic, M. Miljkovic, M. Plavsic, D. Uskokovic, Synthesis and properties of hydroxyapatite/poly-L-lactide composite biomaterials, *Biomaterials*, 20 (1999) 809–816
15. N. Ignjatovic, M. Plavsic, D. Uskokovic, Composite biomaterial hydroxyapatite/poli-L-lactide (collagen) with poli-L-lactid different molecular weight, *Advanced Engineering Materials*, 2 (2000) 511–514
16. N. Ignjatovic, K. Delijic, M. Vukcevic, D. Uskokovic, The designing of properties of calcium-hydroxyapatite/poly-lactide composite biomaterials by hot pressing, *Z. Metallkunde* 92, 2 (2001) 145–149
17. N. Ignjatovic, E. Suljovrujic, J. Budimski, I. Krakovsky, D. Uskokovic, Evaluation of Hot Pressed Hydroxyapatite/poly-L-lactide Composite Biomaterial, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 71B, 2 (2004) 284–294
18. J. Park, R. Lakes, *Biomaterials, an introduction*, Second Edition (Plenum Press, New York and London, 1992)
19. X. Deng, J. Hao, C. Wang, *Biomaterials*, 22 (2001) 2867–2873
20. N. Ignjatovic, V. Savic, S. Najman, M. Plavsic, D. Uskokovic, A study of HAp/PLLA composite as a substitute for bone powder, using FT-IR spectroscopy, *Biomaterials*, 22 (2001) 571–575
21. N. Ignjatovic, D. Uskokovic, "Application of molecular spectroscopy for analysis of the substitution of bone tissue by HAp/PLLA composite biomaterial", *Spectroscopy – An International Journal*, 18 (2004) 553–565
22. N. Ignjatović, V. Savić, S. Najman, M. Plavšić, D. Uskoković, "Analysis of In Vivo Substitution of Bone Tissue by HAp/PLLA Composite Biomaterial with poly-l-lactide Different Molecular Weight Using FTIR Spectroscopy", *Materials Science Forum*, 352 (2000) 143–150
23. N. Ignjatovic, P. Ninkov, Z. Ajdukovic, V. Konstantinovic, D. Uskokovic, Biphasic Calcium Phosphate/Poly-(DL-Lactide-co-Glycolide) Biocomposite as Filler and Blocks for Reparation of Bone Tissue, *Materials Science Forum* 494 (2005) 519–524
24. N. Ignjatovic, P. Ninkov, V. Kojic, M. Bokurov, V. Srdic, D. Krnojelac, S. Selakovic, D. Uskokovic, "Citotoxicity and fibroblast properties during in vitro test of biphasic calcium phosphate/poly-dl-lactide-co-glycolide (BCP/DLPLG) composite biomaterials suitable for bone tissue reparation", *Microscopy Research and Technique* 69 (2006) 976–982
25. A. Aho, T. Tirri, J. Kukkonen, N. Strandberg, J. Rich, J. Seppala, A. Yli-Upro, Injectable bioactive glass/biodegradable polymer composite for bone and cartilage reconstruction: Concept and experimental outcome with thermoplastic composites of poly( $\epsilon$ -caprolactone-co-d,l-lactide) and bioactive glass S<sub>53</sub>P<sub>4</sub>, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 15 (2004) 1165–1173
26. T. Kokubo, S. Yoshihara, N. Nishimura, T.Yamamuro, T. Nakamura, Bioactive bone cement based on CaO-SiO<sub>2</sub>-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> glass. *J. Am. Ceram. Soc.*, 7 (1991) 1739–1741

27. E. Ooms, E. Eggleyos, J. Wolke, J. Jansen, Soft-tissue response to injectable calcium phosphate cements, *Biomaterials*, 24 (2003) 749–757
28. W. Suchanek, M. Yoshimura, Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants, *J. Mater. Res.* 13 (1998) 94–117
29. N. Ignjatovic, J. Jovanovic, E. Suljovrujic, D. Uskokovic, Injectable polydimethylsiloxane/hydroxyapatite composite cement, *Bio-Medical Materials and Engineering* 13 (2003) 401–410
30. S. Yoon, S. Boden, Osteoinductive molecules in orthopaedics: Basic Science and pre-clinical studies, *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 395 (2002) 33–43
31. Si-Shen Feng, Li Mu, Khin Yin Win, Guofeng Huang. Nanoparticles of Biodegradable Polymers for Clinical Administration of Paclitaxel, *Current Medicinal Chemistry*, 11 (2004) 413–42412
32. M. Bohner, G. Baroud, Injectability of calcium phosphate pastes, *Biomaterials* 26 (2005) 1553–1563
33. S. Kenny, M. Buggy, Bone cements and fillers: a review, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 14 (2003) 923–938
34. N. Ignjatovic, P. Ninkov, Z. Ajdukovic, D. Vasiljevic-Radovic, D. Uskokovic, "Biphasic Calcium Phosphate/Poly-DL-Lactide-Co-Glycolide Composite Biomaterial as Bone Substitute", *Journal of the European Ceramic Society*, 27 (2007) 1589–1594
35. R. Murugan, S. Ramakrishna, Bioresorbable composite bone paste using polysaccharide based nano hydroxyapatite, *Biomaterials*, 25 (2004) 3829–3835
36. N. Ignjatović, Z. Ajduković, D. Uskoković, New biocomposite calciumphosphate/poly-DL-lactide-co-glicolide/biostimulatite agens filler for reconstruction of bone tissue changed by osteoporosis", *Journal of Materials Sciences: Materials in Medicine*, 16 (2005) 621–626
37. Z. Ajdukovic, N. Ignjatovic, D. Petrovic, D. Uskokovic, "Substitution of Osteoporotic Alveolar Bone by Biphasic Calciumphosphate/Poly-Dl-Lactide-Co-Glycolide Biomaterials", *Journal of Biomaterials Application* 21 (2007) 317–328
38. N.L.Ignjatovic, C.Z.Liu, J.T.Czernuszka, D.P.Uskokovic, "Micro-and nano-injectable composite biomaterials containing calcium phosphate coated with poly(DL-lactide-co-glycolide)", *Acta Biomaterialia*, 3 (2007), 927–935
39. A. Govorov, H. Richardson, "Generating heat with metal nanoparticles", *Nanotoday*, 2 (2007) 30–38
40. M. Cameron, *In Physical Agents in Rehabilitation: From Research to Practice* (Philadelphia, WB Saunders Company, 1999)
41. V. Mihailović, *Fizikalna medicina* (Rijeka Crnojevića, Obodsko slovo, 2002)
42. Lj. Konstantinović, *Laseri male snage u fizikalnoj medicini i rehabilitaciji* (Medicinski fakultet, Beograd, 2004)
43. R. Živković, Lj. Kesić, D. Mihailović, N. Ignjatović, D. Uskoković, Investigation of HeNe laser therapy influence on BCP/PLGA osseointegration – Experimental study, *Facta Universitatis, Series: Medicine and Biology*, 13 (2006) 109-113

# 21

## BIODEGRADABILNI POLIMERI<sup>1</sup>

U poslednje dve decenije upotreba bioresorbibilnih (biodegradabilnih) polimera beleži rast [1]. Biodegradabilni polimeri koriste se za izradu sistema za kontrolisano otpuštanje lekova, nosača u inženjerstvu tkiva, za fiksaciju koštanih frakturna, konaca za ušivanje organa i rana itd. Mehanizam biodegradacije obuhvata više koraka koji se mogu odvijati i paralelno, a uključuju klasičnu i enzimsku hidrolizu. Brzina i način degradacije zavisi od vrsta hidrofilnih grupa unutar i na krajevima lanaca, reaktivnosti hidrolitičkih grupa, udela amorfnih i kristaliničnih regiona, poroznosti i molekulse mase polimera. Tokom biodegradacije dolazi do razgradnje polimera uz smanjenje mehaničkih osobina, a smatra se da prvo dolazi do razgradnje u amorfnim područjima polimera. Do sada su se kao bioresorbibilni polimeri najčešće upotrebljavali polilaktidi, poliglikoli itd, kao i njihovi kopolimeri, blende i sl. Nomenklatura nekih poznatijih sintetskih biodegradabilnih polimera označena je u Tabl. 21.1.

TABELA 21.1 Skraćene oznake važnijih biodegradabilnih polimera [2]

Nomenklatura	
Skraćenica	Ime
LPLA	Poli(l-laktid)
PGA	Poli(glikol)
DLPLA	Poli(d,l-laktid)
PDO	Poli(dioxanon)
DLLPLA	Poli(d,l-laktid-ko-l-laktid)
SR	samojačani
DLPLG	Poli(d,l-laktid-ko-glikolid)
PGA-TMC	Poli(glikolid-ko-trimetilenkarbonat)
LPLG	Poli(l-laktid-ko-glikolid)
PCL	Poli( $\epsilon$ -kaprolakton)

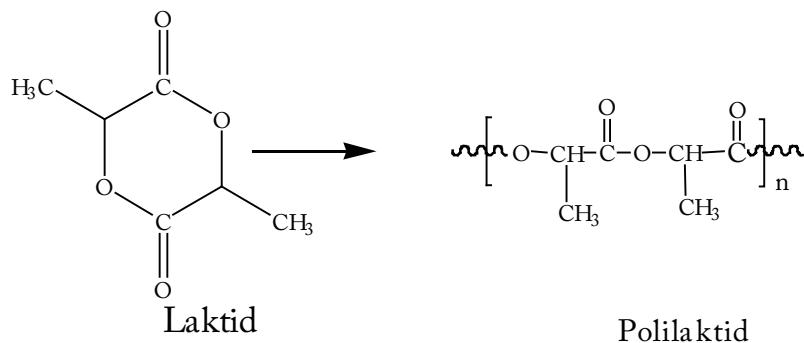
<sup>1</sup>Ovo poglavље napisali su Nenad Ignjatović i Dragan Uskoković.

## 21.1 BIODEGRADABILNI POLIMERI ZASNOVANI NA LAKTIDU (GLIKOLIDU)

Ova klasa biodegradivnih polimera trenutno je najuspešnija, najvažnija i komercijalno široko rasprostranjena u hirurgiji. Ovo je takođe klasa biodegradivnih biomaterijala koja je najviše proučavana u uslovima degradativnih mehanizama i odnosa struktura-karakteristike. Među biodegradivnim polimerima, polilaktid (PLA) i poliglikolid (PGA) jesu najvažniji, zbog toga što je većina drugih biodegradivnih polimera nastala na njihovoj osnovi.

**Polilaktid (PLA).** Krajnji produkti razgradnje PLA nesmetano se uključuju u metabolizam tkiva, dajući pri tome netoksične produkte. Mehaničke osobine PLA zavise od strukture materijala na svim nivoima i mogu biti različite tako da se, npr. moduli elastičnosti PLA kreću od 0,5–10 GPa.

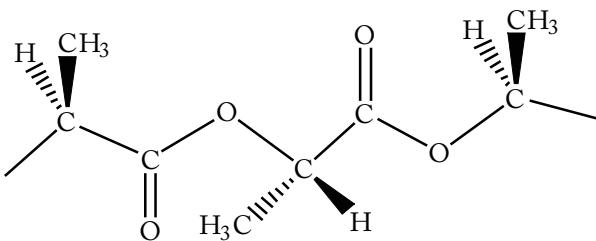
Polilaktidi se dobijaju polimerizacijom laktida prema šemi prikazanoj na Sl. 21.1. Laktid je cikličan dimer mlečne (laktidne) kiseline i egzistira u obliku dva dimera D i L. Iz tih razloga PLA egzistira u L ili DL obliku i sl. Dosta ispitivani polimer iz ove grupe je poli-L-laktid (LPLA) čija struktura lanca je prikazana na Sl. 21.2. Od LPLA su sintetisani različiti oblici medicinskih implantata u ortopediji, bioresorbibilni šrafovi, minipločice, nosači ćelija u inženjerstvu tkiva kao i penastih skela (*skafold*). Hladnim i toplim presovanjem mogu se dobiti bioresorbibilni implantati od LPLA, različitih oblika i dimenzija. Takođe od LPLA su sintetisane mikrokapsule za kontrolisano otpuštanje lekova.



SLIKA 21.1 Sinteza polilaktida [2]

Visoko porozni LPLA u obliku pene, poroznosti 93% i veličine pora oko 500  $\mu\text{m}$ , može se dobiti „solvent-casting“ postupkom koji omogućava dobijanje definisane veličine pora i regulaciju udela kristaliničnosti. Ova vrsta pene našla je široku upotrebu u inženjerstvu tkiva kao polimerni nosač koji obezbeđuje dobru adherenciju i diferencijaciju osteoblasta u *in vivo* kulturama.

Postoji čitav niz različitih faktora koji utiču na strukturu i osobine sintetisanog LPLA: počev od izbora rastvarača koji se koristi u sintezi LPLA, i koji direktno utiče na interakcije LPLA-rastvarač a time i na daljnje osobine PLLA, pa do načina i dinamike sušenja. Ključni parametri koji utiču na molekulsku masu LPLA



SLIKA 21.2 Struktura lanca LPLA [3]

jesu: rekristalizacija monomera, koncentracija inicijatora i nivo vakuma u procesu sušenja polimera. Kontrola i upravljanje kinetikom kristalizacije polimera LPLA ostvarena je različitim načinima, od kojih je izotermalna kristalizacija pokazala zadovoljavajuće rezultate. Amorfna područja LPLA predstavljaju centre u kojima započinje biodegradacija i hidroliza. Smatra se da veličina LPLA sferulita u poređenju sa udelom amorfног područja nema značajniju ulogu u procesu biodegradacije. Tokom procesa biodegradacije dolazi do smanjenja pH okoline, molekulske mase, modula i jačine na kidanje, i povećanja kristaliničnosti LPLA. Promene jačine na kidanje prilikom istraživanja iste vrste polimera, utvrđile su poređenjem *in vitro* i *in vivo* ispitivanja da su promene jačine drastičnije prilikom *in vivo* ispitivanja, što je i očekivano. Prilikom *in vivo* ispitivanja LPLA dolazi u dodir sa različitim enzymskim sistemima, što pooštjava uslove sredine ali i daje realnu sliku osobina LPLA. Tokom jednogodišnjih *in vivo* ispitivanja utvrđeno je da nakon 3 meseca analizirani LPLA zadržava 70% početne vrednosti savojne čvrstoće i 95% početne vrednosti jačine na kidanje. Sa membranama od LPLA izvršen je niz reparacija koшtanih defekata [5]. Adhezija ćelija i proliferacija tkiva kroz LPLA ispitana je i definisana u *in vivo* uslovima. Od LPLA načinjena je trodimenzionalna porozna matrica u čije se pore mogu distribuirati želatin, polisaharidi, proteini i soli, a koja se može koristiti u reparacijama koшtanog i hrshavičavog tkiva. Bioresorbibilni šrafovi su načinjeni od PLA, sa upotreбом u ortopediji i traumatologiji. U poređenju sa do sada često korišćenim metalnim šrafovima u ove svrhe, PLA šrafovi nakon upotrebe se posle izvršene funkcije bioresorbuju. Na ovakav način se izbegava dodatna intervencija ekstrakcije šrafova. Istraživači sa grupe za fiziku Univerziteta u Aberdinu, načinili su različite profile od PLA za primenu u rekonstrukcijama kičmenih pršljenova (Sl.

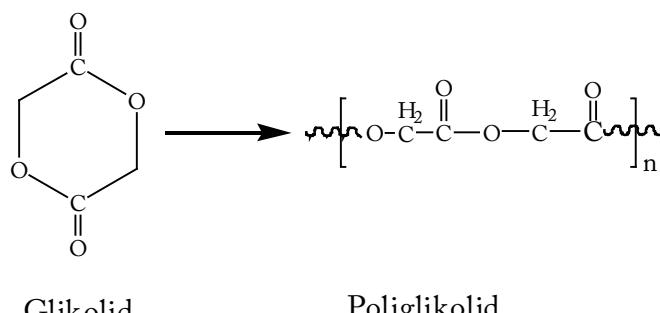


SLIKA 21.3 PLA profili i njihova primena

21.3). Na slici su prikazani različiti profili dobijeni od PLA, kao i njihova upotreba u rekonstrukcijama kičmenih pršljanova.

Pre upotrebe LPLA neophodno je izvršiti njegovu sterilizaciju koja ne sme da utiče na mehaničke osobine, molekulsku stabilnost, molsku masu, udeo amorfnih regiona itd. Ispitivanjem je utvrđeno da je za sterilizaciju LPLA, umesto do sada široko korišćenog etilenoksida, optimalnije upotrebiti nisko-temperaturnu radio-frekventnu plazmu kiseonika ili ugljendioksida (RF) koja bitnije ne utiče na strukturu i osobine LPLA.

**Poliglikol (PGA).** PGA može da se polimerizuje bilo direktno bilo indirektno iz glikolne kiseline (Sl. 21.4). Direktnom polikondenzacijom dobija se polimer sa  $M_n$  manje od 10.000, zbog zahteva za visokim stepenom dehidratacije (iznad 91,28%) i odsustva monofunkcionalnih nečistoća. Za PGA molekularne težine veće od 10.000 potrebna je „ring-opening“ polimerizacija cikličnih dimera glikolik kiseline. Veliki broj katalizatora je dostupan za ovaku „ring-opening“ polimerizaciju. Oni obuhvataju organometalna jedinjenja i Luisove kiseline. Za biomedicinske primene najviše se koriste kalajni hlorid dihidrat ili trialkil aluminijum. PGA predstavlja ortorombičnu jediničnu celiju dimenzija  $a = 0,522 \text{ nm}$ ,  $b = 0,619 \text{ nm}$  i  $c = 0,702 \text{ nm}$  (osa vlakna). Planarni cik-cak lanac molekula obrazuje pločastu strukturu paralelnu  $ac$  ravni i nema uređenje polietilenskog tipa. Molekuli između dve susedne ploče orijentisani su u suprotnim smerovima. Gusto molekularno pakovanje i „close approach“ estri mogu da stabilizuje kristalnu rešetku i doprinesu povećanju tačke topljenja ( $T_m$ ) PGA na 224–230°C.



SLIKA 21.4 Sinteza poliglikola [2]

Temperatura staklastog prelaza ( $T_g$ ) je u opsegu 36–40°C. Specifična gustina PGA je 1,707 g/cm<sup>3</sup> za idealan kristal i 1,50 g/cm<sup>3</sup> u potpuno amorfnom stanju. Toplota fuzije 100% kristalizovanog PGA je 12 KJ/mol (45,7 cal/g) [7]. Nedavno istraživanje ubrizgavanjem ukalupljenih PGA diskova otkriva njihove IR spektroskopske karakteristike. Četiri trake pri 850, 753, 713 i 560 cm<sup>-1</sup> pridružene su amorfnim oblastima PGA diskova i mogu se upotrebiti za procenu stepena hidrolize. Pikovi koji odgovaraju kristalnoj fazi obuhvataju one na 972, 901, 806, 627 i 590 cm<sup>-1</sup>. Dva pika široke snage na 1142 i 1077 cm<sup>-1</sup> odgovaraju deformacionim modovima C-O u ester i oksimetilen grupama, respektivno. Ova dva pika pridružena su uglavnom ester i oksimetilen grupama koje su amorfног porekla. Hidroliza može kod oba de-

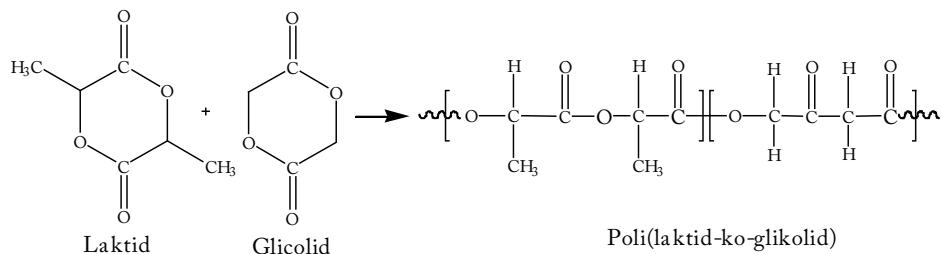


SLIKA 21.5 Sinteza polis( $\varepsilon$ -kaprolaktona) [2]

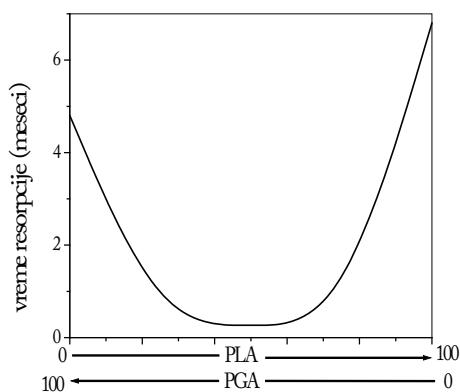
formaciona moda C-O da prouzrokuje značajno opadanje intenziteta. Poliglikol je linearni alifatski poliester. Njegova upotreba u medicini datira još od 1960. pod komercijalnim proizvodom DEXON®. Smatra se da je on prvi sintetski bioresorbibilni polimer. Glikolid monomer dobija se dimerizacijom glikolne kiseline. PGA je visoko kristaliničan (45–55%) sa visokom tačkom topljenja (220–225°C). Vlakna od PGA mogu imati visoku jačinu i module. Polilglikoli se dobijaju polimerizacijom glikola prema šemi prikazanoj na Sl. 21.6.

**Poli( $\epsilon$ -kaprolakton) (PCL).** Poli( $\epsilon$ -kaprolakton) je semikristalan polimer sa temperaturom topljenja od 59–64°C i temperaturom staklastog prelaza od -60°C. Poli( $\epsilon$ -kaprolakton) dobija se polimerizacijom  $\epsilon$ -kaprolaktona prema šemii prikazanoj na Sl. 21.5. Svojstva PCL mogu se menjati njegovom kopolimerizacijom sa drugim monomerima.

**Kopolimeri i drugi bioresorbibilni polimeri.** Postoji veliki broj različitih bioresorbibilnih polimera i njihovih kopolimera: poli(laktid-co-glikolid), polialkil-2-cianoakrilat, poli( $\epsilon$ -kaprolakton), glikol(trimetilenkarbonat), poli-l-laktid(dl-laktid), polilaktid( $\delta$ -valerolakton), poli- $\beta$ -hidroksibutarat, poli- $\beta$ -maleinska kiselina, poli-p-dioksanon, poli(amino kiseline), polivinilalkohol itd [1]. Radi poboljšavanja biokompatibilnosti, monomeri za dobijanje biodegradabilnih polimera se kopolimeri- zuju sa monomerima bionedegradabilnih polimera. Jedan od takvih primera je blok kopolimer na bazi PLA (polilaktid-polietilenglikol blok kopolimer). Ovakvom sintezom dobijen je kopolimer koji je pokazao dobra svojstva nosača koštanog morfognetskog proteina (BMP) neophodnog za regeneraciju koštanog tkiva. Iz monomera laktida i glikola može se dobiti kopolimer poli(laktid-ko-glikolid) (PLG). Na Sl. 21.6 prikazan je način dobijanja PLG.

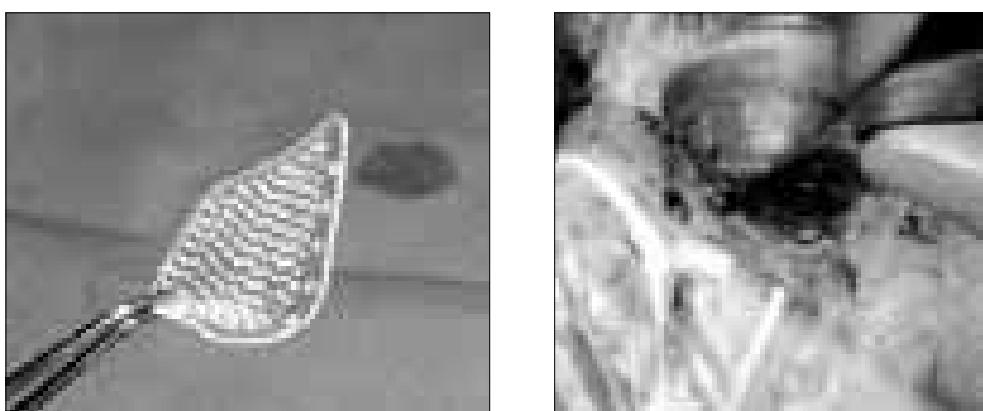


SLIKA 21.6 Sinteza poli(laktid-ko-glikolida) [2]



SLIKA 21.7 Poluživot kopolimera [2]

*In vivo* ispitivanja kopolimera PLG utvrdila su da ova vrsta kopolimera može biti induktivna za stvaranje i adsorpciju kolagena, vezivne komponente tkiva. Tokom ispitivanja registrovana je ne samo adsorpcija osteoblasta na kopolimeru već i njihova proliferacija i diferencijacija. Graftovanjem LPLA sa aminokiselinama dobi-jen je poli(l-laktid-co-amino kiselina) graftovan polimer. Amino kiseline sa kojima je ispitana mogućnost graftovanja bile su lizin i alanin. PLG se dobija od dva monomera (glikola i L-laktida ili DL-laktida) i njihov odnos može u sintezi biti različit. Iz navedenih razloga na tržištu postoje različite vrste ovog kopplimera, kao što su 85/15 DLPLG, 75/25 DLPLG, 65/35 DLPLG, ili pak 50/50 DLPLG. Bioresorpcija ovog kopolimera takođe je definisana odnosom monomera, ali ova zavisnost nije linearна. Na Sl. 21.7 prikazano je vreme poluresorpcije (vreme za koje degradira  $\frac{1}{2}$  mase polimera) u zavisnosti od udela monomera u polimeru. Sa Sl. 21.7 uočava se da kopolimer koji se sastoji od 50% DL-laktida i 50% PGA brže degradira od oba homopolimera. Ethicon kompanija je sintetisala kopolimer od 90% glikolida i 10% L-laktida, koji je poznat kao hirurški konac Vicryl. Bioresorbibilni poli-L/DL-lactid (P[L/DL]LA70/30) našao je primenu u maksilosfajalnoj hirurgiji. Od naznačenog



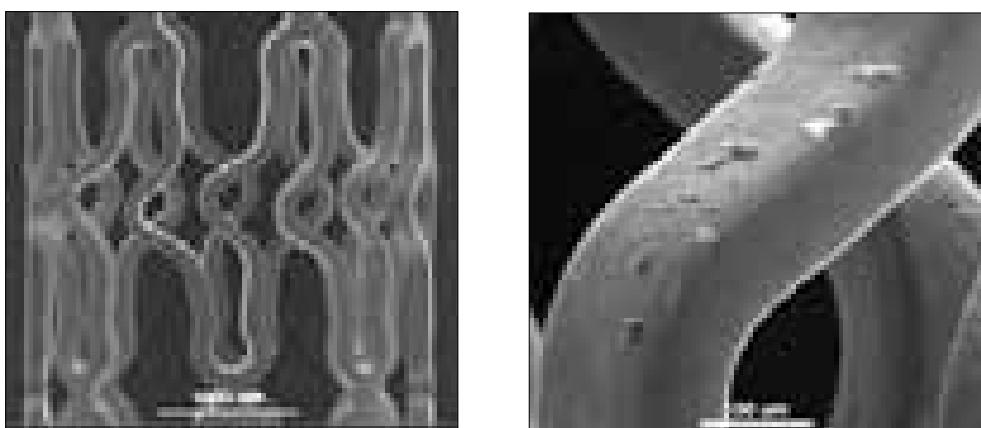
SLIKA 21.8 Perforirana mini pločica i njena upotreba u orbitalnim rekonstrukcijama

polimera načinjene su perforirane mini pločice (Sl. 21.8) koje se primenjuju za reparaciju velikih orbitalnih koštanih defekata. Odnos monomera od 70/30 omogućava da se blagim termičkim tretmanom neposredno pre same implantacije, implantat omekša. Nakon implantacije perforirana mini pločica lako se oblikuje, što ima visok praktični značaj.

Bioresorbibilni polimeri mogu imati široku upotrebu i u tehnologijama tankih slojeva i prevlaka. Obalaganjem različitih supstrata u potpunosti se menja njegova funkcionalnost kao i biokompatibilnost. Organizam prvo dolazi u kontakt sa površinom implanata, u ovom slučaju sa biokompatibilnim polimerom. U okviru polimera može se inkorporirati lek, koji se tokom bioresorpcije polimera oslobađa. Na Sl. 21.9 prikazan je stent implantat koji se koristi u lečenju arteroskleroze. Metal je obložen sa DLPLG polimerom i PVA, koji sadrže lekovitu supstancu.

**Alifatični i aromatični polikarbonati.** Najznačajniji alifatični polikarbonati zasnovani su na 3,3-dimetiltrimetilen karbonatu (DMTMC) i trimetilen karbonatu (TMC). Dobijeni su putem iste polimerizacije sa otvorenim prstenom, kao i biodegradivni polimeri na bazi glikolida. Homopolimeri su biokompatibilni sa stepenom mogućnosti kontrole biodegradacije. Čestice poli(etilen karbonata) u potpunosti su apsorbovane u trbušnoj šupljini pacova nakon 2 nedelje. Neznatna varijacija ovog polikarbonata, poli(propilen karbonat), međutim ne pokazuje nikakve znake apsorptivnosti ni posle 2 meseca. Kopolimeri DMTMC/ε-kaprolakton i DMTMC/TMC imaju adekvatna svojstva za zatvaranje rana, proteze tetiva, kao i vaskularne transplantate. Najvažnija prednost alifatičnih polikarbonata je neutralan pH kod produkata degradacije.

Poli(BPA-karbonati), dobijeni iz bisfenol A i fosgена, jesu nebiodegradivni, ali je pokazano da poli(iminokarbonati) degradiraju za oko 200 dana. Generalno, ova grupa aromatičnih polikarbonata ima dugo vreme degradacije uglavnom zbog prisustva aromatičnog prstena, koji može da zaštitи susedne esterske veze da ne budu hidrolizovane vodom ili enzimom. Različiti tipovi degradacionih produkata mogu da se dobiju iz ovog polimera u zavisnosti od okolnog pH. Za  $\text{pH} > 0,7$  dobijaju se degradacioni produkti kao što su BPA, amonijak i  $\text{CO}_2$ , a za  $\text{pH} < 0,7$  dobijaju se



SLIKA 21.9 SEM stent implantata presvučenog sa DLPLG-PVA polimerom [8]

nerazdvojivi poli(BPA-karbonat) oligomeri. Ovi polimeri imaju dobra mehanička svojstva i prihvatljivu biokompatibilnost sa tkivom. Na žalost, za sada ne postoji komercijalna upotreba u hirurgiji ove klase polimera [7].

**Poli(alkalni oksalati) i kopolimeri.** Ova klasa visoko kristalizovanih i biodegradativnih polimera je razvijena u svrhu dobijanja apsorptivnih šavova i njihovog oblaganja. Ovi polimeri se sastoje iz [-ROOC-COO-]<sub>n</sub> ponavljuće grupe, gde R predstavlja (CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub> a x se kreće od 4 do 12. R takođe može da bude cikličan (1,4-trans-cikloheksanedimetanol) ili aromatičan (1,4-benzen, 1,3-benzen dimetanol) radi dobijanja više temperature topljenja. Biodegradacione svojstva zavise od broja (CH<sub>2</sub>) grupe, x, kao i tipa R grupe (aciklična, ciklična ili aromatična). Generalno, viši broj metilen grupa i/ili inkorporacija ciklične ili aromatične R grupe može da smanji stepen biodegradacije a ovo dovodi do toga da će se i polimer sporije apsorbovati. Na primer, nakon 28 dana, nije ostala nikakava masa polimera sa x=4, *in vivo* (u pacovu), dok je polimer sa x=6 zadržao 80% svoje mase nakon 42 dana *in vivo*. Izomorfni kopolyoksalat, koji sadrži 80% cikličnu R grupu, kao što je 1,4-trans-cikloheksanedimetanol, i 20% acikličnu R grupu, kao 1,6-heksanediol, zadržava 56% svoje mase nakon 180 dana *in vivo*. Variranjem odnosa cikličnih i acikličnih monomera mogu se dobiti kopolimeri sa širokim opsegom temperaturе topljenja. Na primer, kopolimer sa odnosom 95/5 cikličan/acikličan (npr. 1,4-trans-cikloheksanedimetanol/1,6-heksanediol) monomer ima T<sub>m</sub>=210°C, a kopolimer sa odnosom 5/95 ima T<sub>m</sub>=69°C. Poli(alkalni oksalati) sa x=3 ili 6 korišćeni su u eksperimentima sa uređajima za kontrolu i oslobađanje lekova. Reakcija tkiva na ovu klasu biodegradativnih polimera je minimalna [7].

**Biodegradativni polimeri kao derivati glikolida sa eterskim lancem.** Poli-p-dioksanon (PDS) je derivat iz familije glikolida sa boljom fleksibilnošću. On je polimerizovan iz laktona koji sadrže etre, 1,4-dioksan-2,5-dion (npr. p-dioksanon) monomera sa hidroksilnim inicijatorom i kalajnim katalizatorom. Rezultujući polimer je polukristal sa T<sub>m</sub> oko 106–115°C i T<sub>g</sub> od -10 do 0°C. Poboljšana fleksibilnost PDS u odnosu na PGA, koja se ogleda u nižoj T<sub>g</sub>, je zbog inkorporacije eterskog segmenta u ponavljujućoj jedinici, koji smanjuje gustinu esterskih lanaca za intermolekularne vodonikove veze. Zbog manje gustine esterskih lanaca kod PDS u odnosu na PGA ili glikolid-L-laktid kopolimera, PDS degradira pri sporijoj brzini *in vitro* i *in vivo*. PDS poseduje inherentnu viskoznost od 2,0 dL/g u heksafluoroisopropanolu koja je adekvatna za izradu monofilamentnih šavova. Pre nekog vremena predstavljena je usavršena verzija PDS, PDSII. PDSII je dobiten izlaganjem „melt-spun“ vlakana visokoj temperaturi (128°C) u kratkom vremenskom intervalu. Dodatni tretman delimično otopljava spoljašnji površinski sloj PDS vlakana i dovodi do značajne morfologije kožnog jezgra. Zagrevanje takođe dovodi do većih kristala u jezgru vlakna od onih u ostalim oblastima. Profil gubitka snage istezanja kod PDSII šavova je značajno bolji nego kod PDS.

Kopolimerna vlakna načinjena od PDS i monomera drugačijih od linearnih alifatičnih poliestera kao što je morfolin-2,5-dion (MD), pokazuju veoma interesantne biodegradativne karakteristike. Ova kopolimerna vlakna su apsorbovana 10 do 25% ranije u odnosu na PDS; kopolimer je, međutim, zadržao profil snage zatezanja sličan PDS sa malo bržim gubitkom snage u toku ranije faze, npr. prvih 14 dana.

Ova mogućnost da se razbije unutrašnja struktura karakteristika vlakna kopolimerizacijom, najveće je poboljšanje u biodegradivnoj karakteristici apsorptivnih šavova. Interesantno je primetiti da mali procenat (3%) MD u kopolimernom šavu je dovoljan da dovede do profila bržeg gubitka mase a bez gubitka snage zatezanja. Mogućnost da se dostigne ovakva idealna karakteristika posledica je povećane hidrofilnosti kopolimera i razbijanja kristalnih oblasti zbog udela MD. Kao što će kasnije biti objašnjeno, gubitak mase šava je uglavnom posledica destrukcije kristalnih oblasti, budući da je gubitak snage zatezanja usled reza kod segmenata veznog lanca lociranih u amorfnim oblastima. Pitanje je zašto MD-PDS kopolimerni šav zadržava svoj gubitak snage slično PDS. Moguće objašnjenje je da amido funkcionalne grupe u MD mogu da oforme jače intermolekularne vodonične veze od ester funkcionalnih grupa. Ova jača vodonična veza doprinosi zadržavanju snage kopolimera kod PDS i MD u toku *in vivo* biodegradacije. Sjedinjavanje MD dela sa PDS takođe smanjuje snagu vezivanja i odvezivanja nehidrolizovanih uzoraka, ali povećava razvlačenje pri razbijanju. Ovo ukazuje da kopolimeri kod PDS i MD treba da imaju niži nivo kristaličnosti od PDS, što je u skladu sa već posmatranim bržim gubitkom mase *in vivo* [7].

## 21.2 FIZIČKA SVOJSTVA

Izbor i način upotrebe određenog bioresorbibilnog polimera kao biomaterijala diktiran je njegovom strukturom na svim nivoima kao i svojstvima. U Tabl. 21.2 prikazana su fizička, mehanička i biodegradabilna svojstva odabrnih bioresorbibilnih polimera. Bioresorbibilni polimeri sa aspekta intermolekulske strukture uglavnom su semikristalni ili amorfni. Jedna od bitnih karakteristika semikristalnih bioresorbibilnih polimera jeste temperatura topljenja ( $T_m$ ), dok je kod amorfnih to temperatura staklastog prelaza ( $T_g$ ). Temperatura staklastog prelaza ukazuje na giprost lanaca (savitljivost, fleksibilnost). Dužina glavnog polimernog lanca takođe utiče na ovu veličinu. Umrežavanje lanaca (*cross-linking*) vodi ka smanjenju slobodne zapijene, što takođe utiče na  $T_g$ . Uticaj polarnosti lanaca kao i molekulske mase direktno utiče na  $T_g$  što i Foks-Florijeva jednačina ukazuje:  $T_g(M)=T_g(\infty)-K/M$ , gde je  $M$  molekulska masa a  $K$  konstanta. Debljina polimera u svetu makrostrukture utiče na  $T_g$ , s tim da se  $T_g$  smanjuje sa smanjenjem debljine polimera. Na osnovu delom navedenih uticaja jasno je da se na osnovu izmerene vrednosti  $T_g$  može dobiti niz korisnih informacija za izbor adekvatnog bioresorbibilnog polimera.

Molekulska masa, udeo kristaliničnih regiona kod semikristalnih polimera, i njihova perfekcija, orijentacija lanaca itd., imaju primarnu ulogu u projektovanju mehaničkih svojstava bioresorbibilnog polimera. Suprotno očekivanju da kristali polimera budu veliki zbog dužine lanaca, bioresorbibilni polimeri grade kristale vrlo malih dimenzija, tzv kristalite. Značajnu ulogu ima prostor između kristalita koji je amorfne strukture, jer bioresorpcija započinje baš u amorfnim regionima. LPLA može se naći u formi sferulita koji je u stvari predstavlja složeni kristal sferognog oblika mikroskopskih dimenzija. Dobar primer razlike između semikristalnog

i amorfog polimera prikazan je u Tabl. 21.2 poređenjem poly(L-laktida) i poli(DL-laktida). Semikristalni poly(L-laktid) ima modul za oko 25% veći od poli(DL-laktida), a vreme resorpcije mu je 3 do 5 godina. Amorfni poli(DL-laktid) degradira za 12 do 16 meseci. Kopolimer poli(laktid-co-glikolid) je uvek amorfni iako je sintetisan od monomera DL-laktida i glikolida.

*Tabela 21.2 Fizička, mehanička i degradaciona svojstva određenih biodegradabilnih polimera [2]*

Polimer	Temperatura topljenja (°C)	Temperatura staklastog prelaza (°C)	Modul (GPa) (savijanja)	Izduženje (%)	Vreme degradacije (meseci)
PGA	225–230	35–40	7,0	15–20	6–12
LPLA	173–178	60–65	2,7	5–10	više od 24
DLPLA	amorfni	55–60	1,9	3–10	12–16
PCL	58–63	-65 --60	0,4	300–500	više od 24
PDO	N/A	-10 – 0	1,5	N/A	6–12
PGA-TMC	N/A	N/A	2,4	N/A	6–12
85/15 DLPLG	amorfni	50–55	2,0	3–10	5–6
75/25 DLPLG	amorfni	50–55	2,0	3–10	4–5
65/35 DLPLG	amorfni	45–50	2,0	3–10	3–4
50/50 DLPLG	amorfni	45–50	2,0	3–10	1–2
kost			10–20		
čelik			210		

## 21.3 PAKOVANJE BIORESORBILNIH POLIMERA I STERILIZACIJA

Bioresorbibilni polimeri su hidrolitički nestabilni. Tokom pakovanja i čuvanja vлага degradira polimer. Ako uklonimo vlagu iz pakovanja uklonićemo i degradaciju. Nakon sinteze i procesiranja neophodno je veoma brzo hermetičko pakovanje u inertnoj atmosferi ili vakuumu. Pakovanje je potrebno sprovesti uvek na sobnoj temperaturi.

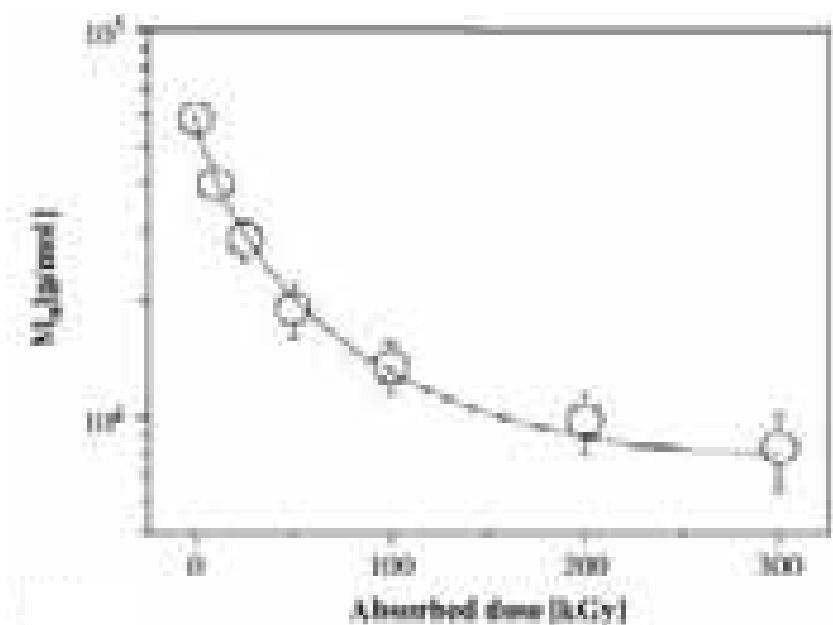
Najčešće se za sterilizaciju biomaterijala koriste postupci inaktivacije mikroorganizama pri kojima se uništava fiziološka i biohemija aktivnost mikroorganizama. U te svrhe najčešće se upotrebljava sterilizacija topotom, hemijskim agensima, elektromagnetskim zračenjem itd.

Topotna inaktivacija mikroorganizama može se opisati jednačinom  $-dN/dt = kN$  u kojoj  $N$  predstavlja broj mikroorganizama,  $k$  konstantu brzine inaktivacije a  $t$  vreme sterilizacije. Spore su za nekoliko reda veličine termički otpornije od bakterija, kvasaca i sl. Inaktivacija spora sledi nelogaritamsku kinetiku koja se

uprošćeno može prikazati  $N_r \rightarrow N_s \rightarrow N_d$ . Rezistentne spore ( $N_r$ ) prelaze u inaktivne ( $N_d$ ), kroz prelazni stadijum osetljivih spora ( $N_s$ ) [9]. Najčešće korišćeni kriterijumi sterilizacije su „decimalno vreme“ i stepen sterilizacije. „Decimalno vreme“ predstavlja potrebno vreme tokom sterilizacije da bi se koncentracija mikroorganizama smanjila za 10 puta. Stepen sterilizacije predstavlja odnos broja mikroorganizama posle i pre sterilizacije ( $N/N_o$ ).

Biodegradabilni polimeri su termički osetljivi polimeri. Toplota sterilizacije može dovesti do promene u strukturi polimera. Na primer, LPLA je termički vrlo osetljiv polimer. Tokom termičke degradacije polimera u najvećoj meri dolazi do raskidanja veza u osnovnom lancu, što rezultira u stvaranju oligomernih fragmenata koji dalje podležu degradaciji. Posledica ovog procesa je smanjenje molske mase polimera, a u kasnijim fazama degradacije nastaju monomeri i gasoviti produkti. Uz pomoć planarne konformacije LPLA i njegove osnovne strukture koja je definisana kao  $(-\text{O}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CO}-)_n$  može se pretpostaviti gde dolazi do raskidanja veza u osnovnom lancu. Termička degradacija LPLA je jednostepeni proces sa kinetikom reakcije prvog reda. Prema modelu termičke degradacije LPLA, koji su predložili Mek Nil i Lepier, kao krajnji produkti dobijaju se ciklični oligomeri, laktid, acetaldehid i ugljen monoksid. Proces termičke degradacije diktiran je krajnjim OH grupama koje „napadaju“ osnovni lanac, koji se pod uticajem termičke energije uvija.

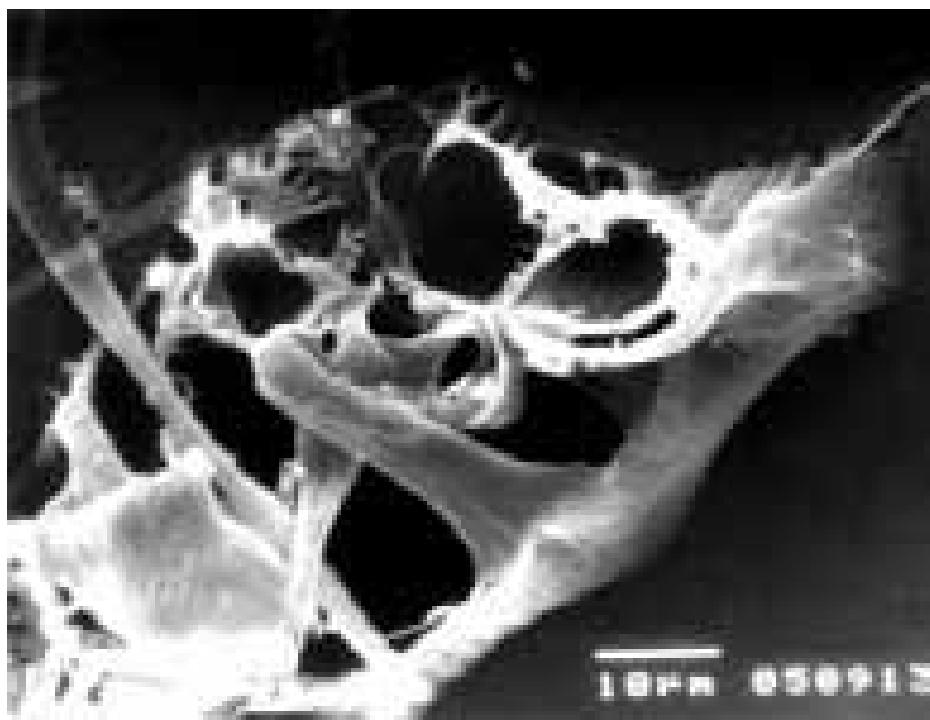
Na temperaturama koje su veće od  $230^\circ\text{C}$  može započeti ovakva vrsta reakcije. U svakoj od ovih reakcija OH grupa se regeneriše i proces se nastavlja. U zavisnosti od mesta gde dolazi do „napada“ OH grupe u osnovnom lancu dobijaju se različiti proizvodi [10].



SLIKA 21.10 Promena  $M_n$  u zavisnosti od doze zračenja [11]

Hemijski agensi koji se najčešće primenjuju za sterilizaciju jesu fenoli, etilen oksid, ozon itd. Hemijska sterilizacija takođe izaziva strukturne promene biodegradabilnih polimera. Do sada često upotrebljivani etilenoksid može izazvati različita oštećenja polimera, zbog hemijske reakcije sa njim, ali može i rezidualno zaostati u porama polimera što direktno utiče na biokompatibilnost.

Za sterilizaciju se često upotrebljavaju UV zraci,  $\gamma$  zračenje ili hladna plazma.  $\gamma$  zračenje (radijacija) je trenutno najčešće upotrebljavana tehnika za sterilizaciju bioresorbibilnih polimera. Ova vrsta sterilizacije je visoko energetski proces koji može izazvati promene strukture polimera. Dominantan efekat radijacije je prekid polimernih lanaca, što direktno utiče na strukturu i svojstva. Iz navedenih razloga neophodno je za svaku vrstu biresorbibilnog polimera ispoštovati predviđenu proceduru za radijacionu sterilizaciju. Ovo praktično znači da za svaki biresorbibilni polimer postoje standardi prema kojima se odabiraju parametri sterilizacije, a to su doza i dinamika radijacione sterilizacije. Izabrani parametri sterilizacije su takvi da ne izazivaju promene u strukturi i svojstvima. Visoke doze  $\gamma$  zračenja (iznad 50 kGy) indukuju npr. kod LPLA, promene na svim nivoima.



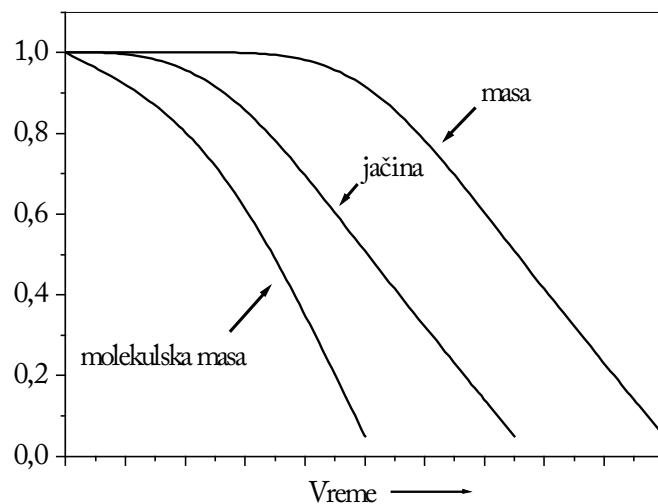
*SLIKA 21.11 SEM površinskog defekta izazvan dozom 200 kGy [11]*

Na Sl. 21.10 prikazane su promene molarne mase LPLA u kompozitnom biomaterijalu, koje su izazvane različitim dozama  $\gamma$  radijacije. Visoke doze zračenja su vidljive i golim okom. Na Sl. 21.11 prikazana je vidljiva promena na makrostrukturalnom nivou LPLA u kompozitnom biomaterijalu, nakon sterilizacije dozom zračenja od 200 kGy.

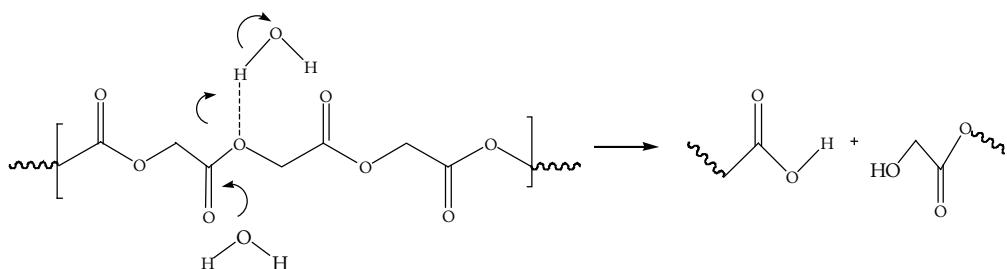
## 21.4 DEGRADACIJA BIORESORBILNIH POLIMERA

Kada se bioresorbibilni polimer implantira u telo, dolazi do njegove degradacije u skladu sa strukturom i svojstvima polimera. Postoje brojni faktori koji utiču na degradaciju: vrsta hemijskih veza u polimeru, permeabilnost vode, poroznost, molekulska masa, hemijska struktura, slobodna površinska energija, dimenzije i oblik polimernog implantata, pH, oblik kristalita, odnos amorfno/kristalno itd. Generalno, degradacija započinje kada tečnost penetrira u masu polimera i to prvenstveno ka amorfnim regionima polimera. Dolazi do uspostavljanja hemijskih veza i kidanja i dezintegracije lanaca u amorfnim regionima. Sama priroda fenomena ukazuje na smanjenje molske mase, za kojim slede i fizičke promene. Ova degradacija se naziva i zapreminska (*bulk*) erozija. Drugi tip degradacije je površinska erozija. Tokom druge faze dolazi do degradacije površine polimera. Na primer, ako je polimer hidrofoban, hemijske veze koje se nalaze na površini polimera visoko su pogodne za odvijanje hidrolize. Ova vrsta degradacije u literaturi je poznata kao bioerozija.

Uopšteno analizirajući tokom bioresorpcije dolazi do smanjenja molekulske mase, jačine i mase. Na Sl. 21.12 prikazane su generalno osnovne promene koje se dešavaju nakon implantacije bioresorbibilnih polimera. Semikristalni polimeri degradiraju kroz dve faze. U prvoj fazi tečnost penetrira u polimer, i uspostavljujući hemijske veze u amorfnim regionima konvertuje duge polimerne lance u kraće fragmente koji su (ultimativno) rastvorljivi. Prisutna redukcija u molekulskoj masi reperkujuje se na redukciju mehaničkih svojstava. Druga faza je enzimska, u kojoj enzimi obavljaju degradaciju fragmenata. U drugoj fazi enzimski procesi na stvorenim fragmentima su prioritetni, i oni takođe vode ka smanjenju mase. Kao što se može zaključiti, degradacija je dvostepeni proces i njena brzina zavisi od mnogih faktora. Hidrofilniji polimeri u osnovi brže degradiraju površinski. Degradacioni produkti brzo se rastvaraju u okolnoj tečnosti i tako uklanjaju sa površine implantata. Ovi



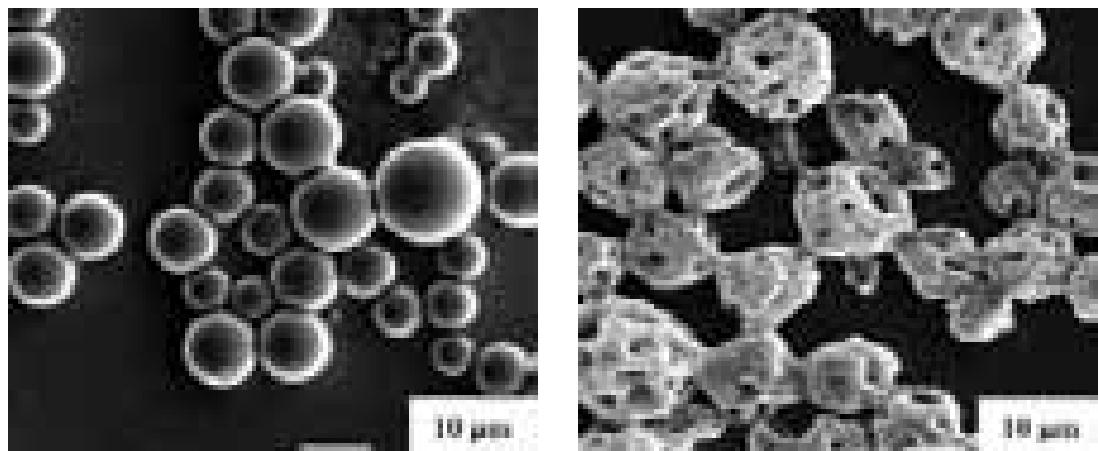
SLIKA 21.12 Redukcija molekulske mase, jačine i mase tokom vremena [2]



SLIKA 21.13 Hidroliza DLPLG [12]

fenomeni vode ka lokalnom povećanju kiselosti i promenama pH. PLG degradira hidrolizom estarskih veza, a krajnji produkti razgradnje eliminišu se uz pomoć Krebsovog ciklusa. Hidrolitička degradacija uključuje reakciju sa molekulima vode (Sl. 21.13) do forme produkata sa krajnjim kiselim i alkoholnim grupama.

Promene tokom vremena su uočljive i na makrostrukturnom nivou. Na Sl. 21.14 prikazane su polimerne sfere DLPLG pre i nakon 14 dana polimer degradacije na 37°C



SLIKA 21.14 DLPLG sfere pre i nakon 14 dana degradacije [13]

u rastvoru. Makrostrukturne promene su uočljive nakon 14 dana. Degradacija polimera rezultira povećanjem poroznosti i narušavanjem oblika sfera.

## 21.5 PRIMENA BIORESORBILNIH POLIMERA U NANOBIOTEHNOLOGIJI

**Sistemi sa kontrolisanim otpuštanjem lekova.** Netoksičnost bioresorbibilnih polimera (LPLA, LDLPLA, DLPLG itd.), ukazala je na mogućnosti bezbedne

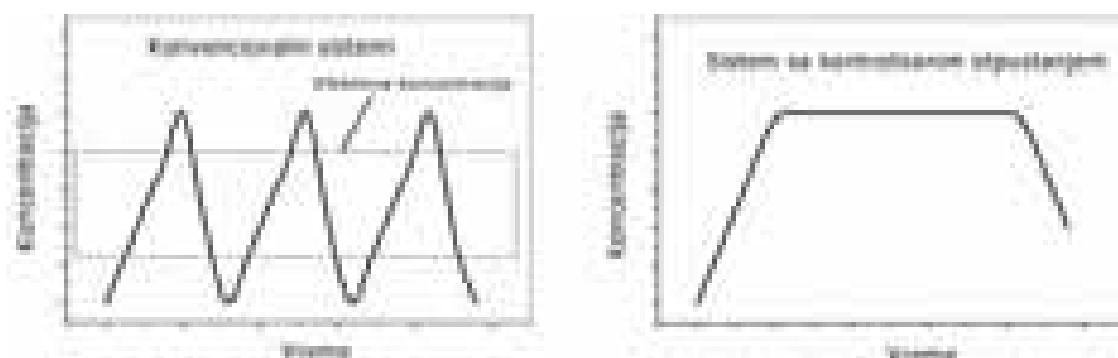
upotrebe ove vrste polimera kao konstitutivne komponente sistema sa kontrolisanim otpuštanjem lekova (Drug Delivery Systems). Koncept sistema sa ciljanim i kontrolisanim otpuštanjem lekova izazvao je pravu revoluciju poslednjih godina u konceptima lečenja u medicini ali i u drugim poljima (poljoprivreda itd). Osnovu današnjeg koncepta postavio je Erlih *teorijom magičnog metka* (Dr. Ehrlich's Magic Bullet), po kojoj se lek unosi u organizam uz pomoć nosača, a tako formiran magični metak putuje do izazivača bolesti i uništava ga. Erlih je dobitnik Nobelove nagrade za medicinu 1908. godine.

Osnovni koncept sistema sa kontrolisanim otpuštanjem je da se u matricu koja je od biodegradabilnog polimera (često sferne makrostrukture mikro- ili nano-veličina) inkorporira aktivni agens (antibiotik, vitamin i sl). Tokom vremena polimer se resorbuje i otpušta aktivni agens. U zavisnosti kako je inkorporiran aktivni agens u okviru polimera, postoje sistemi sa inkapsuliranim i imobilisanim aktivnim agensom. U oba slučaja omogućava se projektovanje koncentracionih profila. Na Sl. 21.15 prikazan je profil koncentracija koji se ostvaruje konvencionalnim sistemima kao i sistemima sa kontrolisanim otpuštanjem. Uočava se da je koncentracija aktivnog agensa konstantna kod sistema sa kontrolisanim otpuštanjem. U terapeutskim aplikacijama veoma je bitno održavati konstantnu koncentraciju leka u željenom vremenskom intervalu a u cilju uspešnosti lečenja.

Osnovni tipovi sistema sa kontrolisanim otpuštanjem jesu:

- Sistemi sa neprekidnim otpuštanjem – *sustained release* (obezbeđuju dugotrajniji efektivni nivo aktivnog agensa)
- Sistemi sa zaključanim otpuštanjem – *triggered release* (otpuštanje počinje kada, npr. pH vrednost dostigne zadat nivo)
- Sistemi sa ciljanim otpuštanjem – *target drug delivery* (otpuštanje se dešava kada se sistem nađe na tačno definisanom odredištu).

Na Sl. 21.16 prikazana je pojednostavljena slika sistema sa kontrolisanim otpuštanjem leka. Osnovi nosač su sfere načinjene od bioresorbibilnog polimera, u kojima su inkapsulirane (ili imobilizirane) čestice aktivnog agensa. Kao što je ra-



*SLIKA 21.15 Koncentracioni profili kod konvencionalnih i sistema sa kontrolisanim otpuštanjem [14]*



*SLIKA 21.16 Sistem sa kontrolisanim otpuštanjem leka*

nije naznačeno aktivni agens može biti antibiotik, vitamin, DNA, antikancerogeni agens, kortikosteroid, faktor rasta, stem ćelije, enzimi itd. Sfere sa aktivnim agensom suspenduju se u injektibilnom medijumu (fiziološki rastvor ili sl). Sfere mogu biti različite strukture i svojstava, kao i veličina. Nanotehnologija je napravila veliki prođor u ovoj oblasti. Nano-čestice bioresorbibilnih polimera poseduju niz prednosti u odnosu na mikro-čestice u sistemima sa ciljanim i kontrolisanim otpuštanjem lekova. Novi putevi u hemoterapiji i lečenju kancera zasnivaju se na upotrebi sfernih nanočestica DLPLG [15].

*TABELA 21.3 Sfere bioresorbibilnog DLPLG, način dobijanja, prečnik sfera i sadržani bioaktivni agens*

Autori	Tehnika dobijanja (postupak)	Prečnik DLPLG sfera	Aktivni agens
A. Hausberger i dr. (1995)	-	150 µm	-
A. DeFail i dr. (2006)	emulzioni	100 µm	TGF-β <sub>1</sub>
M. Weert i dr. (2000)	emulzioni-precipitacija	100 µm	lizozom
Y. Choi i dr. (2005)	emulzioni	75 µm	stem ćelije
Z. Zang i dr. (2003)	emulzioni	60 µm	-
K. Newman i dr. (2004)	emulzioni	60±20 µm	stem ćelije
N. Faisant i dr. (2006)	emulzioni	47 µm	5 fluorouracil
Y. Capan i dr. (2003)	ekstrakcija-uparavanje	44,6±2,47 µm	hormon rasta
Y. Li i dr. (2005)	ekstrakcija-uparavanje	36,16±1,80µm	ciklosporin A
C. Sancho i dr. (2004)	emulzioni	20 µm	aciklovir
A. Porjazoska i dr. (2004)	emulzioni	11,47±1,25µm	protein
B. Jones i dr. (2002)	emulzioni	2–3 µm	rodamin B
R. Lin i dr. (2005)	sprej-sušenje	2,18±0,64 µm	doxorubicin
L. Montanari i dr. (2003)	sprej-sušenje	2 µm	bupivacin
H. Yamamoto i dr. (2005)	emulzioni	0,66 µm	citozan
A. Sanchez i dr. (1993)	precipitacija-isparavanje	0,2–30 µm	ciklosporin A
S. Feng i dr. (2004)	zamrzavanje, sprej-sušenje	571±89 nm	paklitaksel
L. Mu i dr. (2003)	emulzioni-uparavanje	272,5±169,5 nm	vitamin E TPGS
S. De i dr. (2004)	emulzioni-uparavanje	266,9±2,8 nm	-
K. Dillen i dr. (2004)	emulzioni-uparavanje	255,8 nm	ciprofoxacin
Z. Li i dr. (2001)	emulzioni-uparavanje	213±10,9 nm	proteini
M. Kumar i dr. (2004)	emulzioni-difuzioni-uparavanje	< 200 nm	DNA
H. Jeon i dr. (2000)	dijaliza	185,8±35,6 nm	norfloxacin
M. Stevanovic i dr. (2005)	precipitacija-isparavanje	90–280 nm	-
M. Teixeira i dr. (2005)	izmena rastvarača	< 170 nm	xanton
N. Ignjatović i dr. (2006)	precipitacija-isparavanje	30–40 nm	kalcijumfosfat

Veličine ispod 100 nm omogućavaju bliski kontakt ćelije sa sistemom, što nije slučaj sa velikim sfernim česticama mikronskih veličina. Mali molekuli proteina ili nukleinskih kiselina mogu se smestiti u nano-sfernu česticu. A injektirana nano-sferna čestica u organizmu minimalno utiče na aktivaciju imunog sistema.

Bioresorbilne sfere nakon injektiranja započinju aktivnost, prenose se do krajnjeg (ciljanog) odredišta ili pak odmah započinje njihova aktivnost. Osnovni koncept je da se polimer željeno resorbuje i time otpušta aktivni agens koji se nalazi unutar sfere. Aktivni agens je u najvećem broju slučajeva lekovita supstanca, ali može biti i nešto drugo (kasnije u tekstu će biti pomenuto). Veoma često upotrebljivani nosač u sistemima sa kontrolisanim otpuštanjem je bioresorbibilni polimer DLPLG. U Tabl. 21.3 prikazani su neki od važnijih rezultata dobijanja sfernih čestica DLPLG po hierarhiji dobijenih veličina. Naznačene su sfere najmanjih veličina koje su dobili pomenuti istraživači. Sistemi sa kontrolisanim i ciljanim delovanjem mogu biti i u formi hidrogelova, koji su optimalni prilikom transdermalnog apliciranja.

Brojni su faktori koji utiču na aktivnost sistema sa kontrolisanim otpuštanjem: pH sredine, molekulska masa, poroznost, površinska energija, hemijska struktura glavnog lanca, hidrofobnost-hidrofilnost, oblik i morfologija itd. Veličina sfernih čestica biodegradabilnih polimera jeste takođe jedan od ključnih parametara aktivnosti. Kontrola otpuštanja je bitan faktor u primeni sistema sa kontrolisanim otpuštanjem leka, jer od nje zavisi uspešnost primene tj lečenja.

Otpuštanje lekova je kvantificirano Fikovim zakonom drugog reda:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x}(D \frac{\partial c}{\partial x}) + \frac{\partial}{\partial y}(D \frac{\partial c}{\partial y}) + \frac{\partial}{\partial z}(D \frac{\partial c}{\partial z}) \quad (21.1)$$

gde su  $c$  i  $D$  koncentracija i koeficijent difuzije. Prostorne koordinate su  $x, y, z$ , a  $t$  je vreme. U monolitnim disperzijama sa visokim odnosom *početna vrednost leka/rastvorljivost leka*, mogu se analizirati matematičke zavisnosti gradijenta koncentracije leka. Kumulativna vrednost oslobođenog leka u vremenu data je *Higucijevom* jednačinom:

$$M_t = 4\pi R^2 [(2(c_0 - c_s)c_s D t)^{1/2} + 4c_s D t / 9R(c_s/2c_0 - c_s - 3)] \quad (21.2)$$

gde je  $M_t$  apsolutna vrednost oslobođenog leka za analizirano vreme  $t$ ,  $R$  radijus sfere bioresorbibilnog polimera,  $c_0$  i  $c_s$  početna i rastvorena koncentracija leka,  $D$  difuzioni koeficijent leka. Procesi oslobođanja leka su složeni. Molska masa (dužina) i fleksibilnost polimernih lanaca direktno utiču na koeficijent difuzije, tako da on nije konstantan za jedan te isti polimer. Sledeća matematička zavisnost uzima u obzir ovu činjenicu pa je zato:

$$D(M_w) = D_0 + k/M_w \quad (21.3)$$

gde je  $D_0$  koeficijent difuzije leka u nedegradiranom polimeru (za  $t = 0$ ),  $k$  je konstanta a  $M_w$  molarna masa. Degradacija DLPLG je pseudo prvog reda, a smanjenje molarne mase može se definisati kao:

$$M_w(t) = M_{w0} \exp(-k_{degr} t) \quad (21.4)$$

gde je  $M_{w0}$  početna vrednost molarne mase a  $k_{degr}$  konstanta degradacije pseudo prvog reda polimera DLPLG. Konstanta se može dobiti fitovanjem eksperimentalnih rezultata a na osnovu jednačine (21.4) [16].

Sistemi sa kontrolisanim otpuštanjem lekova mogu se aplikovati na razne načine:

- Transdermalno (preko kože, npr uz pomoć flastera)
- Oralno (preko medikamenata)
- Subkutana injekcija (injektiranjem u mišić)
- Intravenska injekcija (injektiranjem u venu).

Svaka od ovih vrsta aplikacija ima određene dobra ali i loša svojstava. U Tabl. 21.4 prikazana su neka od dobrih i loših svojstava specifične aplikacije.

*TABELA 21.4 Metod kontrolisanog otpuštanja i njegove prednosti/mane*

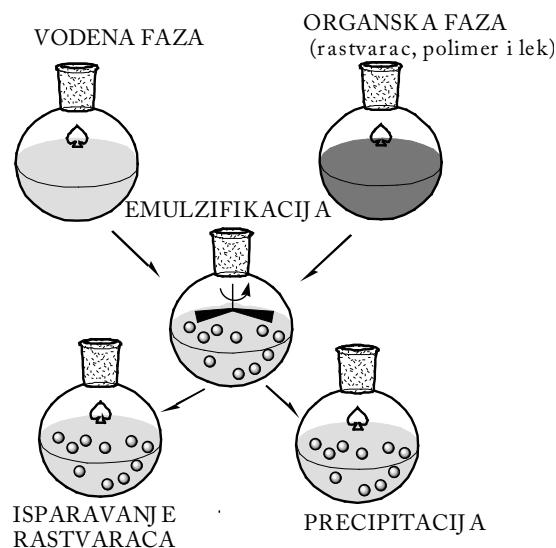
Transd.		Oralno		Subkut. injekcija		Intrav. injekcija	
dobro	loše	dobro	loše	dobro	loše	dobro	loše
efektivnost	niska permeabiln. kože	laka aplika-cija	nestabil-nost u traktu	vreme i mesto se projektuju	lokalna toksičnost	efektnost	kratko vreme cir-kulacije
konfor-nost paci-jenta	upala kože ili alergija	fago-citoza nosača	brzo me-tabolizi-ranje	nepotreb-na dige-stija	lokalna iritacija	nepo-trebna digestija	loša pene-tracija u tkivo
konstan-tna brzina					loša ci-ljanost	raspo-dela	
lako apli-kovanje							

Potreбно је условно анализирати лоše и добре стране сваке врсте система са контролисаним otpuštanjem leka, jer one зависе од многих фактора. Тако нпр. од облика и величине биоресорбиљних сфера (нosača) leka зависи добро или лоše испољавање својства.

У nanotehnologijama уопштено је прихваћено да су tehnologije са česticama величина од 1–100 nm nanotehnologije, а njihovi objekti nano-čestice. Данас у системима за контролисано otpuštanje lekova (у mnogobrojnim radovima) egzistira мало fleksibilnija terminologija. Sfere бioresорбиљних полимера величина од 10 nm до 1 μm називају се nano-sfere, док за наредни интервал величина од 1 до 10 μm користи се термин mikro-sfere. Уједнаčавање terminologije prepuštenо је будућем vremenu.

**Postupci dobijanja.** У Tabl. 21.3 пored величина дати су и поступци добијања сфера. Различити начини су коришћени у циљу добијања сферних честица DLPLG, од којих доминирају emulzioni поступци синтезе употребом система rastvarač/nerastvarač. Поступци се међусобно разликују, али имају и доста сличности. Поступци који у основи имају emulziju подразумевaju:

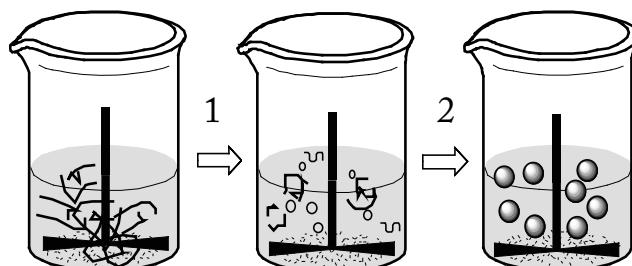
- Pripremu polimernог rastvora у organskom rastvaraču,
- Dispergovanje у tečnoј fazi са stabilizatorима и формирање emulzije,
- Inkorporiranje leka у organskoj или tečnoј fazi,
- Dobijanje nano- или mikro-sfera precipitацијом или испаравањем rastvarača.



SLIKA 21.17 Emulzioni postupak [17]

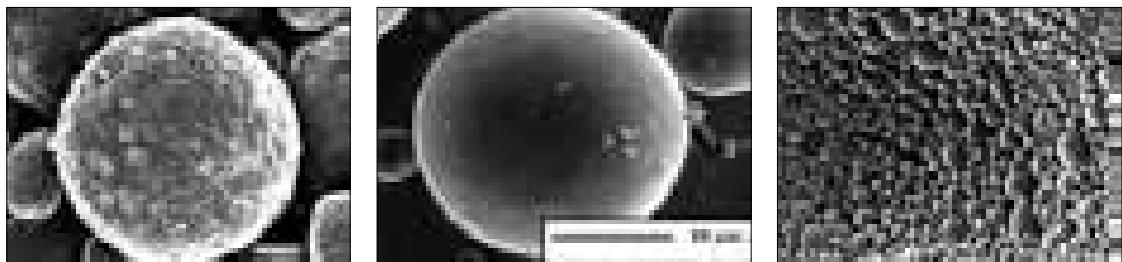
Uprošćena tehnika osnove emulzionih postupaka prikazana je na Sl. 21.17.

Brojni istraživači su modifikovali osnovu ovog postupka u cilju omogućavanja projektovanja svojstava sistema za otpuštanje lekova. Parametri koji se projektuju uglavnom se odnose na veličnu i oblik sfere, kristaliničnost, permeabilnost tečnosti, pH senzitivnost,  $T_g$  polimera itd. Postoje brojne tehnike koacervacije, koje se uglavnom odnose na međufaznu i kompleksnu koacervaciju, uz korišćenje sistema sa dva različita organska rastvarača. Kod dobijanja sistema sa kontrolisanim otpuštanjem leka, međufaznom koacervacijom potrebno je obaviti inkapsulaciju polimera koji je rastvoren u organskoj fazi. Zatim se čestice lekova dodaju u organski rastvor (koji je označen kao prvi organski rastvor). Indukcija fazne separacije se zatim obavlja sa nerastvaračem (ili sa drugim polimerom koji je nemešljiv sa polimerom od koga se dobijaju sfere). Zatim se formira kapsula (sfera) polimera oko leka. Na Sl. 21.18 prikazana je osnova ovog postupka. U prvoj fazi (1) dodaju se čestice leka, dok je naredna faza (2) specifična po tome što se u njoj dodaje drugi polimer ili nerastvarač, koji termodinamički destabilizuje sistem i provocira dobijanje sfere u kojoj je inkapsuliran lek.



SLIKA 21.18 Međufazna koacervacija [17]

Lipozomi se takođe koriste za dobijanje sistema sa kontrolisanim otpuštanjem leka. Lekovi se tada inkapsuliraju u sferičnim fosfolipidima različitim postupcima kao što su: emulzifikacija vode u ulju u tečnim rastvorima leka, ultrazvučna konverzija, uparavanje organskog rastvarača u masti itd. Kao što je i naznačeno, postupci dobijanja su mnogobrojni i svaki od njih nosi niz specifičnosti. Od DLPLG su Newman i saradnici modifikovanim postupkom emulgovanja uz isparavanje rastvarača dobili sfere, koje su iskorišćene kao nosači za isporuku stem ćelija. Na slici 21.19a prikazana je mikrostruktura jedne tako dobijene sfere. Istraživači iz PCC kompanije u grupi pod rukovodstvom Šaidi Svai dobili su sfere prečnika od 150 do 500 nm od DLPLG korišćenjem dvostrukog emulzionog postupka i uparavanja rastvarača. Dobijene su čestice koje se najčešće apliciraju oralno. Malim izmenama parametara istog postupka dobijene su mikro-sfere čija je mikrostruktura prikazana na Sl. 21.19b. Feng sa saradicima je modifikovanim emulzionalnim/ekstrakcionim tehnikom dobio nano-sfere DLPLG čija je mikrostruktura prikazana na Sl. 21.19c.

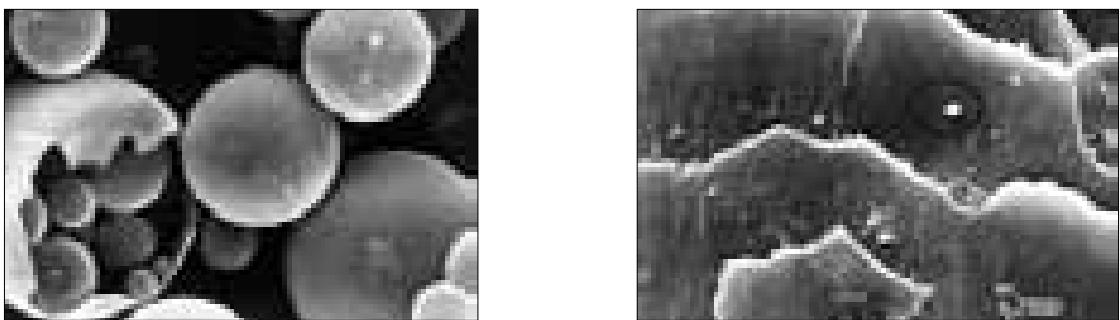


*SLIKA 21.19 SEM mikrostruktura (a) mikro-čestica DLPLG, (b) mikro-čestica DLPLG, (c) nano-čestica DLPLG [15,16,18]*

Danas mnoge istraživačke grupe u svetu ispituju mogućnosti ostvarivanja različitih organizacija sistema za kontrolisano otpuštanje leka. Istraživači iz kompanije *MultiSal™ Technology* ostvarili su dobijanje dvostrukog mikro/nano sistema. Oni su nano-sfere inkapsulirali u mikro-sferama. Sfere mogu biti načinjene od istog ali i različitog bioresorbibilnog polimera. Npr prvo se resorbuje mikro-sfera koja otpušta nano-sfere, a zatim se nano-sfere resorbuju i otpuštaju lekovitu suspostancu. SEM ovakvog sistema prikazan je na Sl. 21.20a. Nano-čestice sa željenim aktivnim sredstvom predmet su ispitivanja u kozmetici. Na Sl. 21.20b prikazan je SEM depovanog *NanoSal®* na vlasni kose iz šampona. Adsorbovana čestica otpušta lekovito sredstvo u dužem vremenskom intervalu a sve u cilju zaštite kose.

**Visoko porozni biodegradabili filcevi (skafoldi).** Inženjerstvo tkiva uključuje upotrebu ćelija u rekonstrukciji oštećenog tkiva. U ove svrhe neophodno je obezbediti organizaciju ćelija u tri dimenzije (3D). Materijal koji bi se iskoristio kao nosač ćelija mora da ispunji određene bilološke zahteve od kojih su najvažniji:

- Biokompatibilnost,
- Niska citotoksičnost,
- Minimalna provokacija inflamatornih procesa itd.



*SLIKA 21.20 SEM (a) nano-sfere u mikrosferama, (b) vlas kose na kojoj je adsorbovana nano-čestica kondicionera iz šampona [14]*

Pored navedenih bioloških zahteva, neophodno je da se ispuni i niz fizičko-hemijskih zahteva:

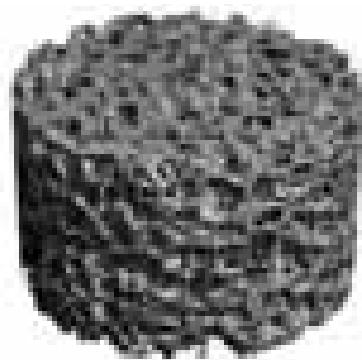
- Visoka specifična površina za adheziju ćelija,
- Adekvatna mehanička svojstva,
- Poroznost, veličina i oblik pora itd.

Biodegradabilni polimeri trenutno su najadekvatniji materijali u te svrhe. Do sada najčešće upotrebljivani polimeri za izradu *skafolda* jesu PGA, LPLA, DLPLG i sl.

Postoje brojne tehnike uz pomoć kojih se istražuju mogućnosti projektovanja svojstava i sinteze 3D matrica koje bi bile iskorišćene kao nosači u inženjerstvu tkiva, ili pak drugim medicinskim aplikacijama. Do sada često korišćene tehnike su navedene u nastavku odeljka.

**Fiber bonding.** Smatra se da su prve upotrebe PGA vlakana bile u cilju dobijanja *skafolda* i oni datiraju od 1993. Vlakna su povezivana u 3D matricu koja je posedovala visoku površinu za naseljavanje ćelija. Postoje dve osnovne vrste tehnike koje omogućavaju međusobno povezivanje vlakana. Mikos i saradnici su 1993. PGA vlakna potapali u rastvor LPLA. Nakon isparavanja rastvarača dobijena su vlakna PGA u matrici od LPLA. Posle termičkog tretmana kompozita i uređenja strukture vlakana, LPLA se uklanja sa metilenhloridom. Ovako je dobijena pena sa 81% poroznosti, a veličina pora je bila do 500 µm. Drugi metod spajanja PGA vlakana koristi atomizaciju LPLA ili DLPLG za oblaganje vlakana. LPLA ili DLPLG se rastvore u hloroformu i raspršuju na PGA vlakna. Nakon uklanjanja rastvarača, vlakna su zapepljena sa LPLA ili DLPLG.

**Solvent casting.** Drugačiji pristupi su iskorišćeni u projektovanju oblika i veličine pora. Najednostavniji primer je arhitektura uz pomoć vodorastvornih soli. U prvom koraku se LPLA ili DLPLG rastvori u hloroformu i doda mu se npr. vodorastvorni NaCl. Nakon uklanjanja rastvarača polimer/NaCl kompozit se potapa u vodu, i u toku 48 h so se ukloni. Dobijena poroznost je projektovana veličinom čestica soli, a njena vrednost masenim odnosom soli i polimera. Na Sl. 21.21 prikazan je visoko porozni blok dobijen od DLPLG polimera kod koga su pore formirane upotrebom NaCl soli.

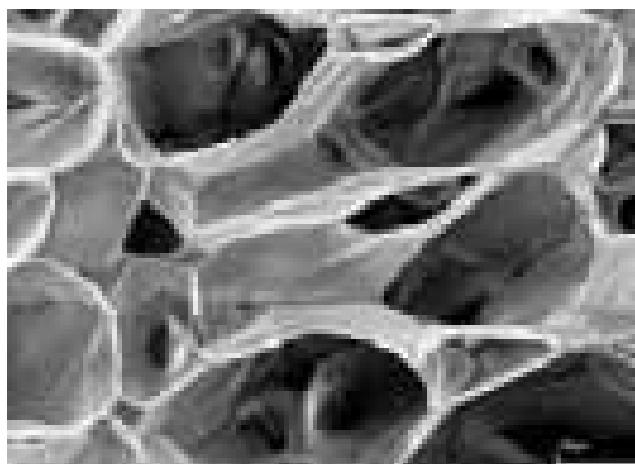


SLIKA 21.21 DLPLG scaffolds [19]

Poroznost ovako dobijenog bloka je  $\varepsilon = V_{\text{por}} / (V_{\text{por}} + (1/\rho))$ , gde je  $V_{\text{por}}$  zapremina pora po gramu a  $\rho$  gustina. Gustina se izračunava kao  $\rho = (C_s + C_p) / ((C_s/\rho_s) + (C_p/\rho_p))$  gde su  $C_s = g\text{NaCl}/\text{ukupno } g$  i  $C_p = g\text{DLPLG}/\text{ukupno } g$ ,  $\rho_p = 1,28 \text{ g/ml}$  i  $\rho_s = 2,17 \text{ g/ml}$ .

**Gas foaming.** Biodegradabilni polimer, npr. DLPLG zasiti se sa  $\text{CO}_2$  pod visokim pritiskom (5,5 MPa). Da bi se omogućila visoka rastvorljivost gasa, ovaj proces traje 72h. Rastvorljivost gasa se naglo smanjuje kada se pritisak vrati na atmosferski. Tada dolazi do stvaranja sfera (bublova) sa prečnikom od 100 do 500  $\mu\text{m}$ . Ovakvim postupkom mogu se dobiti visoko porozni 3D blokovi DLPLG, od oko 93%. Ovaj postupka isključuje upotrebu različitih hemijskih supstanci, što predstavlja prednost. Umesto  $\text{CO}_2$  mogu se koristiti i drugi koncepti koji uljučuju formiranje pora uz pomoć gasa. Rastvoru DLPLG u hloroformu doda se amonijumbikarbonat. Nakon uklanjanja hloroforma materijal se podvrgava vakuumskom uparavanju, a dobijen materijal poseduje pore veličina od 200 do 500  $\mu\text{m}$ . Ova metoda je pogodna jer onemogućava stvaranje neporozne kore oko 3D bloka.

**Fazna separacija (Phase separation/emulsification).** Vong sa saradnicima je 1995. rastvorio DLPLG u metilenhloridu i zatim destilovanu vodu dodoao u



SLIKA 21.22 SEM preseka LPLA skafolda dobijenog faznom separacijom [20]

rastvor, formirajući tako emulziju. Polimer/voda emulziju je izlio u kalupe i nakon sučenja na  $-55^{\circ}\text{C}$  uklonio dispergovanu vodu a kasnije polimerni rastvarač. Dobijen je 3D blok sa poroznošću od 95%. Odnos polimernog rastvora i vode, viskoznost emulzije itd, ključni su parametri koji utiču na svojstva emulzije a kasnije i na porozan blok (*skafold*). Tečno-tečna separacija je takođe tehnika koja se uspešno koristi u iste svrhe. Ona obuhvata korišćenje termodinamičkih principa za kreiranje polimer-bogate i polimer-siromašne faze u polimernim rastvorima. Polimer-siromašna faza se uklanja a zaostaje visoko porozna mreža. Lo sa saradnicima je 1995 rastvorio DLPLG polimer u rastvaraču sa niskom temperaturom topljenja (1,4 dioxan, naftalin, molten fenol i sl). Rastvor polimera se hlađi ispod tačke topljenja rastvarača a zatim vakuumsko uparava više dana, radi sigurnosti uklanjanja i potpune sublimacije. Faktori hlađenja rastvora su ključni u projektovanju morfologije i krajnjih svojstava visoko poroznih blokova. Rastvarač se uklanja sublimacijom i pri tome formira visoko poroznu strukturu polimera. U nekim slučajevima je neophodno dodati nerastvarač da bi se indukovala fazna separacija.

Na Sl. 21.22 prikazan je SEM visoko poroznog bloka od LPLA dobijenog faznom separacijom čvrsto-tečno. LPLA se rastvori u dioksanu i podvrgne sušenju na  $-20^{\circ}\text{C}$ , nakon vakuumsko sušenja dobija se materijal sa 95, 65% poroznosti.

**Rapid prototyping (3D printing).** Dvodimenzionalna konvencionalna ink-jet tehnologija (po  $x$  i  $y$  osi) danas je osnova svih štampanja. Nakon sušenja i očvršćavanja, na istom odštampanom otisku nanosi se novi sloj (po  $z$  osi) i tako sukcesivno. Može se naneti hiljadu i hiljadu tankih slojeva, a princip je osnova *rapid prototyping* tehnike. Automatskim upravljanjem i adekvatnim softverom mogu se dobiti visoko porozni 3D blokovi (*skafoldi*) različitih oblika, dimenzija, poroznosti kao i oblika pora.

**Litografija.** Postoje različite vrste litografija a najpoznatije su stereolitografija i soft litografija. Osnovni princip stereolitografije jeste polimerizacija monomera laserskim snopom. Soft litografija trenutno pruža niz naprednih mogućnosti u cilju dobijanja DLPLG *skafolda* projektovanih svojstava.

U osnovi postoje tri varijante tehnike koje su razvili istraživači sa Univerziteta u Kaliforniji, San Dijego. Polidimetilsulfoksid (PDMS) kalupi se koriste u sve tri varijante. Početna faza može biti mikrokalupljenje, mikrofluidno kalupljenje, ili oblaganje uz mešanje. Krajnji produkt svih varijanti je visoko porozni DLPLG, sa dimenzijama i ostalim svojstvima koja su uslovljena parametrima procesa kao i dimenzijama i oblikom kalupa.

## 21.6 PITANJA ZA REKAPITULACIJU

- 21.1 Po čemu se biodegradabilni polimeri razlikuju od drugih polimera?
- 21.2 U kojim oblastima napre dolazi do biodegradacije polimera?
- 21.3 Koje su najvažnije grupe biodegradabilnih polimera?
- 21.4 Po čemu se karakteriše sterilizacija biodegradabilnih polimera?

- 21.5 Koje su primene biodegradabilnih polimera?
- 21.6 Koju primenu biodegradabilnih polimera bi izdvojio i zašto?
- 21.7 Napiši kratak seminarски рад *Novi bioresorbibilni polimeri i njihova primena.*

## 21.7 LITERATURA

1. N. Ignjatović, *Doktorska disertacija*, TMF, Beograd (2001)
2. J. Middleton, A. Tipton, Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices, *Biomaterials*, 21 (2000) 2335–2346
3. P. Flory, *Statistical Mechanics of Chain Molecules* (Interscience-Wiley, New York, 1969)
4. P. Mainil-Varlet, R. Curtis, S. Gogolewski, Effect of in vivo and in vitro degradation on molecular and mechanical properties of various low-molecular-weight polylactides, *J. Biomed. Mater. Res.*, 36 (1997) 360–380
5. N. Ignjatovic, A. Nastasovic, V. Laninovic, A. Onjia, M. Miljkovic, V. Konstantinovic Physico-Chemical Properties of Polymeric and Composite Bioresorbable Barrier Membranes, *Materials Science Forum*, 453–454 (2004) 537–542
6. D. Farrar, Bioresorbable Polymers in Orthopaedics, *Business Briefing: Medical Device Manufacturing & Technology* (2005) 1–4
7. M. Bronzino (eds.), *Handbook of Biomedical Engineering* (CRC Press, 1995)
8. U. Westedt, M. Wittmar, M. Hellwig, P. Hanefeld, A. Greiner, A. Schaper, T. Kissel, Paclitaxel releasing films consisting of poly(vinyl alcohol)-graft-poly(lactide-co-glycolide) and their potential as biodegradable stent coatings, *Journal of Controlled Release* 111 (2006) 235–246
9. B. Stanton, *Disinfection, Sterilization and Preservation* (Lippincott Williams & Wilkins, 2000)
10. I. Mc Neill, H. Leiper, Degradation studies of some polyesters and polycarbonates-II. Polylactide: Degradation under isothermal conditions, *Poly. Degrad. Stabil.*, 11 (1985) 309–321
11. E. Suljovrujic, N. Ignjatovic, D. Uskokovic, M. Mitric, M. Mitrovic, S. Tomic, Radiation-induced degradation of hydroxyapatite/poly-L-lactide composite biomaterial, *Radiation Physics and Chemistry* 76 (2007) 722–728
12. M. Ramchandani, M. Pankaskie, D. Robinson, The influence of manufacturing procedure on the degradation of poly(lactide-co-glycolide) 85:15 and 50:50 implants, *Journal of Controlled Release* 43 (1997) 161–173
13. A.Omolola Eniola, Daniel A.Hammer, Characterization of biodegradable drug delivery vehicles with the adhesive properties of leukocytes II: effect of degradation on targeting activity, *Biomaterials* 26 (2005) 661 -70
14. [www.Salvona.com](http://www.Salvona.com)
15. S. Feng, L. Mu, K. Win, G. Huang, Nanoparticles of biodegradable polymers for clinical administration of paclitaxel, *Current Medicinal Chemistry*, 11 (2004) 413–424.

16. N. Faisant, J. Siepmann, J. Benoit, PLGA-based microparticles: elucidation of mechanisms and a new, simple mathematical model quantifying drug release, *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 15 (2002) 355–366
17. E. Mathiowitz (eds.), *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery* (New York: John Wiley&Sons, 1999)
18. K. Newman, M. McBurney, Poly(d,l lactic-co-glycolic acid)microspheres as biodegradable microcarriers for pluripotent stem cells, *Biomaterials* 25 (2004) 5763–5771
19. E. Hedberg, C. Shih, J. Lemoine, M. Timmer, M. Liebschner, J. Jansen, A. Mikos, In vitro degradation of porous poly(propylene fumarate)/poly(DL-lactic-co glycolic acid)composite scaffolds, *Biomaterials* 26 (2005) 3215–3225
20. Y. Chen, A. Mak, M. Wang, J. Li, M. Wong, PLLA scaffolds with biomimetic apatite coating and biomimetic apatite/collagen composite coating to enhance osteoblast-like cells attachment and activity, *Surface and Coatings Technology* 201 (2006) 575–580

---

## BIODERIVATIVNI POLIMERI I HIDROGELOVI<sup>1</sup>

*Biderivativni polimeri* izvedeni su iz prirodnih materijala biljnog (npr. alginati) ili životinjskog porekla (npr. kolagen, hitozan) [1–2]. Prilagođavanje strukture i svojstava koje je ostvareno kod bioderivativnih polimera fizičkim ili hemijskim putem neophodno je radi dobijanja što boljih performansi materijala u cilju njihove primene u implantatima u živom organizmu. S obzirom da je sastav ovih polimera veoma blzak sastavu živih tkiva, a da se najčešće primenjuju u vidu hidrogelova a oni su po svojim fizičkim svojstvima najbliži mekim tkivima (može se takođe reći i da su najbliže analoge živom tkivu ostvarene u biomaterijalima do sad), ova klasa bioderivativnih materijala je od prvorazrednog značaja danas, kako sa praktičnog tako i teorijskog gledišta. Ipak se iza ovih atraktivnih svojstava i dalje krije niz teškoća. One upravo ukazuju da projektovanje medicinskog implantata za zamjenjivanje tkiva ili organa zahteva dobro razumevanje strukture i funkcije tkiva i organa koji se menja, strukture i svojstva materijala koji se koristi za zamenu, kao i zahteve samog projektovanja. Ovde treba dodati da neki autori danas koriste termin *biološki materijali* (u cilju razlikovanja od biomaterijala) ubrajajući tu kako tkiva sa živim ćelijama tako i kulture ćelija formirane kao materijal za zamenu tkiva u živom organizmu korišćenjem postupaka inženjerstva tkiva. Neki autori opet materijalom nazivaju samo drugu od navedenih grupa. Detaljniju diskusiju o definisanju materijala videti u ref. [1].

*Biderivativni biomaterijali* (kao sledeća instanca) su po sastavu u velikoj većini biopolimeri, pa se njihova strukturalna organizacija može razmatrati na istim skalama kao i za polimerne materijale i to: (1) submolekulska, (2) molekulska, (3) intermolekulska, (4) supermolekulska i (5) makro-strukture [1–4] (v. Gl. 19). Opisani nivoi strukture, posebno tercijarna i kvaternarna molekulska struktura, kao i njihova promena usled dinamičkih uslova u živom organizmu, direktno utiču na imunološku reakciju organizma. Tako se ovde moramo suočiti i sa jednom od prvih i najfundamentalnijih dilema u biomaterijalima. Od antičkih vremena sve do for-

---

<sup>1</sup>Ovo poglavlje napisali su Milenko Plavšić, Ivana Pajić-Lijaković, Branko Bugarski i Dejan Raković.

mulisanja baznih biopolimernih modela u 20. veku, javljali su se pokušaji primene modifikovanih bioloških materijala pa i varijanti bioderivativnih biomaterijala za implantate u humanoj medicini. Tako su u prošlom veku korišćeni hemijski i fizički tretirani delovi kože, posteljice, vodenjaka itd. uglavnom kao zamena za oštećenu kožu. Ali organizam je uglavnom i odbacivao ove materijale iz imunoloških razloga. Modifikovanjem strukture bioderivativnih polimera na pomenutim nivoima umanjuju se ovi antigenski efekti ali se i kvare inženjerski parametri ovakvog biomaterijala. Postizanje optimalne ravnoteže ovih suprotnih dejstava, otvara niz složenih pitanja.

*Biderivativni polimerni biomaterijali* javljaju se u vidu raznih disperzija i prevlaka ali najčešće u vidu hidrogelova. Na to ukazuje i etimologija, jer reč gel potiče od želatina. Ukratko rečeno, hidrogelovi koji su ovde od interesa jesu trodimenzionalne (3D) polimerne mreže nabubrele upijanjem vode ili telesnih tečnosti. Ovi materijali su biokompatibilni kako zbog svog visokog sadržaja vode, niskog površinskog napona u dodiru sa biološkom okolinom, tako i zbog sličnosti sastava sa hidrofilnim materijalima na bazi makromolekula u organizmu [5–16]. Zbog toga će u ovom poglavlju posebna pažnja biti posvećena bioderivativnim polimernim materijalima u stanju hidrogelova i sintetskim hidrogelovima kao njihovim analogama. Savremeni eksperimentalni i teorijski pristupi biće prikazani na primerima najčešće zastupljenih materijala, kao što su od životinjskih želatin, nastao denaturacijom kolagena, a od biljnih alginatnih derivata.

## 22.1 BIODERIVATIVNI MATERIJALI NA BAZI KOLAGENA

*Kolagen* spada u grupu višefunkcionalnih proteina koji se najčešće nalaze u kostima, koži, tetivama i ligamentima. Kolagen je biodegradabilan i biokompatibilan, tačnije rečeno retko izaziva imunološke reakcije organizma. Zato je pogodan za primenu u biomedicini za dobijanje implantata, a u raznim modifikacijama kao nosač biomase ili aktivne supstance leka [15]. Međutim, mora se imati u vidu da su ovi materijali teški za obradu, termički nestabilni, a nekad se isuviše brzo resorbuju u organizmu. Materijali nastali modifikacijom kolagena mogu biti dizajnirani i kao kompozitni polimerni materijali, u kojima su visoko orijentisana kristalinična kolagenska vlakna ugrađena u amorfnu matricu od polisaharida, ili glikoproteina ili elastina. Na ovaj način se poboljšavaju svojstva kolagenskog materijala.

Kolagen ulazi u sastav mnogih tkiva živog organizma. Prirodna kolagenska vlakna (skupine kolagenskih fibrila) nalaze se u različitim konfiguracijama u tkivu, zavisno od njihove funkcije u živom organizmu. Tako, npr. u tetivama i ligamentima, kolagenska vlakna postavljena su paralelno u cilju postizanja visoke čvrstoće. Za razliku od tetiva ili ligamenata, koža sadrži kolagenska vlakna koja su raspoređena u slojevima (ili listićima) sa slučajnom raspodelom orijentacije. Međutim, kožna tkiva pokazuju mehaničku anizotropiju. Razlog je ispravljanje i preuređivanje vlakana pri malim naponima, što nastupa lakše nego njihovo istezanje. Ali pri daljem istezanju materijala, fibrilozne lamele se priljubljuju jedna uz drugu i daju dodatnu

ekstenziju. Kada je koža jako istegnuta, njen modul elastičnosti teži modulu koji imaju tetive, kao što se i očekuje kod pravilno poređanih kolagenskih vlakana.

Modifikovani kolagen koristi se kao biomaterijal za prevlačenje rana (veštačka koža), za obnavljanje mekih tkiva kao proteze za regeneraciju nerava i krvnih sudova, i kao proteze za obnavljanje tvrdog tkiva o čemu će kasnije biti više reči.

Pored mehaničkog razaranja strukture kolagena pri njegovom modifikovanju za ovakve materijale, neophodno je opisati i termička i hemijska dejstva koja dovode do promene strukture.

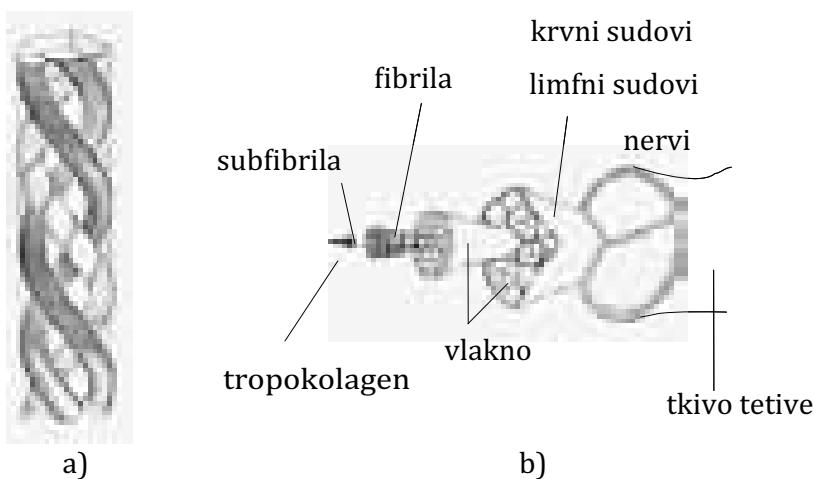
### 22.1.1 Struktura kolagena i derivativnih materijala iz kolagena

Prema do sada objavljenim radovima, oko 20 proteina je klasifikованo u grupu kolagena [15–17]. Među ovim molekulima kolagena koji se razlikuju prema amino-kiselinskom sastavu u sekvencama lanca, tip I je najrašireniji i osnovni je graditelj kostiju, kože i tetiva. Ova tkiva se najčešće koriste kao izvor kolagena koji se modificuje za razne primene u biomedicini.

Tip I molekula kolagena, izolovan iz različitih tkiva, ima osnovnu strukturu tzv. tropokolagen čija je molekulska masa oko 283.000 daltona. Tropokolagen sadrži tri polipeptidna lanca, od kojih je svaki uvijen u spiralu u smeru levog zavrtnja. Ovi spiralni lanci su međusobno isprepletani tako da formiraju kvaternarnu strukturu u obliku snopa. Pri formiranju ovog snopa svaki od lanaca se ponovo spiralno uvija oko centralne molekulske ose, ali sad u smeru desnog zavrtnja kao što je prikazano na Sl. 22.1a. Uspon leve spirale pojedinačnih lanaca je 0,870 nm, dok je uspon trojne desne spirale snopa oko 10 nm i sadrži 30 aminokiselinskih ostataka.

Dva od polipeptidnih lanaca su identični (označeni sa  $\alpha_1$ ) i sadrže po 1056, a treći polilipeptidni lanac ( $\alpha_2$ ) sadrži 1029 aminokiselinskih ostataka [17, 18]. Krajevi kvaternarne strukture nisu spiralno uvijeni, tako da je efektivna dužina spiralnog dela oko 290 nm. Preko 95 % aminokiselina imaju sekvencu ponavljanja Gly-X-Y, gde Gly označava glicinski ostatak, dok X i Y mogu biti bilo koje druge aminokiseline. Pri tome je X najčešće prolin (Pro) a Y hidroksiprolin (Hyp). Ostatak od 5 % molekula nema ovu sekvencu, i zato nisu trospiralni. Postoje sasvim male razlike u strukturi molekula kolagena tipa I kod različitih životinjskih vrsta [19, 20]. Strukturom kolagena detaljno su se bavili Ramačandran i sar, Rič i Krik, Miler i sar., Frejzer i sar., Kac i Li, Jamuči i drugi, ispitujući biopolimere i sintetske analoge rendgenografskim metodama, infracrvenom spektroskopijom i spektro-polarimetrijom. Međutim, detalji kvaternarne strukture koje su oni izveli nisu isti, mada su svi u saglasnosti sa rezultatima rendgenografskih ispitivanja [1, 2, 16–26].

Ovde takođe treba istaći ulogu okoline, odnosno prirodne vodene sredine na makro konformaciju kolagena [17–26]. Kolagenski molekuli se formiraju kao i drugi proteini u uslovima *in vivo* reakcijom polikondenzacije između amino i karboksilnih grupa aminokiselina, kontrolisanom uz pomoć ribozoma. Tako nastale, tri leve peptidne spirale kolagena (sa velikim udelima glicina, prolina i hidroksiprolina) uvijaju se i grade kvaternarnu strukturu molekula kolagena, ovde nazvanu



SLIKA 22.1 (a) Spirala tropokolagena i (b) nivoi strukture kolagena

tropokolagen. Tropokolagen ima naizmenične polarne i nepolarne regije, i elektrostatičkim interakcijama gradi intermolekulsku strukturu, tzv. subfibrilu. Subfibrele se međusobno ukrštaju gradeći supermolekulsku strukturu – fibrilu. Fibrile dalje grade kolagensko vlakno, što je šematski prikazano na Sl. 22.1b. Imajući u vidu da je debljina tropokolagena oko 1,25 nm, odnosno skala za analiziranje na ovom nivou strukture reda veličine 20 nm, odgovarajuća skala za subfibrilu je oko 200 nm, a fibrilu 2.000 nm, dok makro strukturi kakva je kolagensko vlakno odgovara skala od 20.000 nm [1,18]. Denaturacijom kolagenskih struktura sve do nivoa lanca, fizičkim ili hemijskim putem, dobija se želatin, materijal pogodan za primenu u biomedicini.

Za denaturaciju kolagenskih vlakana sada se koriste proteolitički enzimi kao što je na primer pepsin, ili dejstvo hemikalija kao što su rastvori nekih kiselina, baza i soli [1, 2, 17–20]. Denaturacija kolagena zavisi od pH vrednosti, temperature, jonskog potencijala rastvora i od molekulske težine. Kolagen se brže razgrađuje pri pH vrednostima izvan izoelektrične tačke proteina. Kolagen je manje razgradljiv pri višem jonskom potencijalu rastvora. Razgradnja kolagena opada sa porastom veličine molekularnih celina [17]. U vodenom rastvoru, na temperaturi oko 35 °C dolazi do promena u sekundarnoj strukturi kolagena. Ove promene vode formiraju fizičkog termo-reverzibilnog hidrogela pri termalnoj obradi kolagena, kao i do restrukturiranja rastvora želatina i prelaza u gelove [16–21].

Međutim, elektrostatičke interakcije kolagenskih grupa kako se menjaju sa promenom pH sredine. Ovo je značajno kako za razaranje nativne strukture tako i za dizajniranje strukture bioderivativnih materijala na bazi kolagena, i može pri tome biti kako od pomoći tako i uzrok znatnih problema. Ali ove interakcije trajno se menjaju hemijskim modifikacijama kolagena, kao što je dejstvo anhidridom sirćetne kiseline. Prilagođavanje strukturnih svojstava kolagena fizičkim ili hemijskim putem, neophodno je radi dobijanja što boljih svojstava materijala u cilju njihove primene kao implantata u živom organizmu, kao i nosača aktivne supstance

ili biomase. Ovakvo projektovanje medicinskog implantata za zamenjivanje tkiva ili organa, kao što je već naglašeno zahteva dobro razumevanje kako strukture i funkcije tkiva i organa koji se menja, tako i strukture i svojstva materijala koji se koristi za zamenu (v. Gl. 8 i 9) kao i zahteva postupaka proizvodnje, o čemu će još biti reči u Od. 22.6 i 7.

## 22.2 BIODERIVATIVNI MATERIJALI NA BAZI ALGINATA

Alginati spadaju u grupu polisaharida. Dobijaju se iz smedih algi *Ascophyllum nodosum*, *Laminaria hyperborea*, *Laminaria stipe*. Alginati su veoma često korišćeni za dobijanje hidrogelova koji imaju primenu u biomedicini zbog svoje biokompatibilnosti. Koriste se kao nosači biomase i aktivne supstance, kao i u inženjerstvu tkiva [6–12]. Za postizanje optimalne biokompatibilnosti neophodno je voditi računa o morfologiji površine kontakta alginatne matrice i tkiva. Potrebno je obezbediti glatklu, mehanički stabilnu površinu kontakta, variranjem strukture alginata kao i načina umrežavanja tj. jonski i kovalentno. Dodavanjem drugih polimera moguće je značajno uticati kako na biokompatibilnost, tako i na mehaničke osobine alginatnog hidrogela [9,10].

Jonski umreženi alginatni hidrogelovi pokazuju i niz nedostataka, naročito u pogledu njihovih mehaničkih svojstava. To su relativno kruti lanci polisaharida, koji često nisu u stanju da obezbede odgovarajuću elastičnu sredinu neophodnu za rast biomase imobilisane unutar alginatnih matrica. Za ilustraciju uticaja navedenih nedostataka koje poseduju jonski umreženi alginatni hidrogelovi na rast biomase, može poslužiti praćenje dinamike rasta ćelija kao na primer kvasca u Ca-alginatnim matricama [36].

Jonski umreženi alginatni hidrogelovi veoma su gusti pri koncentracijama koje obezbeđuju zadovoljavajuća mehanička svojstva npr. od 2 tež%. Srednja dimenzija pora ovakvih matrica je 11–20 nm. S obzirom na činjenicu da su dimenzijske ćelije sisara od 6 µm (eritrociti) do preko 30 µm (hibridome), ovako guste matrice pružaju velike otpore rastu biomase, što znatno redukuje finalnu koncentraciju ćelija. Kovalentnim umrežavanjem alginata sa epihlorhidrinom moguće je povećati veličinu pora na dimenzije veće od 50 nm, što je neophodno za smanjivanje otpora sredine i obezbeđivanje optimalnih uslova za rast biomase [27–37].

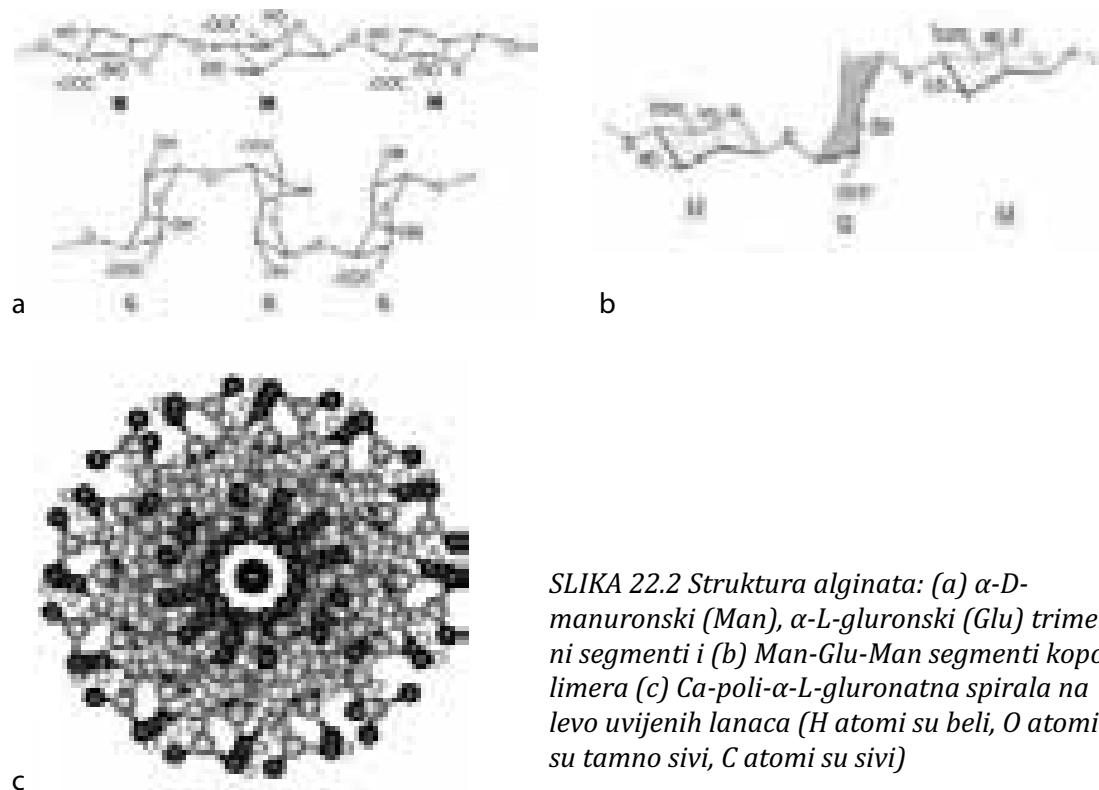
Za primenu alginatnih hidrogelova u biomedicini, pored navedenog neophodno je uspostaviti dobar kontakt na granici faza između biomase i alginatne matrice. Jonski umreženi alginatni hidrogelovi ne mogu da uspostave dobru adheziju podlogu za prijanjanje ćelija sisara, što može da predstavlja smetnju za njihov optimalni rast [12]. I u ovom slučaju je predložena kovalentna modifikacija alginatnih polisaharida sa peptidnim ligandima, radi uspostavljanja bolje adhezije ćelija uz matricu hidrogela.

## 22.2.1 Struktura alginata i derivatnih materijala iz alginata

Alginati su nerazgranati kopolimeri, sastavljeni od  $\alpha$ -L-gluronske (Glu) i  $\alpha$ -D-manuronske (Man) kiseline složenih u blokove bogate Glu- ili Man-jedinica kao i Glu-Man-jedinicama, Sl. 22.2a. Na-alginati su anjonski polielektroliti. Dejstvom multi-valentnog katjona suprotnog naelektrisanja (najčešće  $\text{Ca}^{2+}$  ili  $\text{Ba}^{2+}$ ) na polielektrolit kao što je Na-alginat, dolazi do formiranja jonskog hidrogela. Zone jakih elektrostatičkih interakcija oko multi-valentnog katjona predstavljaju zone čvorova nastale mrežne strukture i imaju dimenzije obično od 1 do 3 nm. Ove oblasti neki autori opisuju kao mikrokristalite. Ovakvi polijonski kompleksi u formi hidrogela veoma su atraktivni kao matrice za primenu u biomedicini za inženjerstvo tkiva. Variranjem odnosa Glu- i Man-komponenata moguće je značajno uticati na mehanička svojstva jonski umreženog alginatnog hidrogela.

Poli [ $\beta(1\rightarrow4)$ D manuronati] teže formiranju sekundarne strukture u vidu levih spirala sa tri mera u jednom zavoju stabilizovanih slabim intra-molekulskim vodoničnim vezama između hidroksilnih grupa u poziciji 3 i kiseonika narednog prstena. Poli [ $\alpha(1\rightarrow4)$ L gluronatni oblik] takođe formira spiralnu sekundarnu strukturu sa dva mera u po jednom zavoju, koja je znatno kruća i stabilizovana intra-molekulskim vodoničnim vezama između karboksilne grupe i hidroksilne grupe u poziciji 2 prethodnog ostatka kao i slabije veze sa hidroksilnom grupom u poziciji 3 narednog ostatka. Alternirajući poli [ $\alpha(1\rightarrow4)$ L gluronat-*alt*- $\beta(1\rightarrow4)$ D manuronat] sadrži obe ekvatorijalno-aksijalne i aksijalno-ekvatorijalne veze u lancu, što stvara konformacije relativno nepravilnog oblika. Ovi polimeri grade vodonične veze između karboksilne grupe manuronata i hidroksilnih grupa u pozicijama 2 i 3 narednog gluronatnog dela. Ali različiti stepeni slobode ova dva monomerna ostatka daju relativno veću fleksibilnost i od poli [ $\beta(1\rightarrow4)$ D manuronskih] lanaca. Joni  $\text{Ca}^{2+}$  mogu da zamene ove vodonične veze uklapajući parove karika gluronatnih lanaca stehiometrijski, stvarajući inter-molekulsku strukturu u zonama čvorova vrlo sličnu kvaternarnoj strukturi biopolimera (v. Sl.22.2c). To je tzv. „egg box konfiguracija“ koja liči na kutiju sa jajima. U ovom modelu jaja simbolizuju  $\text{Ca}^{2+}$  jone uklještene između sekvenci gluronatnih mera, koji ih zatvaraju kao poklopci kutije i sadrže 10 do 12 ostataka. Ovakvo uklapanje sekvenci ne javlja se kod manuronata, s obzirom na različitu konformaciju lanca. Ovi lanci grade trakaste strukture koje teže želiraju, vezujući  $\text{Ca}^{2+}$  inter- i intra-molekulski.

Komercijalno pripremljeni Na-alginatni rastvori sa visokim sadržajem  $\alpha$ -L-gluronske ( $>75\%$  Glu) kiseline veoma su viskozni. S druge strane, materijali sa visokim sadržajem  $\alpha$ -D-manuronske (Man) kiseline imaju fleksibilnije lance i при истим brzinama smicanja pokazuju niže vrednosti viskoziteta (niže za 20%). Struktura gela nastala dejstvom multivalentnog katjona elastičnija je u slučaju materijala bogatih Man-komponentom i pokazuje više izražen efekat bubreњa, nego u slučaju materijala bogatih Glu-komponentom (30% veći koeficijent bubreњa). Međutim, nastala struktura gela, čak i u slučaju materijala bogatih Man-komponentom, pokazuje veoma izražena plastična svojstva. Odličan test validnosti ovakvih materijala za primenu u biomedicini, jeste odziv materijala na zapreminsku deformaciju izazvanu rastom imobilisanih ćelija. Pokazano je, praćenjem promene zapremine



*SLIKA 22.2 Struktura alginata: (a)  $\alpha$ -D-manuronski (Man),  $\alpha$ -L-gluronski (Glu) trimeri segmenti i (b) Man-Glu-Man segmenti kopolimera (c) Ca-poli- $\alpha$ -L-gluronatna spirala na levo uvijenih lanaca (H atomi su beli, O atomi su tamno sivi, C atomi su sivi)*

hidrogela u toku procesa rasta ćelija, da dolazi do efekta zapreminske ekspanzije hidrogela usled elektrostatičkih odbojnih interakcija nastalih kao posledica razaranja njegove strukture [8, 9, 11, 35, 36].

Za primenu alginatnog hidrogela u biomedicini, kao što je već naglašeno, neophodno je poboljšanje njegovih mehaničkih svojstava [27–36]. Umesto jonski unesenih hidrogelova u tu svrhu se primenjuju kovalentno umreženi alginatni hidrogelovi, nastali mešanjem alginata sa odgovarajućim biokompatibilnim i biodegradabilnim polimerima prirodnog ili sintetskog porekla, čiji su lanci znatno fleksibilniji u odnosu na krute lance polisaharida kakav je alginat [9–10].

Za primenu u biomedicini veoma se često koriste i Ca-alginatne-poli-L-lizinske mikro-kapsule [28–36]. Ove mikro-kapsule nastaju prevlačenjem jonski umreženih Ca-alginatnih mikro-čestica slojem poli-(L-lizina), i formiranjem elastične membrane na površini alginatne hidrogelne čestice. U zavisnosti od vremena kontakta alginatnog hidrogela sa rastvorom poli-(L-lizina), moguće je dobiti membrane različitih svojstava tj. različite propustljivosti. Ovako pripremljene mikro-kapsule je zatim moguće tretirati sa Na-citratom, koji difunduje kroz membranu i vrši delimično rastvaranje alginatne hidrogelne strukture unutar mikro-kapsule. Nastali polielektrolitni rastvor Na-alginata unutar mikro-kapsule predstavlja optimalniju okolinu za rast biomase. Eksperimentalno je praćen rast hibridoma ćelija pod istim uslovima unutar matrica Ca-alginatnog hidrogela, pripremljenog u obliku mikro-čestica i unutar Ca-alginat-poli-L-lizinske mikro-kapsule prečnika 1 mm

[28]. Dobijena je znatno veća koncentracija ćelija u slučaju korišćenja mikro-kapsula. Popunjenoš zapremine mikro-čestica ćelijama hibridoma iznosila je oko 20 %, dok je u slučaju mikro-kapsula ova vrednost bila veća od 30 %. Dakle, korišćenje mikro-kapsula je dalo znatno bolje rezultate [28, 29]. Razvoj ovakvih mikrosistema i nanodizajniranih ljski otvara nove puteve u razvoju inteligentnih bioderivativnih materijala i hidrogelova i razvoj nanomedicinske tehnike i biomedicinskog inženjerstva uopšte.

## 22.3 INŽENJERING BIODERIVATIVNIH MATERIJALA

Problematika bioderivativnih polimera, a pogotovo bioderivativnih materijala, može se razmatrati danas sa različitih aspekata kao što su: nauka o polimerima, biohemija, molekularna biologija i medicina, nauka o materijalima, hemijska tehnologija itd. Pored toga treba imati u vidu da se pojmom biomaterijala, a time i razne definicije koje se javljaju u literaturi, znatno menjao u proteklih 50 godina, a posebno zadnjih 20 godina [37,38]. U početku bio je naglasak na njihovoj gradivnoj ulozi kao materijalima koji se koriste u medicini bilo u implantatima u cilju zamene nekog oštećenog dela organizma, npr. veštačka očna sočiva, bilo u cilju realizovanja neke telesne funkcije a u dodiru sa tkivom ili telesnim tečnostima, npr. razni kateteri. Praksa je, međutim, nametnula potrebu proširenja ovakve definicije. Proširujući pomenutu ulogu u privremenim dodirima sa tkivima i telesnim tečnostima sagledavane su moguće primene biomaterijala, npr. u laboratorijskom uzgajanju ćelija i inženjerstvu tkiva, uloge u ogledima sa krvnim proteinima u genetskoj dijagnostici, zatim u veštačkoj oplodnji životinja itd. Takođe je sagledana dinamička uloga biomaterijala u privremenim protezama i resorbibilnim implantatima u organizmu.

Ono što je zajedničko u svim ovim primenama jeste inženjerski pristup biomaterijalima, odnosno aplikativni, pragmatični pristup ovoj klasi materijala vrlo raznovrsnoj po strukturi i sastavu. Naglasak je na svojstvima, ali polazeći od njihove inženjerske primene i kombinovanja u tu svrhu znanja iz različitih naučnih oblasti (Robinson preporučuje u optimalni sastav timova za razvoj ovih materijala „stručnjake za polimere, hemijske inženjere, farmakokinetičare, farmaceute, i lekarе na klinikama“ [38]). Stoga se i u ovom tekstu naglašavaju upravo oni vidovi biomaterijala koji odstupaju od prvobitnih primena, odnosno klasične forme gradivnih biomaterijala za ovakve proizvode, a pogotovo klasičnih vidova konstruktivnih materijala, kakve su čvrste metalne i keramičke kao i kompozitne konstrukcije koje su se prve javile u medicini. Sledi da biomaterijali mogu biti kako u čvrstoj tako i u tečnoj formi i u formi tzv. polučvrstih materijala.

Savremeni biomaterijali se na osnovu prethodno rečenog mogu detaljnije deliti na tečnosti, polučvrste sisteme kakvi su gelovi, medicinske masti, paste, kreme i dalje čvrste materijale koji se javljaju u komadu ili kao praškasti sistemi. Pored ovoga, javljaju se i složeni sistemi kakvi su aerosoli i pene. Na primer, aerosoli mogu biti disperzije u vazduhu čestica u tečnom stanju u vidu kapi, kao i disperzije čvrstih praškastih čestica ili mikrogelova. Ova klasifikacija je u osnovi inženjerska

– bazirana na ciljnim karakteristikama primene biomaterijala i njihovim reološkim svojstvima.

Ona se lako može proširiti na klasifikaciju po formi konačnih proizvoda. Tako se ovi proizvodi mogu deliti na proizvode precizno definisane forme, kao što su čvrsti implantati (obično dobijeni kalupovanjem ili mašinskom obradom), delimično oblikovani proizvodi čija se forma dalje prilagođava pri ugradnji (kakvi su medicinski konci, razne tkanine, filcane prevlake i gelovi kovalentne strukture), i proizvodi čija se forma daje tek pri primeni (kao što su prevlake nastale od medicinskih masti i pasta, zatim filmovi nastali primenom losiona ili tinktura, zatim pene itd.).

Prema sastavu, disperznosti i reološkim karakteristikama navedeni materijali se mogu preciznije definisati na sledeći način:

*Medicinske masti* su polučvrsti preparati koji se nanose kao prevlake za spoljni zaštitu i lečenje organizma u debljim slojevima na površini. Sastoje se od masne podloge koja prianja uz kožu i tkiva i može biti na bazi polimera ili biljnih ili životinjskih masti, u kojima je rastvorena ili dispergovana aktivna supstanca. Reološke karakteristike masti zavise kako od fizičko-hemijskih svojstava masne podloge i aktivne supstance leka, tako i od zapreminskog udela dodate aktivne supstance.

*Paste* su polučvrsti preparati slični medicinskim mastima, ali reološki znatno konzistentniji jer sadrže više od 50 % zapr. delova dispergovanih prahova aktivne supstance u masnoj podlozi. Slično mastima, paste stvaraju zaštitne slojeve na površini organizma koji su stabilniji, manje se resorbuju i veće su debljine. Reološke karakteristike pasta uglavnom zavise od prirode interakcija na granici faza između masne podloge i dodatog praha.

*Kreme* su polučvrsti preparati koje se nanose na površinu organizma, stvarajući prevlake koje su znatno rastresitije konzistencije od medicinskih masti i pasta. Kreme su po strukturi polučvrste emulzije, koje isparavanjem vodene faze stvaraju tanke elastične zaštitne filmove. Reološke karakteristike krema zavise od tipa emulzije (ulje u vodi i voda u ulju), od zapreminskog udela dispergovane faze i korišćenog emulgatora.

*Pene* su polučvrsti ili čvrsti preparati sastavljeni od dispergovanih mehura gasa unutar tečne ili elastične čvrste podloge. Pene prianjavaju uz tkivo u različitim zaštitnim ulogama. Reološke karakteristike pena uglavnom zavise od prirode interakcija na granici faza.

*Gelovi* su dvokomponentni polučvrsti preparati bogati tečnošću u svom sadržaju. Oni mogu da upiju od dvadesetak do preko hijadu težinskih procenata tečnost, i što im daje specifična svojstva. Najznačajniji su polimerni gelovi, ali postoje i gelovi nepolimernog, neorganskog sastava na primer na bazi bentonita, laponita i sl. Polimerni gelovi se mogu podeliti na dva osnovna tipa. Gelove prvog tipa čine polimerni lanci povezani hemijskim vezama u 3D mreže koje prožimaju ceo sistem i koje upijaju niskomolekularnu tečnost. Prvi tip gelova se dalje može podeliti na dve grupe, s obzirom na vrstu pomenutih hemijskih veza koje stvaraju mrežu. U prvu grupu prvog tipa gelova spadaju sistemi čije su mreže povezane kovalentnim vezama. U drugu grupu prvog tipa gelova spadaju sistemi čije mreže nastaju neko-

valentnim npr. jonskim vezivanjem i sl. Gelovi prvog tipa su termodinamički stabilni sistemi.

Drugi tip gelova čine dvofazni sistemi u kojima je jedna faza znatno bogatija polimerom, pa time i znatno gušće konzistencije što daje čvrstinu sistemu, dok drugu fazu čini niskomolekulska tečnost dispergovana unutar prve faze. Bitno je naglasiti da polimer u drugom tipu gelova nije umrežen hemijskim vezama već npr. privremenim fizičkim prepletajima. Gelovi drugog tipa su zbog toga termodinamički nestabilni sistemi. Reološkim dejstvom na ove gelove dolazi do sinerezisa niskomolekularnih tečnosti iz njih, koji nema difuzioni već kapilarni karakter. Detaljnije o reološkim karakteristikama biće reči u Od. 22.5 i 7. Ovde treba još ukazati da se uklanjanjem tečnosti iz prvog tipa gelova zadržava mrežasta struktura ovih sistema, s obzirom da ona bazira na hemijskim vezama. Mada se uklanjanjem tečne komponente gube karakteristična svojstva polučvrstih sistema koje gelovi u principu imaju, ovi osušeni preparati nazivaju se ksero-gelovima da bi se naglasila njihova mrežasta struktura.

Kao što se vidi iz odeljaka o kolagenima i alginatima, oni se kao biomaterijali uglavnom koriste u vidu gelova. Pri tome kolageni u živim tkivima grade gelove prve grupe prvog tipa, dok se kod biderivativnih kolagena odnosno želatina javljuju različite mogućnosti o čemu će biti reči u Od. 22.7. S druge strane, alginati grade gelove i prve i druge grupe prvog tipa, u formi u kojoj se koriste kao biomaterijali. Međutim, u postupku prerade oni prolaze kroz formu gela drugog tipa. Obe vrste opisanih polimera koriste se i u drugim navedenim formama. Kolagen se dodaje u medicinske masti i paste. Alginati se koriste kao stabilizatori pena. U stomatologiji se koriste paste sa dodatkom alginata. Mekotkivni implantati na bazi kompozita kolagena i alginata u formi hidrogela prvog tipa, koriste se kao zamena za glasne žice.

Ovde treba naglasiti da se u novije vreme sve više koriste i drugi biderivativni polimeri za biomateriale, kao i nove forme u kojima se takvi materijali javljaju. Za gensku terapiju neophodni su polimerni nosači koji pomažu u savladavanju ćelijskih barijera. Pri tome, javljaju se vrlo različiti zahtevi. Na primer, potrebno je kondenzovati DNK u formu vrlo malih čestica. Ove čestice treba da prihvate ćelijski endozomi. Iz njih treba da se u ćeliji osloboди DNK u aktivnoj formi itd. Različiti materijali polimernog ili lipidnog sastava koriste se u ovu svrhu. Kao polimerni biderivativni nosači koriste se katjonski cito-hlor-dekstrani kao i modifikovani polilizini. Pomenuti dekstrani se kompleksuju sa DNK formirajući vrlo kompaktne, sitne čestice koje su pokazale efikasnost u primeni kako u *in vitro* tako i *in vivo* uslovima [39]. Kao lipidni nosači koriste se lipofektaamini i lipozomi, odn. sitne lipidne čestice kod kojih je vodena faza ograničena dvojnom lipidnom membranom. Unutar čestica lipozoma se može enkapsulirati hemoglobin, za primenu kao veštačka krv ili različite aktivne supstance za primenu u biomedicini.

U inženjerstvu tkiva derivativni biomaterijali imaju višestruku ulogu: (a) indukovanje ćelijske migracije i regeneracija tkiva, (b) enkapsuliranje ćelija u ciju stvaranja imunoloških barijera, (c) podloge koje pomažu rast i organizaciju ćelija. U prvoj od navedenih uloga, pokazale su se kao posebno pogodne blende glukozoaminoglikana sa kolagenom koje se koriste kao veštačka koža u zaceljivanju rana, za-

tim za proteze u regeneraciji nerava i hrskavice [40]. U drugoj od navedenih uloga, npr. za formiranje veštačkog pankreasa od Langerhanovih ostrvaca enkapsuliranih u umreženim gradientnim blendama polialginata i polilizina, postignuti su zasad najbolji rezultati [41]. Među ulogama treće vrste, može se razdvojiti formiranje podloga u vidu čvrstih implantata koji polako degradiraju otvarajući prostor za tkivo koje se regeneriše, npr. implantati od kompozita polilaktida sa hidroksiapatitom [42], zatim formiranje podloga vlaknaste ili penaste strukture od kopolimera ili polimernih blendi laktida i glikolida [43, 44], kao i formiranje selektivnih podloga od kopolimera laktida i lizina sa specifičnim aminokiselinskim sekvencama [45]. Pomenuti kompoziti polilaktid/hidroksiapatit javljaju se ovde u dvostrukoj ulozi: kao implantati, dovoljne mehaničke čvrstoće da u prvoj fazi lečenja nose opterećenje organizma umesto kosti koju zamjenjuju, i kao podloga za rast novog tkiva u narednim fazama, ako su dizajnirani da se ponašaju kao „inteligentni materijali“ u kojima se polimerna faza razlaže odgovarajućom brzinom ustupajući prostor tkivu koje raste [42]. Ovakvi biomaterijali sa višestrukim ulogama sve češće se javljaju u modernom inženjerstvu, a posebno u nano-tehnologijama. Kao primer, mogu se navesti „inteligentni gelovi“ biomimetičkog tipa [46]. Prema navedenoj termodinamičkoj klasifikaciji to su gelovi prvog tipa. S obzirom na njihovu hemijsku umreženost, kod ovih gelova postoji ravnoteža između sila koje eksplanduju polimernu mrežu pod dejstvom termodinamičkog potencijala tečnosti koju gel upija i elastičnih sila mreže koje se protive ovom širenju. Promenom uslova npr. temperature, pH, spoljnog električnog polja itd., ovi gelovi prolaze kroz različita termodinamički ravnotežna stanja i pri tome se reverzibilno šire i skupljaju što omogućava istiskivanje aktivne supstance iz materijala. Ova funkcija je kombinovana sa „inteligentnim“ prepoznavanjem mesta u organizmu ili tkivu, na kome će se ciljno dopremiti aktivna supstanca odnosno lek. Prema sadašnjim iskustvima, ovi „analitni“ gelovi ne mogu se proizvoditi samo od sintetskih polimera, već je potrebno i ugradnja bioderativnih proteina u gelnu matricu za realizovanje senzorsko-aktivacionog mehanizma ovih nano-naprava. Time se ova problematika svodi na bazne inženjerske principe termodinamičkih i reoloških ponašanja sistema, koji povezuju biopolimere i sintetske polimere bez obzira na njihove hemijske razlike. Stoga će u narednom odeljku biti dati potrebna znanja o sintetskim gelovima, a detaljniji prikaz termodinamike bubrežnja i reološka svojstva gelova u Od. 22.5.

## 22.4 SASTAV I STRUKTURA SINTETSKIH HIDROGELOVA

Primenu u biomedicini su našli i sintetski hidrogelovi koji se koriste samostalno ili u kombinaciji sa prirodnim hidrogelovima. Od sintetskih polimera čiji su gelovi najviše u biomedicinskoj upotrebi, treba svakako pomenuti vinilne polimere poli(hidroksietil-metakrilat) (PHEMA), poli(vinil-alkohol) (PVA), poli(N-vinil-2-pirolidon) (PNVP), kao i homo- i ko-polimere akrilne i metakrilne kiseline i njihovih derivata a posebno poli(N-izopropil-akrilamida) (PNIPAAm). Od drugih grupa treba pomenuti celulozne derivate poli(etilenglikol) (PEG), polimere mlečne kiseline i

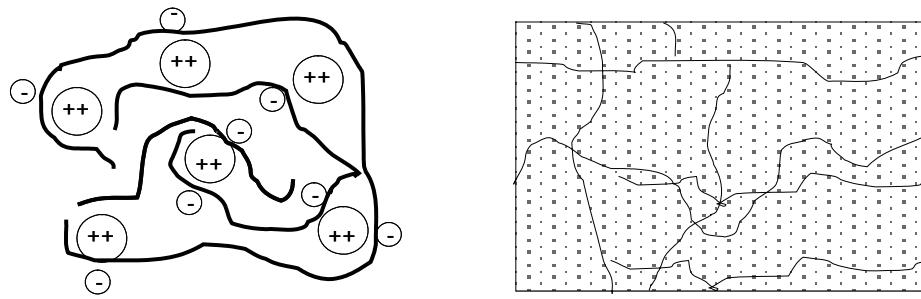
kopolimere kao poli(mlečnu-co-glikolnu kiselinu) (PLGA), a od kombinacija prirodnih i sintetskih polimera npr. poli(etilenglikol-co-peptidi), alginat-groft-poli(etilenoksid), kolagen-akrilati, alginat-akrilati itd [5, 6, 46]. U ovu grupu spadaju i makrostrukture kakve su lipidne, polilaktidne i slojevite alginatne čestice, s obzirom da su njihove membrane u vidu hidrogelova gore navedenog sastava. Pored klasifikacije na gelove od prirodnih, sintetskih polimera i gelove nastale kombinacijom sintetskih i prirodnih polimera, hidrogelovi se mogu klasifikovati i po karakteristikama svoje strukture, nanelektrisanju i metodima pripreme.

Prema hemijskoj strukturi mogu se podeliti na: homopolimerne hidrogelove, kopolimerne hidrogelove, multipolimerne hidrogelove, i hidrogelove sa interpenetrirajućim mrežama.

Prema nanelektrisanjima mogu se podeliti na: neutralne hidrogelove, anjonske hidrogelove, katjonske hidrogelove, i amfifilne hidrogelove (tj. koji nose i anjonske i katjonske grupe).

Prema organizaciji sistema u smislu fizičkih interakcija koje dalje utiču na njegovu uređenost i povezanost u mrežu, mogu se podeliti na: semikristalne hidrogelove, amorfne hidrogelove (sa hemijskim umreženjem), i sekundarno strukturirane hidrogelove (npr. vodoničnim vezama ili kompleksovanjem).

S obzirom na dominantan uticaj polimerne mreže na svojstva hidrogelova, strukturni elementi i karakteristike mreže u suvom stanju i u tečnostima smatraju se i osnovnim obeležjima gelova. Osnovni strukturni elementi jesu čvorovi mreže, premošćenja između lanaca, prepletaji između segmenata mreže, a osnovne karakteristike jesu funkcionalnost čvorova, dužina i gipkost segmenata itd, v. Sl. 22.3. Ulogu čvorova u mreži mogu nositi pojedinačni npr. ugljenikovi atomi, na čije hemijske veza se dalje nadovezuju dugi nizovi atoma čineći segmente mreže. Međutim, čvor može biti i velika asocijacija segmenata povezanih van der Valsovim vezama kao kod glikoproteinskih mreža ili agregat segmenata povezanih vodoničnim vezama. Očigledno je da se u modelovanju ovakvih sistema moraju primeniti sasvim različiti postupci u opisivanju dejstva čvorova na ponašanje mreža. Ipak, ovde se mora dodati da u literaturi ima radova koji koriste iste formule izvedene iz modela uprošćene strukture ili iste modele za tumačenje svojstava svih ovih sistema. Potreba za daljim razvojem adekvatnih modela za različite tipove gelova očigledna je. Međutim, tu se javlja niz dodatnih teškoća. Tako npr. ulogu čvorova igraju i fizički prepletaji između lanaca, kao i mali kristalni domeni-kristaliti koju mogu da nastaju i nestaju usled jakih interakcija povoljno orijentisanih bliskih segmenata lanca. Ove interakcije nastupaju ne samo pri povoljnim temperaturnim uslovima već i pri odgovarajućim mehaničkim dejstvima na mrežu, npr. usled približavanja i paralelnog orijentisanja lanaca pri njenom istezanju. Ovakve strukture se nazivaju privremenim čvorovima mreže. Jasno je da molekuli rastvarača koji se umeću između lanaca pri bubreženju mreže, a to može biti i slabo umreženo vlakno ili kapsula biomaterijala, utiču na razaranje ovakvih čvorova. S druge strane, mehanički doprinos privremenih čvorova često zavisi, primarno, ne od molekulske strukture već od vremenske skale prenosa deformacije. Ako za datu vremensku skalu lanac ne može da konformaciono relaksira, ovakva privredena struktura prenosiće mehaničko opterećenje. U suprotnom, doći će do klizanja i rasplitanja čvorova odnosno do viskoelastičnog odgovora kod



Jonski hidrogel

kovalentni hidrogel

SLIKA 22.3 Struktura sintetskih hidrogelova

ovakvih mreža. Ali, dinamičke karakteristike mreže mogu biti i od velike koristi za funkciju biomaterijala. Veliki doprinos sagledavanju ovih mogućnosti u dizajniranju tako „inteligentnih“ materijala na bazi hidrogelova dao je Tanaka.

Interes za sintetske biomaterijale na bazi hidrogelova naglo je porastao 1960-tih kada su Vihterle i Lim razvili materijale na bazi hidrogelova PHEMA za meka optička sočiva [47]. Ovi hidrogelovi su inertni na normalne biološke procese, otporni su na degadaciju u telesnim tečnostima, propuštaju metabolite, ne resorbuju se u telu, elastični su ali dovoljno meki da ne iritiraju mehanički tkivo, tj. biokompatibilni su i hemijski inertni. Povrh toga, od njih se lako mogu dobiti proizvodi različitih veličina i oblika. Dosadašnje iskustvo i detaljna ispitivanja ukazuju da svojstva ovih proizvoda uglavnom zavise od zapreminskog udela polimera, stepena umreženja, rastvarača u kome su nabubreli, kao i metoda oblikovanja.

Sledeći veliki uspeh na ovom polju, kao što je već rečeno, doneli su radovi u kojima je Tanaka iskoristio upijanje i ispuštanje rastvarača iz PNIPAAm gelova koji su bili delimično hidrolizovani. Nagla promena zapremine ovih materijala usled promene stepena bubrenja pri malim promenama uslova u okolini, omogućavaju njihovu primenu u vrlo osetljivim i pouzdanim senzorima temperaturnih i hemijskih promena [48].

Sledeći značajan korak u razvoju hidrogelnih materijala bile su strukture koje diskontinualno bubre [6]. Danas je u dizajniranju hidrogelova već ostvaren širok spektar materijala čije se bubrenje može definisati u funkciji temperaturnih promena, promena pH rastvarača i raznih promena u sastavu fluida. Ovi materijali pripadaju grupi inteligentnih hidrogelova, što je ustvari presek skupova koje čine klase polimernih gelova i polimernih inteligentnih materijala.

Da bi se stekla prava slika, treba naglasiti da to nije samo presek dva pristupa u dizajniranju materijala nego široko područje razvoja novih materijala, na prvom mestu za biomedicinsku upotrebu. Njihova struktura nije bazirana samo na variranju aktivnih grupa. Koristi se i povezivanje u kompleksne segmenata koji pripadaju različitim lancima (interpolimerno kompleksovanje), i povezivanje odvojenih regiona odnosno segmenata istog lanca (intrapolimerni kompleks). Prema

prirodi interakcija, ovi kompleksi se dele na polieletrolitne komplekse, komplekse sa vodoničnim vezama, a i stereokomplekse. Od posebnog interesa su samo-organizujući asocijati.

Kao primer inteligentnih hidrogelova mogu se navesti asocijati bazirani na PNIPAAm, sposobni za: (a) kontrolisano otpuštanje lekova, (b) imobilizaciju enzima i (c) sukcesivno otpuštanje aktivne supstance i upijanje toksina iz organizma [46]. Tako dolazimo do jednog novog preseka biomedicinskih inženjerskih produkata, biomaterijala i mikro-naprava za prenos aktivnih supstanci, kontrolisano otpuštanje lekova i enkapsulaciju živih ćelija.

Kao nosači aktivne supstance ili biomase mogu biti korišćeni i neki polusintetski materijali npr. lipidne kapsule, poput lipozoma koji poseduju dvo-slojnu lipidnu membranu i lipidnih emulzija koje poseduju jedno-slojnu lipidnu membranu (lipidni hidrogelovi). Za primenu ovih lipidnih hidrogelova u farmaceutskom inženjerstvu i biomedicini za kontrolisano otpuštanje lekova, neophodno je ispitati prirodu interakcija ovih nanometarskih lipidnih čestica, prvo u uslovima *in vitro*, a zatim i u uslovima *in vivo* [49]. Ovako širok spektar materijala otvorio je nove mogućnosti za dizajniranje na molekulskom nivou i oblikovanje na makro-nivou polimernih kao i drugih bioderativnih biomaterijala.

Visoke performanse novih klasa biomedicinskih proizvoda, kao što su kombinacije biomaterijala i biosenzora kao i biomaterijala i nosača aktivnih supstanci, zahtevaju razvoj teorijske podloge koja omogućava adekvatno dizajniranje ovakvih proizvoda.

## 22.5 TERMODINAMIČKI I REOLOŠKI OSNOVI PRIMENE BIOMATERIJALA U FORMI HIDROGELOVA

Klasifikacija gelova po tipovima I i II, prikazana pri definisanju pojma gela u Od. 22.3, u osnovi je termodinamička. Ona bazira na idejama Florija o ravnotežnom stanju gelova čiju strukturu čine polimerne mreže, kao rezultanti dejstva ekspanzione sile koja širi ovu mrežu usled prodiranja molekula rastvarača u gel i elastične sile ove mreže koja se protivi tom širenju. To se može opisati preko promena Gibsovih energija mešanja molekula rastvarača sa polimerom  $G_m$  i promene Gibsove energije deformisanja mreže iz teorije entropijske elastičnosti  $G_{el}$ :

$$\Delta G = \Delta G_m + \Delta G_{el} \quad (22.1a)$$

$\Delta G_m$  se može izračunati iz Flori-Hagins teorije rastvora polimera, a  $\Delta G_{el}$  iz Florijeve teorije afine elastičnosti gume i radova Kuna o elastičnosti Gausovskog lanca (v. Od. 19.5). Mada se to vidi i iz date definicije gela, ovde treba naglasiti da rastvarač koji se meša sa lancima polimera po principima istim kao i u modelu rastvora koji opisuje Flori-Hagins teorija u sistemima koje nazivamo gelovi, ne dovodi do stvaranja rastvora. To je lako objasniti za hemijski umrežene polimere kod kojih dolazi

do solvatacije lanaca u mreži molekulima rastvarača, ali hemijske veze koje stvaraju mrežu ne dozvoljavaju prelaz lanaca u rastvor. Ako do toga ipak dođe iz nekih razloga (reakcijama raskidanja veza ili dejstvom spoljnih npr. mehaničkih polja), sistem prestaje da bude gel. To se može desiti kod mreža čije čvorove čine veze dovoljno slabe da se mogu razoriti ovakvim dejstvom. Tipično je dejstvo topote, gde zagrevanjem sistema gel prelazi u rastvor. Doduše ovakvi sistemi uglavnom ponovo umrežavaju hlađenjem, pa se u inženjerstvu često govori o termo-reverzibilnim gelovima. Uključivanjem termo-mehaničkih osobenosti gelova, na ovakav način dolazimo do klasifikacija koje su u osnovi reološke. Najčešće reološke podele govore o hemijski i fizički umreženim gelovima, sa stanovišta njihovog deformisanja i tečenja pod različitim termo-mehaničkim uslovima. Hemijski gelovi su ovde oni čije su mreže dovoljno jake da se ne mogu razoriti običnim termo-mehaničkim dejstvom, a to praktično znači-kovalentnog karaktera. Delimično preklapanje pojmove u termodinamičkim i reološkim klasifikacijama, međutim, nekad dovodi do zabuna pogotovu u aplikativnim radovima. Bez obzira na sve ove razlike treba naglasiti da je bit opisanih sistema kao i gelova koji baziraju ne na mrežama lanaca već mrežama elemenata supermolekulske i makro-strukture (npr. gelovi lipozoma), u njihovim svojstvima koja su specifična kombinacija svojstava tečnosti i čvrstih sistema. Ovi tzv. polu-čvrsti sistemi (engl. semisolids; fr. la matière molle) privlače sve veću pažnju kako u nauci o materijalima i odgovarajućim primenama tako i u modernoj fizici, bazirani prvo na radovima Florija i De Žena, a danas i niza drugih autora.

### 22.5.1 Termodinamički osnovi bubrenja hidrogelova

Za primenu bioderivativnih i sintetskih hidrogelova u biomedicini, neophodno je poznavanje fundamenata procesa bubrenja. Prvu teoriju bubrenja polimera razvio je Flori sa sar, za slučaj kovalentno umreženih polimernih gelova za koje važi gausovska raspodela krajeva polimernih lanaca [1, 21]. Njegov model opisuje proces bubrenja kao rezultantu dejstva osmotskog pritiska molekula rastvarača koji teži da ekspanduje mrežu, s jedne strane, i elastičnog otpora lanaca mreže istezanju, s druge. Osmotski pritisak koji ekspanduje mrežu dobijen je na osnovu Flori-Hagins teorije polimernih rastvora, a elastični otpor mreže na osnovu Majer-Kun-Flori teorije entropijske elastičnosti [1]. Kasnije je više autora pokušalo da proširi ovaj model na mreže polielektrolita i jonski umrežene gelove, gde su poseban doprinos dali Pepas i sar. [5-15]. Za slučaj jonski umreženih hidrogelova Gibbsova slobodna energija bubrenja je:

$$\Delta G = \Delta G_m + \Delta G_j + \Delta G_e \quad (22.1b)$$

gde je  $\Delta G$  ukupna promena Gibbsove slobodne energije pri bubrenju,  $\Delta G_m$  slobodna energija mešanja polimernog hidrogela i molekula rastvarača,  $\Delta G_j$  Gibbsova slobodna energija jonskog umrežavanja polimernih lanaca koja je za slučaj jonski umreženih hidrogelova veća od nule ( $\Delta G_j > 0$ ), i  $\Delta G_e$  elastična Gibbsova slobodna energija. Dife-

renciranjem Gibbsove slobodne energije po broju molekula rastvarača pri konstantnom pritisku i temperaturi i množenjem sa Avogadrovim brojem može se izraziti ukupna promena hemijskog potencijala procesa bubrenja preko:

$$\Delta\mu = \Delta\mu_m + \Delta\mu_j + \Delta\mu_e \quad (22.2)$$

gde je  $\Delta\mu$  ukupna promena hemijskog potencijala procesa bubrenja,  $\Delta\mu_m$  doprinos procesa mešanja polimera i molekula rastvarača,  $\Delta\mu_j$  jonski doprinos ukupnoj promeni hemijskog potencijala koja je za slučaj jonski umreženih hidrogelova veća od nule ( $\Delta\mu_j > 0$ ), i  $\Delta\mu_e$  elastični doprinos promeni hemijskog potencijala. Doprinos ukupnoj promeni hemijskog potencijala usled procesa mešanja je na osnovu Flori-Hagins teorije:

$$\Delta\mu_m = N_A \left( \frac{\partial(\Delta G_m)}{\partial n_1} \right)_{T,P} = RT \left[ \ln(1 - \phi_{2,b}) + \phi_{2,b} + \chi \phi_{2,b}^2 \right] \quad (22.3)$$

gde je  $n_1$  broj molekula rastvarača,  $N_A$  Avogadrovo broj,  $P$  pritisak,  $T$  temperatura,  $R$  gasna konstanta,  $\phi_{2,b}$  zapreminska udio polimera u nabubrelog gelu,  $\chi$  Florijev parametar koji opisuje interakcije polimera i molekula rastvarača. Doprinos ukupnoj promeni hemijskog potencijala usled jonski umreženog polimernog hidrogela je:

$$\Delta\mu_j = N_A \left( \frac{\partial(\Delta G_j)}{\partial n_1} \right)_{T,P} = RT \ln a_1 \quad (22.4)$$

gde je  $a_1$  aktivitet jona u rastvoru. Izraz za jonski doprinos ukupnom hemijskom potencijalu zavisao je od jonske jačine rastvarača i od prirode prisutnih jona.

Doprinos ukupnoj promeni hemijskog potencijala usled elastičnog otpora polimernog hidrogela je na osnovu Majer-Kun-Flori teorije elastičnosti:

$$\begin{aligned} \Delta\mu_e &= N_A \left( \frac{\partial(\Delta G_e)}{\partial n_1} \right)_{T,P} = N_A \left( \frac{\partial(\Delta G_e)}{\partial \lambda} \right)_{T,P} \left( \frac{\partial \lambda}{\partial n_1} \right)_{T,P} = \\ &= RT \left( \frac{v_{m,1}}{v_{sp,2} M_c} \right) \left( 1 - \frac{2M_c}{M} \right) \phi_{2,r} \left[ \left( \frac{\phi_{2,b}}{\phi_{2,r}} \right)^{1/3} - \left( \frac{\phi_{2,b}}{2\phi_{2,r}} \right) \right] \end{aligned} \quad (22.5)$$

gde je  $v_{m,1}$  molarna zapremina rastvarača izražena u  $m^3/mol$ ,  $v_{sp,2}$  specifična zapremina polimera izražena u  $m^3/kg$ ,  $M_c$  molekulska težina polimernog lanca između dva čvora izražena u  $g/mol$ ,  $M_n$  molekulska težina polimernog lanca pripremljenog pod identičnim uslovima ali bez dodatka umreživača izražena u  $g/mol$ ,  $\lambda$  komponenta tenzora zapreminskog deformisanja polimernog gela izražena izrazom  $\lambda = (V_b/V_2)^{1/3}$  pri čemu je  $V_b$  zapremina nabubrelog gela izražena u  $m^3$  a  $V_2$  zapremina suvog polimera izražena u  $m^3$ . Za ravnotežno stanje procesa bubrenja je:  $\Delta\mu = 0$ . Dalje sledi da je pri uspostavljenom ravnotežnom stanju, za kovalentno umrežene hidrogelove tj. za slučaj da je  $\Delta\mu_j = 0$ , moguće odrediti srednju molarnu masu polimera između dva čvora iz jednačine:

$$\frac{1}{M_c} = \frac{2}{M_n} - \frac{\left( v_{sp,2} / v_{m,1} \right) \left[ \ln(1-\phi_{2,b}) + \phi_{2,b} + \chi \phi_{2,b}^2 \right]}{\phi_{2,b} \left[ \left( \frac{\phi_{2,b}}{\phi_{2,r}} \right)^{1/3} - \left( \frac{\phi_{2,b}}{2\phi_{2,r}} \right) \right]} \quad (22.6)$$

U slučaju jonski umreženih hidrogelova, za bubreњe anjonskih hidrogelova (kao npr. alginati, pektin, karagenan), polazeći od (22.2) i uvodeći uslov ravnoteže, moguće je takođe odrediti molekulsku težinu polimera između dva čvora iz predložene relacije date u implicitnom obliku jednačinom (22.7a) pod uslovom da je poznata jonska jačina  $I$  i konstanta disocijacije kiseline  $K_a$  uz prethodno eksperimentalno određene vrednosti ostalih parametara kao u slučaju (22.6):

$$\begin{aligned} \frac{v_{m,1}}{4I} \left( \frac{\phi_{2,b}^2}{v_{sp,2}} \right) \left( \frac{K_a}{10^{-pH} - K_a} \right)^2 &= \left[ \ln(1-\phi_{2,b}) + \phi_{2,b} + \chi \phi_{2,b}^2 \right] + \\ \left( \frac{v_{m,1}}{v_{sp,2} M_c} \right) \left( 1 - \frac{2M_c}{M} \right) \phi_{2,b} &\left[ \left( \frac{\phi_{2,b}}{\phi_{2,r}} \right)^{1/3} - \left( \frac{\phi_{2,b}}{2\phi_{2,r}} \right) \right] \end{aligned} \quad (22.7a)$$

Za slučaj bubreњa katjonskih hidrogelova (npr. poli-L-lizin, hitozan) može se takođe odrediti molekulska težina polimera između dva čvora iz relacije (22.7b) date u implicitnom obliku:

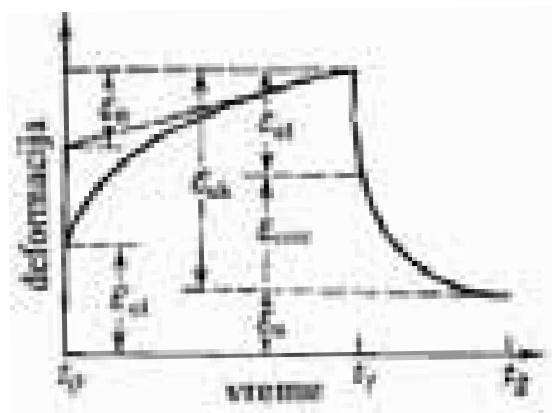
$$\begin{aligned} \frac{v_{m,1}}{4I} \left( \frac{\phi_{2,b}^2}{v_{sp,2}} \right) \left( \frac{K_b}{10^{pH-14} - K_b} \right)^2 &= \left[ \ln(1-\phi_{2,b}) + \phi_{2,b} + \chi \phi_{2,b}^2 \right] + \\ \left( \frac{v_{m,1}}{v_{sp,2} M_c} \right) \left( 1 - \frac{2M_c}{M} \right) \phi_{2,b} &\left[ \left( \frac{\phi_{2,b}}{\phi_{2,r}} \right)^{1/3} - \left( \frac{\phi_{2,b}}{2\phi_{2,r}} \right) \right] \end{aligned} \quad (22.7b)$$

pod uslovom da je poznata konstanta disocijacije baze  $K_b$  uz prethodno eksperimentalno određene vrednosti ostalih parametara kao u slučaju jednačine (22.6).

## 22.5.2 Reološki osnovi primene hidrogelova

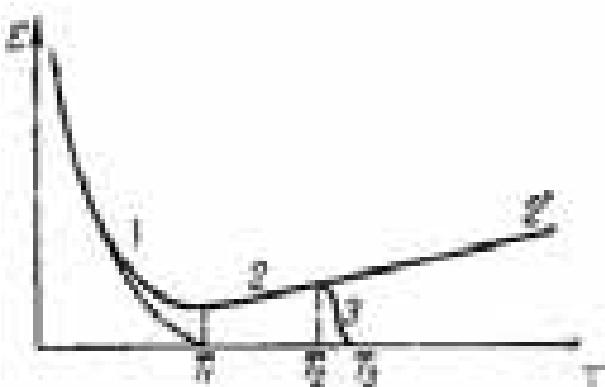
Interes za reologiju hidrogelova ima dva osnova. Kao prvo, reologija daje mogućnosti proračuna parametara ovakvih biomaterijala pri upotrebi, kao i uslova za proizvodnju bioderativnih kao i sintetskih hidrogelova. Kao drugo, reologija pruža uvid u ostvarenu strukturu proizvedenih hidrogelova, pa time daje objašnjenje njihovih svojstava i podlogu za dizajniranje novih materijala. Prvi pristup je uglavnom empirijski, dok je drugi teorijski.

Generalno, deformacije hidrogelova mogu se raščlaniti na reverzibilne (i to dominantno entalpijski elastične i dominantno entropijski elastične) i nereverzibilne (plastične). Tipične krive promene reoloških parametara hidrogelova sa vremenom i temperaturom prikazane su na Sl. 22.4 i 5.



SLIKA 22.4 Tipična kriva puzanja za gelove

Na Sl. 22.4 prikazana je kriva deformisanja polimernog gela puzanjem i njegove relaksacije po prestanku opterećenja. Prikazana je komponenta  $\varepsilon_{el}$  relativne elastične deformacije, koja nastupa praktično trenutno i bazira na deformisanju polimerne mreže koja nema vremena da se prilagodi opterećenju pomoću konformacionih promena lanaca. Zato dolazi do pomeraja i zatezanja čvorova, istezanja lanaca, deformisanja uglova izmedju veza i sl. Ove promene imaju dominantno energetski karakter odnosno dominantan uticaj na promenu entalpije sistema, pa se i odgovarajuća deformacija  $\varepsilon_{el}$  naziva entalpijska elastičnost. U daljem toku vremena, međutim, nastupaju rotacije oko jednostrukih veza lanaca, promene oblika lanaca i time prostorne organizacije mreže, deformisanja mreže u pravcu opterećenja pa time i uredjivanja njenih segmenata pod dejstvom opterećenja itd., što sve ima dominantno entropijski karakter, pa se odgovarajuća deformacija sistema  $\varepsilon_{entr}$  označava kao entropijska elastičnost. Konačno, mreža trpi delom i nepovratne promene pri ovakovom deformisanju  $\varepsilon_n$ , što se označava kao plastična deformacija. Prema veličini ovih nepovratnih relativnih deformacija, u mnogim slučajevima je lako proceniti iz reoloških merenja da li posmatrani gel spada u I ili II tip. Kod gelova I tipa osnovu strukture čini polimerna mreža, koja se na sobnoj temperaturi vrlo malo deformiše trajno, najviše nekoliko procenata. Kod gelova drugog tipa ne postoji takva mreža (niti član  $\Delta G_{el}$  iz jednačine (22.1a) već kompaktnost sistema obezbeđuje samo faza bogata polimerom, i termodinamička ravnoteža postoji samo u smislu ravnoteže sastava faza u sistemu. Kod ovakvih sistema nepovratne deformacije su znatno veće. Po prestanku opterećenja dolazi do elastičnog oporavka gela po istom redosledu elastičnih odgovora: prvo dolazi do entalpijski dominantnih elastičnih promena, a zatim do konformacionog prilagođavanja kojim dominiraju entropijske promene izazvane termičkim kretanjima na prvom mestu molekula tečne komponente u sistemu. Promenom jačine rastvarača, pH sredine i uopšte raznih dejstava iz okoline gela, može se izazvati ciljno, višekratno skupljanje i širenje sistema o čemu je već bilo reči u Od. 22.3 o primeni gelova za istiskivanje aktivne supstance i druge medicinske potrebe. Na Sl. 22.5 prikazani su tipični slučajevi promene reoloških parametara (ovde modula elastičnosti  $E$ ) gelova sa temperaturom. Sa po-



Slika 22.5 Šematski prikaz promene modula elastičnosti gelova sa temperaturom

rastom temperature i uopšte termo-mehaničkim dejstvima na sistem, kako je već rečeno na početku ovog odeljka, dolazi do narušavanja ravnoteže sila i različitog ponašanja pojedinih tipova gelova.

Za tip I gela pri zagrevanju karakteristično je ponašanje opisano segmentima 1 i 2 na krivoj. Prva grupa gelova prvog tipa čiju mrežu čine kovalentne veze, pri daljem porastu temperature ispoljava daljni porast modula do 2' tj. sve do kolapsa gela usled prelaza rastvarača u gasno stanje. Druga grupa prvog tipa gelova čije mreže čine slabije veze od kovalentnih, slede pravac 1–2–3 na krivoj i gube elastičnost zbog razaranja tih veza pod dejstvom toplosti na temperaturi  $T_3$ . Porast elastičnosti opisan segmentom 2 za obe grupe ovih gelova može se objasniti ubrzanim konformacionim kretanjima na povišenim temperaturama, koja izazivaju efekte entropijske elastičnosti.

Za tip II gelova koji nemaju polimerne mreže kao osnovu strukture, već gusta polimerima bogata faza obezbeđuje kompaktnost sistema, karakterističan je pad elastičnosti pri zagrevanju jer sistem prelazi u homogeni rastvor. Na taj način relativno jednostavna reološka merenja pod različitim termo-mehaničkim uslovima, daju uvid koji je dominantan karakter veza koje čine strukturu gela u mnogim slučajevima.

Na žalost, nije uvek lako izvesti ove zaključke. Upravo reološka merenja na želatinoznim gelovima izazvala su brojne polemike. Još 1926. g. Pol je objavio rezultate koji ukazuju na složene promene modula gelova želatina sa promenom koncentracije polimerne supstance. Kasnije Kargin i sar. izdvojili su za ovakve gelove dva tipa ponašanja na osnovu merenja pod različitim koncentracijama i temperaturama. Za gelove sa malim koncentracijama polimera, deformacije su se takođe relativno vrlo malo razlikovale sa promenom frekvencije deformisanja sve do visokih temperatura ali su apsolutno gledano sporo eksponencijalno rasle, što su ovi autori objasnili strukturu gela koji odgovara tipu gela II. Međutim gelovi sa većom koncentracijom polimera pokazali su upravo obrnuto ponašanje. Ovim problemom kao i sličnim ponašanjem nekih drugih sistema bavili su se Onzager, Isihara, Tod i Flori [50] a u novije vreme De Žen.

Ukratko, sa porastom temperature dolazi do prelaza klupko-spirala kod želatina negde između 35–40 °C, kako je napomenuto u Od.22.1.1. Teško da bi ovakva promena mogla da vodi renaturaciji tropokolagenske strukture, ali svakako da je osnovni lanac u spiralnoj konformaciji znatno krući. Neki autori pretpostavljaju da je tom promenom i termodinamička ravnoteža sistema znatno pomerena ka lokalnom uređivanju i stvaranju kristalita u čvorovima već prisutne fizičke mreže tipa II, o kojoj govore eksperimenti ruske škole (i time prelaz u jednu od grupa gela tipa I). Drugi pak zaključuju u skladu sa Florijevom teorijom tečno-kristalnog stanja polimera (koja zahteva upravo ovakve krute elemente za organizaciju sistema) da je to stvaranje jedne nove grupe u okviru tipa II gelova (slično grupama u tipu I). Prirodno je da su ovakve ideje podstakle merenja, kako kalorimetrijska tako i difrakcijom X-zraka na ovakvim sistemima. Ali rezultati su protivurečni. U novije vreme javila se ideja i o jednom novom vidu umrežavanja: konformacionim uvijanjem lanaca u dvojne spirale. Da li su ovi procesi bliži renaturaciji ili formiranju specijalnih čvorova kako je opisano u prethodnom tekstu za neke alginatne, trebalo bi da pokažu buduća istraživanja.

## 22.6 PROIZVODNJA BIODERIVATIVNIH MATERIJALA

Pored velikih razlika u strukturi i poreklu bioderivativnih materijala, moguće je uočiti da su osnovni principi njihove proizvodnje vrlo slični i dosta jednostavni. Oni se sastoje u razaranju tkiva biljaka ili životinja, delovanjem hemikalijama ili rastvaračima na polimernu supstancu iz tih tkiva. Na ovaj način je lakše izdvojiti osnovnu sirovinu, što dovodi do rušenja viših nivoa njene strukture. Dalja modifikacija osnovne sirovine makromolekula umrežavanjem se prevodi u formu hidrogela (odmah ili pri konačnoj primeni proizvoda).

*Kolagen se izdvaja iz tkiva kroz dva osnovna postupka:*

- (1) izdvajanje kolagena u vidu molekula rastvorenih u vodi, i
- (2) izdvajanje kolagenskih vlakana.

Da bi se molekuli kolagena preveli u rastvor, potrebno je razrušiti veze u kolagenskim vlknima koja se nalaze u tkivu. Za tu svrhu danas se uglavnom koristi enzimski postupak primenom pepsina. Pepsin razlaže telopeptide koji daju umreženost sistemu, i nastali agregati su rastvorni u vodi. Dobijeni rastvor se prečišćava pretaloživanjem uz pomoć soli. Ovako dobijeni kolagen može se ponovo prevesti u fibrilarni oblik, ali su dobijene fibrile znatno slabije od nativnih zbog trajno razrušenih telepeptidnih premošćenja. Iz ovih razloga često se primenjuje drugi postupak, u kome ostaje očuvano ovo nativno umreženje. U ovom postupku teži se da se isperu svi prirodno rastvorni molekuli iz kolagenskih vlakana i sačuva ovako isprano vlakno. Drugim rečima, ispiranjem sa vodom teži se da se odstrane kako novosintetizovani molekuli kolagena koji se još nisu ugradili u mrežu, tako i drugi nekolagenski polimeri i nepolimerni molekuli iz tkiva, npr. lipidi. Ipak, za to nije dovoljna samo ekstrakcija vodom. Mora se delovati i hemikalijama, npr. prime-

niti kiselinsku ekstrakciju da bi se uklonili neki proteini pa i neki enzimi, tj. da bi se uklonili glikoproteini, protoglikani i sl.

Dobijeni sirovi kolagenski materijal, bilo po prvom ili drugom postupku, koristi se za izradu poluproizvoda tzv. kolagenskih matrica. Kolagenske matrice su u vidu gelova, rastvora i kompozita, ali takođe se prave i u vidu membranske matrice, filamentske matrice, porozne-sunderaste matrice i tubularne matrice, čime se ukaže na specifičnosti strukture i forme ovih poluproizvoda.

Membranske matrice proizvode se sušenjem rastvora kolagena (dobijenog po prvom postupku) ili vodene disperzije kolagenskih vlakana (dobijene po drugom postupku) izlivenih na podlogu nerastvornu u vodi. Ovde je od posebnog značaja čvrstoća i elastičnost ovako dobijenih filmova ili listova, kao i veličina pora nastale membrane. Prva grupa svojstava može se dizajnirati umrežavanjem kolagena, a druga raznim tehnikama zamrzavanja i sušenja. Na sličan način prave se i sunderaste matrice, gde se deblji slojevi istaloženog kolagenskog „kolača“ raznim tehnikama naparavanja sredstvom za umrežavanje, sušenja i zamrzavanja, prevode u stabilne sunderste strukture čije pore mogu da budu vrlo malog prečnika npr. oko 50 μm pa sve do 1500 μm.

Kolagenske matrice u vidu gelova takođe se mogu praviti od rastvorenih molekula i disperzija vlakana, obično promenom pH sredine a zatim umrežavanjem hemijskim putem. Oni se iskustveno prave još od davnih vremena, obično termičkim tretmanom ali ovde treba uočiti da je rastvorljivost kolagenski molekula veća na hladno. U savremenom dizajniranju kolagenskih gelova, posebna pažnja poklanja se stanju u kome dolazi do bubrenja i kolapsa gela, što se obično reguliše jonskim karakteristikama grupe. Slično je i sa rastvorima kolagena, koji se dobijaju razaranjem umreženja nativnog kolagena, ali u kojima ipak lako dolazi do asocijacije molekula u fibrilarne strukture. Na rastvorljivost, viskoznost i druge bitne karakteristike deluje se promenom temperature, jonske jačine itd.

Kolagenske filamentne matrice proizvode se ekstruzijom tankih niti iz disperzija dobijenih drugim osnovnim postupkom. Nit se ekstruduje u koacervativno kupatilo, gde se stabilizuje dejstvom soli na određenom pH. Tako dobijeni kolagenski filamenti imaju zateznu čvrstoću oko 30 MPa i niz drugih korisnih svojstava. Na sličan način proizvode se i tubularne matrice. Ovi cevasti ekstrudati prave se pomoću koaksialnog cilindra, kojim je snabdevena matrica za oblikovanje na izlazu iz glave ekstrudera.

Kolagenski kompoziti dele se na homogene i heterogene. Kod homogenih kompozita se vodorastvorni lanci druge vrste i nepolimerni molekuli homogeno raspoređuju u kolagenskoj matrici. Bolji naziv za ove materijale bi bio polimerne blende, jer njihovu dominantnu strukturu čine polimerni molekuli različite vrste. Heterogenim kolagenskim kompozitnim matricama nazivaju se kombinacije kolagena i keramike, kao i kolagena sa drugim sintetskim materijalima obično anizotropne strukture.

*Alginati* se izdvajaju iz ćelija smeđih algi, sirovih ili sasušenih. Alge se inspiraju kiselinom da bi se razorilo umreženje i alginati učinili rastvornim u vodi. Dobijeni gust sirup sipa se u alkalni rastvor, najčešće natrijum hidroksida, dajući viskozne suspenzije alginata i ostataka ćelijskih zidova sa visokim sadržajem celuloze. One

se filtriraju da bi odstranile primeće, obezbojavaju i zatim se izdvaja bistar rastvor alginata. Dalja tehnologija se deli na dva postupka:

(1) Prvi postupak je taloženje kalcijumovim solima. Primenuju se i druge soli, ali postupak sa kalcijumovim je najčešći. Kalcijumove soli se dodaju u profiltrirani rastvor, što stvara vlaknaste taloge. Oni se ostavljaju da „otvrdnu“ pre no što se odvoje. Odvajanje se obično vrši izdvajanjem vazduha, koji izbacuje talog na površinu suspenzije odakle se skidaju njegovi slojevi. Dobijeni „kolač“ kalcijum alginata se tada ponovo tretira kiselinom, da bi se uklonili kalcijumovi joni koji stvaraju umreženje. Dobijaju se vlakna alginata, koja se obično tretiraju natrijum-karbonatom i tako se dobija natrijum-alginat koji se isporučuje za prodaju.

(2) Drugi postupak je direktniji. Rastvor alginata posle filtriranja i obezbojanja se direktno tretira kiselinom, što dovodi do stvaranja fibrilarnog taloga. Tako je moguće koristiti istu opremu a postupak se znatno skraćuje. Međutim, ovoj postupak je moguće primeniti samo kod alginata koji intenzivno bubre. Od algi kao što je Ascophyllum, ovim postupkom se dobijaju talozi koji su suviše „meki“ za dalji tretman. Oni se raspadaju i vrlo teško ih je ocediti i prevesti u natrijum-alginat.

Dobijene bioderivativne materijale pomoću opisanih postupaka, tipičnih za ovu vrstu proizvodnje, potrebno je dalje oblikovati u finalne proizvode za biomedicinske svrhe. Pri tome se vrlo često menja i struktura i fizičko stanje materijala. Te promene su na prvom mestu umrežavanje i prevođene u gelove. Na taj način su ovde nerazdvojivo povezani proizvodnja implantata i bioderivativnih materijala [1, 6, 46].

## 22.7 DIZAJNIRANJE I PROIZVODNJA IMPLANTATA IZ BIODERIVATIVNIH MATERIJALA

Polimerni implantati mogu se podeliti na dve osnovne grupe: trajne i resorbibilne implantate. Osnovni cilj dizajna trajnih implantata je održavanje njihovih svojstava što duže u organizmu, što obezbeđuje njihovu funkciju a zahteva što manje promene strukture sa upotrebom. Po tim zahtevima, oni se podudaraju sa metalnim implantatima i trajnim implantatima od drugih materijala. Polimerni implantati ove vrste izrađuju se od sintetičkih polimernih materijala, i najčešće se koriste u ortopediji i stomatologiji. Mada su mnogi polimeri inertni materijali u odnosu na komponente i reakcije metaboličkih procesa i telesnih tečnosti, ove zahteve nepromenljivosti duže vreme u organizmu teško je ostvariti – jer su materijali uneti u živi organizam izloženi dejstvu telesnih tečnosti, oksidativnim i enzimskim reakcijama i stalnom zamaranju (v. Gl. 9), pogotovu ako su npr. ugrađeni u organe kardiovaskularnog sistema.

Obrnuta je situacija kod resorbibilnih implantata. Njihov najčešći zadatak je da obezbede funkcionalnu i prostornu zamenu i podršku tkivu koje se regeneriše. Najčešće to podrazumeva dovoljnu mehaničku čvrstoću radi zamene mehaničke uloge oštećenog tkiva. Međutim, sa ponovnim rastom tkiva mehanička uloga ovih materijala treba da slabti, a prostor koji zauzimaju da se ustupa tkivu koje raste. Neki od bioderivativnih polimera vrlo su pogodni za ispunjavanje ovog složenog zadatka,

kao npr. polimeri mlečne kiseline tj. polilaktidi ili pogodno dizajnirani bioderativni materijali na bazi kolagena, koji imaju na početku unošenja u organizam odlične mehaničke karakteristike, ali se resorbuju i pretvaraju u iste metabolite koje taj organizam već proizvodi u telu. Ove kombinacije biokompatibilnosti i biodegradabilnosti veoma je teško ako ne i nemoguće zadovoljiti kod nepolimernih materijala, pogotovo ako se oni dodatno kombinuju sa inertnošću, ili pak funkcionalizovnjem neke od polimernih komponenti iz prve grupe u istom kompozitnom materijalu ili u polimernoj blendi [41–46]. Drugim rečima, mogućnosti koje polimeri pružaju u ovoj oblasti su ogromne i još uvek malo iskorišćene.

Za dalji razvoj i proširenje upotrebe bioderativnih materijala potrebno je razraditi detaljnije principe njihovog dizajniranja. Ovde spadaju stepeni biokompatibilnosti i biodegradabilnosti, njihova zavisnost od dimenzija implantata prividne gustine implantata, poroznosti njegove strukture itd. Neki od ovih faktora biće razmotreni detaljnije.

Ne samo karakteristike materijala, već i fizičke dimenzije implantata određuju njegovu efikasnost. Stoga je poželjno da se on formira prema obliku i veličini defekata u tkivu koje treba da popuni. Značajan parametar je pri tome i prividna gustina bioderativnog materijala. Ona se određuje kao odnos suvog matričnog materijala i zapremine matrice koja je ugrađena u tkivo. Ovaj odnos koristi se dalje za procenu mehaničkih svojstava implantata i slobodnog prostora za rast tkiva.

Da bi se ćelije infiltrirale u prostor gde tkivo treba da se regeneriše, pore u ovako formiranim materijalima treba da budu znatno veće od dimenzija ćelija i dobro raspoređene. Kao optimalne dimenzije za rast mekih tkiva preporučuje se 100 – 400 µm. Biderativni materijali ovde imaju neke dodatne prednosti, jer enzimi lako otvaraju pore koje nemaju prohodne krajeve. Hidrofilnost implantata posebno je važna zbog prolaza nutriciјenata i hranjenja naseljenih ćelija i okolnog tkiva. Stepen hidratacije se pri tome uzima kao merilo prostora raspoloživog za urastanje tkiva u resorbilni implantat.

Propustljivost implantata za jone i druge makromolekule posebno je značajna u onim delovima организма gde nema vaskularnog transporta. Neophodno je da ugrađeni implantati ne ometaju transport krvi i disanje i ishranu ćelija, i kontinuitet njihove sposobnosti da rastu i da se dele kao i da proizvode ekstracellularne komponente tkiva.

Jedno od fundamentalnih pitanja je problem postojanja izvesne suprotnosti u principima strukturiranja materijala umrežavanjem i biodegradabilnosti. Umreženi polimeri su nerastvorni i samim tim se mnogo teže razlažu, ali umreženje povećava čvrstoću i elastičnost. S druge strane, hemikalije za umrežavanje mogu da izazivaju sporedne neželjene reakcije. Prethodno umrežavanje fiksira oblik proizvoda tako da se on teško prilagođava šupljinama u tkivu koje treba da popuni. Veštim dizajniranjem dobar deo ovih teškoća može se pretvoriti u svoju suprotnost. Kao osnovni putokazi, ovde mogu da posluže gustina implantata i stepen umreženosti. Što je manja gustina veći su međuprostori u mreži i veće pore, što omogućava infiltraciju ćelija a dalje to vodi bržoj degradaciji materijala. Kontrola stepena umreženosti može se bolje postići dvofunkcionalnim agensima koji ne degradiraju kolagen kao što su glu-

taraldehid, adipilhlorid, heksametilen diizocijanat i karbamidi. Nekad je bolje izvesti umrežavanje naparavanjem agensima kao što je formaldehid. Termomehanička svojstva dobijenih mreža mogu biti dragocen putokaz ponašanja implantata. Na primer, kolagenske mreže se skupljaju zagrevanjem zbog konformacionih prelaza lanaca. Na ovu dinamiku lanaca može se uticati umrežavanjem i obrnuto. Ovi prelazi mogu da posluže kao putokaz u proceni ostvarene strukture [1-3, 5-15].

Iz svega izloženog može se zaključiti da ova oblast pruža široke mogućnosti za dalji razvoj biomaterijala i napredak biomedicinskog inženjerstva u širem smislu.

## 22.8 PITANJA ZA REKAPITULACIJU

- 22.1 Šta su to bioderivativni materijali?
- 22.2 Koji bioderivativni materijali se najčešće koriste kao implantati u živom organizmu i zašto?
- 22.3 Šta su to hidrogelovi?
- 22.4 Šta je to kolagen i kako se može modifikovati?
- 22.5 Koji tip kolagena je najrašireniji i najčešće se koriste kao izvor za razne primene u biomedicini?
- 22.6 Šta su to alginati i gde se primenjuju?
- 22.7 Koje su dominantne zajedničke strukturne karakteristike bioderivativnih materijala? Razmotriti sastav, strukturu i primenu sintetskih hidrogelova?
- 22.8 Kako se dele bioderivativni biomaterijali prema načinu primene?
- 22.9 Kako se mogu klasifikovati hidrogelovi?
- 22.10 Šta je to bubrenje i zašto je važno poznavanje termodinamičkih osnova procesa bubrenja?
- 22.11 Kakvi zaključci o tipu i strukturi gelova mogu da se izvedu iz reoloških merenja?
- 22.12 U čemu se sastoje osnovni principi proizvodnje bioderivativnih materijala?
- 22.13 Kako se proizvedeni bioderivativni materijali dalje oblikuju u finalne proizvode za biomedicinske svrhe?
- 22.14 Za koju vrstu primena su pogodni bioderivativni materijali?
- 22.15 Kakav problem postoji u principima strukturiranja materijala umrežavanjem i biodegradabilnosti, i kako se razrešava u praksi?

## 22.9 LITERATURA

1. M.B. Plavšić, *Polimerni materijali-nauka i inženjerstvo* (Nučna knjiga, Beograd, 1996).
2. D. Raković, *Osnovi biofizike* (Grosknjiga, Beograd, 1995).
3. M.B. Plavšić, Interactions of nanostructured fillers with polymer networks – transitions from nano to micro-scale, Ch. 6 in: *Finaly Disperzed Particles: Micro-, Nano- and Ato- Engineering*, A.M. Spasić, J.P. Hsu, eds. (CRC-Taylor and Francis, Boca Raton, New York, 2006), pp. 131–158.

4. M. Dugić, D. Raković, M. Plavšić, The polymer conformational stability: A quantum decoherence theory approach, Chapter 9 in: A.M. Spasić, J.P. Hsu, eds. *Finaly Disperzed Particles: Micro-, Nano- and Ato- Engineering* (CRC-Taylor and Francis, Boca Raton, New York, 2006) pp. 217–233.
5. N.A. Pepas, P. Bures, W. Leobandurung, H. Ichikawa, Hydrogels in pharmaceutical formulations, *Europ. J. Pharm. Biopharm.*, 50 (2000), 27–46.
6. A.S. Hoffman, Hydrogels for biomedical applications, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 43 (2002), 3–12.
7. J.A. Rowley, G. Madlambayan, D.J. Mooney, Alginate hydrogels as synthetic extracellular matrix materials, *Biomaterials*, 20 (1999), 45–53.
8. H. Uludag, P. De Vos, P.A. Tresco, Technology of mammalian cell encapsulation, *Adv. Drug Del. Rev.*, 42 (2000), 29–64.
9. K.Y. Lee, J.A. Rowley, P. Eiselt, B.M. Moy, K.H. Bouhadir, D.J. Mooney, Controlling mechanical and swelling properties of alginate hydrogels independently by cross-linker type and cross-linking density, *Macromolecules*, 33 (2000), 4291–4294.
10. P. Eiselt, K.Y. Lee, D.J. Mooney, Rigidity of two-component hydrogels prepared from alginate and Poly(ethylene glycol)-diamines, *Macromolecules*, 32 (1999), 5561–5566.
11. B.T. Stokke, K.I. Draget, O. Smidsrød, Y. Yuguchi, H. Urakawa, K. Kajiwara, Small-angle X-ray scattering and rheological characterization of alginate gels. 1. Ca-alginate gels, *Macromolecules*, 33 (2000), 1853–1863.
12. G. Fundueanu, C. Nastruzzi, A. Carpol, J. Desbrieres, M. Rinaudo, Physico-chemical characterization of Ca-alginate microparticles produced with different methods, *Biomaterials*, 20 (1999), 1427–1435.
13. R. Langer, N. Peppas, Chemical and physical structure of polymers as carriers for controlled release of bioactive agents: A Review. *J. Macromol. Sci., Rev. Macromol. Chem. Phys.*, C23 (1983), 61–126.
14. N. Peppas, *Hydrogels in Medicine and Pharmacy* (CRS Press, Boca Raton, 1986).
15. M.S. Hahn, B.A. Tepley, M.M. Stevens, S.M. Zeitels, R. Langer, Collagen composite hydrogels for vocal fold lamina propria restoration, *Biomaterials*, 27 (2006), 1104–1109.
16. A.J. Kuijpers, G.H.M. Engbers, J. Feijen, S.C. De Smedt, T.K.L. Meyvis, J. Demeester, J. Krijgsveld, S.A.J. Zaat, J. Dankert, Characterization of the network structure of carbamide cross-linked gelatin gels, *Macromolecules*, 32 (1999), 3325–3333.
17. A.J. Miller, Chemistry of the collagens and their distributions, In K.A. Piez, A.H. Reddi, eds., *Extracellular Matrix Biochemistry*, pp. 41–82 (Elsevier, New York, 1984).
18. E. P. Katz, S.T. Li, The molecular packing of type I collagen fibrils: In A. Veis (ed.), *The Chemistry and Biology of Mineralized Connective Tissues* (North Holland, Elsevier, pp. 101–105, 1981).
19. M.E. Nimni ed. *The Collagen* vols 1, 2, 3, (CRC Press, Boca Ration, Fla, 1988).
20. M.B. Plavšić, New catalitic systems based on immobilized enzymes and some fundamental issues of enzyme catalysesm, Ch. 9 in: *New Challenges in Catalysis IV*, Ed. P. Putanov, Monographs of Serbian Academy of Sciences and Arts, pp.141–167 (SASA, Belgrade, 2005).

21. M.V. Voljkenshtein, *Biofizika, Tom I Molekularna biofizika i Tom II Obschaja biofizika* (Nauka, Moskva, 1975).
22. M.V. Voljkenshtein, L.A. Gribov, M.A. Eljashevich, B.I. Stepanov, *Kolebanija molekul* (Nauka, Moskva, 1972).
23. D. Raković, I. Božović, S.A. Stepanyan, L.A. Gribov, A theoretical study of the infrared absorption in trans(-CH)x and trans (-CD)x', *Phys. Rev. B* 21 (1983), 1997-2000.
24. D. Raković, M. Dugić, M. Plavšić, Polymer conformational transition: A quantum decoherence theory approach, *Mat. Sci. Forum*, 453-454 (2005), 520-528.
25. D. Raković, M. Dugić, M. Plavšić, Biopolymer Chain Folding and Biomolecular Recognition: A quantum Decoherence Theory Approach, *Mat. Sci. Forum* 494 pp. 513-518 (2005).
26. D. Raković, M. Dugić, M. Plavšić, G. Keković, I. Ćosić, D. Davidović, Quantum decoherence and quantum-holographic information processes: From biomolecules to biosystems, *Mat. Sci. Forum* 518 (2006), 485-490.
27. D.W. Green, I. Leveque, D. Walsh, D. Howard, X. Yang, K. Partridge, S. Mann, R.O.S. Oreffo, Biomineralized polysaccharide capsules for encapsulation, organization, and delivery of human cell types and growth factors. *Adv Funct Mater*, 15 (2005), 1-7.
28. B. Bugarski, G. Jovanović, G. Vunjak-Novaković, Fundamentals of animal cells immobilization and microencapsulation, in: *Fundamentals of Animal Cells Immobilization and Microencapsulation*, M.F.A. Goosen, ed. (CRC Press, Boca Raton, 1993), 267-296.
29. B. Bugarski, M.F.A. Goosen, G. Vunjak-Novaković, Principles of Bioreactor Design for Encapsulated Cells. in: *Cell Encapsulation Technology and Therapeutics*, W.M. Kuhtreiber, R.P. Lanza, W.L. Chick, eds. (Birkhauser, Boston, 1998), 395-416.
30. G. King, A. Daugulis, P. Faulkner, M.F.A. Goosen, Alginate-polylysine microcapsules of controlled membrane molecular weight cutoff for mammalian cell culture engineering. *Biotechnol Prog.*, 3 (1987), 231-240.
31. B.M. Bugarski, B. Obradović, V.A. Nedović, D. Poncelet, Immobilization of cells and enzymes using electrostatic droplet generation, in: *Fundamentals of Cell Immobilization Biotechnology*, V. Nedović, R. Willaert, eds. (Kluwer, Dordrecht, Boston, London, 2004), 277-294.
32. B. Obradović, V.A. Nedović, B. Bugarski, R.G. Willaert, Immobilization cell bioreactors, in: *Fundamentals of Cell Immobilization Biotechnology*, V. Nedović, R. Willaert, eds. (Kluwer, Dordrecht, Boston, London, 2004), 411-436.
33. I. Pajić-Lijaković, V. Nedović, B. Bugarski, Nonlinear dynamics of brewing yeast cell growth in alginate micro-beads, *Materials Science Forum*, 518 (2006), 519-524.
34. I. Pajić-Lijaković, D. Bugarski, M. Plavšić, B. Bugarski, Influence of microenvironmental conditions on hybridoma cell growth inside the alginate-poly-L-lysine microcapsule, *Process Biochemistry*, 42(2) (2007), 167-174.
35. I. Pajić-Lijaković, M. Plavšić, V. Nedović, B. Bugarski, Investigation of Ca-alginate hydrogel rheological behavior in conjunction with immobilized yeast cell growth dynamics, in press, *J. Microencapsulation*, doi:10.1080/02652040701362843 (2007).

- 
36. I. Pajić-Lijaković, M. Plavšić, B. Bugarski, V. Nedović, Ca-alginate hydrogel mechanical transformations – the influence on yeast cell growth dynamics, *J. Biotechnol.*, 129(3) (2007), 446–452.
  37. D.F. Williams, Definitions in biomaterials, *Proceedings of a consensus conference of the European society for biomaterials*, vol.4, Chester, England March 3–5 1986 (Elsevier, New York, 1987).
  38. J.R. Robinson. Contolled Drug Delivery in :*Past, Present and Futurein in Controlled Drug Delivery– Challenges and Strategies*, K. Park, ed. (ACS Washington DC, 1997).
  39. H.Davis, Cationic polymerrs for gene delivery: Design for overcoming barriers to systemic administration, *Curr. Opin. Mol. Therapeut.* 3 (2001), 183–186 .
  40. I.V. Yannas, J.F. Burke, D. P. Orgill, E.M. Skrabut, Wound tissue can utilizzare a polymer template to synthesize a functional rxtension of skin, *Science*, 215 (1982), 174.
  41. B. Bugarski, L. Saic. M. Plavšić, M. Goosen, G. Jovanović, Semipermeable alginate-PLO microcapsules as a bioartifical pancreas, in: *Animal Cell Technology: Basic and Applied Aspects*, K. Funatsu, Y Shirai, T. Matsuhita, eds. (Kluwer, London, 1997), 479–495.
  42. N. Ignjatovic, S. Tomić, M. Dakić, M. Miljković, M. Plavšić, D. Uskoković, Syntheyis and properties of hydroksyapatite/poly-L-lactide compozite biomaterials, *Biomaterials* 20. (1999), 809–820.
  43. D.C. Mooney, K. Breuer, J. McNamara, J. Vacanti, R. Langer, Fabricating tubular devi-ces from polymer lactic and glycolic acid for tissue engineering, *Tissue Eng.* 1 (1995), 107–112.
  44. V. Shastri, I. Martin, R. Langer, Macroporous polymer foams by hydrocabon templating, *Proc. Nat. Acad. Sci.* 97 (2000), 1970–78.
  45. M.E. Byrne, D.B. Henthorn, Y. Huang, N.A. Peppas, Micropatterning bimimetic materials for bioadhezion and drug delivery, in: *Biomimetic Materials and Design:Biointerfacial Strategies, Tissue Engineering and Targeted Drug Delivery*, A.K. Dillow, A. Lowman eds. (Dekker, New York, 2002), 443–453.
  46. R. Langer, N.A. Peppas, Advances in biomaterials, Drug Delivery and Bionano–techno-logy, *AICHE J.* 49(12) (2003), 2990–3006.
  47. O. Wichterle, D. Lim, Hydrophylic gels in biologic use, *Nature*, 185, (1960), 117.
  48. T. Tanaka, Gels, *Sci.Am.* 244 (1981), 124–129.
  49. I. Pajić-Lijaković, D. Bugarski, B. Bugarski, B. Obradović, M. Plavšić, Examination of rhe-ological properties of fine particles as carriers for control drug release, *Chem. Eng. Comm.*, 190(1) (2003), 83–93.
  50. R.R. Garrett, P.J. Flory, Evidence for a Reversible first-order phase transition in colla-gen-diluent mixtures, *Nature*, 177(2) (1956), 176–177.

---

## MEKOTKIVNI IMPLANTATI<sup>1</sup>

Praktično sva tkiva, sem kostiju i hrskavice, kategoriju se u meka. Mekotkivni implantati predstavljaju zamenu za meka tkiva, i mogu biti interagujući sa krvlju u slučaju primene u kardiovaskularnim sistemima gde prolazi krv, ili neinteragujući sa krvlju što je češći slučaj. Ovi implantati se koriste za zarastanje i zamenu prirodnih tkiva, ili za redirekciju specifičnih bioloških funkcija – i mogu se podeliti na tranzijentne implantate koji imaju kratkotrajnu ulogu i prave se od apsorbabilnih materijala, i na dugotrajne implantate koji imaju očekivanu produženu funkciju i prave se od neapsorbabilnih materijala [1–5].

Na putu uspešnog razvoja novih biomedicinskih uređaja ili implantata, uključujući i one koje se koriste za meka tkiva, neophodno je proći *nekoliko faza* [1, 2]: (1) sticanje izvesnih bioloških i biomehaničkih podataka o implantatu i njegovoj funkciji radi pomaganja u selekciji materijala i inženjerskom projektovanju implantata, u cilju pažljivog definisanja zahteva proizvoda; (2) konstrukcija prototipa, i proračunavanje njegovih fizičkih i bioloških svojstava *in vitro* i *in vivo*, upotreborom pogodnog životinjskog modela; (3) kliničke studije, koji slede posle uspešnih proučavanja na životinjama. Obim proučavanja u vezi sa svakom stepenicom može pričinjeno varirati.

Iako različite primene zahtevaju različite materijale specifičnih svojstava, za implantate mekih tkiva tipično se postavljaju sledeći *minimalni zahtevi* [1, 2]: (1) posedovanje fizičkih svojstava (tj. fleksibilnosti i strukture) ekvivalentnih ili kompatibilnih sa biološkim tkivom; (2) zadržavanje očekivanih fizičkih svojstava tokom specificiranog perioda posle implantacije; (3) neizazivanje efekta odbacivanja; (4) nemanje karcinogenog, toksičnog, alergičnog i/ili imunogenog efekta; (5) dostizanje potpunog steriliteta bez uticaja na fizičko-hemisika svojstva.

Uz to, od implantata se očekuje zadovoljenje i sledećih *opštih zahteva* [1, 2]: (1) jednostavna masovna proizvodnja uz razumnu cenu; (2) posedovanje prihvativih estetskih kvaliteta; (3) plasman u trajnim pogodno obeleženim lako-otvorljivim pakovanjima; i (4) posedovanje adekvatne stabilnosti tokom skladištenja.

---

<sup>1</sup>Ovo poglavlje napisali su Dejan Raković i Miodrag Pavlović.

## 23.1 MEKOTKIVNI IMPLANTATI INTERAGUJUĆI SA KRVLJU

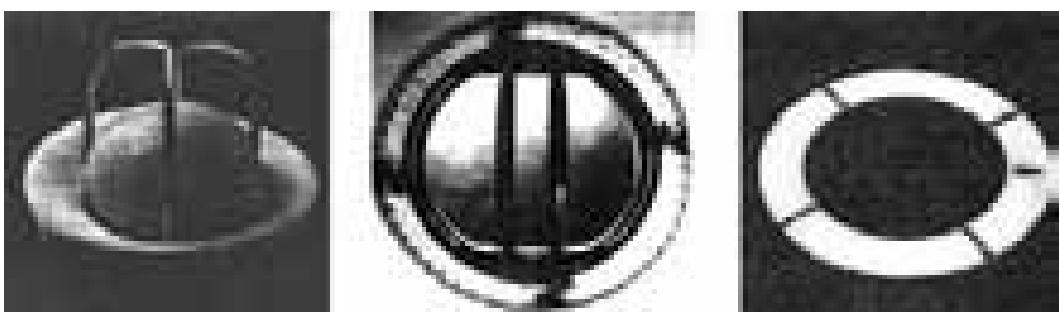
U poslednje četiri decenije, svedoci smo značajnih unapređenja u razvoju biokompatibilnih materijala koji se koriste u implantatima interagujućim sa krvlju. U ovom odeljku, koncentrisaћemo se na razvoj biomaterijala za dugotrajne krvno-interagujuće implantate, posebno za srčane zalistke, totalno veštačko srce (TAH) i krvne sudove (mada krv dolazi u kontakt i sa različitim kratkotrajnim materijalima u vantelesnim uređajima, kao što su dijalizeri, krvni oksigenatori, pomoćni ventrikularni uređaji, i kateteri) [1, 2].

Osnovni zahtevi pred biomaterijalima za dugotrajne krvno-interagujuće implantate jesu biokompatibilnost, netoksičnost i trajnost. Pored toga, materijali trebaju biti neiritirajući za tkivo, otporni na krvne pločice i trombnu depoziciju, i nedegradabilni u fiziološkom okruženju, kao i da ne smeju apsorbovati sastavne delove krvi, niti oslobađati supstance u krvne tokove [6]. Uz to, projektna razmatranja zahtevaju da implantat imitira funkciju organa koga zamenjuje bez uticaja na okružujuće anatomske strukture, i da mora biti adekvatan po veličini i težini. Izabrani materijali moraju biti lako dostupni, ne skupi, lako obradivi, sterilizabilni, i dugotrajni. Odabir materijala je takoђe diktiran zahtevima funkcije implantata; npr. srčani zalistci moraju se otvarati i zatvarati prosečno svake sekunde, pa izabrani biomaterijal mora biti takav da je zalistak trajan i da neće propasti usled zamora nakon implantacije u telo pacijenta. Kako su sa razvojem superkompjutera postale dostupne sofisticirane tehnike merenja i detaljne kompjuterske analize, saznanja o kompleksnoj dinamici funkcionisanja implantata sve više rastu; unapređenja u projektovanju bazirana na takvim saznanjima, kao i poboljšanja u odabiranju i proizvodnji biomaterijala, smanjivaće probleme u vezi sa krvno-interagujućim implantatima, i značajno unapređivati kvalitet života pacijenta sa implantatima.

**Srčani zalistci.** Pokušaji zamenjivanja obolelih prirodnih ljudskih zalistaka implantatima započeli su 1960-tih godina [1, 2, 6]. Proteze srčanih zalistaka mogu se uopšteno klasifikovati u mehaničke (napravljene od nebioloških materijala) i bioproteze (napravljene od bioloških tkiva).

*Mehanički srčani zalistci.* Ove mehaničke proteze prave se u obliku: (a) srčanog zalistka sa kaveznom loptom (Sl. 23.1a); (b) srčanog zalistka nagnutog diska sa uparenim listovima (Sl. 23.1b); i (c) bileaflet-zalistka sa otvorenim stožernim dizajnom (Sl. 23.1c) [1].

Mehanički zalistci u obliku centralno zatvorene kavezne lopte bili su prvi implantirani ranih 1960-ih. Proteza kavezne lopte se pravi od poliranog kaveza CoCr-legure i silikonske gumene lopte sa 2 tež% barijum sulfata radi radioizolacije; prišiveni prstenovi zalistka koriste silikonsku gumu umetnutu ispod prišivenog kompozitnog teflona i polipropilenske prevlake. Iako je dokazana trajnost ovih zalistaka, centralno zatvaranje projektovanog zalistka rezultira u većem opadanju pritiska krvi duž zalistka, i većim turbulentnim naprezanjima daleko od samog zalistka, u poređenju sa drugim mehaničkim srčanim zalistcima. Relativno veliki profil projektovane kavezne lopte takođe povećava mogućnost interferencije sa anatomske strukturama nakon implantacije.



*SLIKA 23.1 Mehaničke proteze: (a) srčanog zalistka sa kaveznom loptom; (b) srčanog zalistka nagnutog diska sa uparenim listovima; (c) bileaflet-zalistka sa otvorenim stožernim dizajnom [1].*

Unapređenjem hemodinamičkih karakteristika, zalistci nagnutog diska sa uparenim listovima uvedeni su kasnih 1960-ih. Njihov dizajn sadrži nagnuti disk sa listićima najčešće izrađenim od piroličkog ugljenika (koji pokazuje izvanrednu krvnu kompatibilnost i hemijsku inertnost, kao i otpornost na habanje i zamor preko 20 godina) sa prišivenim teflonskim prstenom; vodice podupirača kod zalistaka sa nagnutim diskom prave se od komercijalno čistog Ti, ili Ti- i CoCr-legura (koje pokazuju izvanredna mehanička svojstva, kao i otpornost na koroziju i trombnu depoziciju).

Daljim unapređenjem hemodinamičkih karakteristika, zalistci bileaflet-dizajna uvedeni su kasnih 1970-ih, i nekoliko različitih modela danas je prisutno na tržištu. Listići i kućište bileaflet-zalistaka prave se od piroličkog ugljenika a prišiveni prsten od dvostrukog-velur dakrona, i pokazuju još bolje karakteristike zbog manje veličine u poređenju sa nagnutim diskom.

Uprkos dobrim karakteristikama biomaterijala koji se koriste u protezama srčanih zalistaka, i dalje se nad pacijentima sa implaniranim mehaničkim zalistcima sprovodi dugotrajna antikoagulaciona terapija, zbog značajnih problema sa tromboembolijskim komplikacijama usled kompleksne dinamike funkcionsanja zalistaka i rezultujućih mehaničkih udara na krvne elemente koji se čine glavnim uzročnikom inicijacije tromba. Najnoviji izveštaji u vezi strukturalnog propadanja implantiranih mehaničkih zalistaka, pravljenje rupa i erozija, posmatrani na površinama piroličkog ugljenika, doveli su do istraživanja formiranja kavitacionih mehurova tokom zatvaranja zalistaka. Uz druga unapređenja biomaterijala za srčane zalistke, detaljne analize dinamike zatvaranja i projektna poboljšanja radi minimiziranja odbijajućih mehaničkih udara mogu biti ključ za redukciju trombne depozicije. Unapređenja mehaničkih srčanih zalistaka, ili dalja unapređenja trajnosti sintetičkih listića zalistaka, mogu takođe biti vitalna tačka za razvoj totalno veštačkog srca za dugotrajnu implantaciju bez medicinskih komplikacija.

Korišćeni biomaterijali u komercijalno dostupnim mehaničkim i bioprotetiskim srčanim zalistcima prikazani su u Tabl. 23.1.

TABELA 23.1 Biomaterijali koji se koriste u protezama srčanih zalistaka [1, 2]

Tip	Komponenta	Biomaterijal
Kavezna lopta	Lopta/zatvarač Kavez Prišiveni prsten	Šuplja CoCr-legura/silikonska guma CoCr-legura/Ti Silikonska guma umetnuta ispod ušivene teflon/polipropilen kompozitne prevlake
Nagnuti disk	Listić  Kućište/podupirač Prišiveni prsten	Pirolitički ugljenik (ugljenik deponovan na grafitnom supstratu); kompozit ugljenik/delrin; ultra-visoko-molekularni polietilen (UHMPE).  CoCr-legura/Ti Teflon/dakron
'Bileaflet'	Listići Kućište Prišiveni prsten	Pirolitički ugljenik Pirolitički ugljenik Dvostruki-velur dakron
Svinjske bioproteze	Listići  Koronarni stentovi  Prišiveni prstenovi	Svinjski aortni zalistak fiksiran stabilizacionim gluteraldehidom; Polipropilenska cevčica prekrivena dakronom; laka Elgiloy-žica prekrivena poroznom šivenom teflonskom prevlakom; Dakron; meka silikonska guma prekrivena poroznom bešavnom teflonskom revlakom
Perikardijalne bioproteze	Listići  Koronarni stentovi  Prišiveni prstenovi	Svinjsko perikardijalno tkivo fiksirano stabilizacionim gluteraldehidom pre prišivanja listića za koronarne stentove Polipropilenska cevčica prekrivena dakronom; laka Elgiloy-žica i najlonska držeća traka pokrivene poliesterskom i teflonskom prevlakom Teflonska tkanina na filteru od silikonske gume

*Bioprotetski srčani zalistci.* Prvi implantirani bioprotetski zalistci bili su homografti (zalisticima uzetim iz leša do 48 sati nakon smrti), a zaštita zalistaka uključivala je razne tehnike sterilizacije, hladnog sušenja, i uranjanje u antibiotske rastvore. Ipak, upotreba homografta nije popularna zbog problema u vezi dugotrajnosti i ograničene dostupnosti [1, 2]. Kasnih 1960-tih počinje korišćenje ksenografa (zalistci dobijeni od životinjskog, svinjskog i goveđeg tkiva).

Svinjske bioproteze postale su komercijalno dostupne nakon uvođenja gluteraldehidne fiksacione tehnike (umesto početno korišćene formaldehidne), jer gluteraldehid reaguje sa proteinima tkiva formirajući međuveze povećane trajnosti [1,2]. Zalistci se ubiraju sa 7–12 meseci starih svinja, povezuju sa koronarnim pr-

stenovima i zaštićuju, što omogućava čuvanje prirodnog oblika zalistka i postizanje normalnog otvaranja i zatvaranja. U početku, prsteni su bili pravljeni od metala, a zatim su uvedeni fleksibilni polipropilenski prstenovi koji omogućavaju lako montiranje zalistka (a analiza konačnih elemenata pokazuje da smanjenje udara na spoj između prstena i tkiva listića rezultuje u povećanoj trajnosti i povećanoj koaptacionoj oblasti listića).

Goveđe perikardijalno tkivo takođe se koristi za konstrukciju srčanih zalistaka, sa dobro specificiranim i kontrolisanim projektnim karakteristikama (oblast otvora, visina zalistka, ugao koaptacije), tako da geometrija i dinamika perikardijalnih proteza dosta verno imitira prirodne ljudske aortne zalistke. S obzirom na nizak profil projektovanih perikardijalnih proteza i povećanu oblast otvora, ovi zalistci su manje skloni stenozama (suženjima), u poređenju sa svinjskim bioprotezama, naročito pri manjim veličinama [1,2].

Kod trenutno dostupnih bioproteza, prstenovi se prave od polipropilena, acetol-homopolimera ili kopolimera, Elgiloy-žice, ili Ti. Rentgenski neprozirni marker od nerđajućeg materijala, takođe se uvodi radi vizualizacije zalistka *in vivo*. Prednost bioproteza je oslobođenost od tromboembolije i otuda izbegavanje dugotrajne antikoagulacione terapije. Ove proteze su poželjne za one pacijente koji su alergični na antikoagulantne. Međutim, bioproteze zalistaka sklone su kalcifikaciji i cepanju listića, sa prosečnim vekom trajanja od oko 10 godina, nakon čega je neophodna zamena.

I dalje se intenzivno istražuje uticaj mehaničkih udara na listiće sa kalcifikacijom, fokalnim razređivanjem, propadanjem listića, i vrše se projektna minimiziranja udara na listiće bioproteza, kao i unapređivanja u fiksacionim tehnikama tkiva i listića, i poboljšanju trajnosti i funkcionalnih karakteristika bioproteza srčanih zalistaka. U Tabl. 23.2 sumirani su problemi sa srčanim zalistcima.

*TABELA 23.2 Najčešći problemi sa implantiranim protezama srčanih zalistaka [1, 2]*

Mehanički zalistci
Tromboembolija
Strukturalno propadanje
Destrukcija crvenih krvnih zrnaca i krvnih pločica
Prerastanje tkiva
Uništavanje endotelijalne podloge
Paravalvularno/perivalvularno curenje
Kidanje zašivaka
Infekcija
Bioprotetski zalistci
Kalcifikacija tkiva
Raskidanje listića
Paravalvularno/perivalvularno curenje
Infekcija

**Veštačka srca.** Razvoj totalno veštačkog srca i pomoćnih uređaja leve komore započet je 1980-ih godina, sa ciljem sprovođenja veštačke cirkulacije uopšteno indikovane za dve kategorije pacijenata [1]: (1) Kod operacija na otvorenom srcu radi ispravljanja disfunkcije zalistaka, ventrikularne aneurizme ili bolesti koronarne arterije (tako se u nekim slučajevima srce ne može dovoljno oporaviti odmah nakon operacije radi preuzimanja funkcije pumpanja, pa se kod takvih pacijenata koriste pomoćni ventrikularni uređaji kao što su vantelesni uređaji radi sprovođenja cirkulacije dok se srce ne oporavi; ostali ventrikularni pomoćni uređaji uključuju intra-aortne balonske pumpe kao i kardiopulmonarni bajpas, koji se uklanjuju posle nekoliko dana ili nedelja kada se prirodno srce oporavi); (2) Kod poodmaklog stadijuma kardiomiopatije, indikovanog za transplantaciju srca (mada s obzirom na probleme dostupnosti pogodnog donorskog srca, nisu svi pacijenti sa propalim srcem kandidati za transplantaciju srca, pa je kod njih preporučljiv koncept zamene prirodnog sa totalno veštačkim srcem; s obzirom na komplikacije, kao što su tromboembolija, infekcije, hematološke i bubrežne komplikacije, permanentne implantacije trenutno su obustavljene, ali ukoliko donorsko srce nije odmah dostupno, TAH-ovi mogu biti korišćeni kao most-ka-transplantaciji, tokom nekoliko nedelja dok donorsko srce ne postane dostupno).

Tipični dizajni pneumatski i električno napajanih totalno veštačkih srca za dugotrajnu upotrebu (više od 2 godine) uključuju krvnu pumpu, koja je u direktnom kontaktu sa krvlju, energetski konvertor (iz električne u mehaničku energiju), promenljivi kolonski kompenzator, implantabilne baterije, apsorpcioni transkutanii energetski transmisioni sistem, i spoljašnje baterije. Materijali korišćeni u krvno-interagujućim površinama ovih uređaja pri laboratorijskim ispitivanjima nad životinjama jesu sintetički polimeri (poliuretani, segmentni poliuretani, biomer i dr.) sa trombootpornim aditivima koji modifikuju površinu polimera, dovodeći do poboljšane krvne kompatibilnosti i smanjenja rizika od tromboembolije. Projektna razmatranja uključuju smanjenje oblasti stagnacije krvi duž krvne komore, i minimizovanje mehaničkih udara indukovanih formiranim elementima u krvi.

Razvoj totalno veštačkog srca i pomoćnih uređaja leve komore dao je dodatni podsticaj razvoju proteza zalistaka pravljenih od sintetičkih materijala (poliuretana, poliesterskih tkanina, silikonske gume). Pošto četiri mehaničke proteze korišćene u TAH protezi dovode do dodatnih troškova, čine se pokušaji zamene mehaničkih zalistaka sa onima pravljenim od sintetičkih materijala. Sa vakuumskim tehnikama ili tehnikama livenja iz rastvora, mogu se praviti sintetički zalistci čija je cena samo deo one kod mehaničkih zalistaka, omogućavajući zadovoljavajuće funkcionisanje u TAH protezi tokom nekoliko nedelja. Analiza konačnih elemenata i kod sintetičkih zalistaka može biti iskorišćena u projektnim unapređenjima sličnim onima za bioproteze. Nekoliko *in vitro* studija objavljeno je u literaturi, koje ocenjuju efekte udara fluidne dinamike na trombnu depoziciju, što je uključivalo vizualizaciju toka, lasersku Doplerovu anemometriju brzine i merenja turbulencije duž srčane komore, kao i u blizini unutrašnjeg i spoljnog otvora. Rezultati ovih studija ukazuju da tok duž komore ima glatko ispiranje krvi u svakom pulsnom toku ciklusa, ali relativno velike turbulentne udare kako u blizini zalistaka tako i kroz same mehaničke zalistke. Strukturalna propadanja mehaničkih zalistaka kod

TAH proteza mogu biti rezultat povećanog stimulisanja zalistaka tokom zatvaranja, s obzirom na relativno velike vremenske fluktuacije krvnog pritiska pri kome TAH radi, zbog čega postoji povećana verovatnoća inicijacije kavitacionih mehura, čiji potonji kolaps može biti važan dodatni razlog za trombnu depoziciju blizu mehaničkog zalistka kod unutrašnjeg otvora. Uvođenje fleksibilnih zalistaka komora kao i zamena mehaničkih zalistaka sintetičkim, može se možda pokazati korisnim za minimiziranje kavitacione inicijacije i trombne formacije.

**Krvni sudovi.** U poodmaklim stadijumima vaskularnih bolesti kao što je arterioskleroza i aneurizma, kada druge terapije ne daju rezultate, zamena obolelih segmenata sa vaskularnim protezama (sa ekvivalentnim nazivima: kalemi, graftovi) uobičajena je praksa. Klasifikacija vaskularnih kalema data je u Tabl. 23.3.

*TABELA 23.3 Klasifikacija vaskularnih kalema [1, 2]*

Vaskularni kalemi	Komentari
Biološki kalemi	
Autograft	Venski (tj. safenozni venski kalemi) i arterijski kalemi
Alograft (homograft)	Gluteraldehidom tretirani venski kalem pupčane vrpce
Ksenograft (heterograft)	Modifikovan goveđi heterograft
Sintetički kalemi	
Dakron	Talasast, pleten
Teflon	Pleten, izdužen
Ostali	Najlon, itd.

*Biološki vaskularni kalemi.* Arterijski homografti, iako u početku naširoko korišćeni, dovode do formiranja aneurizmi, naročito u samoj blizini šava [1, 2]. Venski kalemi imaju nivo propadanja od oko 20% za jednu godinu, i do 30% nakon 5 godina od implantacije. Najviše je u upotrebi korišćenje safenoznog venskog kalema iz istog pacijenta, mada su ovi kalemi nedostupni ili neodgovarajući kod oko 10–30% pacijenata. Modifikovani goveđi heterograft i venski kalem gluteraldehidom tretirane pupčane vrpce takođe se upotrebljavaju kao vaskularne proteze, ali sa manjim uspehom u poređenju sa autonomnim venskim kalemom.

*Sintetički vaskularni kalemi.* Proteze pravljenje od sintetičkih materijala za zamenu krvnih sudova koriste se od ranih 1950-ih, a korišćeni materijali uključuju najlon, poliester, teflon, polipropilen, poliakrilonitril, i silikonsku gumu [1,2]. Ipak, dakron (polietilen tereftalat) i teflon su trenutno najdostupniji sintetički protetski materijali, jer pokazuju bitne kvalitete za implantiranje – biokompatibilnost, elastičnost, fleksibilnost, trajnost i otpornost na sterilizaciju i biodegradaciju. Na Sl. 23.2 prikazani su tipični vaskularni kalemi za implantaciju.

Sintetički vaskularni kalemi implantirani kao zamene za velike krvne sudove postigli su pristojan uspeh. Međutim, kod proteza srednjeg i malog prečnika (manjeg od 6 mm u prečniku), sve češći je gubitak otvorenosti kroz nekoliko meseci nakon implantacije: propadanje kalema s obzirom na trombozu i internu hiper-



*SLIKA 23.2 Fotografije tipičnih vaskularnih kalema napravljenih od pletenog i naboranog dakrona (prvi i treći) i teflona. Vršna dva su račvasti kalemi [1].*

plaziju sa trombozom, predstavlja osnovni razlog propadanja kroz 30 dana nakon implantacije, a formiranje interne hiperplazije je razlog propadanja kroz 6 meseci nakon operacije. Nepovoljna svojstva materijala, nedovoljna kompatibilnost između domaće arterije i kalema, kao i geometrijska razmatranja pri povezivanju kraj-bok, čine se bitnim za gubljenje propustljivosti. Većina vaskularnih kalema krući su nego domaća arterija, pa mehanički udari koji potiču od diskontinuiteta spoja predstavljaju glavni uzrok formiranja hiperplazije, a potom i začepljenja cevaste strukture. Razvojem kompatibilnijih kalema i modifikovanjem dodirnih površina kalema sa krvlju (endotelizacija ili drugi tretman na materijalu kalema) mogu se smanjiti problemi sa gubitkom propustljivosti [1, 2].

## 23.2 MEKOTKIVNI IMPLANTATI NEINTERAGUJUĆI SA KRVLJU

Najčešći tipovi implantata mekih tkiva jesu [1, 2]: (1) šavovi; (2) vezne naprave; (3) tkivni adhezivi; (4) potkožni i kožni implantati; (5) maksilofacijalni implantati; (6) ušni i očni implantati; (7) implantati za ispunu; i (8) implantati za transfer fluida.

**Šavovi.** Šavovi su najčešći uređaji za spajanje, koji se obično pakuju u obliku konca vezanog za metalnu iglu. Konac je uobičajeno nazivati šavom, a komponente konca mogu biti pravljene od različitih materijala pri čemu upotrebljeni tip određuje namenu datog šava. Većina igala se pravi od nerđajućeg čelika, a buši se (mehanički ili laserskim snopom) na jednom kraju radi umetanja konca. Pričvršćivanje konca u ušicama igle može biti sprovedeno savijanjem ili adhezivnim vezivanjem. U kritična fizička svojstva šavova spadaju njihov prečnik, snaga čvora *in vitro*, snaga držanja igle, penetraciona sila igle, lakoća pravljenja čvora, sigurnost čvora, i *in vivo* profil snage zadržavanja.

Po načinu zadržavanja u biološkom okruženju, šavovi mogu biti apsorbabilni i neapsorbabilni. Prema izvoru sirovine mogu se klasifikovati na prirodne (ketgat, svila, pamuk), sintetičke (najlon, polipropilen, teflon, poliglikolid i njegovi kopolimeri) i metalne šavove (nerđajući čelik i tantal). Šavovi mogu biti klasifikovani i prema njihovoj fizičkoj formi, kao monofilamenti i opleteni filamenti (ili jednostavno pletenice).

Prvi poznati prirodni absorbabilni šav, *ketgat*, pravi se od kolagena dobijenog od ovčije crevne submukoze. On se uobičajeno tretira hromnom solju radi povećanja njegove *in vivo* snage zadržavanja, i formiranja poprečnih veza koje odlažu apsorpciju. Taj tretman produžuje funkcionalne osobine ketgat šava od 1–2 nedelje do oko 3 nedelje. Ketgat šavovi pakuju se u posebno pripremljenu tečnost radi sprečavanja sušenja i omogućavanja neophodne savitljivosti prilikom hirurškog rukovanja i pravljenja čvorova.

Tokom prethodne tri decenije upotreba sintetičkih apsorbabilnih šavova prevazišla je ketgat, a razlozi su višestruki: (1) veća inicijalna snaga kidanja i superiore karakteristike rukovanja; (2) dostupnost šavova u širokom opsegu *in vivo* profila snage zadržavanja; (3) značajno blaža reakcija tkiva i odsustvo imunološke reakcije; i (4) reproducibilne i vrlo predvidive *in vivo* performanse. Poliglikolid (PG) je bio prvi uvedeni sintetički apsorbabilni šav sredinom 1960-ih. Zbog visokog modula orijentisanosti vlakana, PG se uglavnom pravi u upletenoj formi, a tipični PG upleteni šav apsorbuje se za oko 4 meseca a zadržava *in vivo* snagu tokom 3 nedelje. Međutim, glikolid/laktid kopolimer u formi pletenice pokazao je uporediv ili unapređen profil snage zadržavanja, a brži nivo apsorpcije od oko 3 meseca, pa je šire prihvaćen od strane hirurga. Kao kod bilo kog pletenog šava, upotreba pogodne apsorbabilne prevlake radi poboljšavanja rukovanja šavom i formiranja čvora, predstavlja podrazumevanu osobinu apsorbabilnih pletenica. Radi minimizovanja rizika infekcije i povlačenja tkiva, koji se nekad dešavaju upotrebom pletenih šavova, komercijalizovana su tri tipa monofilamentnih apsorbabilnih šavova karakterisanih niskim modulom: polidioksanoni, i kopolimeri glikolida sa kaprolaktonom, ili trimetilen ugljenikom.

Pletenice neapsorbabilne grupe šavova prave se od svile (prirodni protein), najlona i polietilen tereftalata (PET), a koriste kao pokrivni šavovi; mada su svileni šavovi zadržali široku prihvaćenost hirurga, najlonski a naročito PET-šavovi koriste se za kritične procedure u kojima su naglašene potrebe za velikom snagom i predvidivim dugotrajnim karakteristikama šava. U međuvremenu, upotreba prirodnih pamučnih šavova je konstantno opadala, zbog male snage i povremene reakcije tkiva kao na kontaminante.

Monofilamenti su važna forma neapsorbabilnih šavova i prave se uglavnom od polipropilena, najlona i nerđajućeg čelika. Polipropilenski šavovi ne samo da pokazuju željene karakteristike monofilamenata, već takođe i biološku inertnost koja se ogleda u minimalnoj reakciji tkiva u gotovo svim oblastima hirurgije; interesantna primena ovih monofilamentnih šavova je u polipropilenskim petljama za veštačka očna sočiva. Najlonski šavovi imaju slična svojstva kao i polipropilenski, izuzimajući tendenciju ka hidrolitičkoj degradaciji i otuda produžetku gubljenja mehaničke snage

nakon operacije. Nerđajući čelični šavovi izuzetno su visokog modula elastičnosti, pa se ne koriste pri oporavku mekih tkiva jer bi ih mogli porezati.

Sa izuzetkom polipropilenskih i pamučnih šavova koji se sterilizuju etilen oksidom, svi šavovi se sterilišu gama radijacijom.

**Vezne naprave.** Pleteni PET i polipropilenske tkanine zajedno se koriste kao *hirurške mreže* za zamenu stomačnog zida i pri sličnim hirurškim postupcima gde je neophodno hirurško „krpljenje“. Upletene forme i slične konstrukcije koje su napravljene od multifilamenta PAT-pređe, koriste se za *zamenu tetiva i ligamenata*. Mikroporozne pene teflona koriste se kao obloge koje pomažu vezivanje šava za meko tkivo, kao i u zamenama tetiva i ligamenata. Mikroporozna kolagenska pena koristi se u oporavku rana radi *ubrzavanja zalečenja*.

*Vezni okviri* se koriste kod privremenih ili dugotrajnih uređenja toka u cevastim tkivima. Izrađuju se od Ti, neapsorbabilnih termoplastičnih polimera poput najlona, i apsorbabilnih kopolimera laktid/glikolid i polidioksanona.

*Metalne neapsorbabilne spojnice* su uvedene 1960-ih kao jak pandan šavovima uz priličan rast primene u poslednjih dvadesetak godina (počev od zatvaranja velikih rezova do intestinalne hirurgije, minimalno-invazivne hirurgije, oftalmologije i endoskopskih procedura) a osnovne prednosti su im lakoća primena i minimalno traumiranje tkiva; metalne spojnice prave se od Ta, nerđajućeg čelika, ili TiNi-legure. Polimerne apsorbabilne spojnice od termoplastičnog laktid/glikolid kopolimera koriste se za zatvaranje kože i internih rana.

*Perkutana igla* je relativno nova forma veznih uređaja, koja je projektovana sa naročitim aplikatorom radi dovođenja igle paralelno sa osom rane, a tokom primene linearna igla stiče cik-cak oblik radi stabilizovanja privezivanja tkiva. Izrađuju se od laktid/glikolid kopolimera.

*Hirurške trake* koriste se radi minimiziranja nekroze, ožiljaka, gnojenja uboda, i slabljenja tkiva. Problemi sa hirurškim trakama su slični onima sa tradicionalnim kožnim trakama: (1) nesređene ivice rane, (2) slaba adhezija usled vlage i zaprljanih rana, i (3) kašnjenje separacije traka prilikom hematoma ili curenja rane. Veličina rane i formiranje ožiljka na koži može zavisiti od tipa napravljenog reza (tako, ukoliko je potkožni mišić u masnom tkivu isečen a gornji sloj kože zatvoren sa trakom, tada se mišić povlači što povećava oblast ožiljka i dovodi do primetnih kozmetičkih nedostataka u odnosu na zatvaranje šavom). Trake se uspešno koriste i radi prikupljanja kožne površi donora prilikom presađivanja kože.

**Tkivni adhezivi.** Konstantna tražnja za tkivnim adhezivima naročito je opravdana kod oporavka mekih tkiva uključenih u izvesne biomehaničke aktivnosti (jer takva tkiva ne mogu biti lako povezana pomoću šavova koji u kombinaciji sa pravljenjem čvorova dovode do smicajnih udara čime vrše velika mehanička oštećenja tkiva). Međutim, različita biološka okruženja oko mekih tkiva i njihova regenerativna sposobnost, čine razvoj idealnog tkivnog adheziva teškim zadatkom. Iskustva ukazuju da idealni tkivni adheziv treba (1) da vlaži i da se vezuje za tkiva, (2) da je sposoban za *on site* formiranje brzom polimerizacijom tečnog monomera bez stvaranja previše toplove ili toksičnih bioprodukata, (3) da je apsorbabilan, (4) da ne ometa normalan tok izlečenja, i (5) da je lako primenljiv tokom hirurškog

zahvata. Dva uobičajena tipa tkivnih adheziva baziraju na alkil- $\alpha$ -cianokrilatima i fibrinu; kasnije je prirodni adheziv dobijan iz fibrinogena, jedne od gradivnih komponenti krvi.

Mada je fibrin korišćen u Evropi njegova upotreba u SAD nije još dozvoljena, zbog rizika njegove kontaminacije sa hepatitisom i/ili virusima imunih bolesti. S obzirom na ograničenu mehaničku jačinu (vučna sila i modul elastičnosti su 0,1 i 0,15 MPa, respektivno), fibrin se uglavnom koristi kao zaptivna smesa, i kao susedna smesa za delikatna tkiva kao što su spojevi nerava.

U međuvremenu, dva člana cianoakrilatne familije adheziva, n-butil i izobutil-ciano-akrilati, koriste se u brojnim zemljama kao zaptivne smese i adhezivi, i kao blokirajući agensi. Oni nisu dovoljno dokazani za upotrebu u SAD zbog nedostatka dovoljno pouzdanih podataka. S obzirom na brz nivo polimerizacije i neka ograničenja u vezi lokalizacije adheziva kod posebnih hirurških zahvata, *in vivo* performanse cianoakrilata nisu naročito predvidive. Zbog male snage adhezivnih zglobova ili filmova zaptivnih smesa proizvedenih *in vivo* polimerizacijom ovih cianoakrilata, njihova primena je limitirana uglavnom na oštećena krhka tkiva kao što su gušterića, jetra, bubrezi, kao i nakon ekstenzivnog hirurškog zahvata na mekim plućnim tkivima. Uz bezbednost, centralna pažnja kod ovih alkilcianoakrialta se usmerava na zahtev za njihovom neapsorbabilnošću; otuda su brojna istraživanja usredstvena na izvesne alkoksi-alkil cianoakrilate koji mogu biti konvertovani u polimerne adhezive sa prihvatljivim apsorbabilnim profilom i reološkim svojstvima.

**Potkožni i kožni implantati.** Potreba za potkožnim (perkutanim) implantatima bila je ubrzana razvojem veštačkog bubrega i veštačkog srca, kao i potrebom za produženo injektovanje lekova i hrane. Veštačka koža je hitno potrebna kod slučajeva ozbiljnijih opekotina radi održavanja telesne temperature; permanentno zamenjivanje kože pomoću biomaterijala još uvek je veliki klinički izazov.

*Potkožni implantati.* Problem dobijanja funkcionalnog i samoodrživog interfejsa između tkiva (kože) i perkutanog implantata suštinski je važan iz sledećih razloga: prvo, iako se obavlja inicijalno povezivanje tkiva za međupovršine implantata, povezivanje ne može biti sprovedeno za duži period jer se ćelije kožnog tkiva vremenom okreću; tako urastanje epitelijuma oko, ili prerastanje preko implantata, dovodi do istisnuća ili invaginacije, respektivno; drugo, svaki otvor oko implantata koji je dovoljno veliki za mogućnost penetracije bakterija, može dovesti do infekcije čak i ako je u početku spoj između kože i implantata bio potpuno nepropusn. Nekoliko faktora je uključeno u razvoj perkutanih uređaja: (1) tip krajnje upotrebe, što može imati veze sa prenosom informacija (biopotencijali, temperatura, pritisak, nivo toka krvi) i unosom informacija (povezivanje proteze); (2) inženjerski faktori, koji se mogu odnositi na izbor materijala (polimeri, keramike, metali i kompoziti), projektne varijacije (dugme, sa ili bez prevlake, porozna ili glatka površ) i mehaničke udare (meki i tvrdi interfejs, porozni ili glatki interfejs); (3) biološki faktori, koji se odnose na nosioca implantata (čovek, pas, svinja, pas, zec, ovca) i lokaciju implantata (stomačni, ledni, podlaktica); i (4) ljudski faktori, koji se mogu ticati posthirurške nege, implantacione tehnike i estetskog izgleda.

**Kožni implantati.** Neperkutani implantati su sasvim zadovoljavajući, a neki istraživači veruju da bi hidroksiapatit mogao biti deo uspešnog pristupa: u jednoj eksperimentalnoj proveri utvrđeno je da hidroksiapatitni neperkutani uređaj ima manje epidermalno urastanje u poređenju sa silikonskom gumom kontrolne vrste u koži leđa psa (1 mm nakon 17 meseci, nasuprot 4,6 mm posle 3 meseca).

**Veštačka koža** je drugi primer neperkutanog implantata, a problemi su slični onim gore opisanim. Kod ovih materijala najveća je potreba za materijalom koji se može prilepiti za veliku (izgorelu) površinu, i tako sprečiti gubitak fluida, elektrolita, i drugih biomolekula dok se rana leči. Mada je permanentni implantat kože neophodnost, dug je put do realizacije iz istih razloga kao kod perkutanih implantata. U ovom trenutku, autografting i homografting su jedine dostupne praktične metode, mada bi i brzi rast epitelialnog sloja kultivisanih ćelija *in vitro*, sa kože spaljenog pacijenta radi pokrivanja povređene oblasti, mogao biti od praktične koristi.

**Maksilofacijalni implantati.** Postoje dva tipa maksilofacijalnih implantata: ekstraoralni i intraoralni. Do skora su vršeni pokušaji upotrebe veštačkih zamena za rekonstrukciju defektnih oblasti u gornjoj i donjoj vilici, kao i na licu. Pogodni polimerni materijali za ekstraoralne i intraoralne implantate zahtevaju: (1) slaganje boje i strukture sa onom kod pacijenta; (2) mehaničku i hemijsku stabilnost, tj. materijal ne bi trebalo da se ježi, menja boju ili iritira kožu; (3) laku fabrikaciju. Za ekstraoralne implantate trenutno se koriste kopolimeri vinil hlorida i vinil acetata (sa 5–20% acetata), polimetil-metaakrilat, silikoni i poliuretanske gume. Za intraoralne implantate najčešće se koriste metalni biomaterijali, kao što su Ta, Ti i CoCr-legure, a za meka tkiva, kao što su desni i brada, radi zarastanja se koriste polimeri poput silikonske gume i polimetil-metaakrilata.

**Ušni i očni implantati.** Implantati se mogu koristiti radi povraćanja sluha izgubljenog usled otoskleroze (nasledni poremećaj koji podrazumeva promenu u ušnim koščicama) i hronične *otitis media* (zapaljenje srednjeg uva koje može prouzrokovati delimično ili kompletno smanjenje osikularnog lanca). Postoje brojne dostupne proteze koje mogu korigovati ovaj defekt, a korišćeni materijali uključuju polimetil-metaakrilat, teflon, polietilen, silikonsku gumu, nerđajući čelik i Ta. Porozni polietilen totalno osikularnog implantata koristi se radi postizanja čvrste fiksacije pomoću urastanja tkiva, a tilt-top implantat se projektuje radi produženog urastanja tkiva u oblast osovine koja može umanjiti provođenje zvuka. Za kohlearne implantate (unutrašnjeg uva) koriste se porozni polietilen i pirolitički ugljenik.

Ušni implantati koji imaju sposobnost procesiranja govora razvijani su sa elektrodama koje stimulišu nervne ćelije unutrašnjeg uva. Kohlearni implantati takođe imaju procesor govora, koji transformiše zvučne talase u električne impulse, a oni se dalje mogu provoditi kroz spregnute spoljne i unutrašnje namotaje. Električni impulsi mogu biti prenošeni direktno pomoću perkutanih uređaja.

Očni implantati koriste se radi obnavljanja oštećene ili bolesne rožnjače i sočiva. Najčešće se kornea transplantira sa odgovarajućeg donora. Prilikom katarakte, očna sočiva postaju zamagljena i mogu biti otklonjena hirurški. Intraokularna sočiva implantiraju se hirurški, radi zamene očnih sočiva i povraćanja njihove funk-

cije, a prave se od transparentnog polimetil-metaakrilata, koji ima izvrsne optičke osobine. Infekcija i fiksacija tkiva sočiva i dalje su predmet čestog razmatranja.

**Implantati za ispunu.** Grudni implantati su tipični implantati za ispunu. Jedno vreme, uvećavanje grudi se vršilo različitim materijalima kao što su parafinski vosak i silikonski fluidi, direktnim injektovanjem, ili ugrađivanjem u gumenom balonu. Sa ovim je bilo povezano nekoliko problema, koji su uključivali progresivnu nestabilnost i napsletku gubitak originalnog oblika i strukture, kao i infekcije i bol. Jedan od ranih pokušaja povećavanja grudi bio je implantiranje sundera pravljenog od polivinil-alkohola. Međutim, meka tkiva su urastala u pore i vremenom bivala kalcifikovana, što je dovodilo do takozvanih mermernih grudi. Iako se ne preporučuje uvećavanje i zamenjivanje grudi zbog kozmetičkih razloga, razvijene su proteze za pacijente koji su bili podvrgnuti radikalnom odstranjenju dojke, ili koji imaju nesimetrične deformitete. Silikonska guma kesa ispunjena silikonskim gelom, položena na poliestersku mrežu radi dozvoljavanja tkivnog urastanja zbog fiksacije, široko je korišćena grudna proteza. Veštački penis, testisi i vagina, spadaju u istu kategoriju kao grudni implantati, i pri njihovom spravljanju se koriste silikoni koji se implantiraju više zbog fizioloških razloga nego poboljšavanja fizičkog zdravlja.

**Implantati za transfer fluida.** Implantati za transfer fluida zahtevaju se u slučajevima kao što su hidrocefalus, urinarno nezadržavanje, i hronična infekcija uva.

Hidrocefalus, uzrokovan abnormalno visokim pritiskom cerebrospinalnog fluida u mozgu, može biti tretiran izvođenjem fluida (u osnovi ultrafiltrat krvi) kroz cevčicu. Ranije skretnice imale su dva jednosmerna zalistka na svakom kraju. Međutim, najnovija Ames-ova skretnica prazni fluid u trbušnu maramicu, dok druga odvodi u krvni tok kroz desnu vratnu venu ili desnu pretkomoru srca. Jednostavija skretnica trbušne maramice pokazuje manje indikije ka infekciji.

Upotreba implantata za korekciju urinarnog sistema još nije uspešna, zbog teškoća graničenja proteze sa živim sistemom i usklađivanja njihove fluidne otpornosti; uz to, bitne stavke su i blokiranje prolaza depozitima iz urina, kao i konstantna opasnost od infekcije. Za proizvodnju ovih implantata koristi se više materijala sa ograničenim vremenskim uspehom: staklo, guma, Ag, Ta, CoCr-legura, polietilen, dakron, teflon i polivinil alkohol.

Drenovi za privremene implantate kod hronične infekcije uva, prave se od teflona.

### 23.3 PITANJA ZA REKAPITULACIJU

- 23.1 Nabrojati faze u razvoju novih biomedicinskih implantata.
- 23.2 Nabrojati minimalne zahteve koji se postavljaju pri razvoju novih biomedicinskih implantata.
- 23.3 Koji opšti zahtevi se postavljaju pri razvoju novih biomedicinskih implantata?
- 23.4 Kako se klasifikuju mekotkivni implantati?

- 23.5 Nabrojati mekotkvne implantate interagujuće sa krvlju.
- 23.6 Nabrojati mekotkvne implantate neinteragujuće sa krvlju.
- 23.7 Kako se kategorišu veštački srčani zalistci i na bazi kojih materijala se izrađuju?
- 23.8 Kako se kategorišu bioprotetski srčani zalistci?
- 23.9 Uporediti karakteristike veštačkih i bioprotetskih srčanih zalistaka.
- 23.10 Kakva je primena i ograničenja veštačkih srca?
- 23.11 Izvršiti klasifikaciju bioloških vaskularnih kalema.
- 23.12 Nabrojati materijale korišćene za sintetičke vaskularne kaleme.
- 23.13 Navesti klasifikacije šavova.
- 23.14 Koji materijali se koriste za izradu neapsorbabilnih šavova?
- 23.15 Koji materijali se koriste za izradu apsorbabilnih šavova?
- 23.16 Šta su to vezne naprave, gde se koriste i od kojih materijala se prave?
- 23.17 Šta su to tkivni adhezivi i koji materijali se koriste?
- 23.18 Šta su to potkožni i kožni implantati i gde se koriste?
- 23.19 Klasifikovati maksilofacialne implantate i navesti materijale koji se tu primenjuju.
- 23.20 Klasifikovati ušne implantate i navesti materijale koji se tu primenjuju.
- 23.21 Klasifikovati očne implantate i navesti materijale koji se tu primenjuju.
- 23.22 Kako se izrađuju implantati za veštačke grudi?
- 23.23 Izvršiti klasifikaciju implantata za transfer fluida.

## **23.4 LITERATURA**

1. K. B. Chandron, S. W. Shalaby, Soft Tissue Replacements, in J. D. Bronzino, ed., *Biomedical Engineering Handbook* (CRC & IEEE Press, 1996), Ch. 46.
2. B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons, eds., *Biomaterials Science* (Elsevier, Amsterdam, 2004).
3. D. Raković, *Osnovi biofizike* (Grosknjiga, Beograd, 1994 / 1995; IASC&IEFPG, Beograd, 2008).
4. D. Raković, S. Krstić, Lj. Turković, *Savremeni materijali i tehnologije* (Grosknjiga, Beograd, 1997).
5. D. Raković, *Fizičke osnove i karakteristike elektrotehničkih materijala* (Elektrotehnicki fakultet / Akademska misao, Beograd, 1995/1997; 2000).

# 24

## ČVRSTOTKIVNI IMPLANTATI<sup>1</sup>

Biomaterijali se široko primenjuju za uspostavljanje funkcije traumatizovanih ili degenerisanih vezivnih tkiva, čime se poboljšava kvalitet života bolesnika. U prošlosti, implantati su pravljeni uz nedovoljno poznavanje biomehanike. Shodno tome, klinički rezultati nisu bili ohrabrujući. Podstaknute istraživačke aktivnosti u vezi sa mehanikom zglobova i materijala dovele su do boljih oblika, sa boljim učinkom u *in vivo* uslovima. Dokaz je za to je dugotrajno poboljšanje uspeha totalne zamene zglobova za donje ekstremitete. Uporedo su istraživači i hirurzi razvili i sredstva za fiksaciju i za druge zglobove, uključujući veštačke intervertebralne diskove. Na raspolaganju je i veći broj osnovnih i pomoćnih sredstava za rekonstrukciju koštanog tkiva [1, 2].

### 24.1 REKONSTRUKCIJA KOSTIJU I ZGLOBNI IMPLANTATI

Glavna funkcija skeleta je da obezbedi osnov za držanje sistema organa, i da odredi smer i obim pokreta tela. Kost obezbeđuje tačku oslonca za većinu skeletnih mišića i ligamenata. Kada se mišići kontrahuju, duge kosti deluju kao poluge, sa zglobovima koji deluju kao stožeri, kako bi se telo pokretalo.

#### 24.1.1 Obnova dugih kostiju

Kost može da se regeneriše i da remodeluje svoju mikro i makro strukturu. Ovo se postiže preko osetljive ravnoteže između *osteogenog* (koji stvara kost) i *osteoklastičnog* (koji rastvara kost) procesa. Kost može da se adaptira novim mehaničkim uslovima promenom ravnoteže između osteogeneze i osteoklaze. Procesi će reagovati na promene usled statičkog ili dinamičkog naprezanja primenjenog na

<sup>1</sup>Ovo poglavlje napisali su Nenad Ignjatović, Dragan Uskoković i Miodrag Pavlović.

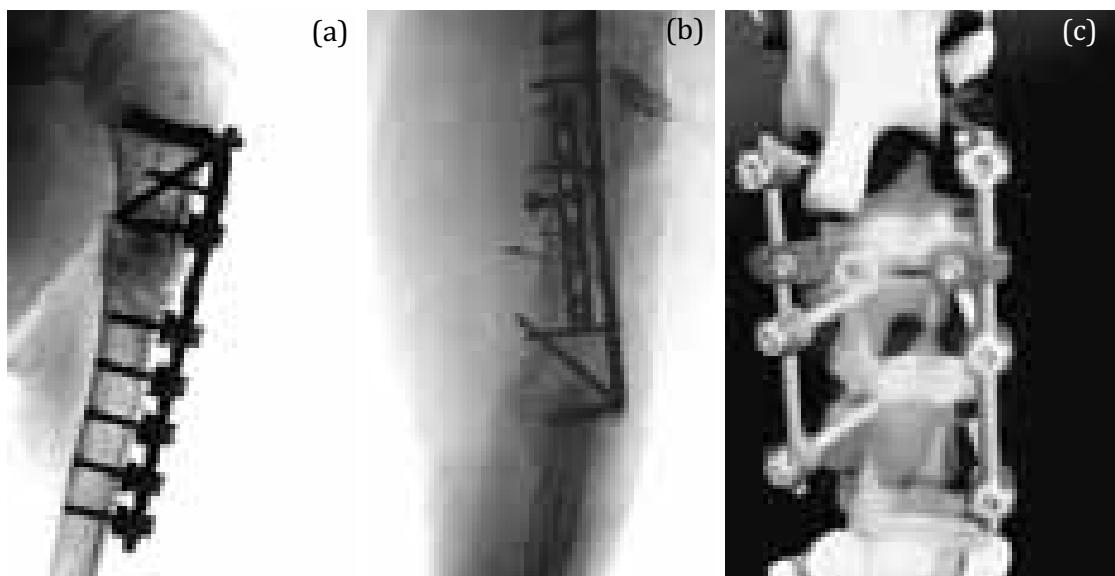
kosti; to znači da, ako se primeni mehanički napon veći nego što je fiziološki, ravnoteža se pomera više prema osteogenoj aktivnosti. I obratno, ako je primenjen manji mehanički napon, ravnoteža se pomera više prema osteoklastičnoj aktivnosti (ovo je poznato kao Volfov zakon remodelovanja kostiju) [3].

Priroda obezbeđuje različite tipove mehanizama za obnovu mesta preloma. Na primer, nekompletan prelom (naprslina) koji dozvoljava samo mikro pokrete između fragmenata na mestu preloma, zarasta sa ili bez male količine *kalusa* po liniji preloma, i to je poznato kao primarno zarastanje. Nasuprot tome, potpuni prelom koji je nestabilan i stoga dovodi do makro pokretljivosti, zarasta uz mnogo kalusa koji nastaje iz obe strane kosti, i to je poznato kao sekundarno zarastanje.

Ciljevi lečenja preloma su postizanje brzog zarastanja, uspostavljanje funkcije i očuvanje estetskog izgleda, bez opštih ili lokalnih komplikacija. Pri izboru lečenja podrazumeva se potreba da se izbegavaju moguća neadekvatna stanja, kao npr. prevelika pokretljivost između fragmenata prelomljene kosti koja može da odloži ili da spreči zarastanje kosti.

Svaki tip i svako mesto preloma dovode do jedinstvene kombinacije svojstava („ličnost preloma“) koji zahtevaju specifične metode lečenja. Lečenje može biti nehirurško i hirurško. Primeri za nehirurško lečenje su imobilizacija gipsom (ili smolom) ili plastičnim koritom. Hirurško lečenje se deli na spoljnu fiksaciju, koja ne zahteva otvaranje na mestu preloma, i na unutrašnju fiksaciju, koja zahteva otvaranje na mestu preloma.

Kod spoljne fiksacije preloma, fragmenti kostiju se drže spajanjem pomoću igala postavljenih kroz kožu u kost, koje se spolja pridržavaju prečagom. Kod unu-



*SLIKA 24.1 Radiografski snimak (rtg): (a) rekonstrukcija kostiju ruke pločicom, šrafovima i klinom, (b) primena žica, klinova, zavrtnja i pločica u rekonstrukciji koštanih delova, (c) rekonstrukcija pršljenova šrafovima i intramedularnim implantatima [4]*

trašnje fiksacije preloma, fragmenti kostiju se drže pomoću žica, zavrtnja, pločica i/ ili intramedularnim sredstvima. Na Sl. 24.1 prikazana je rekonstrukcija dugih kostiju kao i rekonstrukcija kičmenih pršljenova uz pomoć čvrstotkivnih implantata. U zavisnosti od vrste defekta i primenjene tehnike rekonstrukcije može se sresti širok spektar različitih koncepata i primenjenih implantata. Napretkom tehnologije svakim danom ostvaruje se sve veći uspeh u kvalitetu rekonstrukcije ali i u konfornosti pacijenata tokom i nakon intervencije. Razvoj novih materijala kao i modifikacija površine, uveliko potpomažu ovaj deo nauke o biomaterijalima.

*TABELA 24.1 Primena biomaterijala za unutrašnju fiksaciju*

Materijali	Svojstva	Primena
Nerđajući čelik (316L)	Niska cena Laka izrada	Hirurška žica (nekaljena) Igla, pločica, zavrtanj IM klin
Ti legura	Visoka cena Niska gustina i modul elastičnosti Odlično srastanje kosti	Hirurška žica Pločica, zavrtanj, IM klin
CoCr legure (kovane)	Visoka cena Visoka gustina i modul elastičnosti Teška za pravljenje	Hirurška žica IM klin
PLA i PGA	Resorbabilne, mala jačina	Igla, zavrtanj
Najlon	Neresorbabilna plastika	Traka za serklažu (kružno fiksiranje)

Sva sredstva za unutrašnju fiksaciju treba da odgovaraju određenim zahtevima za biomaterijale, da budu biokompatibilna, dovoljno jaka bez ograničenja dimenzija, i da budu otporna na koroziju. Osim toga, sredstvo treba da obezbedi podesne mehaničke uslove za zarastanje preloma. Iz ove perspektive, nerđajući čelik, legure kobalta i hroma, i legure titana su najpodesnije za unutrašnju fiksaciju. Većina sredstava za unutrašnju fiksaciju ostaje u organizmu kada prelom zarasta, često izazivaju nelagodnosti i zahtevaju otklanjanje.

Od nedavno se koriste biodegradabilni polimeri, na primer polilaktid (PLA) i poliglikol (PGA) kao i njihovi kopolimeri, u lečenju preloma sa minimalnim opterećenjem preloma, i eliminisu na taj način potrebu za drugom operacijom za otklanjanje implantata. Na ovaj način povećava se ne samo konfornost pacijenta nego i uspešnost rekonstrukcije. U okviru polimera mogu se inkorporirati različiti antibiotici, što takođe smanjuje neželjene postoperativne komplikacije. Pregled osnovnih primena biomaterijala u unutrašnjoj fiksaciji prikazan je u Tabl. 24.1. Opis glavnih razloga i načina neuspeha kod unutrašnje fiksacije prikazan je u Tabl. 24.2 [2].

TABELA 24.2 Neuspeh kod sredstava za unutrašnju fiksaciju

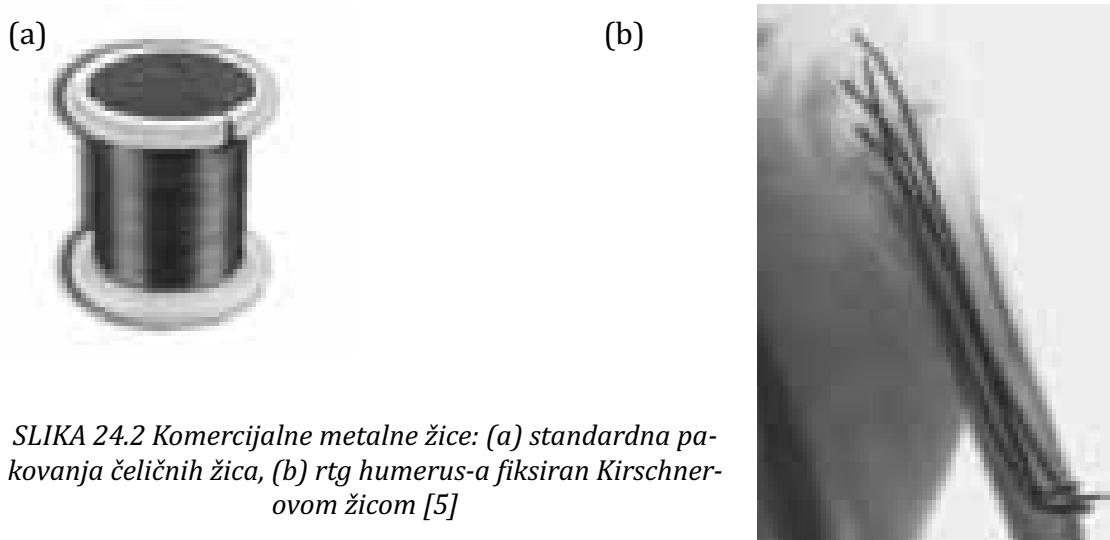
Vrsta neuspeha	Lokacija neuspeha	Razlozi neuspeha
Preopterećenje	Mesto preloma Mesto zavrtnja na implantatu Navoj zavrtnja	Mali implantat Nestabilna repozicija Rano opterećenje težinom
Zamor	Mesto preloma Mesto zavrtnja na implantatu Navoj zavrtnja	Mali implantat Nestabilna repozicija Rano opterećenje težinom Nesrastanje preloma
Korozija	Glava zavrtnja-otvor na pločici  Iskrivljena regija	Previše iskrivljen položaj Ogrebotine za vreme postavljanja Pogrešno usmeren zavrtanj  Pogrešno sačinjene legure implantata
Olabavljenje	Zavrtanj	Pokretanje Pogrešan izbor zavrtnja Osteoporotična kost

### 24.1.2 Žice

Hirurške žice se koriste da bi se spojili veliki fragmenti kostiju, kao što je veliki trohanter (na butnoj kosti), koji se često odvoji kod totalne zamene kuka. Žice se koriste i za obezbeđenje dodatne stabilnosti kod dugih, kosih ili spiralnih preloma dugih kostiju koje su već fiksirane drugim sredstvima. Slični pristupi bazirani na primeni žica primenjuju se za ponovno uspostavljanje stabilnosti kod donjeg dela vratnog dela kičme i u lumbalnom delu [2].

Urvtanje i pravljenje čvorova ne može da se izbegne kada se stavlju žice na kost; međutim, ako se to ipak uradi, može smanjiti jačinu žice za 25% ili više, usled koncentracije mehaničkog napona. Ovo može delimično da se izbegne primenom deblje žice, jer se snaga povećava tako što je direktno (upravno) proporcionalna sa kvadratom prečnika žice. Deformisane regije žice više su sklone koroziji nego nedeformisane, zbog veće sile istezanja. Da bi se smanjio ovaj problem i da bi se olakšalo baratanje za vreme operacije, većina žica je kovana da bi se povećala rastegljivost.

Upletena žica od više vlakana je privlačna alternativa, jer ima sličnu silu istezanja kao i žica od jednog vlakna jednakog prečnika, ali je fleksibilnija i ima veću otpornost na zamor. Međutim, kost često raste u žlebove žice od više vlakana, čineći da se ona veoma teško uklanja, jer to sprečava žicu da klizi pri vučenju. Kada se žica koristi sa ostalim metalnim implantatima, metalne legure treba da se podese tako da spreče koroziju. Na Sl. 24.2 prikazani su komercijalni proizvodi metalnih žica kao i njihova primena.



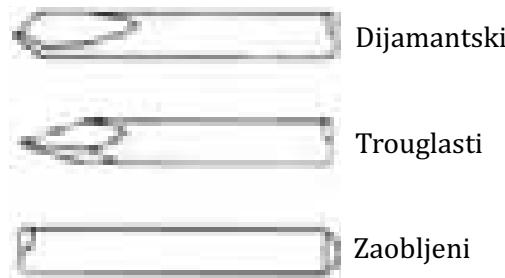
*SLIKA 24.2 Komercijalne metalne žice: (a) standardna pakovanja čeličnih žica, (b) rtg humerus-a fiksiran Kirschner-ovom žicom [5]*

### 24.1.3 Igle

Prave žice se nazivaju Steinman-igle; međutim, ako je prečnik igle manji od 2,38 mm, ona se naziva Kiršner-žica. Ove igle su u širokoj primeni, prvenstveno za držanje fragmenata kosti privremeno ili stalno zajedno, i za vođenje velikih zavrtnja za vreme postavljanja. Da bi se olakšala implantacija, igle imaju različite oblike vrha koji su optimalno podešeni za različite tipove kostiju (Sl. 24.3).

Troakarski vrh, koji ima 3 sečne površine, najefikasniji je za sečenje; pa se često koristi za korteks kosti. Snaga držanja igle proističe iz elastične deformacije okolne kosti. Da bi se povećala snaga držanja kosti, koriste se igle sa navojima. Najviše igala je napravljeno od 316L nerđajućeg čelika; međutim, nedavno su primnjene bioraspadljive igle napravljene od PLA ili PGA u lečenju preloma sa minimalnim opterećenjem.

Igle mogu da se koriste kao deo razrađenog okvira namenjenog spoljnoj fiksaciji preloma. Kod ove primene, nekoliko igala se postavi iznad i ispod preloma, ali udaljeno od njega. Pošto se fragmenti kosti ručno približe (reponiraju) kako bi ličili



*SLIKA 24.3 Vrhovi igala: kao kod dijamanta, kao za troakar, zaobljeni vrh [6]*

na neprelomljenu kost, igle se pripove za različite prečke koje će posle postavljanja obezbediti stabilnost prelomljene kosti.

#### 24.1.4 Zavrtnji

Zavrtnji su sredstva koja se najviše upotrebljavaju za fiksaciju fragmenata kostiju. Postoje dva tipa zavrtnja za kosti: (1) zavrtnji za korteks kosti, koji imaju male navoje, i (2) zavrtnji za spongioznu (sunderastu) kost, koji imaju velike navoje, kako bi se dobio veći kontakt između kosti i navoja. Zavrtnji mogu da imaju ili navoj u obliku slova V ili u obliku potpornog stuba (Sl. 24.4). Zavrtnji za korteks su dalje klasifikovani prema njihovoj sposobnosti da prodru u kost: oni sa šiljkom na vrhu i oni bez šiljka (Sl. 24.4). Zavrtnji sa šiljkom imaju sekue žljebove, koji prave pilot-otvore za vreme umetanja; nasuprot tome, zavrtnji bez vrha zahtevaju pilot-otvor koji se sužava za burgiju prilikom umetanja.

Na snagu držanja zavrtnja mogu da utiču veličina burgije-otvora, dubina postavljanja zavrtnja, spoljni prečnik zavrtnja, i kvalitet kosti. Zato izbor tipa zavrtnja treba da bude baziran na proceni kvaliteta kosti u vreme postavljanja. Pod istim uslovima, zavrtnji koji su zašiljeni imaju malo veću snagu držanja od onih bez šiljka.

Snaga izvlačenja zavrtnja varira u zavisnosti od vremena posle *in vivo* umetanja, i zavisi od rasta kosti u zavrtanj (u navoje) i/ili od resorpcije okolne kosti. Kost koja je neposredno uz zavrtanj često *nekrotizuje* na početku, ali ako je zavrtanj čvrsto pritegnut, tokom vaskularizacije može da se postigne trajna sigurna fiksacija. Ovo posebno važi za Ti-legure ili kada su zavrtnji sa grubim površinama navoja, kod kojih prerastanje kosti dovodi do povećanja uvrtanja pri vađenju. Kada je zavrtanj izložen mikro- ili makro-pokretima, kost koja je sa njim u dodiru biva zamjenjena fibroznom membranim, držanje je smanjeno, i zavrtanj labavi.



SLIKA 24.4 Zavrtnji za kosti: (a) zavrtnji sa V-navojem i šiljastim vrhom, (b) zavrtnji sa navojem u vidu potpornog stuba bez zašiljenog dela [7,8].

Dve su glavne primene zavrtnja za kosti: (1) kao sredstvo za interfragmentarnu fiksaciju, kako bi se fragmenti približili i pričvrstili zajedno, ili (2) da bi se metalna pločica pričvrstila za kost. Mini-šrafovi (malih dimenzija) imaju velikog uspeha u parodonciji kao privremeni u omogućavanju neophodne potpore prilikom primene fiksne proteze.

Interfragmentarna fiksacija koristi se kod većine preloma, kada je zahvaćena sunđerasta kost i kod kosih preloma korteksne kosti. Da bi se fragmenti kosti približili, glava zavrtnja mora da hvata koru na strani postavljanja bez zahvatanja kosti, dok navozi zahvataju sunđerastu kost (spongiozu) i/ili korteks na suprotnoj strani. Kada se zavrtnji koriste za fiksaciju pločica za kosti, navozi zavrtnja moraju da zahvate oba korteksa. Zavrtnji (obični ili kompresioni) koriste se i za fiksaciju preloma kičme [1-2].

Uopšteno analizirajući, oblik i dimenzije šrafova zavise od njihove namene. Na Sl. 24.5 prikazan je set različitih zavrtnja za primenu u fiksacijama različitih tvrdih tkiva.



*SLIKA 24.5 Set različitih šrafova, igala i klinova*

#### 24.1.5 Pločice

Postoje veoma različiti oblici pločica, i oni su namenjeni da olakšaju fiksaciju fragmenata kosti. Pločice mogu da budu veoma krute ako su namenjene primarnom zarastanju kostiju, pa sve do relativno fleksibilnih ako treba da olakšaju fiziološko opterećenje kosti.

Krutost i snaga pločice pri savijanju zavise od oblika poprečnog preseka (uglavnom debljine) i materijala od kojeg je napravljena. Prema tome, najslabiji deo pločice je otvor za zavrtanje, posebno kada je on prazan usled smanjene regije poprečnog preseka u ovom delu. Karakterizacija krutosti materijala pločice određuje se pomoću modula elastičnosti za savijanje i pomoću modula elastičnosti za uvrta-

nje. Tako će pri istim dimenzijsama pločica od Ti-legure biti manje čvrsta od pločice od nerđajućeg čelika, jer moduli elastičnosti za ove legure iznose 110 GPa odnosno 200 GPa, respektivno.

Krute pločice često štite kost ispod njih od fizioloških operećenja koja su nepotrebna za njeno zdravo stanje. Na sličan način ravne pločice koje su čvrsto pripojene uz kost sprečavaju krvne sudove da ishranjuju njene spoljne slojeve. Zbog toga je sadašnji trend na klinici da se koriste fleksibilnije pločice, kako bi se omogućili mikro-pokreti i pločice sa slabijim kontaktom (LCP) radi uspostavljanja prokrvljenosti kosti. Osnovni ciljevi ove promene su da se poveća stepen zarastanja kosti i da se smanji gubitak koštane mase u regiji pod pločicom, a kao posledica toga da se smanji nastanak ponovne frakture koja može da se javi posle vađenja pločice.

Interakcija kosti i pločice je izuzetno važna, jer njih dve čine složenu strukturu. Stabilnost kompleksa pločica-kost kao i trajnost pločice, zavise od tačne reprezicije preloma. Pločica je najotpornija pri naprezanju, i zato kada su prelomljene duge kosti pločica se stavlja duž strane kosti koja je tipično opterećena pri naprezanju. Odlično postavljanje fragmenata kostiju, kao i nastanak kompresije između njih, bitno je za održavanje stabilnosti fiksacije i sprečavanja ponavljanja savijanja i neuspeha usled zamora. Interfragmentarna kompresija stvara i trenje na površini mesta preloma, povećavajući otpor na torziono opterećenje.

Kompresija između fragmenata prelomljene kosti može da se postigne pomoću pločica posebnog tipa nazvanih *dinamičke kompresione pločice* (DCP). One imaju otvore za zavrtanje eliptičnog oblika sa dugom osom orijentisanim paralelno sa osom pločice. Otvor za zavrtanj ima rampu za klizanje do duge ose pločice. Sl. 24.6 objašnjava princip dinamičke kompresione pločice [1-2].

Pločice za kost često se oblikuju u operacionoj sali, kako bi se prilagodile nepravilnom obliku kostiju i kako bi se tako postigao maksimalan kontakt fragmenata prelomljene kosti. Međutim, veliko savijanje smanjuje trajnost pločice. Najčešći način neuspeha fiksacije pločica-zavrtanj jesu labavi zavrtnji i loša pločica. Ovaj po-



*SLIKA 24.6 Princip delovanja pločice za dinamičku kompresiju kod fiksacije preloma: za vreme stezanja, glava zavrtnja će kliziti niz rampu u otvoru pločice za zavrtanj. Ovo će pomeriti pločicu od prelomljene kosti [9]*

slednji razlog se javlja tipično preko otvora za zavrtanj, usled zamora i/ili korozije na mestima sa pukotinama.

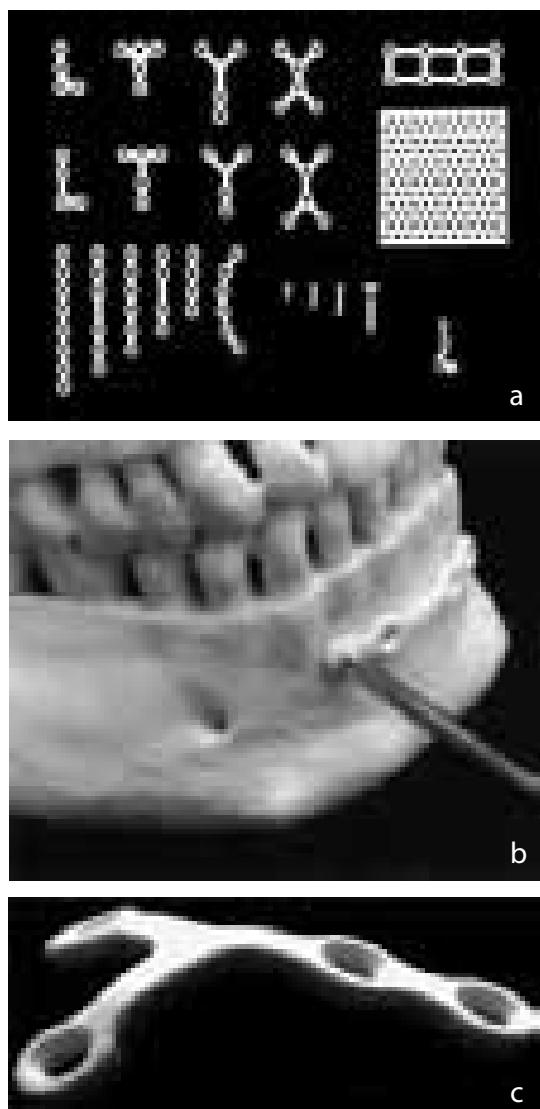
U blizini zgloba, gde je prečnik dugih kostiju veći a kortex tanji, dok ima dosta spongioze pločice se često koriste kao podupirač ili kao noseći zid. Pločica podupirač primenjuje silu na kost upravnu na površinu pločice, i sprečava smicanje ili klizanje na mjestu preloma. Pločice podupirači su oblikovane tako da odgovaraju specifičnim anatomskim lokacijama, i često uključuju i druge metode fiksacije – pored npr. zavrtanja za kortex – i spongiozu širokog prečnika ili I-šipčice.

Za spajanje tela pršljenova posle disektomije, koriste se pločice za kičmu zajedno sa koštanim kalemom. Ove pločice su spojene za tela pršljenova pomoću zavrtanja. Slični pristupi primenjuju se i u uspostavljanju stabilnosti torakolumbalnog i cervikalnog dela kičme. Krajnja upotreba pločice direktno je vezana za njenu fiksaciju sa šrafovima, tako da krajnji kvalitet rekonstrukcije zavisi i od izbora vrste, mikro-strukture, i dimenzija šrafova (v. Sl. 24.7).

Posebnu grupaciju danas zauzimaju bioresorbibilne pločice izrađene od bioresorbibilnih polimera PLA, PLG, nihovih kopolimera i sl. One se nakon projektovanog perioda resorbuju, pa ih iz tih razloga zovemo još i privremene pločice. Na Sl. 24.8 prikazani su neki od profila bioresorbibilnih pločica, koje se mogu dobiti postupcima kovanja, toplog presovanja itd. Pločica se lako oblikuje (Sl 24.8) i tokom fiksacije ostvaruje bliski kontakt sa tkivom. Vreme bioresorpcije ove vrste pločica unapred se projektuje izborom polimera, odnosa kristalinično/amorfno, molekulske mase, poroznosti, načina prerade itd.



SLIKA 24.7 Pločica od titana sa šrafovima



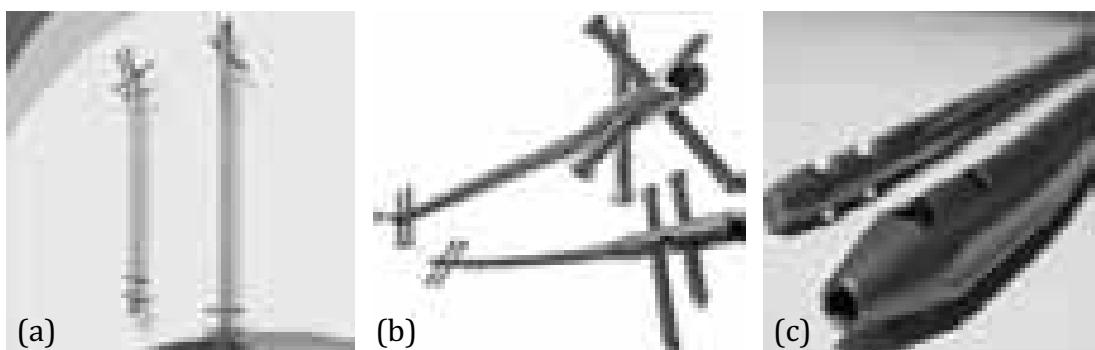
SLIKA 24.8 Bioresorbibilne (privremene) pločice: (a) vrste pločica, (b) lako savijanje tokom intervencije, (c) fiksacija mandibule [10].

### 24.1.6 Intramedularni klinovi

Intramedularna sredstva (IM klinovi) koriste se kao unutrašnji podupirači, kako bi se imobilisala kost kod preloma duge kosti. Intramedularni klinovi se koriste i za fiksaciju preloma vrata femura i intertrohanterične kosti; međutim, njihova primena zahteva dodatne zavrtnje. Na raspolaganju su veoma različiti dizajni, od punih (masivnih) do cilindričnih, oblika lista deteline, stranice dijamanta (zasečeni cilindri) itd. Sl. 24.9 prikazuje raznovrsnost intramedularnih sredstava.

U poređenju sa pločicama, IM klinovi su bolje postavljeni da bi se oduprli višesmernom savijanju, jer se oni nalaze u sredini kosti. Međutim, njihov torzionti otpor je manji od otpora pločice. Torziona čvrstoća je proporcionalna modulu elastičnosti i momentu inercije. Debljina zida klinova takođe utiče na čvrstoću. Zasečen, otvoren klin, fleksibilniji je na uvrtanje i savijanje, omogućavajući lako postavljanje u zakriviljen kanal medule, na primer femura. Međutim, kod savijanja zasek je asimetričan s obzirom na čvrstoću i snagu. Na primer, zasečen klin je najjači kada se savija tako da zasek bude blizu neutralne ravni; klin je najslabiji kada je usmeren tako da zasek bude ispod mesta tenzije.

Osim potrebe da se pruži otpor savijanju i uvrtanju, intramedularni klin kao bitno svojstvo treba da ima široku površinu kontakta sa unutrašnjim korteksom kosti, kako bi bilo omogućeno torziono opterećenje koje treba da se prenese i da se odupre putem napona smicanja. Za nastanak napona smicanja koriste se različiti koncepti: (1) kontakt u tri tačke uz visok pritisak, koji se postiže postavljanjem zakriviljenih igala, i (2) sigurno međusobno uklapanje klinova i intramedularnog kanala, kako bi se dobila jedinstvena struktura. Sigurno uklapanje može da se poboljša širenjem intramedularnog kanala narezivačem. Narezivanje omogućava širu i dužu regiju kontakta klin-kost i dozvoljava primenu šireg klinova sa povećanom čvrstoćom i snagom [1-2].



*SLIKA 24.9 Intramedularna sredstva (IM): (a) Gros-Kemp-ova, (b) Versanal-ova (Ti legura), (c) igla sa otvorima [11, 12].*

## 24.1.7 Zamena zglobova

Sposobnost zamene oštećenih zglobova protetskim implantatima donela je olakšanje milionima bolesnika, koji bi inače bili jako ograničeni u svojim najosnovnijim aktivnostima i osuđeni na život sa bolovima. Procjenjuje se da je oko 16 miliona ljudi u SAD zahvaćeno osteoartritisom, jednim od raznih stanja koja mogu da dovedu do degeneracije zglobova i zbog čega se bolesnici podvrgavaju totalnoj zameni zglobova.

Degeneracija zglobova je završna faza procesa razaranja zglobne hrskavice, koja dovodi do jakog bola, gubitka pokretljivosti, a ponekad i do ugaone deformacije ekstremiteta. Za razliku od kosti, hrskavica ima veoma ograničenu sposobnost nadoknade. Zato, kada je ona izložena teškoj mehaničkoj, hemijskoj ili metaboličkoj povredi, oštećenje je trajno i često progresivno.

U normalnim okolnostima funkcija hrskavice je da zaštiti površine dodira između kostiju, da prenese opterećenje kroz zglob, i da omogući pokrete uz malo trenje tih površina. Komplikovan način na koji se sve ovo postiže, uočljiv je na osnovu nekih mehaničkih svojstava zdrave hrskavice. Na primer, usled specifične geometrije mišića i dinamičke prirode ljudske aktivnosti, hrskavica kuka je izložena oko 8 puta većoj telesnoj težini pri brzom hodu. Tokom perioda od 10 godina, aktivna osoba može da podvrgne opterećenju hrskavicu kuka više od 17 miliona puta. Sa tačke gledišta optimalnog podmazivanja koje obezbeđuje sinovijalna tečnost, krajnje mali otpor hrskavice na trenje čini da se 15 puta lakše pomera površina suprotnog zglobova nego što se klizaljka kreće po ledu.

Hrskavica funkcioniše kao deo subhondralne kosti, koja doprinosi ublažavanju udara putem viskoeleastične deformacije njene fine trabekularne (stubičaste) strukture. Mada neki zglobovi kao što je kuk imaju unutrašnju stabilnost zahvaljujući njihovom obliku, kod većine je potrebna primena kombinacije ligamenata, meniskusa, tetiva i mišića za postizanje stabilnosti. Zbog velikih višesmernih sila koje se prostiru duž zglobova, stabilnost je dinamički proces. Receptori unutar ligamenata bivaju podstaknuti kada su ovi za vreme pokreta ispruženi, stvarajući integralnu kontrakciju mišića koja obezbeđuje stabilnost za to specifično pomeranje. Zato ligamenti nisu pasivni ograničavajući dela zglobova, kao što se nekada mislilo. Veoma velika složenost učinka visokog nivoa zglobova određuje standard koji treba da bude poštovan pri stavljanju veštačkih implantata.

Totalne zamene zglobova su stalni implantati, za razliku od onih koji se koriste za lečenje preloma, a velika količina kosti i hrskavice koja je otklonjena za vreme implantacije čini ovu proceduru nepovratnom. Zato, u slučaju neuspele proteze i nemogućnosti reimplantacije, bolesnik će biti suočen sa jako velikim skraćenjem ekstremiteta, nestabilnošću ili totalnim ukočenjem zglobova, kao i sa poteškoćama pri kretanju, a često će morati da koristi invalidska pokretna kolica.

Oblikovanje implantata za zamenu zglobova treba da se zasniva na kinematičkom i dinamičkom prenosu opterećenja karakterističnih za zglob. Svojstva materijala, oblik i primenjen metod fiksacije implantata kod određenog bolesnika određuju karakteristike prenošenja opterećenja. Ovo je jedan od najvažnijih elemenata

koji određuje dugotrajno preživljavanje implantata, jer kost na promene reaguje remodelovanjem pri prenosu opterećenja, što je već spomenuto u Volfovom zakonu. Preopterećenje mesta dodira implantat-kost ili sprečavanje prenošenja opterećenja, može da dovede do resorpcije kosti i kao posledica toga do olabavljenja implantata. Uzglobljujuće površine zglobova treba da funkcionišu uz minimalno trenje, i da dovedu do stvaranja najmanje otpadnih materijala. Implantat treba da se pouzdano fiksira za telo što je pre moguće (idealno neposredno posle implantacije); međutim, vađenje implantata ne treba da zahteva uništavanje velike količine okolnih tkiva. Gubitak tkiva, posebno kosti, čini reimplantaciju teškom i često skraćuje vek trajanja druge zamene zglobova.

*TABELA 24.3 Biomaterijali za totalnu zamenu kuka*

Materijali	Primena	Svojstva
CoCr-legura (livena ili kovana)	Podloga, glava (lopta), Čašica, porozni omotač, Metalna podloga za UHMWPE	Teška, tvrda, Velika otpornost na habanje Kruta
Ti-legura	Podloga, porozni omotač, Metalna podloga za UHMWPE	Mala krutost Slaba otpornost na habanje
cpTi	Porozni omotač	Odlično srastanje kostiju
HAp	Površinski omotač	Brzo zarastanje kostiju Lomljiva
Alumina	Glava, čašica	Tvrda, lomljiva, Velika otpornost na habanje
Cirkonija	Glava	Teške i velike tvrdoće Velika otpornost na habanje
UHMWPE	Čašica, plato tibije	Malo trenje Mali otpor pri pomeranju
PMMA	Fiksacija koštanim cementom	Lomljiv, slab na istezanju, Slaba jačina prizamoru

Napomena: Podloga – podloga za kuk butne kosti/podloga za kondil kolena; glava – glava femuralne podloge kuka; čašica – čašica acetabuluma kuka.

Decenije osnovnih kliničkih eksperimenata, dovele su do velikog broja oblika proteza kao i do kombinacija materijala (Tabl. 24.3 i 24.4) [2]. U sledećem odeljku biće raspravljano na konceptualnom nivou o najrelevantnijim dostignućima u metodama fiksacije i oblikovanja proteza za različite zglobove. Većina zglobova može da bude delimično zamjenjena (hemiarthroplastika), tj. rekonstruisana samo jedna strana zglobova, dok je druga zadržana. Ovo je indikovano u određenim slučajevima kada nije došlo do globalne degeneracije zglobova. Ovde ćemo se usredosrediti na totalnu zamenu zglobova, jer ona omogućava širu diskusiju o upotrebljenim biomaterijalima.

TABELA 24.4 Tipovi totalne zamene zgloba

Zglob	Tipovi
Kuk	Lopta i podloga
Koleno	Sa šarkom, površinska zamena (1-2 elementa), samoograničavajući
Rame	Lopta i podloga
Skočni zglob	Površinska zamena
Lakat	Sa šarkom, površinska zamena, samoograničavajuća površina
Ručni zglob	Lopta i podloga, popunjač prostora
Prst	Popunjač prostora, sa šarkom

#### 24.1.8 Metode fiksacije implantata

Razvoj mehanizma stalne fiksacije implantata za kost bio je jedan od iza-zova u evoluciji zamene zgloba. Postoje tri tipa fiksacije: (1) pomoću mehaničkog uklapanja, koje se postiže podešavanjem implantata pritiskom korišćenjem polimetil-metakrilata kao agensa za malterisanje, ili korišćenjem komponenata sa navojima; (2) pomoću biološke fiksacije, koja se postiže primenom poroznih površina sa odgovarajućom teksturom koje omogućavaju da kost raste u međuprostoru; (3) putem direktnog hemijskog vezivanja implantata i kosti, na primer oblaganjem implantata kalcijum-hidroksiapatitom koji ima mineralnu strukturu sličnu kosti. Nedavno je zapaženo direktno vezivanje biostakla za kost kao i staklo-keramike putem selektivnog rastvaranja površinskog filma.

Svaki mehanizam fiksacije ima sopstveno ponašanje i svoje karakteristike prenosa opterećenja, kao što su i mehanizmi neuspeha različiti. Dalja složenost nastaje usled proteza koje kombinuju dva ili više mehanizama fiksacije, u različitim regijama implantata. Višestruki mehanizmi fiksacije koriste se radi prilagođenja prenosa opterećenja zahtevima različitih regija kosti, u naporu da se sačuva koštana masa. Olabavljenje, nedostatak uklapanja, ili razdvajanje implantata od kosti, čine neke od najvažnijih mehanizama neuspele proteze [1,2].

**Fiksacija koštanim cementom.** Fiksacija implantata polimetil-metakrilatom (koštanim cementom) obezbeđuje neposrednu stabilnost, koja omogućava bolesniku da odmah nosi svu svoju težinu na ekstremitetu. Nasuprot tome, implantati koji zavise od urastanja kosti zahtevaju da bolesnik čeka oko 12 nedelja, kako bi mogao da nosi svoju celokupnu težinu.

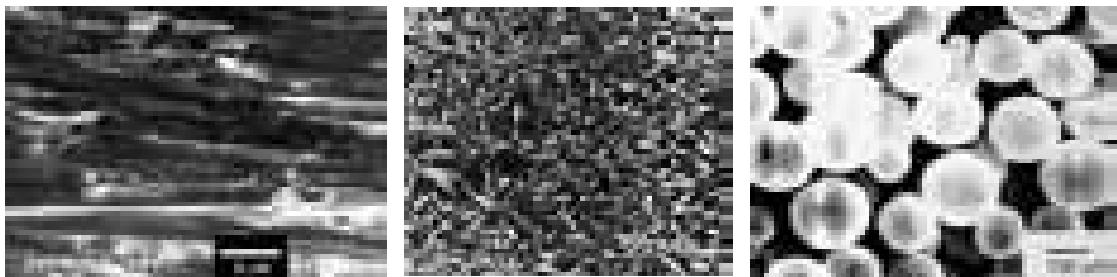
Koštani cement deluje kao malterišući materijal; zato njegova snaga držanja zavisi od sposobnosti da prodre između trabekula kosti za vreme stajanja proteze. Pošto je to viskoelastični polimer, on ima sposobnost da deluje kao ublaživač šoka. On omogućava da se opterećenja ravnomerno prenose između implantata i kosti, smanjujući lokalizovani veliki kontaktni napon.

Fiksacija koštanim cementom dovodi do dodira kosti i cementa i cementa sa implantatom, te tako može da dođe do olabavljenja na oba mesta. Mehanizam koji poboljšava stabilnost mesta dodira metala i cementa još uvek je polje kontroverzi u zameni zglobova. Neki istraživači su usredsredili svoje napore na poboljšanje veze između metala i cementa modifikacijom površine implantata ili njegovim oblaganjem polimetil-metakrilatom, kako bi se sprečilo propadanje proteze u omotaču i cirkulacija otpadaka na mestu spoja. Nasuprot tome, drugi poliraju površine implantata kako bi favorizovali oblike u vidu klini koji podstiču uranjanje proteze u omotač, da bi se koristila viskoelestična deformacija omotača putem opterećenja cementa pri kompresiji.

Problemi sa mestom dodira kost-cement mogu da nastanu zbog unutrašnjih faktora, kao što su svojstva polimetil-metakrilata i kosti, kao i spoljnih faktora po put tehnike cementiranja. Usavršavanje tehnike cementiranja, kao što je pulsna lavaža (ispiranje) medularnog kanala, optimalna hemostaza spongioze i sušenje medularnog kanala, kao i umetanje proteze pod pritiskom, može da rezultira mestom dodira cementa i kosti bez praznog prostora između njih, uz maksimalnu isprepletenuost sa spongizom. I pored optimalne tehnike cementiranja, može da se javi fina fibrozna membrana u regiji mesta dodira usled različitih faktora, na primer usled toksičnog dejstva monomera metil-metakrilata, da dođe do nekroze kosti koja nastaje usled visokih temperatura pri polimerizaciji, ili do devaskularizacije za vreme pripreme kanala. Mada u dobro funkcionišućem implantatu može da postoji fibrozna membrana između mesta dodira kosti i cementa, ona može tokom vremena da se poveća i u širinu (najverovatnije kao rezultat nakupljanja otpadaka polietilena ova dva dela), što može da dovede do makro-pokreta, gubitka kosti i eventualnog olabavljenja. Konačno, sam cement može da se poboljša mešanjem monomera i polimera u vakuumskim uslovima i/ili centrifugiranjem. Za vreme implantacije koriste se različita sredstva, kako bi bila garantovana jednoobrazna debljina omotača da bi se smanjio rizik od lošeg cementa usled zamora. Polimetil-metakrilat je podložan starenju, što može da predstavlja problem uspešnosti njegove primene nakon određenog vremena.

**Fiksacija poroznim urastanjem.** Urastanje kosti može da se javi kod biokompatibilnih implantata, koji obezbeđuju pore veće od 75 µm u prečniku, što je veličina potrebna da se smesti jedan osteon. Optimalna veličina pore kreće se u kliničkoj praksi od 100-350 µm. Pokretanje implantata inhibiše urastanje kosti, tako da širok razmak kost-metal povećava ili sprečava *osteointegraciju* koja treba da se obavi pravovremeno. Zato je za fiksaciju implantata potrebna precizna hirurška implementacija, kao i prevencija postoperativnog opterećenja težinom tokom 12 nedelja.

Porozni obloženi implantati zahtevaju aktivno učešće kosti pri fiksaciji implantata, za razliku od cementiranja gde kost ima pasivnu ulogu. Zato su porozni obloženi implantati najbolji za stanja kada je koštana masa skoro normalna. Oblik implantata treba da obezbedi da urasla kost bude podvrgnuta stalnom opterećenju u okviru fizioloških granica, kako bi se sprečio gubitak koštane mase usled zaštite od napona. Proteze sa poroznim urastanjem veoma su poznate po teškom vađenju i često dolazi do znatnog oštećenja kosti za vreme vađenja. Zbog toga one treba da



*SLIKA 24.10 SEM površine tri različita tipa poroznog omotača dobijenih: (a) poliranjem, (b) livenjem, i (c) sprej pirolitičkim postupkom.*

budu optimalno podešene, tako da obezbeđuju predvidivo urastanje sa minimalnim delom hirurški dostupne porozne obložene površine.

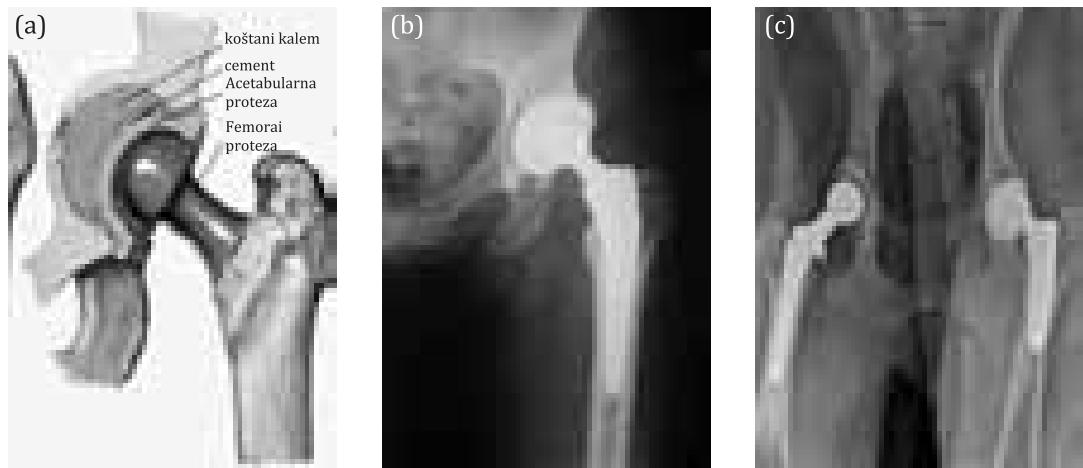
Komercijalno čist Ti i Ti-legura u kombinaciji sa bioaktivnom prevlakom kalcijum hidroksiapatita (HAp), mogu omogućiti vrlo uspešnu fiksaciju. Sa titanom se mogu postići tri različita tipa poroznosti: (1) brušenjem, (2) livenjem, ili (3) oblaganjem sferama na površini implantata (Sl. 24.10). Termalna obrada može da oslabi donji metal (implantat). Problemi mogu da nastanu i usled delaminacije porozne podloge, jer olabavljene čestice metala mogu da dovedu do habanja i migracije u mesto uzglobljenja.

#### 24.1.9 Totalne zamene zglobova

##### Zamena zgloba kuka

Proteza za totalnu zamenu kuka sastoje se od femurske i acetabularne komponente. Femurska osnova se deli na glavu, vrat, i telo. Femurska osnova je napravljena od Ti- ili CoCr-legure (316L nerđajući čelik je ranije korišćen), i fiksirana je u izdubljeni medularni kanal cementiranjem ili podešavanjem pritiskanjem. Glava femura je napravljena od CoCr-legure, alumine ili cirkonijuma. Mada glave od Ti-legure funkcionišu dobro pod čistim uslovima uzglobljenja, one se više ne upotrebljavaju zbog slabe otpornosti na habanje trećeg tela. Na Sl. 24.11a prikazan je poprečni presek veštačkog zgloba kuka, na Sl. 24.11b rendgenski snimak nakon implantirane proteze (na kojem se uočavaju sve njene komponente: femurska osnova sa glavom, vratom i telom), a na Sl. 24.11c rendgenski snimak posle zamene oba kuka.

Proteze mogu da budu monolitne (kada se sastoje od jednog dela) ili modularne (kada se sastoje od dva ili više delova i kada je potrebno njihovo sklapanje za vreme operacije). Monolitne komponente su često jeftinije i manje su sklene koroziji ili rastavljanju. Međutim, modularne komponente omogućavaju podešavanje implantata intraoperativno i tokom budućih hirurških revizija, na primer podešava-



*SLIKA 24.11 Veštački kuk: (a) izgled zgloba nakon implantacije, (b) rendgenski snimak nakon rekonstrukcije, i (c) rendgenski snimak nakon zamene oba kuka [13]*

nje dužine ekstremiteta korišćenjem različitih dužina vrata femura pošto je osnova zacementirana u mestu, ili kod zamena pohabane polietilenske noseće površine novom bez vađenja metalnog dela proteze iz kosti. Kod modularnih implantata glava femura je podešena prema njegovom vratu pomoću Morse-šiljka, koji omogućava zamene materijala glave i njenog prečnika, kao i dužine vrata. Tabl. 24.5 ilustruje najčešće korišćene kombinacije materijala kod totalne zamene kuka [2].

*Tabela 24.5 Moguće kombinacije za totalnu zamenu kuka*

Femoralna komponenta			Acetabularna komponenta		
Fiksacija	Podloga	Lopta	Čašica	Podloga	Fiksacija
PMMA	CoCr-legure	CoCr-legure	CoCr-legure	Metal	PMMA
Urastanje kosti	Ti-legura	Alumina Cirkonija	UHMWPE	Nijedan	Urastanje kosti
Press fitting					Press fitting

Kada je acetabularna komponenta monolitna, ona je napravljena od polietilena ultra visoke molekularne težine (UHMWPE); kada je ona modularna, sastoji se od metalne školjke i UHMWPE umetka. Za metalnu školjku potrebno je smanjenje mikrodeformacije UHMWPE i obezbeđenje porozne površine za fiksaciju kapice. Metalna školjka omogućava da se pohabane polietilenske postave promene. U slučajevima ponavljanja iščašenja kuka posle operacije, metalna školjka omogućava zamenu stare postave drugom ograničenijom, kako bi se obezbedila dodatna stabilnost. Veliki napor se ulaže u razvoj efikasnih sistema za držanje umetka, kao i za maksimalno podudaranje umetka i metalne školjke. Pomeranje umetka dovodi do iščašenja kuka i oštećenja glave femura, jer se ona direktno dodiruje sa metalnom

školjkom. Mikro-pokreti između umetka i školjke dovode do dodatnog stvaranja polietilenskih otpadaka, koji eventualno mogu da doprinesu gubitku kosti.

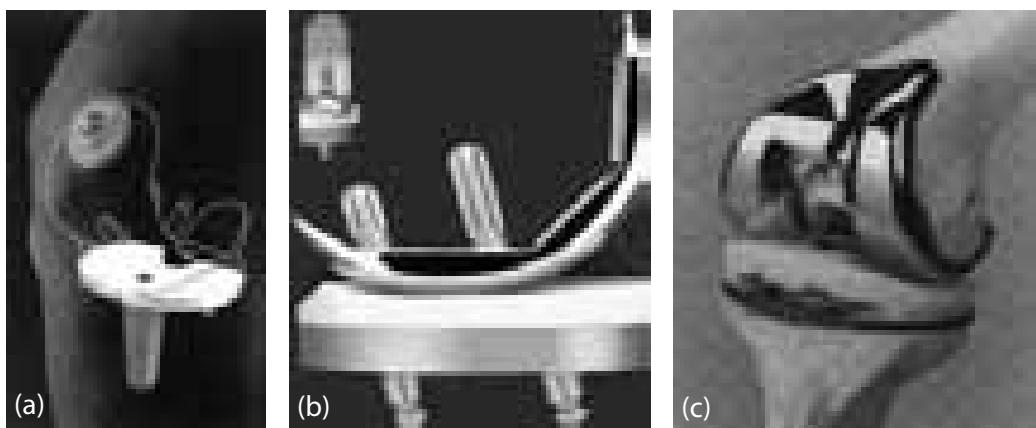
Zglob kuka ima jabučicu i njeno ležište, i zasniva svoju stabilnost na usklađenosti implantata, karličnih mišića i kapsule. Komponente protetskog kuka su podešene tako da optimalno obezbeđuju širok obim pokreta, bez oštećenja vrata proteze po ivici acetabulumske kapice, da bi se sprečilo iščašenje. Karakteristike oblika moraju da omoguće da implantati podupiru opterećenja, koja mogu da budu veća i do 8 puta od telesne težine. Ispravna dužina vrata femura i pravilno postavljanje centra pokreta visine femura, smanjuje napon usled savijanja na mestu dodira proteze i kosti. Visoka koncentracija napona ili pak sprečavanje napona, može da doveđe do resorpcije kosti oko implantata. Na primer, ako je podloga femura oblikovana sa oštrim uglavima (u vidu stranica dijamanta na poprečnom preseku), kost koja je u kontaktu sa uglavima implantata može da nekrotizuje ili da bude resorbovana.

Trpljenje težine i pokreti proteze dovode do stvaranja otpadaka usled habanja površine uzglobljenja i dodirnih površina, tamo gde postoje mikro-pokreti. Glavni izvor habanja pod normalnim uslovima je noseća površina od UHMWPE u kapici. Pri svakom koraku stvara se nekoliko stotina hiljada čestica, i veliki procenat njih je manji od jednog mikrona. Ćelije imunskog sistema domaćina mogu da identifikuju polietilenske čestice kao strane i započnu složen zapaljenjski odgovor (v. Gl. 4). Ovaj odgovor može da dovede do brzog žarišnog gubitka kosti (osteoliza), resorpcije kosti, olabavljenja i/ili preloma. U toku su brojni naporci da se modifikuju svojstva materijala UHMWPE, da se očvrsne i poboljša konačna površina glave femura i da se razviju drugi parovi koji nose težinu, na primer keramika-keramika i metal-metal.

**Zamena kolenog zgloba.** Proteza za totalnu zamenu kolena sastoji se od femoralne, tibijalne i/ili patelarne komponente. U poređenju sa kukom, koleno ima komplikovaniju geometriju i biomehaniku pokreta, a nema unutrašnju stabilnost. Kod zdravog kolena centar pokreta se kontroliše geometrijom ligamenata. Kada se koleno pokreće, ligamenti rotiraju na njihovim pripojima za kosti, a centar pokreta se takođe pomera. Ekscentričan pokret kolena pomaže da se opterećenje rasporedi preko cele površine zgloba.

Proteze za totalnu zamenu kolena mogu da se podele prema stepenu u kojem se oslanjaju na ligamente za stabilnost. Ograničene proteze imaju uzglobljenje sa šarkom, sa fiksiranom osom rotacije i indikovani su kada su svi ligamenti odsutni, na primer kod rekonstruktivnih procedura kod operacije tumora poluograničene proteze kontrolišu zadnje pomeranje tibije na femuru i medijalno-lateralnu angulaciju kolena, ali se oslanjaju na preostale ligamente i kapsulu zgloba da bi se obezbedio ostanak ograničenja. Poluograničene proteze često se koriste kod bolesnika sa teškim ugaonim deformacijama ekstremiteta ili kod onih kod kojih mora da se uradi reviziona operacija, jer kada se razvila umerena nestabilnost ligamenata neograničeni implantati obezbeđuju minimalno ili nikakvo ograničenje. Na Sl. 24.12 prikazana je geometrija proteze sa fibularnim delom koji predstavlja oslonac.

Kako se stepen ograničenja povećava kod zamene kolena, tako se povećava potreba da se koriste femoralne i tibijalne intramedularne proteze sa većim ekstenzijama, jer se opterećenja koja normalno dele ligamenti tada prenose na mesto



*SLIKA 24.12 Veštački zglob: (a) geometrija rekonstrukcije,  
(b) profil komercijalne proteze, (c) fiksirana proteza za femur i fibulu [14-16]*

dodira proteze i kosti. Kompletne zamene za koleno mogu da se ostvare uz primenu cementa ili bez njega. Femoralne komponente se obično prave od CoCr- ili Ti-legure, a tibijalna komponenta od UHMWPE. Kod modularnih komponenti tibijalna polietilenska komponenta se sklapa na metalni tibijalni ravni deo. Patelarna komponenta se pravi od UHMWPE, a metalna podloga sa zadnje strane se dodaje na komponentu oblikovanu za upotrebu bez cementa.

Karakteristike habanja površine tibijalnog platoa razlikuju se od acetabularnih komponenti. Napon pri kontaktu u jednoj tački i klizajući pokret komponenti dovode do delaminacije (odvajanja slojeva) i habanja usled zamora UHMWPE. Verovatno je zbog relativno veće veličine čestica otpadaka polietilena, osteoliza oko zamenjenog celog kolenog zgloba ređa nego kod totalne zamene kuka.

Relativno mala veličina paternalne komponente u poređenju sa silama koje putuju kroz ekstenzorni mehanizam, kao i mala površina kosti raspoložive za učvršćenje proteze, čine patelu ranjivom.

**Zamena skočnog zgloba.** Totalna zamena skočnog zgloba nije toliko uspešna kao zamena kuka i kolena, i ona obično olabavi posle nekoliko godina. Ovo se uglavnom dešava zbog velikih zahteva pri prenošenju opterećenja preko relativno male površine skočnog zgloba, što dovodi do potrebe da se zamene 3 površine koje se uzglobljavaju (tibijalna, talusna, i fibularna). Konfiguracije zgloba koje se koriste su cilindrične, obrnuto cilindrične, i sferne. Materijali koji se koriste za konstrukciju skočnih zglobova obično su do sada bile CoCr-legura i UHMWPE. Sl. 24.13 prikazuje rendgen zgloba nakon zamene i fiksacije sa šrafovima. Degeneracija skočnog zgloba se često leči fuzijom zgloba, jer se smatra da su proteze za totalnu zamenu skočnog zgloba u početnoj fazi razvoja.

**Zamena ramenog zgloba.** Proteze za totalnu zamenu ramenog zgloba stoje se od humerusne i glenoidne komponente. Kao i kod osnove femura, humerosna komponenta može da se podeli na glavu, vrat, i telo. Varijacije u dužini vrata

dovode do promene u dužini ekstremiteta. Međutim, pošto bolesnikova percepcija dužine gornjeg ekstremiteta nije tako precizna kao donjeg, koriste se različite dužine kako bi se izvršilo fino podešavanje napetosti mekih tkiva, da bi se dobila maksimalna stabilnost i obim pokreta.

Rame ima najveći obim pokreta u ljudskom organizmu kao rezultat plitke jabučice i zgloba u koji naleže, kako bi se omogućila kombinacija rotacije i pokreti klizanja između zglobnih površina. Kako bi se postigao kompromis pri kompenzaciji zgloba, postoji razrađena kapsula i ligamentoza struktura koja obezbeđuje osnovnu stabilizaciju ramena; takođe i mišićni pojas ramena obezbeđuje dodatnu dinamičku stabilnost. Smanjenje poluprečnika krivine implantata, kako bi se izvršila kompenzacija zbog nestabilnosti mekih tkiva, dovešće do smanjenja obima pokreta. Kod mlađih pacijenata može se izvršiti rekonstrukcija dela zgloba (Sl. 24.14b) dok se kod svih ostalih rekonstrukcija može primeniti kompletan zamenu zgloba konceptima sličnim kao kod rekonstrukcije kuka (Sl. 24.14c).

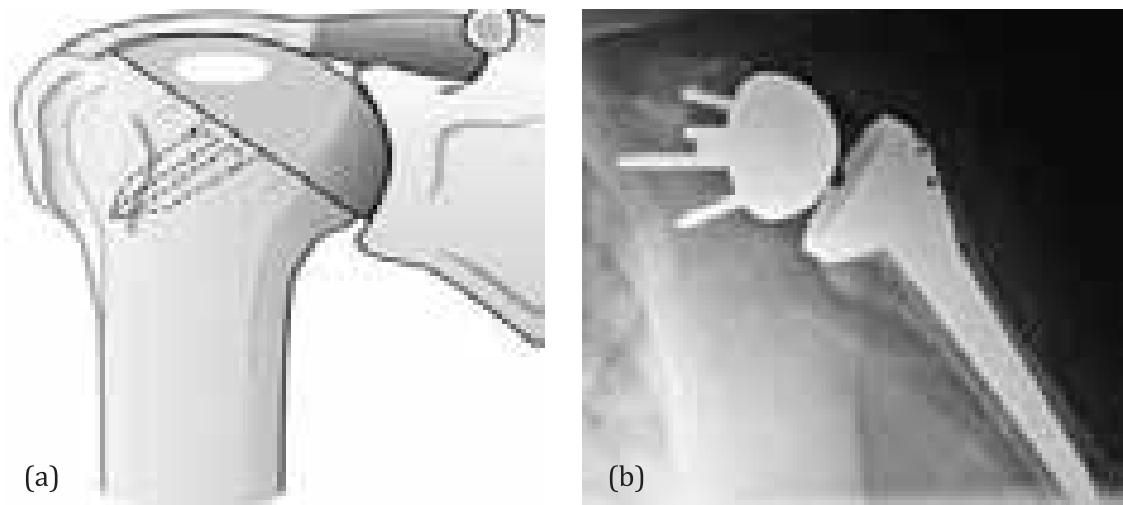
**Zamena lakatnog zgloba.** Zglob lakta je tip zgloba sa šarkom, koji dozvoljava uglavnom fleksiju (savijanje) i ekstenziju (ispružanje), ali može da vrši i policentrične pokrete. Implantati za zglob lakta su sa šarkom, poluograničeni ili neograničeni. Ovi implantati, kao i oni za skočni zglob, imaju visok procenat neuspeha i nisu u čestoj upotrebi. Veliki procenat olabavljenja rezultat je visokih momenata rotacije kosti za fiksaciju, kao i minimalne potpore od strane ligamenata. Za razliku od fuzije skočnog zgloba koji tada funkcioniše dobro, fuzija zgloba lakta dovodi do umerenog stepena invalidnosti [1,2].

**Zamena zglobova prstiju.** Zamene zglobova prstiju podeljeni su u tri tipa: sa šarkom, policentrični, i sa popunjačem prostora. U najširoj upotrebi su oni tipa popunjača prostora. Oni su napravljeni od silikonske gume visokog učinka (polimetilsilosan), i stabilizacija se vrši pasivnim metodom fiksacije. Ovaj metod zavisi od razvoja tanke, fibrozne membrane između implantata i kosti. Ovakva fiksacija može da obezbedi samo minimalnu čvrstoću zgloba. Habanje implantata i brzo punjenje tečnošću, koje se povezuje sa cističnim promenama u susednoj kosti, prikazani su kod silikonskih implantata. Danas su široko u upotrebi implantati i od polikarbona (ugljeničnih vlakana) (Sl. 24.15b).

**Protetski intervertebralni diskus.** Spajanje segmenta za pokretanje kičme (Sl. 24.1c), kod degenerativne bolesti diskusa, povećava ukrućenost preko stabilizovanog segmenta i napon na nivou susedne regije. Rezultati rekonstrukcije kičme nisu predvidljivi. Ona može da dovede do dalje degeneracije na nivou okolnih regija, kao i do drugih komplikacija. Da bi se smanjila suprotna dejstva negativnih procesa, razvijene su veštačke proteze diskusa po



SLIKA 24.13 Rendgen skočnog zgloba nakon rekonstrukcije [17]

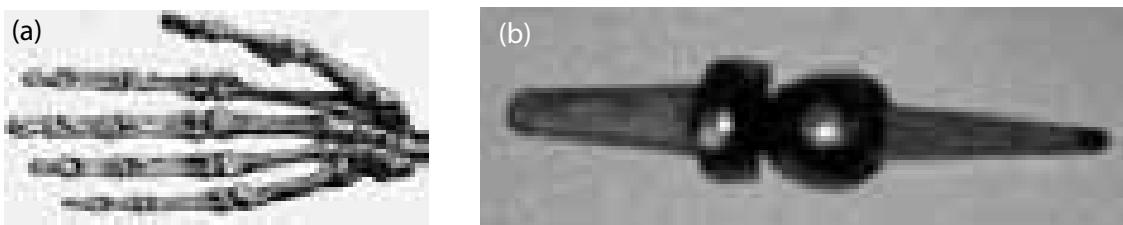


*SLIKA 24.14 Rameni zglob (a) Global CAP implantat od Co-Cr legure,  
(b) rendgen nakon totalne zamene ramenog zgloba [18]*

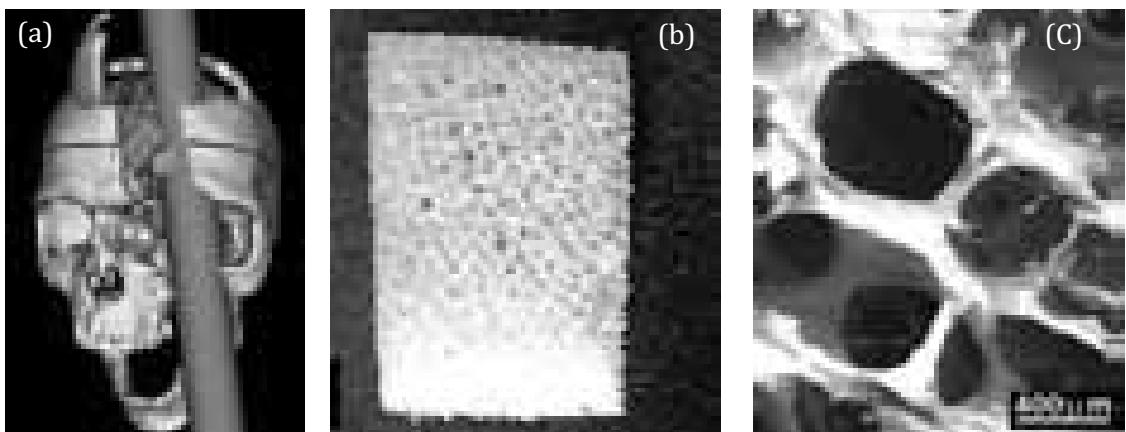
koncepciju slične zamenama za totalnu zamenu zglobova, prikazanim u predhodnim odeljcima. Ovi oblici, mada napravljeni za decu, variraju od savitljivih polimernih umetaka do oblika sa loptom i ležištem i oblikom tipa šarke [1,2].

**Rekonstrukcija kostiju lobanje.** Zbog važnosti mehaničke a time i funkcionalne zaštite centralnog nervnog sistema, svaki defekat koštanog tkiva lobanje (Sl. 24.16a) predstavlja prioritetu rekonstrukcije. Generalno, materijali za rekonstrukciju kostiju lobanje mogu biti sintetski i prirodni. Od sintetskih, poznati su implantati ili ploče izrađene od metala (Ti i Ti-legura), polimera (polipropilen itd), keramika (HAp) i kompozita. Od prirodnih, najčešće se prave različiti oblici (u zavisnosti od oblika defekta) od koštanih profila deproteinizovane kosti životinjskog porekla.

Današnji trend predstavljaju porozni blokovi koji omogućavaju proliferaciju novog tkiva, a samim tim i normalizaciju nastalog stresa. Na Sl. 24.16b,c prikazan je porozni koštani kalem od deproteinizovane kosti humanog porekla.



*SLIKA 24.15 Anatomija zglobova prstiju: (a) svi zglobovi šake  
(b) polikarbonski zglob prsta [19].*



*Slika 24.16 (a) Defekt kostiju glave, (b) Genoks kalem, (c) porozna mikrostruktura kalema [20]*

Dosadašnju poteškoću pričinjavali su različiti faktori koji su potencijalno zaostajali od domaćina u profilima. Na takav način bi novi domaćin nasledio potencijalne negativne činoce, koji bi mogli negativno da utiču na njegovo celokupno zdravstveno stanje. Danas se sintetskim putem dobijaju porozni blokovi od kalcijumfosfatne keramike ili kompozita, koji se mogu uspešno upotrebiti u rekonstrukcijama većih koštanih gubitaka kostiju glave. Određeni faktori rasta ili antibiotici mogu se inkorporirati u okviru polimerne komponente i tako obezbediti uspešnost primene.

## 24.2 STOMATOLOŠKI IMPLANTATI: ODNOS SVOJSTAVA MATERIJALA I BIOFUNKCIONALNIH SVOJSTAVA

Pošto su stomatološki implantati postali prihvaćeni način lečenja za delimično ili potpuno bezube bolesnike, postalo je očigledno da je interakcija tkiva domaćina sa površinom implantata od važnosti za dugotrajnu prognozu. Sa anatom-ske tačke gledišta prihvaćeno je da stomatološki implantati moraju da imaju bliski kontakt i da se integrišu sa nekoliko tipova tkiva domaćina. Uveliko zahvaljujući radu Branemarka i njegovih saradnika, shvata se važnost razvijanja i održavanja dovoljnog prostora dodirivanja kost-implantat za mehaničko držanje i prenošenje sile okluzije. Uprkos dokumentovanom uspehu dugotrajnih stomatoloških implantata, zapaženi su neuspesi upravo kod ovih implantata usled slabe integracije vezivnog i epitelnog tkiva, zbog čega se kao posledica javlja permukozno zatvaranje slično onom kod prirodnih struktura zuba. Sa biološke tačke gledišta, treba još sa-gledati karakteristike supstrata implantata, koje dozvoljavaju integraciju mekog i tvrdog tkiva i sprečavaju adheziju bakterija i plaka. Verovatno je da što više budu poznati i potpuno shvaćeni osnovni biološki odgovori tkiva domaćina, poboljšanja

u primjenjenim materijalima kao i novi materijali postaće raspoloživi za primenu u oblasti stomatološke implantologije. Važno je shvatiti da ukupna biološka reakcija tkiva domaćina na stomatološke implantate može da se podeli na dve različite međusobno povezane faze (kao što je prikazano u Tabl. 24.6) [2].

*Tabela 24.6 Odnos kliničkih faza ponašanja implantata i bioloških reakcija prema važnim karakteristikama materijala za implantate*

Klinička faza	Biološka reakcija	Svojstva uticajnih materijala
I (zarastanje)	Naslage proteina Pripojene ćelije Migracija ćelija Razvoj vanćelijskog matriksa Naslage kosti	Izbor materijala Metali Keramika Hemisika i fizička svojstva Topografija Mikro Makro Promene na površini Inertne Rastvaranje
II (funkcionalna)	Ponovno oblikovanje kosti i matriksa	

Faza I se sastoji od reakcije tkiva koja se javlja za vreme faze kliničkog zaranjanja neposredno posle implantacije stomatološkog implantata. Za vreme ove faze zarastanja, početni biološki procesi deponovanja proteina i molekula na površinu implantata, praćeni su pripajanjem ćelija, njihovom migracijom, i diferencijacijom. Zato je važno da se razumeju svojstva materijala za implantate, koji utiču na početno stvaranje odnosa tkivo domaćina-implantat. Ovi zahtevi uključuju izbor materijala i projektovana fizička i hemijska svojstva površine implantata. Početne reakcije tkiva dovode do ekspresije ćelija i sazrevanja vanćelijskog matriksa, i obavezno do povećanja interakcija kosti sa materijalom implantata. Kada se završi faza zarastanja implantata, obično između 3-6 meseci prema dvofaznom dizajnu implantata po Branemarku, mesto dodira na kosti se remodeluje pod uticajem okluzionih sila, koje deluju na implantat za vreme funkcionalnog perioda Faze II. Ukupni biološki odgovori uključujući remodelovanje kosti za vreme funkcionalne faze trajanja implantata, tada su pod jakim uticajem karakteristika opterećenja i raspodele napona kod mesta dodira. Tako se aktivnost mesta dodira 'remodeluje' kada je implantat izložen naponu, što u velikoj meri zavisi od prvobitnog stepena interakcije mesta dodira tkivo-implantat. Danas se u početnim fazama koriste različite barijer-membrane, koje se implantiraju zajedno sa implantatom a u cilju uspešnijeg procesa zarastanja. U tu svrhu koriste se bionerosorbibilne, a u novije vreme i bioresorbibilne membrane. Membrane predstavljaju barijeru između implantata i okolnog tkiva, ali samo u određenim fazama zarastanja.

## 24.2.1 Efekti izbora materijala

**Metali i legure.** Nekada su stomatološki implantati bili izrađivani od nekoliko kombinacija metala, uključujući i nerđajući čelik i CoCr-legure, kao i Ti i Ti-legure. Poznato je više studija o sposobnosti koštanog tkiva domaćina da se 'integriše' sa različitim površinama metalnih implantata. U sadašnjim paradigmama izraz *osteointegracija* se odnosi na sposobnost tkiva domaćina da formiraju funkcionalni odnos sa implantatom i njegovim površinama, bez umetnutog sloja vezivnog tkiva sličnog kapsuli tkiva stranog tela, koja može da se vidi na nivou optičkog mikroskopa. Pomoću ove definicije, postaje očigledno da nekoliko biomaterijala uključujući Ti i Ti-legure ispunjavaju ovaj opšti kriterijum. Ispitivanja fine strukture, korišćenjem transmisionog elektronskog mikroskopa (TEM) ili mikroskopa atomskih sila (AFM), dalje su poboljšala opise odnosa tkiva i implantata, a rani rad Albrektsona i saradnika postao je opisni standard sa kojim se porede drugi materijali za mesto dodira. Kada je kosti omogućeno da raste na titanu, došlo je do depozita delimično kalcifikovane amorfne supstance kod mesta neposrednog kontakta sa implantatom, zatim kolagenog ekstraćelijskog matriksa na bazi fibrila, nastavaka osteoblasta, kao i visoko kalcifikovanog matriksa uglavnom 20-30 nm iz površine implantata.

*Tabela 24.7 Približna mehanička svojstva pri sobnoj temperaturi izabranih materijala za implantate u poređenju sa kostima*

	Modul elastičnosti (1000*MPa)	Ograničenje veličine (MPa)	Najveća snaga pri istezanju (MPa)	Procentualno izduženje (%)
316LSS kaljene hladna obrada	200	240	550	50
	200	790	965	20
CoCrMo (ASTM-F75)	240	500	700	10
Ti (ASTM-F67)	100	520	620	18
Ti-6A1-4V (ASTM-F136)	110	840	900	12
Korteksna kost	18	130	140	1

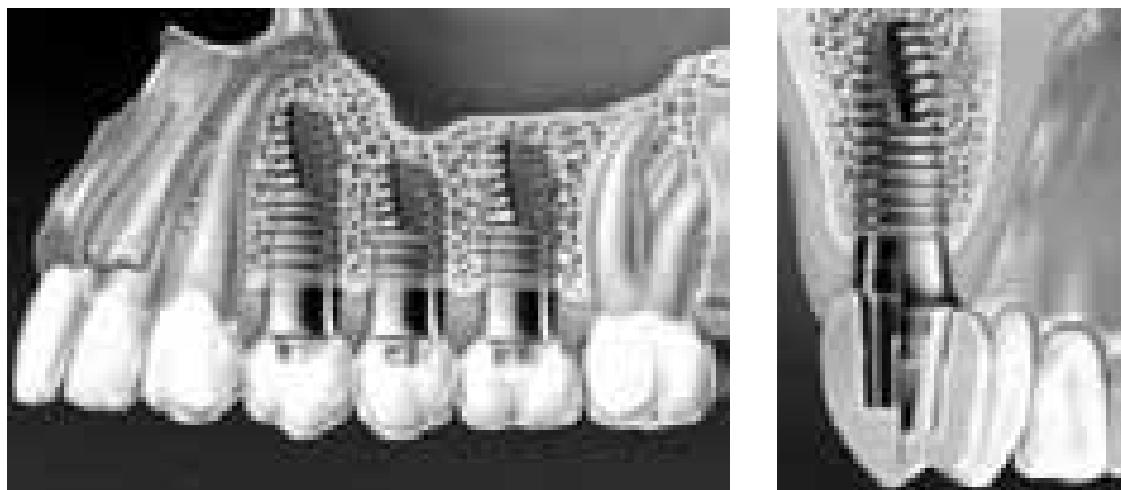
Međutim, drugi metalni materijali su isključeni iz kombinacije za upotrebu kao stomatološki implantati, zbog različitih mehaničkih svojstava u poređenju sa kostima (Tabl. 24.7) [2], što može da dovede do pojave nazvane *zaštita od napona* i do sklonosti ka formiranju potencijalno toksičnih produkata korozije usled svojstava nedovoljne otpornosti na koroziju. Što se tiče fine strukture, mesto dodira između kosti i nerđajućeg čelika 316L opisano je sastavom od višećelijskog sloja koji odvaja kost od metala. Zapaljenske ćelije preovlađuju u ovom sloju, a postoji i debeli proteoglikanski nekolageni omotač. Ovaj histološki izgled liči na onaj kod reakcije uobičajene za strano telo i tipičan je za neosteointegracioni tip odgovora. Loš biološki odgovor na legure nerđajućeg čelika ponovo je potvrđen nedavno izve-

denim *in vitro* studijama, koje su povezale nesposobnost tkiva domaćina da se veže za površinu metala, sa toksičnošću koja se povezuje sa otpuštanjem jona metala.

Na Sl. 24.17 prikazan je izgled gornje vilice koja je nakon insercije zuba, ne samo estetski nego i funkcionalno, rekonstruisana sa zubnim implantatima. Sl. 24.17b prikazuje poprečni presek jednog implantata ugrađenog u vilicu.

Zahvaljujući u velikoj meri uvođenju i ukupnom kliničkom uspehu Brane-mark-sistema, broj metalnih materijala koji se koristi za stomatološke implantate postao je ograničen uglavnom na komercijalno čisti Ti ( $\text{cpTi} > 99.5\%$ ) i njegovu leguru Ti-6Al-4V. Kontroverze ostaju uglavnom zbog komercijalnih reklamnih interesa kao što je: koji materijal obezbeđuje podesniju površinu za spajanje tkiva itd. Rani rad Johansona i saradnika ukazuje da površine Ti-legure sa hrapavim omotačem daju široke (500 nm) *amorfne zone* siromašne kolagenskim vlaknima, u poređenju sa tanjom 20-40 nm amorfnom zonom bez kolagena oko površina cpTi. Sledeće studije su otkrile razlike u svojstvima oksida između ovih površina cpTi i Ti-legura sa hrapavim omotačem, koje se koriste za histološke analize i analize fine strukture mesta dodira. Znatno zagađenje površine zapaženo je na površini Ti legure, što je dovelo do celokupne izbrazdanosti dodira kosti i metala u poređenju sa površinom cpTi, koja je imala kompaktniji deo kosti koji se dodiruje sa metalom.

Studije koje podrazumevaju sveobuhvatne analize pripremljenih komercijalno čistog cpTi i Ti-legura, ukazale su na to da su (mada je oksid na Ti-leguri nešto deblji posle priprema standardnih površina (poliranje, čišćenje i pasivizacija)) ukupna topografija, hemijska svojstva uključujući prisustvo i koncentraciju kontaminirajućih materijala, kao i energetika površine, bile ustvari identične za oba materijala kako je to prikazano u Tabl. 24.8. *In vitro* eksperimenti su potvrdili da čistoća oksida značajno utiče na pripajanje ćelija osteoblasta kao i njihovu migraciju, i obezbeđuje odgovarajuću površinu kako bi se omogućila pojava procesa *in vitro* mineralizacije.



*Slika 24.17 Estetska i funkcionalna primena zubnih implantata (a) rekonstrukcija zuba gornje vilice, (b) poprečni presek ugrađenog implantata [21]*

*Tabela 24.8 Karakteristike površina cpTi i Ti-legura (srednja vrednost +/- standardna devijacija)*

	cpTi	Ti-6Al-4V
Grubost površine (Ra) ( $\mu\text{m}$ )		
peščani mlaz	0.9 +/- 0.2	0.7 +/- 0.03
600 grit polir	0.2 +/- 0.02	0.1 +/- 0.02
glatka, polir od 1 $\mu\text{m}$	0.04 +/- 0.01	0.03 +/- 0.01
Atomski odnosi prema Ti		
C	1.5 +/- 0.2	1.2 +/- 0.1
O	2.8 +/- 0.1	3.1 +/- 0.2
N	0.08 +/- 0.01	0.05 +/- 0.01
Al	-	0.2 +/- 0.04
V*	-	(0.02)*
Debljina oksida (A)	32 +/- 8	83 +/- 12
Uglovi kvašenja ( $^{\circ}$ )	52 +/- 2	56 +/- 4

*In vitro* eksperimenti osmišljeni da se analiziraju detalji fine strukture mesta dodira kost-implantata, napravljen od cpTi i Ti-legure, mogu da obezbede dodatna razrešenja kao što su histološke i razlike fine strukture koje su posmatrane kod ovih materijala. Pošto su klinički implantati napravljeni od oba materijala izgleda neuspešni, moguće je da zbog razlike u mehaničkim svojstvima između nelegiranog materijala i Ti-legure, dugotrajnije mesto dodira rezultira u razliku u remodelovanju kosti usled lokalnog biomehaničkog okruženja ovih materijala.

**Keramika i keramičke prevlake.** Upotreba  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -keramičkih implantata ostala je važna komponenta u oblasti stomatološke implantologije. Morfološke analize dodira mekih tkiva sa  $\text{Al}_2\text{O}_3$  otkrile su pripoj hemidezmozomalne spoljne lamine, neposredno uz mesto dodira spojni epitel-implantat. Ovaj opis fine strukture često se koristi za potrebe poređenja, kada se određuje obim interakcije mekog tkiva sa stomatološkim implantatom. Na sličan način *in vivo* studije mesta dodira kosti i  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -implantata, otkrivaju visoke nivoe kontakta kosti za implantat, sa regijama umetnutog fibroznog vezivnog tkiva. Mada je vezivno tkivo prisutno na mestu dodira, implantat je ostao nepokretan, a samo mesto dodira je bilo usaglašeno sa dinamičkim potpornim sistemom. Novije studije strukture su pokazale mineralizovan matriks u neposrednoj apoziciji u odnosu na  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -implantate, koji je sličan onom opisanom za Ti-implantate.

Poboljšanje odgovora tkiva na mestima dodira sa stomatološkim implantima, ostvaruje se oblaganjem metalnih implantata sa tankim slojevima ili prevlakama od kalcijum-fosfatnih (CP) materijala. Upotreba ove klase materijala bazirana je na pretpostavci da prirodnija površina koja je HAp ili neki drugi CP, može da deluje kao podloga za poboljšan odgovor kosti-osteointegracija i na taj način minimalizuje dugotrajne periode zarastanja, koji su sada potrebni za neobložene metalne implantate. Tehnike depozicije tankih slojeva i prevlaka su brojne, a trenutno najpopularnije su CVD, MOCVD, dip-coating i dr. Brojna *in vivo* ispitivanja jasno su

pokazala da prevlake od CP mogu da poboljšaju odgovor kosti na mestu dodira sa implantatom, a samim tim smanje neophodno vreme srašćivanja. Brojni faktori utiču na svojstva prevlake, od kojih su najvažniji debljina prevlake, poroznost, čvrstoća u međusloju keramika-metal itd.

#### 24.2.2 Efekti svojstava materijala

**Površinska topografija.** Pojam *površinska topografija* odnosi se na teksturu površine i to na mikronivou. Na ovom mikroskopskom nivou bazirane su bliske interakcije ćelije i tkiva, koje dovode do osteointegracije (zarastanje kosti). Hronološki prvo su se pojavili glatki implantati, da bi kasnije oni ustupili mesto hrapavijim implantatima. Oštре ivice implantata izazivaju inflamatorne procese, tako da se danas proizvode implantati sa oblijim ivicama. Na Sl. 24.18 prikazane su neke vrste danas prisutnih implantata na tržištu.

Dejstvo površinske topografije tokom *in vitro* i *in vivo* istraživanja, jeste polje intenzivnih studija poslednjih godina. Krajnji cilj ovih studija je da se identificuje površinska topografija koja imitira prirodne supstrate, kako bi se omogućila integracija tkiva i poboljšala klinička fiksacija implantata. Što se tiče pripajanja ćelija, dosadašnja *in vitro* istraživanja ustanovila su da su nivoi kratkotrajnog pripaja ćelija osteoblasta bili viši na grubim u poređenju sa glatkim površinama, i da je morfologija ćelije bila u direktnoj vezi sa prirodnom osnovnog supstrata. U mnogim slučajevima posle početnog pripajanja, ćelije različitog porekla preuzimaju morfologiju osnovnog supstrata. Povećana ali limitirana hrapavost površine koja se postiže tehnikama kao što je peskiranje, ili pak grubim poliranjem, obezbedila je izbrazdanost neophodnu za optimalno ponašanje ćelija. Istraživanja pokušavaju da povežu prirodu površine implantata sa morfologijom ćelije, unutrašnjom organizacijom njenog citoskeleta, i



Slika 24.18 Primeri različitih oblika zubnih implantata u tekućoj upotrebi, koji ilustruju različitost makroskopske topografije koje se koriste kako bi se podstakao rast tkiva [22]

razvojem vanćelijskog matriksa. Dosadašnja istraživanja ukazuju na to da površine sa mikro-teksturom (preko mikro-podešavanja ili drugih tehnika), mogu da pomognu da se usaglasi aktivnost ćelije i osteoblastne mineralizacije pomoću nekoliko mehanizama, uključujući pravu orientaciju vlakana kolagena i obliku ćelije i polarnosti. Ovaj koncept se vezuje sa teorijom o *vođenju kontakta* i uverenjem da će oblik površine diktirati diferencijaciju ćelije putem ekspresije gena.

Očigledno je da makroskopska kao i mikroskopska topografija mogu da utiču na diferencijaciju osteoblasta i na mineralizaciju. Na osnovu ovih koncepata, sadašnji oblici implantata imaju mikrotopografski ogrubljene površine sa mikroskop-skim žljebovima, linijama ili poroznim površinama, kako bi se obezbedilo dovoljno urastanje kosti za mehaničku stabilizaciju i prevenciju štetnih mikropokreta.

### **24.3 PITANJA ZA REKAPITULACIJU**

- 24.1 Šta je neophodno da bi se izvršila obnova dugih kostiju?
- 24.2 Kako se ostvaruje fiksacija implantata?
- 24.3 Koji se humani zglobovi mogu zameniti i kako?
- 24.4 Nabroj i objasni sve delove veštačkog kuka.
- 24.5 Koje vrste pločica postoje i koja je razlika između njih?
- 24.6 Koji su razlozi korišćenja poroznih implantata u rekonstrukcijama defekata kostiju lobanje?
- 24.7 Kod kojih implanata je procenat neuspeha veliki i zašto?
- 24.8 Na koji način se može smanjiti vreme srašćivanja zubnog implantata?
- 24.9 Objasniti značaj površinske topologije zubnih implantata.

### **24.4 LITERATURA**

1. *Biomaterials, An Introduction*, J. Park, R. Lakes (ed.) (Plenum Press, New York, London, 1992).
2. *Handbook of Biomedical Engineering*, M. Bronzino (ed.) (CRC Press, 1995)
3. *The Law of Bone Remodeling*, J. Wolff (ed.) (Springer, Berlin, 1986.)
4. D. Ring, J. Jupiter, *Ununited Fractures of the Humerus: Techniques for Enhancing the Fixation of Osteopenic Bone* (Massachusetts General Hospital, 2006), interna publikacija
5. *Old Shanker Nagar* (New Delhi, 2004), interna brošura
6. *Key Surgical Inc.* (Eden Prairie, MN, 2006), interna brošura
7. *Narang Medical Limited* (Naraina Ph-I, New Delhi, 2002), interna brošura
8. *HMP Industries* (Ansonia, 2000), interna brošura
9. *Synthes Ltd 20* (Welwyn Garden City, 2007), interna brošura

10. *TAKIRON Co., Medical products* (Osteotrans Mix, 2006), interna brošura
11. *Grosse & Kempf Nailing System* (Stryker, 2006), interna brošura
12. *Johnson & Johnson* (DePuy, 2007), interna brošura
13. *Hosmat Joint Replacement Center* (Hosmat Hospital, India, 2007), interna brošura.
14. R. P. Grelsamer, Unicompartmental osteoarthritis of the knee. *Journal of Bone and Joint Surgery-American* 77 (1995) 278-292
15. T. S. Thornhill, R D. Scott, Unicompartmental total knee arthroplasty. *Orthopaedic Clinics of North America*. 20 (1989) 245-256
16. *Hosmat Joint Replacement Center* (Hosmat Hospital, India, 2007), interna brošura.
17. *Bcs Foot & Ankle Clinic* (St Paul's Hospital, Vancouver, 2007), interna brošura
18. *DePuy Orthopaedics* (Johnson&Johnson Company, 2006), interna brošura
19. *St Anthony's Hospital* (North Cheam, Surrey, 2007), interna publikacija
20. L. Vieira Marins, T. Mary Cestari, A. Dotto Sottovia, J. Mauro Granjeiro, R. Taga, Radiographic and histological study of perennial bone defect repair in rat calvaria after treatment with blocks of porous bovine organic graft material, *Journal of Applied Oral Science*, 12 (2004) 1-10
21. *Dental Implants Thailand* (Dental Implants Center, Bangkok, Thailand, 2007), interna brošura
22. *RESTORE* (External Hex Dental Implants Systems), 2006, interna brošura



**PERSPEKTIVE  
BIOMATERIJALA I  
TEHNOLOGIJA**

..... ➤

**D E O**





---

## TEHNOLOGIJA IMOBILIZACIJE ĆELIJA: PRAKTIČNI ASPEKTI<sup>1</sup>

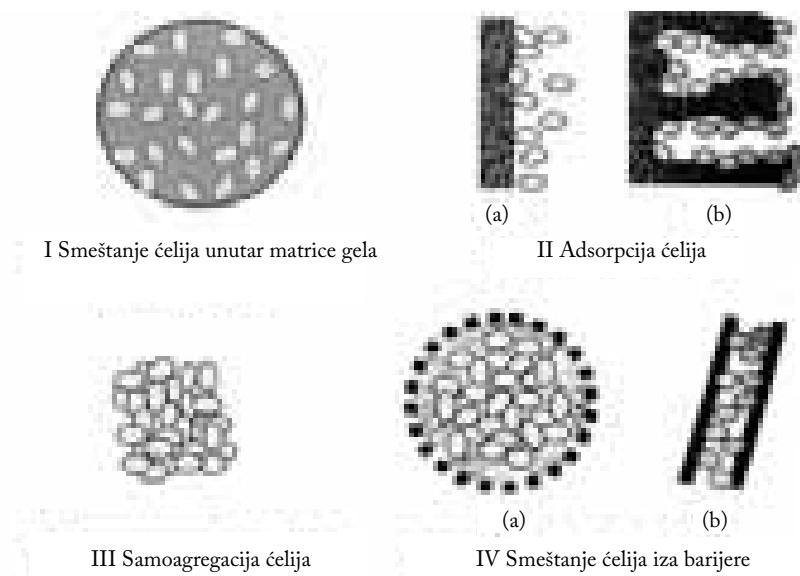
Imobilizacija ćelija predstavlja postupak kojim ćelije mikroorganizama, fizičkim ili hemijskim putem, bivaju pričvršćene za površinu ili smeštene unutar strukture određenog nosača. Imobilizacijom ćelija ne dolazi do gubitka njihove viabilnosti i katalitičke aktivnosti, a moguće je ostvariti visoku koncentraciju katalitički aktivne biomase u bioreaktoru, kao i intiman kontakt između ćelija i okolnog medijuma, što omogućava postizanje visoke produktivnosti reaktorskog sistema. Osnovna prednost imobilisanih ćelijskih sistema u odnosu na konvencionalne suspendovane ćelijske sisteme, jeste u tome što se kontinualni procesi mogu izvoditi bez rizika da će doći do ispiranja ćelija, a takođe imobilizacijom ćelija se postiže efikasna zaštita ćelija od mehaničkih i drugih uticaja, što je neophodno u procesima u kojima učestvuju vrlo osetljive ćelije sisara, insekata, biljaka [1]. Danas se imobilisani sistemi koriste za izvođenje čitavog spektra različitih procesa u oblasti proizvodnje hrane i aditiva [2–4], fermentisanih pića [5–7], aminokiselina, organskih kiselina, hemikalija [8], farmaceutskih proizvoda [9], zaštite životne sredine [10], kao i u oblasti medicine. Reaktorski sistemi sa imobilisanim ćelijama omogućili su razvoj kako bioloških procesa, tako i opreme koja ima i svoje specifičnosti u odnosu na reaktore koji se koriste za konvencionalne biotehnološke procese [11]. Imobilizaciona tehnologija dobija sve veći značaj u biomedicini i inženjerstvu tkiva i organa, kao što su pankreas [12], koža [13], jetra [14], krvni sudovi [15], hrskavica [16], srce [17].

### 25.1 METODE IMOBILIZACIJE ĆELIJA

Opsežna istraživanja koja se sprovode poslednjih decenija pružila su mnoštvo opcija za imobilizaciju ćelija, a sve metode imobilizacije mogu se svrstati u četiri osnovne grupe (Sl. 25.1):

---

<sup>1</sup>Ovo poglavlje napisali su Branko Bugarski, Bojana Obradović i Verica Manojlović.



*Slika 25.1 Metode imobilizacije ćelija*

- smeštanje ćelija unutar matrice polimernog nosača;
- adsorpcija ćelija;
- samoagregacija ćelija;
- smeštanje ćelija u ili iza barijere [18].

### ***Smeštanje ćelija unutar matrice nosača***

Imobilizacija ćelija ovim postupkom izvodi se mešanjem suspenzija ćelija sa rastvorom polimera i njihovim dispergovanjem (ukapavanjem/ekstruzijom ili emulzifikacijom) u vidu kapljica, koje se zatim podvrgavaju procesu očvršćavanja. U slučaju ekstruzionih metoda suspenzija ćelija i polimera se propušta kroz iglu, kapilaru ili mlaznicu formirajući kapljice, koje se prihvataju u rastvoru u kome se odvija proces očvršćavanja (želiranje). Na ovaj način se dobijaju sferne gel-čestice u čijoj se matrici nalaze imobilisane ćelije (Sl. 25.1.I.). U slučaju emulzifikacije vrši se dispergovanje tečne faze, koju čini suspenzija ćelija i polimera u organskoj fazi, dajući emulziju tipa 'voda u ulju'. Dispergovane tečne kapljice se, zatim, podvrgavaju procesu očvršćavanja, putem hlađenja ili dodavanjem želirajućih agenasa.

Formirana matrica gela treba da bude dovoljno porozna da kroz nju mogu nesmetano da difunduju supstrat i proizvodi metabolizma ćelija, a da ćelije istovremeno budu zadržane unutar nje. Ovim postupkom je moguće postići visoku koncentraciju katalitički aktivnih ćelija po jedinici mase nosača, zbog čega je sama metoda jedna od najšire primenjivanih. Osnovni nedostaci ovog postupka su relativno mala mehanička otpornost dobijenih čestica i problemi vezani za pojavu otpora prenosa mase. Pri ovom postupku imobilizacije, najčešće korišćeni nosači su polisaharidne prirode, na primer alginat, polivinil alkohol, agar, pektin, hitozan, zatim proteinske materije (kolagen, želatin) i epoksi smole.

### **Adsorpcija**

**Adsorpcija** je najblaža metoda imobilizacije ćelija. Zasniva se na stvaranju slabih privlačnih sila između ćelija i inertnih nosača. Veze koje se stvaraju najčešće su kombinacija van der Valsovih, vodoničnih, jonskih i drugih nespecifičnih veza. Ovo je ujedno i najjednostavniji i najekonomičniji postupak vezivanja ćelija za čvrsti nosač. Nosači koji se koriste za ovaj tip imobilizacije mogu se podeliti u dve grupe:

1. materijali u čijoj se strukturi nalaze pore malih dimenzija koje ne dozvoljavaju penetraciju mikroorganizama unutar nosača, te stoga vezuju ćelije samo za svoju površinu (Sl. 25.1.IIa);
2. nosači sa dovoljno velikim porama koje dozvoljavaju adsorpciju ćelija ne samo po površini, već i unutar strukture nosača (Sl. 25.1.IIb).

Kao nosači za ovu vrstu imobilizacije može biti upotrebljen čitav spektar različitih materijala, koji se mogu svrstati u sledeće grupe:

**Materijali neorganskog porekla**, kao što su različiti metali, oksidi metala, diatomejska zemlja, silicijumoksid, staklo, staklena vuna, sinterovano porozno staklo, Rašingovi prstenovi, keramika, porozne keramičke čestice, glina, zeolit, porozna cigla;

**Materijali organskog porekla**, kao što su drvena strugotina, celuloza i njeni derivati (dietilaminoetil (DEAE) celuloza), prirodni sunđeri, aktivni ugalj, pamučna vlakna, različite jonoizmenjivačke smole, plastični materijali, polikarbonat, poliestri, želatin, agar, dekstran i drugi.

Nedostatak ove metode je nemogućnost postizanja visoke koncentracije ćelija (pogotovo u poređenju sa koncentracijama koje se postižu imobilizacijom u matrici gela). S druge strane, pri ovoj metodi imobilizacije postižu se manji otpori difuziji nutrijenata ka imobilisanim ćelijama, jer nema dodatnog otpora difuziji između ćelija i fermentišućeg medijuma kojeg stvara gel struktura u slučaju imobilizacije u matrici gela. Još jedna dobra osobina ove metode jeste mogućnost regeneracije i ponovnog (višestrukog) korišćenja nosača. Jačina kojom se ćelije vezuju za određeni nosač zavisi, kako od vrste ćelija koje se imobilišu, tako od vrste i strukture nosača.

S obzirom da su ćelije u direktnom kontaktu sa supstratom, bez postojanja bilo kakve barijere između ćelija i supstrata, pri primeni u konkretnom procesu može doći do značajnog spiranja ćelija sa nosača i prelaska u fermentišući medijum. Ova karakteristika je nepoželjna, naročito u kontinualnim procesima u kojima je potrebno da efluent ne sadrži ćelije. Drugi faktori koji takođe mogu uticati na jačinu veze između ćelija i nosača i pojačati desorpciju ćelija, jesu promena pH medijuma tokom trajanja procesa, promena temperature, mešanja faza unutar sistema, kao i pojava abrazije izazvana bilo međusobnim kontaktima čestica nosača, bilo kontaktima čestica sa zidovima reaktora. Još jedna nepoželjna karakteristika ove vrste nosača jeste mogućnost vezivanja donekle nanelektrisanih čestica iz fermentišućeg medijuma za površinu nosača.

Debljine biofilma imobilisanih ćelija, pričvršćenih za površinu nosača kreću se u rasponu od monosloja do sloja debljine 1 mm. Debljinu i strukturu biofilma u

najvećoj meri definiše brzina protoka supstrata kroz reaktor kao i režim strujanja. Imajući u vidu da su kinetika i mehanizam nastajanja i održavanja biofilma imobilisanih ćelija složeni procesi, osobine biofilma je teško predvideti i kontrolisati u jednom realnom sistemu.

### **Samoagregacija ćelija**

Neki mikroorganizmi poseduju prirodnu sposobnost flokulacije (međusobnog povezivanja), pri čemu stvaraju veće aggregate (flokule) i na taj način bivaju imobilisani (Sl. 25.1.III). Ovo je najjednostavniji i najjeftiniji metod imobilizacije, ali i najmanje predvidiv i jako osetljiv na promene parametara sistema. Veze koje se formiraju između ćelija nisu jake, što u određenim okolnostima može da dovede do usitnjavanja krupnijih na sitnije flokule, koje se karakterišu manjim brzinama taloženja. Na taj način pri određenim brzinama razblaživanja, kod izvođenja kontinualnih fermentacija može da dođe do „ispiranja“ ćelija iz reaktora. Ovo dovodi do smanjenja koncentracije aktivnih ćelija u sistemu, odnosno do smanjenja brzine fermentacije. S druge strane, veliki agregati koje formiraju ćelije sa izraženom sposobnošću flokulacije, mogu dovesti do toga da samo mali broj (površinskih) ćelija bude katalitički aktivan usled pojave otpora difuziji supstrata ka ćelijama koje se nalaze unutar agregata. Utvrđeno je, međutim, da sojevi sa izraženijom sposobnošću flokulacije mogu da doprinesu izraženijem efektu imobilizacije postupkom adsorpcije (brže i jače se vezuju za nosač), i samim tim da dovedu do ubrzanja procesa fermentacije.

### **Smeštanje ćelija u ili iza polupropustljive barijere**

Smeštanje ćelija u ili iza polupropustljive barijere obuhvata dva osnovna načina imobilizacije (Sl. 25.1.IV):

- **mikroenkapsulacija** predstavlja imobilizaciju ćelija koje se u suspendovanom stanju nalaze unutar mikrokapsula sfernog oblika, oivičenih polupropustljivom polimernom membranom (Sl. 25.1.IVa);
- **smeštanje ćelija unutar membrane** se najčešće izvodi u okviru membranskih reaktorskih sistema, pri čemu membrane mogu biti od različitih organskih polimera (polivinil alkohol, polisulfon, polipropilen, polivinil-hlorid i drugi), u obliku ploča ili šupljih vlakana (Sl. 25.1.IVb).

Osnovni problemi koji se javljaju pri korišćenju membrane jesu onečišćenje membrana pri izvođenju kontinualnih fermentacija, zadržavanje mehurova CO<sub>2</sub> na membrani, nekontrolisani rast ćelija, i usporena difuzija nutrijenata.

**Mikroenkapsulacija** ćelija je novija metoda koja je prvobitno bila razvijena u medicinske svrhe za potrebe imobilizacije pankreasnih (Langerhans-ovih) ostravaca u lečenju dijabetesa. Danas dobija sve veći značaj pri industrijskom dobijanju visokovrednih bioloških materijala (recimo ekstracelularnih proteina, kao što su monoklonska antitela) enkapsulacijom ćelijskih kultura životinjskog porekla, kao i za enkapsulaciju ćelija insekata koji su kao domaćini određene klase virusa (baculovirus) od velikog potencijalnog značaja za proizvodnju biološki aktivnih proteina (poliherdin, *Echerichia coli* β-galaktozidaza, humani α- i β-interferon, humani

interleukin i drugi) i više različitih bioinsekticida. Tehnika enkapsulacije podrazumeva smeštanje viabilnih ćelija unutar polupropustljivih polisaharid-polikatjon-skih mikrokapsula (na primer alginat/poli-L-lizin (PLL)) čiji se prečnik najčešće kreće u rasponu od nekoliko mikrona do 1 mm.

Ove mikrokapsule se baziraju na polijonskom vezivanju poli-L-lizina (PLL), poli-L-ornitina (PLO), polietilenamina, hitozina, ili nekog drugog polimera sa alginatnim matriksom. Postupak se izvodi tako što se najpre izvrši imobilizacija ćelija u Ca-alginatu, a zatim se u reakciji između Ca-alginata i poli-L-lizina formira semipermeabilna membrana. Na kraju se reakcijom sa EDTA ili Na-citratom unutrašnjost jezgra kapsule (Ca-alginat) rastvori i deo rastvorenog alginata iscuri iz kapsule. Na ovaj način je dobijena alginat-PLL-alginat kapsula, sa ćelijama koje su ponovo u suspenziji unutar mikrokapsule. Ovako dobijena semipermeabilna membrana zadržava ćelije i molekule proteina unutar kapsule, dok istovremeno omogućava transport nutrienata i kiseonika.

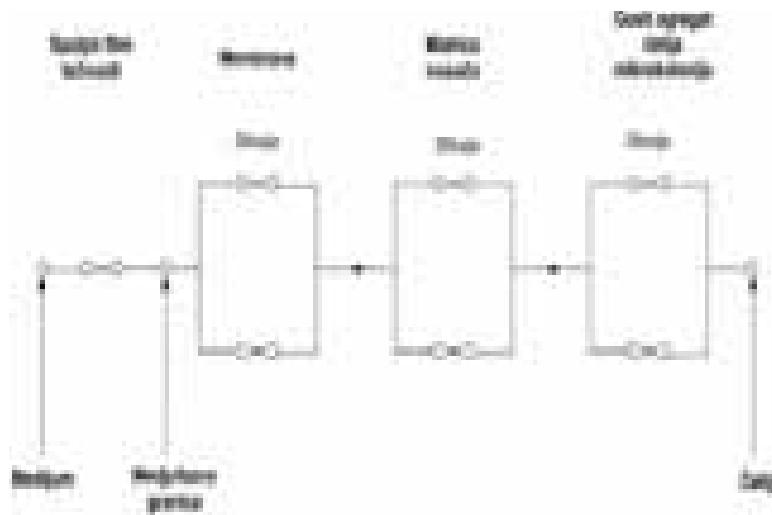
Koncentracije ćelija i produkata unutar kapsule mogu biti veće za red veličine u poređenju sa kulturama ćelija imobilisanih u alginatnim česticama. U istraživanjima koja se sprovode poslednjih desetak godina ovaj postupak je široko zastupljen pri mikroenkapsulaciji ćelija hibridoma, koje proizvode monoklonska antitela. Jedna od negativnih pojava koja je zapažena pri korišćenju ovog sistema za komercijalnu proizvodnju monoklonskih antitela, jeste intezivniji rast ćelija koje su se nalazile u blizini unutrašnje površine membrane mikrokapsule u odnosu na rast onih u centralnim delovima mikrokapsule, što govori o usporenoj difuziji nutrijenata i/ili prisustvu viskoznog alginatnog rastvora unutar kapsule.

## 25.2 MODELIRANJE PROCESA U ČESTICAMA SA IMOBILISANIM ĆELIJAMA

Na Sl. 25.2 prikazan je najopštiji slučaj otpora koji mogu da se javi pri transportu hranjivih supstrata ka imobilisanoj ćeliji u čestici, koja može biti mikročestica gela ili mikrokapsula.

U zavisnosti od odnosa brzine priticanja hranjivih komponenti iz medijuma i brzine njihove asimilacije od strane imobilisanih ćelija, može nastati jedan od sledećih slučajeva:

- ukoliko se reakcija na nivou ćelija (koje mogu da se nalaze u površinskim i/ili unutrašnjim slojevima nosača) odvija većom brzinom od one kojom nutrijenti pritiču (do površine ili unutrašnjosti nosača), u okolini ćelija će se formirati zona osiromašenja u hranjivim materijama, a proces će biti kontrolisan brzinom transporta nutrijenata;
- ukoliko se priticanje nutrijenata odvija velikom brzinom, većom od brzine asimilacije od strane ćelija, ukupna brzina reakcije je određena enzimskom reakcijom na nivou ćelija, odnosno proces je kinetički kontrolisan.



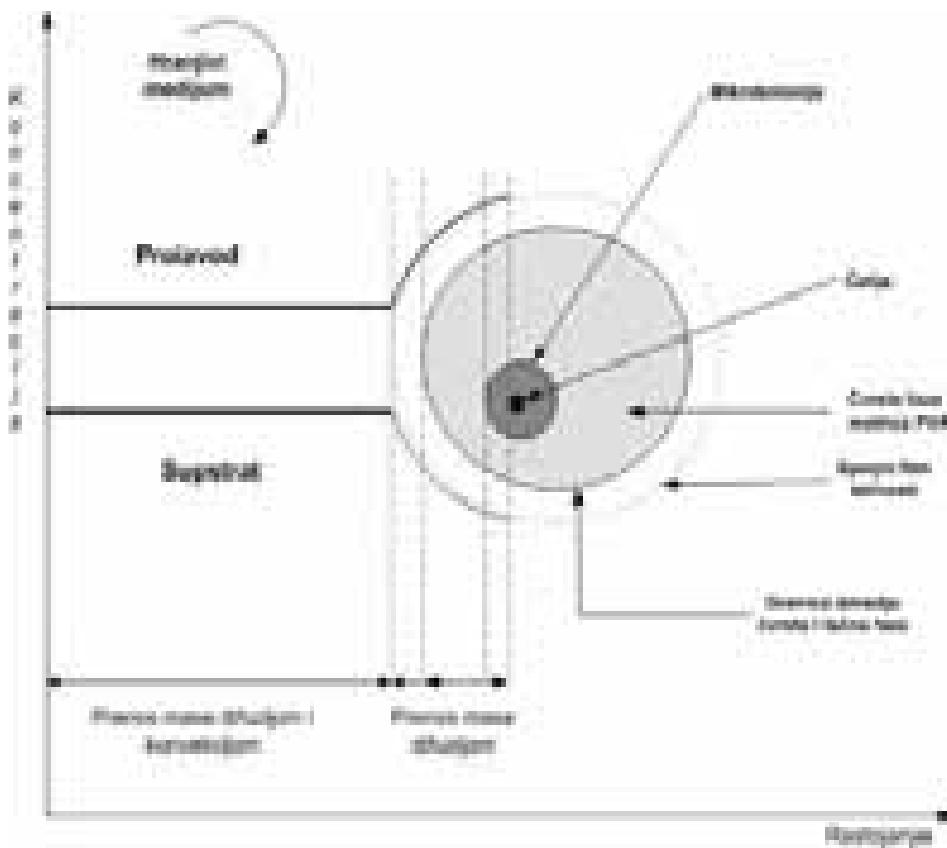
SLIKA 25.2 Otpori difuziji nutrijenata do kojih dolazi u procesima sa imobilisanim ćelijama

- ukoliko su brzine priticanja i asimilacije nutrijenata istog reda veličine, obe brzine učestvuju u ukupnoj brzini reakcije i ne mogu se zanemariti.

Za definisanje uticaja prenosa mase na ukupnu brzinu procesa koristi se bezdimenzionalni parametar, tzv. 'faktor efikasnosti'  $\eta$ , koji predstavlja odnos brzine reakcije u konkretnom slučaju i brzine kojom bi se reakcija odvijala ukoliko ne bi postojali otpori difuzije. Na osnovu vrednosti ovog parametra može se zaključiti da li je sistem kontrolisan prenosom mase ili kinetikom reakcije. Drugi bezdimenzionalni parametar, Tielov (Thiele) modul  $\phi$ , koristi se za definisanje uticaja unutrašnjih otpora prenosa mase na ukupnu brzinu procesa i jednak je odnosu brzine reakcije i brzine difuzije unutar matrice. Drugim rečima, ovaj parametar daje odnos brzine utroška supstrata i brzine njegovog transporta (priticanja) difuzionim putem. Visoka vrednost Tielovog modula označava strmi koncentracioni gradijent supstrata usled unutrašnjih otpora prenosa mase. Niska koncentracija supstrata unutar matrice dovodi do smanjenja brzine reakcije u odnosu na onu vrednost koja bi bila dobijena u slučaju da je koncentracija supstrata unutar matrice nosača jednaka onoj u okolnom medijumu. Sa aspekta minimiziranja koncentracionog gradijenta supstrata unutar matrice, poželjno je da vrednost Tielovog modula bude manja od 10.

Na Sl. 25.3 prikazan je mehanizam prenosa supstrata iz hranjivog medijuma do jedne imobilisane ćelije u mikrokoloniji formiranoj unutar matrice gela PVA, kao i prenos proizvoda metabolizma od ćelija ka medijumu.

Kroz medijum i kroz spoljašnji film tečnosti koji okružuje česticu sve do neposredne blizine same čestice, supstrat se prenosi mehanizmima difuzije i konvekcije. Kroz granični film tečnosti, graničnu površinu između tečne i čvrste faze, tečnu fazu koja je prisutna unutar čestice gela i mikrokoloniju gusto pakovanih ćelija, sve do pojedinačne ćelije u kojoj se odvija željena enzimska reakcija, supstrat se prenosi mehanizmom difuzije. Ceo ovaj proces može da se podeli na dve faze:



SLIKA 25.3 Model difuzije supstrata iz hranjivog medijuma do immobilisane ćelije i proizvoda od ćelije ka medijumu [18].

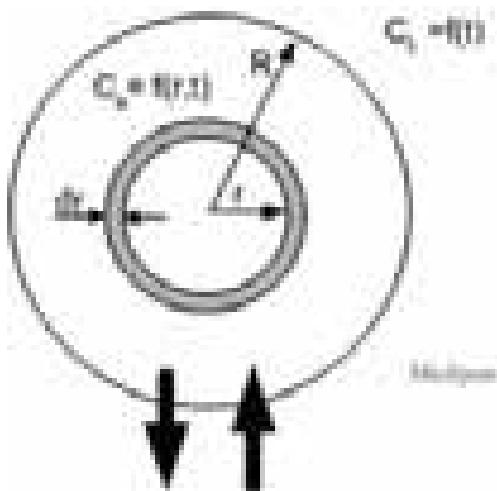
- spoljašnji prenos mase,
- unutrašnji prenos mase.

**Spoljašnji prenos mase** odnosi se na prenos supstrata iz hranjivog medijuma do površine nosača. U neposrednoj blizini granica faza tečno/čvrsto formira se laminarni sloj tečnosti (spoljašnji film tečnosti), koji predstavlja najveći otpor prenosu supstrata iz hranjivog medijuma do površine nosača. U cilju smanjenja otpora, odnosno ubrzanja spoljašnjeg prenosa mase, potrebno je debljinu laminarnog sloja tečnosti svesti na najmanju moguću meru.

**Unutrašnji prenos mase** odnosi se na transport supstrata ili proizvoda unutar nosača, i posebno je važan kod upotrebe biokatalitičkih sistema dobijenih postupcima koji podrazumevaju smeštanje ćelija u matricu određenog nosača ili iza barijere. Difuzija unutar čestica (Sl. 25.4) opisana je Fikovim zakonom

$$J = -D_e \frac{\partial C_s}{\partial r} \quad (25.1)$$

gde je:  $C_i$  – koncentracija posmatrane supstance u medijumu, zavisna od vremena  $t$ ;  $C_s$  – koncentracija posmatrane supstance unutar čestice, zavisna od radijalnog



SLIKA 25.4 Model difuzije kroz sferičnu česticu

rastojanja  $r$  i vremena  $t$ ;  $D_e$  – koeficijent difuzije;  $r$  – radijalna koordinata sfernog koordinatnog sistema;  $J$  – fluks po jedinici površine.

U dosadašnjim istraživanjima zapaženo je da se ćelije tokom kultivacije uglavnom koncentrišu u perifernim slojevima čestica, usled nedostatka supstrata u dubljim centralnim slojevima. Ova pojava prepostavlja postajanje velikog gradijenta koncentracije supstrata unutar čestice, gde svaka tačka koncentracionog profila govori o lokalnoj ravnoteži između dotoka supstrata i njegove potrošnje. Unutrašnji prenos mase može biti optimizovan podešavanjem veličine, teksture i poroznosti matrice nosača. Smanjenje veličine čestica dobar je način da se ubrza unutrašnji prenos mase, s tim što adekvatna optimizacija treba da bude postignuta na taj način da čestice budu toliko male da omoguće maksimalno povećanje prenosa mase, ali istovremeno i jednostavno izvođenje njihove separacije od tečne faze.

### 25.3 EKSTRUZIONE TEHNIKE

Za dobijanje malih čestica sa imobilisanim ćelijama, primenjuju se ekstruzione tehnike. Poslednjih godina je razvijeno više različitih ekstruzionih postupaka za dobijanje sfernih, polimernih čestica sa imobilisanom biomasom (Sl. 25.5).

#### **Tehnika ukapavanja – jednostavna ekstruzija**

Tehnika ukapavanja polimerne suspenzije pod dejstvom gravitacije jeste najjednostavnija tehnika koja se često koristi u laboratorijskim uslovima za dobijanje čestica gela (Sl. 25.5a). Tehnika se sastoji u potiskivanju suspenzije ćelija i polimera kroz iglu određenog prečnika, sa čijeg se vrha pod uticajem gravitacione sile odvajaju kapljice suspenzije i padaju u rastvor, gde dolazi do želiranja i nastajanja čestica gela.

U trenutku odvajanja od vrha igle, masa kapi  $m$  određena je iz uslova jednakosti gravitacione sile i sile površinskog napona:

$$mg = 2\pi d_c \gamma \quad (25.2)$$

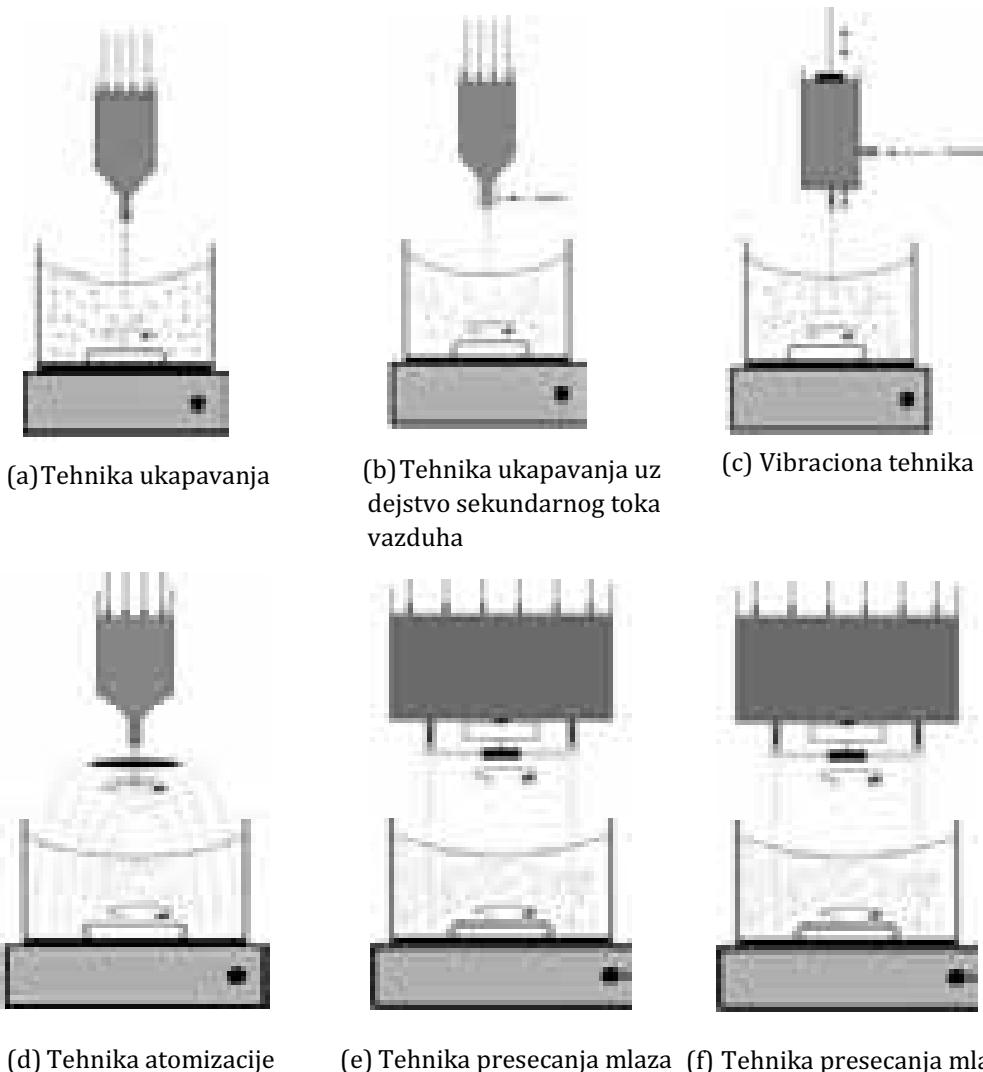
gde je:  $d_c$  – unutrašnji prečnik igle,  $\gamma$  - površinski napon. U istom trenutku zapremina  $V$  formiranih sferičnih kapi jednaka je:

$$V = \frac{m}{\rho} = \frac{d^3 \pi}{6} \quad (25.3)$$

odakle se dobija prečnik kapi  $d$  proizvedene jednostavnom ekstruzijom:

$$d = \sqrt[3]{\frac{6m}{\pi\rho}} \quad (25.4)$$

gde je:  $\rho$  – gustina kapi, a  $m$  – masa kapi određena jednačinom (25.2).



*SLIKA 25.5 Ekstruzione tehnike za dobijanje polimernih čestica sa immobilisanim ćelijama*

Protok pri potiskivanju podešava se tako da bude dovoljno mali, da ne dozvoli formiranje mlaza suspenzije na izlazu iz igle. Ovaj postupak ima više ograničenja, kao što je mali kapacitet proizvodnje, koji je limitiran brzinom formiranja kapi na vrhu igle, tako da je uvećanje razmara procesa moguće jedino primenom većeg broja igala, dok su formirane čestice prilično velikog prečnika, najčešće od 2 do 3 mm. Prečnik čestica u najvećoj meri zavisi od unutrašnjeg prečnika igle, a određeni uticaj ima i viskozitet samog polimera. U slučaju alginata, veličina čestica zavisi od hemijskog sastava – stepen kontrakcije tokom formiranja gela je najizraženiji kod alginata sa niskim sadržajem ostataka guluronske kiseline.

### ***Tehnika ukapavanja uz dejstvo sekundarnog toka vazduha***

Uvođenjem sekundarnog toka vazduha u nivou otvora igle u sistem za ukapanje suspenzije, omogućeno je bitno smanjenje prečnika dobijenih čestica (Sl. 25.5b). Veličina čestica kod ovog sistema funkcija je vrste polimera, njegove koncentracije i viskoziteta, prečnika igle, rastojanja između vrha igle i površine rastvora za želiranje, brzine protoka suspenzije i brzine protoka vazduha.

U slučaju alginatnih čestica veličine koje se mogu dobiti kreću se od 0,2 do 3 mm. Problemi koji se javljaju pri uvećanju razmara jesu nemogućnost postizanja većih kapaciteta, neujednačenost veličine čestica, kao i česte opstrukcije protoka naročito u slučaju korišćenja igala manjih prečnika i alginatnih rastvora koncentracije veće od 1 %.

### ***Vibraciona tehnika***

Vibraciona tehnika se zasniva na principu primene kapilare (mlaznice) kroz koju se velikom brzinom propušta suspenzija polimera i ćelija u vidu mlaza, pri čemu oscilovanje kapilare dovodi do prekida mlaza i formiranja segmenata (kapljica) ujednačenih veličina (Sl. 25.5c). Veličina čestica zavisi, kako od primenjene frekvencije vibriranja igle, tako i od brzine protoka mlaza tečnosti kroz kapilare određenog prečnika. Ovom tehnikom mogu da se dobiju čestice malih dimenzija (< 1 mm), a uvećanje razmara na veće kapacitete relativno je jednostavno i podrazumeva povećanje broja kapilara kroz koje se istovremeno propušta suspenzija polimera i ćelija.

### ***Tehnika atomizacije***

Između više različitih tehnika atomizacije, tehnika koja podrazumeva korišćenje rotirajućeg diska najprikladnija je za imobilizaciju ćelija, jer su uslovi pri imobilizaciji relativno blagi, omogućena je primena izuzetno viskoznih suspenzija i dobija se uniformna raspodela čestica (Sl. 25.5d). Suspenzija polimera i ćelija se putem šuplje cevi dovodi na površinu diska koji rotira velikom brzinom, usled čega se suspenzija raspršava u sitne kapi i pada u rastvor za želiranje. Kapljice se formiraju ili neposredno na periferiji diska, ili se najpre formiraju tanki mlazevi od kojih se otkidaju kapi (u slučaju velikih brzina protoka suspenzije i rotiranja diska). U prvom slučaju, dolazi do bimodalne distribucije veličina čestica, dok se u drugom slučaju

formiraju uniformne čestice. Prečnik čestica zavisi od brzine proticanja suspenzije, brzine rotiranja i prečnika diska, kao i od fizičkih karakteristika suspenzije.

### **Tehnika presecanja mlaza**

Tehnika presecanja mlaza razvijena je poslednjih nekoliko godina sa ciljem masovne proizvodnje malih i unifromnih čestica ( $< 1 \text{ mm}$ ), pri korišćenju viskoznih suspenzija polimera i ćelija. Dobijanje čestica se postiže presecanjem mlaza suspenzije koji pritiče iz mlaznice pomoću žice koja rotira velikom brzinom, pri čemu se najpre formiraju segmenti cilindričnog oblika koji zatim dobijaju oblik sfernih čestica na putu ka rastvoru za želiranje (Sl. 25.5e). Viskozitet rastvora utiče na pad pritiska u mlaznicama, ali ne i na samo generisanje kapljica, tako da izuzetno viskozni fluidi (polimeri kao na primer polivinil alkohol) mogu biti transformisani u veoma male čestice.

Mogućnosti ove tehnike su velike, kako u smislu dobijanja čestica malih dimenzija, tako i u ostvarljivim kapacitetima za industrijske potrebe. Kao ilustracija trenutnih mogućnosti ove tehnike mogu da posluže sledeći podaci: ostvarljiva brzina obrtanja rotora sa žicom za presecanje mlaza je 10.000 ob/s, što omogućava proizvodnju od 500 kg čestica prečnika 3 mm po času po mlaznicama, odnosno 19 kg čestica prečnika 1 mm po času po mlaznicama ili 4 kg čestica prečnika 0,6 mm po času po mlaznicama. To govori da je primenom ove tehnike već danas moguće, u zavisnosti od želenog prečnika, dnevno proizvoditi na tone, odnosno stotine kilograma čestica sa imobilisanim ćelijama.

### **Elektrostatička ekstruzija**

Tehnika elektrostatičke ekstruzije predstavlja jednu od novijih tehnika [19, 20] i zasniva se na primeni elektrostatičke sile na suspenziju polimera i ćelija koja se propušta kroz iglu u vidu kapi, pri čemu dolazi do cepanja kapi na vrhu igle na više nanelektrisanih sitnih kapljica (Sl. 25.5f). Elektrostatički potencijal se uspostavlja između uređaja za formiranje kapi i rastvora u kome se kapljice skupljaju i očvršćavaju usled jonske izmene. Kada se rastvor polimera izloži dejstvu elektrostatičkog polja, njegova površina se nanelektriše i usled odbijanja istoimenih nanelektrisanja dolazi do smanjenja površinskog napona. Kao posledica smanjenja površinskog napona, sile koje deluju nasuprot gravitacionoj sili su manje usled čega dolazi do velikog smanjenja veličine kapljica koje se otkidaju u odnosu na jednostavan postupak bez primene elektrostatičkog polja. Tehnikom elektrostatičke ekstruzije moguće je dobiti polimerne mikročestice prečnika i ispod 200  $\mu\text{m}$ .

## **25.4 PITANJA ZA REKAPITULACIJU**

- 25.1 Šta podrazumeva postupak imobilizacije ćelija?
- 25.2 Koje su prednosti imobilisanih ćelijskih sistema u odnosu na tradicionalne, suspendovane sisteme?

- 25.3 U kojim su granama industrije immobilisani ćelijski sistemi našli primenu?
- 25.4 Koji su osnovni principi immobilizacije ćelija?
- 25.5 Kojom se od osnovnih metoda immobilizacije ćelija postiže: (a) najveća koncentracija ćelija po jedinici mase nosača; (b) najveća stabilnost dobijenog biokatalizatora; (c) najveća ekonomska isplativost postupka?
- 25.6 Koje su osnovne razlike između mikročestica dobijenih smeštanjem ćelija unutar matrice gela i smeštanjem ćelija iza barijere (mikrokapsule)?
- 25.7 Koji se materijali koriste kao nosači za adsorbovanje ćelija?
- 25.8 Koji se otpori javljaju pri transportu hranljivih supstrata od medijuma do ćelije unutar čestice?
- 25.9 Kako može da se utiče na: (a) spoljašnji i (b) unutrašnji prenos mase medijum-ćelija?
- 25.10 Navesti osnovne ekstruzione tehnike za dobijanje sfernih polimernih mikročestica sa immobilisanom biomasom.

## **25.5 LITERATURA**

1. B. Obradović, V. Nedović, B. Bugarski, R. Willaert, G. Vunjak-Novaković, Immobilised cell bioreactors, in *Fundamentals of Cell Immobilisation Biotechnology*, ed by V. Nedović, R. Willaert (Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2004) pp 411–436.
2. C. Lacroix, F. Grattepanche, Y. Dolyeres Y, D. Bergmaier, Immobilised cell technologies for the dairy industry, in *Applications in Cell Immobilisation Biotechnology*, ed by V. Nedović, R. Willaert (Springer, Dordrecht, 2005) pp 295–320.
3. P. H. Pilkington, Food bioconversions and metabolite production, in *Applications in Cell Immobilisation Biotechnology*, ed by V. Nedović, R. Willaert (Springer, Dordrecht, 2005) pp 321–336.
4. R. Willaert, H. Verachtert, K. van Den Bremt, F. Delvaux, G. Derdelinckx, Bioflavouring of foods and beverages, in *Applications in Cell Immobilisation Biotechnology*, ed by V. Nedović, R. Willaert (Springer, Dordrecht, 2005) pp 355–370.
5. V. Nedović, R. Willaert, I. Leskošek-Čukalović, B. Obradović, B. Bugarski, Beer production using immobilized cells, in *Applications in Cell Immobilisation Biotechnology*, ed by V. Nedović, R. Willaert (Springer, Dordrecht, 2005) pp 259–273.
6. A. Durieux, X. Nicolay, J. P. Simon, Application of immobilisation technology to cider production: a review, in *Applications in Cell Immobilisation Biotechnology*, ed by V. Nedović, R. Willaert (Springer, Dordrecht, 2005) pp 275–283.
7. C. Divies, R. Cachon, Wine production by immobilised cell systems, in *Applications in Cell Immobilisation Biotechnology*, ed by V. Nedović, R. Willaert (Springer, Dordrecht, 2005) pp 285–295
8. A. Margaritis, P. M. Kilonzo, Production of ethanol using immobilised cell bioreactor systems, in *Applications in Cell Immobilisation Biotechnology*, ed by V. Nedović, R. Willaert (Springer, Dordrecht, 2005) pp 375–405.

9. T. Keshavartz, Production of biopharmaceuticals through microbial cell immobilisation, in Applications in Cell Immobilisation Biotechnology, ed by V. Nedović, R. Willaert (Springer, Dordrecht, 2005) pp 407–422.
10. H. Uemoto, Wastewater treatment by immobilised cell systems, in Applications in Cell Immobilisation Biotechnology, ed by V. Nedović, R. Willaert (Springer, Dordrecht, 2005) pp 481–494.
11. B. Atkinson, Immobilised Cells, Their Application and Potential, ed by C. Webb, G. M. Black, B. Atkinson (The Institution of Chemical Engineers, 1986) pp 3–19.
12. C. Nastruzzi, G. Luca, G. Basta, R. Calafiore, Bio-artificial organs. The example of artificial pancreas, in Applications in Cell Immobilisation Biotechnology, ed by V. Nedović, R. Willaert (Springer, Dordrecht, 2005) pp 17–35.
13. B. Zavan, R. Cortivo, P. Brun, C. Tonello, Bioartificial skin, in Applications in Cell Immobilisation Biotechnology, ed by V. Nedović, R. Willaert (Springer, Dordrecht, 2005) pp 55–69.
14. C. Selden, Bioartificial liver, in Applications in Cell Immobilisation Biotechnology, ed by V. Nedović, R. Willaert (Springer, Dordrecht, 2005) pp 69–80.
15. L. Germain, K. Laflamme, F. A. Auger, Tissue-engineered blood vessels and the future of tissue substitutes, in Applications in Cell Immobilisation Biotechnology, ed by V. Nedović, R. Willaert (Springer, Dordrecht, 2005) pp 85–99.
16. M. Obradović, M. Radisić, G. Vunjak-Novaković, Tissue engineering of cartilage and myocardium, in Applications in Cell Immobilisation Biotechnology, ed by V. Nedović, R. Willaert (Springer, Dordrecht, 2005) pp 99–129.
17. K. S. Masters, B. K. Mann, Tissue engineered heart, in Applications in Cell Immobilisation Biotechnology, ed by V. Nedović, R. Willaert (Springer, Dordrecht, 2005) pp 135–153.
18. V. A. Nedović, Imobilisani ćelijski sistemi u fermentaciji piva, *Monografija* (Zadužbina Andrejević, Beograd, 1999) ISBN 86-7244-104-4, 1–95.
19. T. Keshavartz, G. Ramsden, P. Phillips, P. Mussenden, C. Bucke, Application of electric field for production of immobilized biocatalysts. *Biotechnol Tech* 6 (5) (1992) 445–450.
20. B. Bugarski, J. Smith, J. Wu, M. F. A. Goosen, Methods for animal cell immobilization using electrostatic droplet generation. *Biotechnol. Tech.* 7–9, (1993) 677–683.

# 26

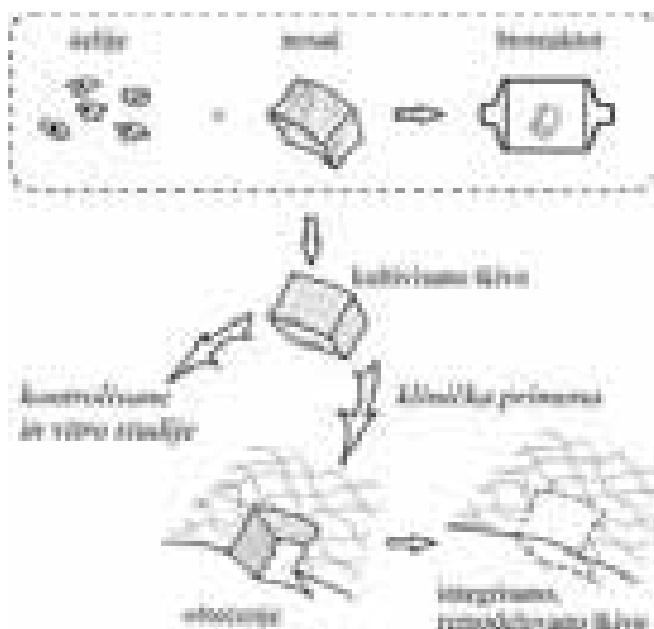
## BIOINŽENJERSTVO TKIVA: STANJE I PERSPEKTIVE<sup>1</sup>

Bioinženjerstvo tkiva je multidisciplinarna oblast koja primenjuje principe biologije, hemije, inženjerstva i medicine za razvoj bioloških supstituenata prirodnih tkiva, za potencijalnu kliničku primenu ili fundamentalna istraživanja. Neke od primena ove oblasti su istraživanja razvoja i funkcije tkiva, ispitivanja odgovora tkiva na lekove i biološki aktivne agense, i regeneracija i zamena obolelih i oštećenih tkiva. Pri tome biomaterijali predstavljaju neizostavnu komponentu bioinženjerstva tkiva i regenerativne medicine, značajno doprinoseći razvitku ovih oblasti. Ubrzanim razvojem sinteze, oblikovanja i proizvodnje biomaterijala sa strogo kontrolisanim karakteristikama u pogledu sastava, strukture i fizičko-hemiskih svojstava, otvaraju se i nove mogućnosti u bioinženjerstvu tkiva kao što je kultivacija složenih tkiva, primena minimalno invazivnih metoda implantacije, inkorporacija i kontrolisano otpuštanje bioaktivnih molekula, i precizna kontrola mikrookoline ćelija. Integrисani razvoj sofisticiranih biomaterijala i specijalizovanih, automatizovanih bioreaktorskih rešenja uz sistematska *in vitro* i *in vivo* ispitivanja, usmeren je na praktičnu primenu fundamentalnih saznanja radi dobijanja kontrolisanih i sigurnih medicinskih proizvoda, tako da bioinženjerstvo tkiva danas potencijalno predstavlja optimalno rešenje za ozbiljan klinički problem nedostatka tkiva za implantaciju.

### 26.1 OSNOVNI POJMOVI

Savremena dostignuća u oblasti novih tehnologija za proizvodnju i oblikovanje biomaterijala omogućila su i ubrzani razvitak na poljima farmacije i biomedicine. Jedna od najatraktivnijih i najispitivijih oblasti je *in vitro* kultivacija funkcionalnih tkiva za potencijalnu kliničku primenu. Potrebe za zamenom obolelih tkiva i organa danas u svetu daleko prevazilaze raspoložive mogućnosti i sve više rastu. Pored nedostatka donora, transplantacija tkiva je takođe često praćena i proble-

<sup>1</sup>Ovo poglavlje napisali su Bojana Obradović, Branko Bugarski i Gordana Vunjak-Novaković.



*SLIKA 26.1 Bioinženjerstvo tkiva bazirano na izolovanim ćelijama, nosačima od biomaterijala, i in vitro kultivaciji u bioreaktorima. Kultivisano tkivo može da se koristi u kontrolisanim in vitro ispitivanjima, ili za kliničku primenu i implantaciju umesto obolelog ili oštećenog tkiva, gde u idealnom slučaju podleže remodelovanju i regeneraciji i u potpunosti se integrira u okolno tkivo obezbeđujući normalnu aktivnost i funkciju.*

mima usled imunološkog odgovora organizma, mogućnosti prenosa bolesti itd. S druge strane, implantaciju veštačkih organa i proteza prati rizik od infekcija, kao i često nedovoljno dobra veza između veštačkog materijala proteze i prirodnog tkiva. Implantacijom tkiva i ćelija ovi bi problemi mogli da se prevaziđu, pri čemu bi implantacija kultivisanih tkiva imala prednost u odnosu na implantaciju suspenzije ćelija, pošto bi odmah omogućila funkcionalnost tretiranog defekta ili oboljenja. Kultivisana tkiva takođe mogu da predstavljaju relevantne fiziološke modele za kontrolisane *in vitro* studije procesa razvoja tkiva, kao i uticaja različitih fizičko-heminskih faktora u normalnim i patološkim uslovima.

Istraživanja na polju bioinženjerstva tkiva su počela 1970-tih godina, da bi danas već nekoliko proizvoda na bazi živih ćelija bilo u kliničkoj primeni. U opštem slučaju, inženjerstvo tkiva može se definisati kao pristupi i procesi u kojima se: (1) kombinuju žive ćelije i biomaterijali, (2) koriste žive ćelije kao terapeutski ili dijagnostički reagensi, (3) *in vitro* kultivišu tkiva i organi za implantaciju i/ili (4) obezbeđuju materijali ili tehnologije za navedene pristupe [1]. U ovom poglavlju fokus je stavljen na bioinženjerstvo funkcionalnih tkiva, zasnovano na korišćenju živih ćelija, biomaterijala, i *in vitro* kultivaciji u bioreaktorskim sistemima (Sl. 26.1). Kao rezultat, kultivisano tkivo treba da po sastavu, morfologiji i strukturi odgovara

prirodnom tkivu, da se integriše u okolno tkivo, i da ostvari normalnu funkciju po implantaciji.

U idealnom slučaju, kultivisani ekvivalent treba da obezbedi regeneraciju pre nego reparaciju tkiva, i da omogući remodelovanje kao odgovor na okolne faktoare [2–4]. Pri tome se ovi pojmovi mogu definisati na sledeći način:

1. reparacija je brza zamena oštećenog ili obolelog tkiva ili defekta funkcionalnim novim tkivom, koje nalikuje prirodnom tkivu ali ne odgovara potpuno po strukturi, sastavu i funkciji;
2. regeneracija je sporo obnavljanje svih komponenti u zamenjenom tkivu, tako da novo tkivo ima istu strukturu, sastav i funkcionalne karakteristike i ne razlikuje se od prirodnog;
3. remodelovanje predstavlja promene u strukturi i sastavu tkiva usled dejstva lokalnih i sistemskih faktora, što dovodi i do promena funkcionalnih svojstava tkiva.

Raznovrsnost strukturnih, biomehaničkih i funkcionalnih karakteristika različitih tkiva uslovila je i razvoj mnoštva specifičnih pristupa bioinženjerstvu tkiva. Međutim, osnov razvoja svakog od pristupa koji bi bio uspešno primenljiv u kliničkoj praksi predstavlja razrešenje tri generalna pitanja: izbor i manipulacija ćelijske kulture, metode kultivacije tkiva, i procesi integracije kultivisanog tkiva u živi organizam.

## 26.2 ĆELIJSKA KULTURA

Izbor donora i tipa ćelija prva je faza u svakom od procesa bioinženjerstva tkiva. U opštem slučaju u odnosu na donora, ćelije mogu biti autologne, alogene i ksenogene kako je to definisano u Tabl. 26.1.

*TABELA 26.1 Tip ćelija u odnosu na donora [5]*

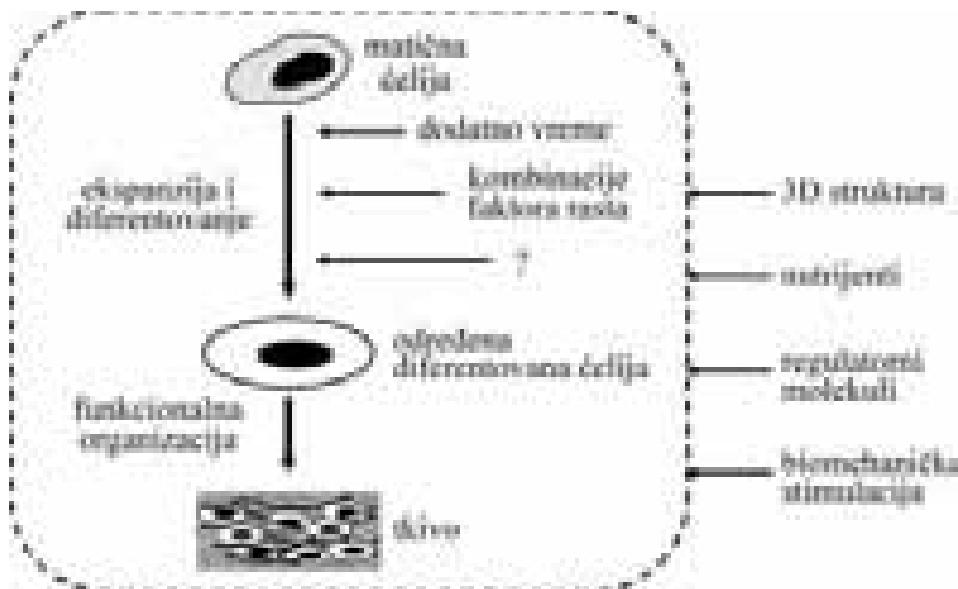
Tip ćelija	Definicija i komentari
Autologne	Ćelije pacijenta; imuno prihvatljive; moguća limitacija količine; nemogućnost prethodne pripreme i čuvanja
Alogene	Ćelije humanih donora; mogućnost pripreme i čuvanja ali i moguća potreba za tretman ili prevenciju imunološkog odgovora
Ksenogene	Ćelije životinja; potreba za prevencijom imunološkog odgovora kao i mogućnosti prenosa životinjskih virusa

Ksenogene ćelije (iz životinja) najraspoloživije su ali i najrizičnije u pogledu prenosa bolesti i mogućnosti imunološkog odbacivanja iz organizma. Alogene ćelije iz humanih donora korišćene su u bioinženjerstvu tkiva kože, koje je odobreno za kliničku primenu pošto ćelije kože, fibroblasti i keratinociti, ne izazivaju odgovor

imunskog sistema [5]. Međutim, u inženjerstvu drugih tipova tkiva, imunološki odgovor organizma je često od presudnog značaja za mogućnost kliničke primene. U tom slučaju autologne ćelije bi predstavljale pogodan i poželjan izbor. S druge strane, količina autolognih ćelija koje se mogu dobiti od samog pacijenta, često je ograničena i ne postoji mogućnost prethodne pripreme i čuvanja ćelija i tkiva. Alogene i ksenogene ćelije pružaju takvu mogućnost, ali je onda potrebno iznaći rešenje za sprečavanje ili tretiranje imunološkog odgovora organizma, što je često komplikovano.

U odnosu na stanje diferencijacije ćelija, moguće je koristiti ili differentovane ćelije tkiva koje je potrebno kultivisati ili matične ćelije. Differentovane ćelije ispoljavaju sva svojstva želenog tkiva, ali je njihov broj najčešće relativno mali, pogotovo u slučaju korišćenja autolognih ćelija gde se mora uzeti uzorak zdravog tkiva. Uz to, proliferativni kapacitet i biosintetička aktivnost ovih ćelija su ograničeni. S druge strane, matične ćelije predstavljaju atraktivan izvor ćelija za bioinženjerstvo tkiva, jer je njihova karakteristika u opštem slučaju da se obnavljaju kao i da mogu da differentuju u više različitih tipova ćelija [6]. Embrionalne matične ćelije su pri tome najmultipotentnije ćelije u *in vitro* uslovima, što znači da je pokazano da je moguće usmeriti differentovanje ovih ćelija u pravcu različitih tipova ćelija i tkiva, a čak postoji mogućnost da su ove ćelije i totipotentne odnosno da mogu da daju sve tipove ćelija [6]. Jednostavnost dobijanja i ekspanzije uz velike mogućnosti differentovanja, predstavljaju pogodnosti korišćenja ovih ćelija. S druge strane, ograničenja su moguć imunološki odgovor organizma i mogućnost stvaranja određene vrste tumora po implantaciji ovih ćelija, kao i etička pitanja u pogledu ekstrakcije i korišćenja embrionalnih ćelija [6]. Međutim, u odrasлом organizmu takođe postoje određene ćelije koje mogu da se obnavljaju i differentuju prema više tipova ćelija i tkiva, s tim što su ti pravci differentovanja uglavnom vezani za određeni organski sistem [6,7]. Ove ćelije se uglavnom retko ili u malom broju nalaze u tkivu od interesa, ali u organizmu postoje određene niše ili rezervoari ovih ćelija kao što su kostna srž, mozak, jetra, gastrointestinalni sistem, krv itd. Najispitivanije ćelije su CD34+ matične ćelije hematopoeze (procesa formiranja krvnih ćelija) izolovane iz kostne srži, koje se koriste u terapeutiske svrhe najčešće za zamenu ili ponovno uspostavljanje imunskog sistema posle bolesti ili toksične terapije. Takođe su široko ispitivane opredeljene matične ćelije za mezenhimalno tkivo ili mezenhimske matične ćelije ili progenitorske ćelije izolovane iz strome kostne srži, koje u *in vitro* uslovima mogu da differentiraju u pravcu različitih tipova ćelija kao što su hondrocyti (ćelije hrskavice), osteoblasti (ćelije kosti), ćelije masnog tkiva, ćelije srčanog mišića itd. [7–9].

Osnovna prednost korišćenja adultnih matičnih ćelija u odnosu na embrionalne matične ćelije jeste mogućnost korišćenja autolognih ćelija, čime bi se izbegli svi problemi vezani za imunološki odgovor organizma. S druge strane, najveći problem u primeni svih matičnih ćelija jesu nedovoljno poznati procesi diferencijacije ćelija i faktori koji utiču na njih. Potrebno je poznavati molekulske mehanizme unutar ćelija, koji dovode do željene diferencijacije kao i kombinacije spoljnih signala koji uzrokuju određeni ćelijski odgovor. Zato u poređenju sa kulturama differentiranih ćelija, kulture matičnih ćelija po pravilu zahtevaju duže vreme i primenu dodatnih signala kao što su kombinacije faktora rasta, mehanička stimulacija i dr. (Sl. 26.2).



**SLIKA 26.2 Bioinženjerstvo tkiva zasnovano na kulturama matičnih ćelija:** (i) ekspanzija i diferencijiranje matičnih ćelija u pravcu određenog tipa ćelija što zahteva vreme i složene, a često i nepoznate, biohemische i biofizičke signale, (ii) biosintetička aktivnost diferentovanih ćelija i funkcionalna organizacija tkiva. Razvoj tkiva zahteva 3D strukturu, nutrijente, regulatorne molekule kao i biofizičke signale (npr. biomehanička stimulacija za veliki broj tkiva ili u nekim slučajevima, električna stimulacija i dr.).

Treba dodati da pored manipulacije spoljnih faktora u kulturi koji utiču na ćelije kao što su biohemski signalni, mehanička stimulacija i dr., moguće je uticati na genetički program ćelija u cilju dobijanja željenih funkcionalnih karakteristika. U bioinženjerstvu tkiva genetičke manipulacije otvaraju široke mogućnosti, kojima bi se moglo uticati kako na *in vitro* regeneraciju tkivnog ekvivalenta tako i na njegova svojstva i funkcionalnost po implantaciji. Neki od primera bi mogli biti podsticanje sinteze ekstracelularnog matriksa ili proliferacije ćelija, izazivanje sekrecije određenih biološki aktivnih molekula, kao i ostvarivanje inhibicije imunološke reakcije organizma. Ovde treba napomenuti da je u ovom pristupu često potrebna prolazna ekspresija gena kao npr. pri ubrzanju regeneracije tkiva.

### 26.3 IN VITRO KULTIVACIJA TKIVA

Po izboru ćelija, sledeći korak je razvoj modela u kome su te ćelije organizovane u trodimenzionoj (3D) strukturi, sa funkcionalnim karakteristikama koje odgovaraju željenom tkivu. Dizajn i kultivacija ovakvog tkivnog ekvivalenta, predstavljaju problem i izazov sam po sebi.

### 26.3.1 Tkivni ekvivalent

Dizajn tkivnog ekvivalenta se uglavnom zasniva na jednom od tri osnovna pristupa datim u Tabl. 26.2. Implantacija acelularnog biomaterijala ne predstavlja u užem smislu bioinženjerstvo tkiva već metodu regenerativne medicine, jer se zasniva na regrutovanju ćelija domaćina i regeneraciji tkiva u samom organizmu *in vivo*. Ovaj pristup je atraktivan zbog prevazilaženja problema izbora i kulture ćelija kao i imunološkog odgovora organizma, a takođe omogućava i lokalnu primenu biološki aktivnih molekula u cilju pospešivanja regeneracije. Primena acelularnih materijala sa ili bez bioaktivnih agenasa može biti uspešna u regeneraciji manjih oštećenja, dobro prokrvljenih i tkiva koja se samoregenerišu (npr. kosti [10], koža i periferni nervi [11]). Međutim, ograničenje ove metode je u primeni za tretman obolelih tkiva, većih defekata, tkiva sa malom ćelijskom gustom i tkiva koja se spontano ne regenerišu (npr. hrskavica, nervi, ligamenti, srčani mišić i dr.).

*TABELA 26.2 Mogući pristupi inženjerstvu ekvivalenta za zamenu tkiva*

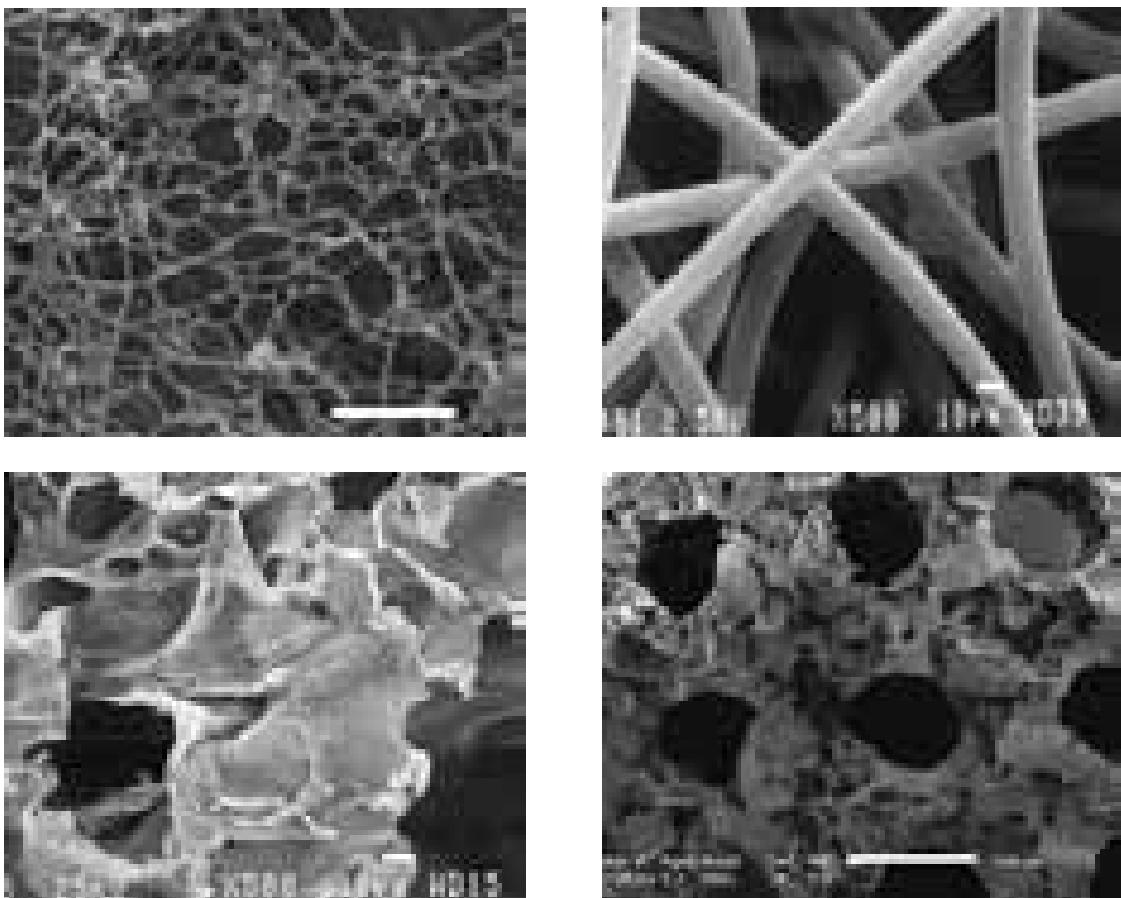
Pristup	Komentar
Acelularni matriks	Zahteva regrutovanje ćelija domaćina
Nosači sa ćelijama	Velike mogućnosti izbora tipa, svojstava i oblika biomaterijala: prirodni i sintetički; gel, sunđer, vlaknasti itd.
Samoorganizacija ćelija	Bazira se na ćelijama koje sintetišu ekstracelularni matriks i prirodno se reorganizuju u tkivo

Drugi pristup baziran na ćelijskim nosačima od biodegradabilnih polimera (v. Gl. 21) uveo je Langer sa saradnicima početkom 1990-tih [12, 13] i ovaj pristup se često navodi kao klasično bioinženjerstvo tkiva. Pri tome nosač mora da obezbedi početnu 3D strukturu za regeneraciju tkiva, ravnomernu raspodelu ćelija, nesmetanu razmenu materija i odgovarajuću brzinu degradacije u skladu sa razvojem i remodelovanjem kultivisanog tkiva. Uz to, u pojedinim slučajevima biomaterijal treba da ima i određene mehaničke karakteristike. Generalno, nosači mogu da utiču na ćelije i regeneraciju tkiva svojim hemijskim sastavom, strukturom, brzinom degradacije i mehaničkim svojstvima. Hemijski sastav utiče na vezivanje ćelija za sam biomaterijal, a takođe i na brzinu degradacije i mehanička svojstva nosača. Strukturne karakteristike od značaja za bioinženjerstvo tkiva, jesu poroznost, prečnik, orientacija i povezanost pora, i oblik nosača. Poroznost nosača utiče na brzinu prenosa mase do ćelija, a time i na njihovo preživljavanje i funkciju, a takođe utiče i na biomehaničke karakteristike nosača. Prečnik i povezanost pora određuje dostupnu površinu za vezivanje ćelija, a orientacijom pora se može dirigovati rast ćelija u određenom pravcu. I najzad, nosač ćelija mora da bude odgovarajućeg oblika i veličine da bi se tretirao određeni defekt. Brzina degradacije u idealnom slučaju treba da odgovara biosintetičkoj aktivnosti ćelija i regeneraciji tkiva, i može se modifikovati kod sintetičkih polimera korišćenjem smeša polimera sa različitim brzinama degradacije, ili kod prirodnih polimera stepenom umrežavanja. Najzad određena mehanička svojstva nosača potrebna su radi održavanja porozne strukture nosača

u kulturi, kao i da bi se sprečila fragmentacija nosača pre nego što je dovoljna količina ekstracelularnog matriksa sintetisana.

Sa razvojem sinteze i proizvodnje raznovrsnih biomaterijala, otvorile su se široke mogućnosti za preciznu kontrolu strukture i svojstava nosača dizajniranih prema specifičnim zahtevima određenog tkiva. Danas se u kultivaciji tkiva ispituju razne vrste prirodnih i sintetičkih biomaterijala u različitim oblicima, od gelova, vlaknastih nosača, sunđera, do membrana i precizno izrađenih poroznih struktura. Nekoliko primera različitih struktura biomaterijala prikazano je na Sl. 26.3, a ovde će biti pomenute neke od najčešće korišćenih u bioinženjerstvu tkiva.

**Hidrogelovi** predstavljaju mreže polimernih lanaca nerastvornih u vodi, ali koje bubre do određene ravnotežne zapremine zadržavajući svoj oblik (v. Gl. 22). Mogu biti prirodni (npr. alginat, hitozan, kolagen) i sintetički (npr. polivinilalkohol, polietilenglikol, polietilenoksid). Hidrofilna sredina pogoduje velikom broju ćelija, tako da su hidrogelovi široko ispitivani za kultivaciju različitih tkiva. Posebno se može



*SLIKA 26.3 Primeri struktura biomaterijala (elektronska mikrografija): (a) sintetički hidrogel BD™ PuraMatrix™ Peptide Hydrogel, bar = 100 nm; (b) presovana vlakna poliglikolne kiseline, bar = 10 µm; (c) sunđerasti kolagen, bar = 10 µm; (d) sunđerasti poliglicerolsebacat sa precizno napravljenim kanalima, bar = 500 µm [34].*

izdvojiti primena hidrogelova za bioinženjerstvo hrskavice, koja je avaskularno tkivo sa malim brojem ćelija suspendovanih u gelu proteoglikana prožetog mrežom kola-genskih vlakana. Hidrogelovi svojom strukturom i hidrofilnošću podržavaju kulture hondrocyta i sintezu ekstracelularnog matriksa [14], a takođe mogu da podrže i dife-rencijaciju opredeljenih matičnih ćelija za mezenhimalno tkivo u pravcu hondrocyta [15,16]. Ovde se takođe mogu izdvojiti fotopolimerizujući hidrogelovi, koji pružaju naročitu mogućnost injektiranja i polimerizacije u samom oštećenju uz minimalnu hiruršku intervenciju [14,17]. Nedostaci hidrogelova su generalno slaba mehanička čvrstoća, komplikovano procesiranje u određeni oblik, i sterilizacija.

**Vlaknasti nosači** u obliku tkanina ili presovanih vlakana od sintetičkih (npr. poliglikolna i polilaktidna kiselina) ili prirodnih polimera (npr. kolagen), često su ispitivani za kultivaciju različitih tkiva kao npr. hrskavice [18–20], srčanog mišića [21–24] i kože [11,25]. Prečnici vlakana se tipično kreću u opsegu 10 – 40 µm, a nosači su najčešće sa velikim porama i velikom poroznošću (> 95 %). Ovi nosači su idealni za inženjerstvo dvodimenzionih (2D) tkivnih ekvivalenta, i lako se sekaju u različite oblike. Oni takođe omogućavaju formiranje tubularnih oblika, koji su atraktivni za inženjerstvo krvnih sudova [26–28], jednjaka [29], creva [30] i sl. Međutim, 3D strukture od tkanina i vlakana često su mehanički slabe, a donekle se mogu ojačati fizičkim povezivanjem vlakana [31].

**Sunderasti nosači** pružaju mogućnost oblikovanja 3D struktura sa otvorenim povezanim porama, koje mogu da izdrže veće kompresivne napone (oko  $10^4$  Pa) [31]. Veliki broj sintetičkih i prirodnih polimera takođe je ispitivan i u ovom obliku za kultivaciju gotovo svih tkiva [32]. Posebno se mogu izdvojiti porozni kalcijum fosfat i kompoziti na bazi kalcijum fosfata i hidroksiapatita, kao osteoinduktivnih materijala i biodegradabilnih polimera naročito atraktivnih za regeneraciju tkiva kosti *in vitro* i *in vivo* [10,33].

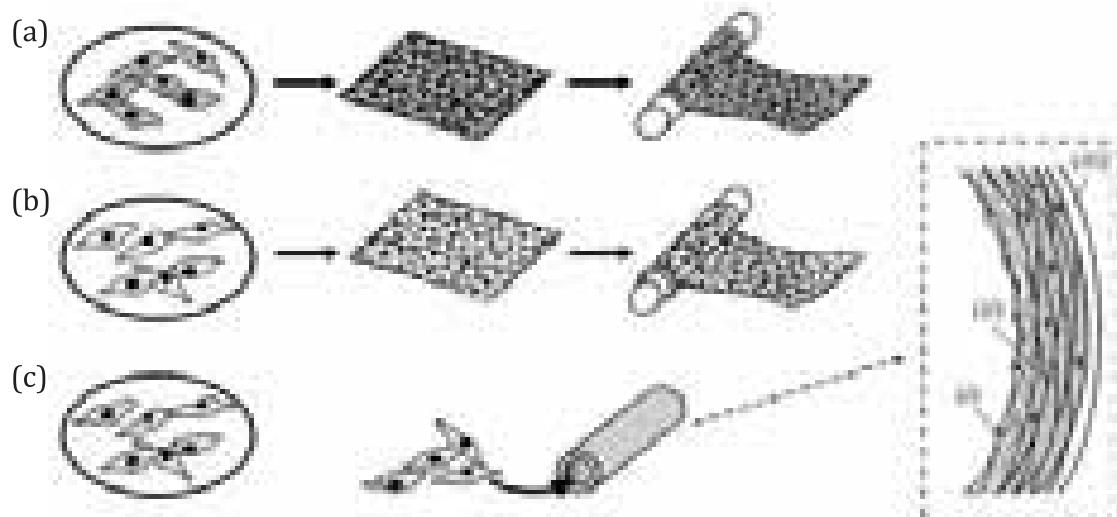
Razvojem tehnika za precizno procesiranje materijala omogućen je dizajn ćelijskih nosača sa tačno određenim strukturama. Na Sl. 26.3d prikazana je struktura sunđerastog polimera poliglicerolsebacata sa laserski formiranim paralelnim kanalima, koji je korišćen za kultivaciju srčanog tkiva uz direktni protok medijuma kroz kultivisano tkivo omogućavajući efikasan dotok kiseonika [34, 35].

Najnovija generacija biomaterijala često označavana kao „inteligentni“ bio-materijali, bazira se na zamisli da je moguće sintetisati materijale koji će reagovati na promene u mikrookolini i na taj način stimulisati određeni ćelijski odgovor na molekulskom nivou. Na primer, razvijena je nova generacija biodegradabilnih polimera koji mogu da menjaju svoju molekulsku konformaciju u zavisnosti od tem-perature, pH vrednosti, električne stimulacije i dr., što dalje može da izazove određenu interakciju sa ćelijama, podstakne proliferaciju ili diferencijaciju itd. Posebnu pažnju privlače i nanotehnologije, koje otvaraju nove mogućnosti sinteze makromolekula precizno definisanog sastava i strukture.

Najzad, istraživačka grupa sa Laval Univerziteta u Kanadi razvila je alternativni pristup bioinženjerstvu tkiva, baziran na pojavi da se ćelije u kulturi prirodno reorganizuju („samo-organizuju“) u strukture koje odgovaraju određenim tkivima [36–38]. U ovoj metodi, ćelije se kultivisu u monosloju, koji vremenom postaje kom-

paktan pošto ćelije počinju da sintetišu ekstracelularni matriks. Ovaj sloj se zatim može kombinovati sa drugim slojevima ćelija iste ili različite vrste, zavisno od ciljnog tkiva. Ovaj pristup je naročito atraktivan za inženjerstvo tkiva koja se sastoje iz slojeva, kao što je koža [36] ili srčani mišić [39,40], kao i za formiranje tubularnih tkivnih supstituenata, poput krvnih sudova [37,38]. Primena ovog postupka za inženjerstvo arterija malog prečnika prikazana je na Sl. 26.4.

Zidovi krvnih sudova sastoje se od tri osnovna sloja: *tunica interna*, *tunica media* i *tunica adventitia*. Prvi unutrašnji sloj čini rastresito vezivno tkivo prekriveno slojem endotelijalnih ćelija (Sl. 26.4*i*), koje formiraju glatku unutrašnju površinu sudova u dodiru sa krvlju. Srednji sloj se sastoji iz glatkih mišićnih ćelija i vezivnog tkiva, koga čine vlakna kolagena i elastina (Sl. 26.4*ii*). Na kraju, spoljni sloj, *tunica adventitia* (Sl. 26.4*iii*) sastoji se od rastresitog neuređenog vezivnog tkiva, koje služi za povezivanje krvnih sudova sa okolnim tkivom. U ovom postupku inženjerstva tkiva, izolovane glatke mišićne ćelije su kultivisane do kompaktnog monosloja, koji je onda odlepljen sa podloge i namotan preko fibrozne membrane na cilindrični nosač, kako bi se formirao srednji sloj (*tunica media*). Posle nedelju dana dodat-



**SLIKA 26.4 Bioinženjerstvo krvnih sudova bazirano na samo-organizaciji ćelija:** (a) izolovane glatke mišićne ćelije su kultivisane u monosloju do formiranja kompaktnog sloja, koji je namotan preko fibrozne membrane oko cilindričnog nosača i kultivisan dodatan period vremena; (b) izolovani fibroblasti su kultivisani u monosloju do formiranja kompaktnog sloja, koji je namotan preko sloja glatkih mišićnih ćelija; (c) posle narednog perioda kultivacije, cilindrični nosač je uklonjen i izolovane endotelijalne ćelije su injektirane u lumen cilindričnog kultivisanog tkiva, kako bi u toku kratkog perioda kultivacije formirale konfluentni endotelijum; na taj način je formiran ekvivalent krvnog suda, koji po strukturi i morfologiji odgovara prirodnom tkivu (uvećani isečak na slici: (i) tunica interna: sloj endotelijalnih ćelija koje prekrivaju rastresito vezivno tkivo; (ii) tunica media: glatke mišićne ćelije u vezivnom tkivu koga većim delom čine vlakna kolagena i elastina; (iii) tunica adventita: rastresito neuređeno vezivno tkivo). Adaptirano prema [38].

ne kultivacije, preko ovog sloja je namotan monosloj fibroblasta dobijen na sličan način kao i sloj glatkih mišićnih ćelija, kako bi se u toku narednog perioda kultivacije oformio spoljni sloj (*tunica adventitia*). Najzad, kada je oformljeno kompaktno tkivo zidova krvnog suda, cilindrični nosač se uklanja i u unutrašnjost suda se seju endotelijalne ćelije koje formiraju konfluentni endotelijum. Na taj način su dobijeni krvni sudovi koji su po sastavu i morfologiji odgovarali prirodnom tkivu uz dobra mehanička svojstva, što je omogućilo i implantaciju *in vivo* [37,38].

### 26.2.2 Bioreaktorski sistem

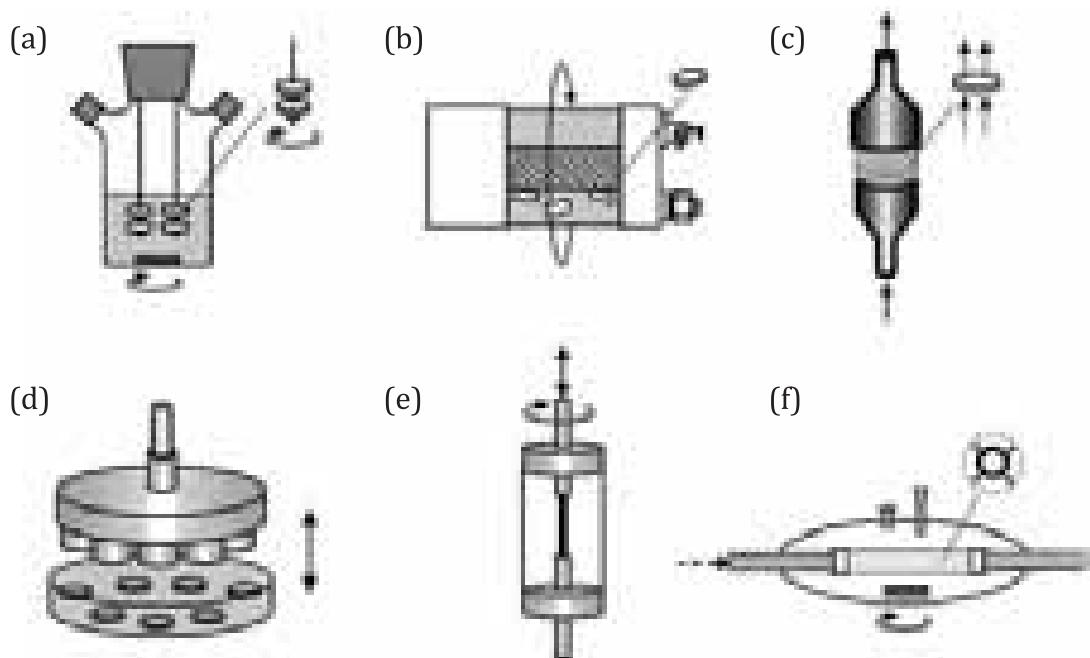
Bioreaktorski sistem bi u idealnom slučaju trebalo da obezbedi uslove za *in vitro* kultivaciju, koji podstiču brzu i funkcionalnu regeneraciju tkiva. U odnosu na statičke kulture, bioreaktorska kultivacija obezbeđuje efikasnije iskorišćenje 3D nosača [41] i održava diferenciranost ćeljske linije [42–44]. Strujanje medijuma i konvektivni transport poboljšavaju sastav i mehaničke karakteristike kultivisanog tkiva, pri čemu je u opštem slučaju laminarni režim strujanja pogodniji od turbulentnog. Generalno, najčešće postavljeni zahtevi koje bioreaktor treba da obezbedi u obuhvataju [42]:

1. efikasnu i ravnomernu imobilizaciju ćelija u visokoj koncentraciji po celoj zapremini 3D nosača;
2. kontrolisane uslove u kulturi (npr. temperatura, pH, osmolalitet, koncentracije kiseonika, nutrijenata i biološki aktivnih molekula i dr.);
3. efikasan prenos mase između medijuma i kultivisanog tkiva;
4. relevantne fiziološke signale (npr. mehanička stimulacija kultivisanog tkiva, adekvatni hidrodinamički uslovi i mali smicajni naponi na površini tkiva).

Pored ovih zahteva, za pojedina tkiva potrebno je ostvariti i dodatne signale, kao što je električna stimulacija u kultivaciji ćelija srčanog mišića ili razvoj vaskularizacije u kultivaciji ćelija jetre, hepatocita, i drugih tkiva koja zahtevaju efikasan dotok kiseonika. Uz to, posebno se mogu izdvojiti bioreaktorski sistemi sa kontrolisanim otpuštanjem biološki aktivnih molekula radi podsticanja diferencijacije matičnih ćelija u željenom pravcu, kao i bioreaktori namenjeni ispitivanju i poboljšavanju integracije kultivisanog tkiva. Dizajn bioreaktora za kultivaciju tkiva je danas zato usmeren na ostvarivanje biohemijskih i biomehaničkih uslova specifičnih za svako tkivo što približnije uslovima *in vivo*, tako da ne postoji jedinstveno i idealno rešenje već naprotiv velika raznovrsnost ideja i pristupa koji ovu oblast čine naročito zanimljivom.

U ovom odeljku je prikazano nekoliko različitih pristupa rešavanju najčešće postavljenih zahteva i dat je pregled pojedinih bioreaktorskih rešenja. Neki od tipova bioreaktora kojima se ostvaruje jedan ili više zahteva pri kultivaciji tkiva prikazani su na Sl. 26.5, uz ilustracije različitih režima i uslova kojima je tkivo podržano.

**Sudovi sa mešanjem** (Sl. 26.5a) predstavljaju jedan od najjednostavnijih sistema sličnih široko korišćenim fermentorima u biotehnologiji i reaktorima sa mehaničkim mešanjem u hemijskoj industriji. U ovom slučaju, tkivo je statično, pričvr-



*Slika 26.5. Bioreaktori za kultivaciju tkiva. (a) Sud sa mešanjem: kultivisano tkivo je statično i podvrgnuto turbulentnom toku (prema [42]); (b) Rotacioni bioreaktor: kultivisano tkivo je resuspendovano u medijumu oscilujući oko stacionarne tačke u dinamičkoj ravnoteži (prema [42]); (c) Perfuzioni bioreaktor: tok medijuma je usmeren direktno kroz tkivo simulirajući vaskularizaciju; (d) Bioreaktor sa dinamičkom kompresijom: kultivisano tkivo je podvrgnuto dejstvu mehaničkih sila pritiska čiji se intenzitet, period i frekvencija dejstva može kontrolisati (prema [45,46]); (e) Bioreaktor sa kombinacijom napona u više pravaca: kultivisano tkivo je naizmenično izloženo dejstvu sila torzije, pritiska i istezanja simulirajući biomehaničke uslove u ligamentima (prema [47]); (f) Bioreaktor sa dinamičkim radikalnim istezanjima: tubularno kultivisano tkivo je podvrgnuto radikalnim istezanjima usled pulzatilnog toka medijuma kroz silikonsko crevo koje prolazi kroz lumen tkiva (prema [48]).*

šćeno za igle i uronjeno u medijum. Sud je postavljen u inkubator, obično na 37°C i sa kontrolisanom atmosferom zasićenog vlažnog vazduha uz 5–10 % CO<sub>2</sub>, pri čemu se razmena gasova obavlja kroz polu-odvrnute zatvarače ručica suda i preko površine medijuma. Tkivo je moguće kultivisati u ovakvim statičkim uslovima, ili uz mehaničko mešanje najčešće postignuto korišćenjem magnetnog zrna i magnetne mešalice. U tom slučaju ostvaruje se turbulentan režim strujanja, a prenos mase se obavlja konvekcijom. Ovaj tip bioreaktora se pokazao kao efikasan za sejanje ćelija po celokupnoj zapremini vlaknastih nosača [49]. Međutim, iako je u kultivaciji tkiva poboljšanim prenosom mase podstaknuta sinteza ekstracelularnog matriksa hrsavice [50,51] kao i vijabilnost i funkcionalnost kultivisanog srčanog tkiva [52], turbulentni režim strujanja je izazvao dediferencijaciju ćelija i stvaranje fibrozne kapsule oko kultivisanog tkiva kao i povećana oštećenja osetljivih ćelija [20,50,51,53].

**Rotacioni bioreaktori** (Sl. 26.5b) projektovani su sa idejom da se ostvare uslovi kultivacije slični mikrogravitaciji. Kultivisano tkivo je resuspendovano u ro-

tacionom toku medijuma između dva koaksijalna cilindra bioreaktora koji se obrće oko svoje ose. Brzina bioreaktora se podešava tako da se tkivo održava u dinamičkoj ravnoteži oko stacionarne tačke. Razmena gasova sa kultivacionim medijumom se odvija preko silikonske membrane kojom je obložen unutrašnji, porozni i šuplji cilindar kroz koji se kontinualno dovodi inkubatorski gas. Laminarni režim strujanja uz uspostavljene dinamičke fluktuacije toka oko kultivisanog tkiva u ovom tipu bioreaktora, pokazao se kao najpogodniji za uniformnu regeneraciju hrskavičavog tkiva u odnosu na statičke i turbulentne uslove [50,51,54]. Uz to, u određenoj konfiguraciji ovog tipa bioreaktora („HARV“ – high aspect ratio vessel, eng. = sud sa velikim aspekt odnosom – prečnik/dužina) ostvarena je pogotovo dobra razmena gasova [53], tako da su pogodni hidrodinamički uslovi i efikasan prenos kiseonika do resuspendovanog tkiva poboljšali vijabilnost, strukturne i elektrofiziološke karakteristike kultivisanog srčanog tkiva [55]. Međutim, i u ovom tipu bioreaktora transport mase kroz samo kultivisano tkivo se ostvaruje difuzijom, što najčešće ograničava debljinu vijabilnog tkiva koje se može dobiti. U slučaju tkiva hrskavice koje nema velike potrebe za kiseonikom, ovakav prenos mase nije od presudnog značaja za kultivaciju tkiva debljine nekoliko milimetara. Međutim, u slučaju kultivacije srčanih ćelija, i pod najboljim uslovima u rotacionim bioreaktorima, brzina difuzije kiseonika ograničava zonu vijabilnih ćelija na svega oko 160 µm [55].

**Perfuzioni bioreaktori** (Sl. 26.5c) razvijeni su radi ostvarivanja konvektivnog prenosa mase unutar kultivisanog tkiva, tako što se protok medijuma usmerava direktno kroz kultivisano tkivo. Podešavanjem protoka medijuma tako da se dobiju intersticijalne brzine fluida slične fiziološkim (10 – 100 µm/s), simulira se vaskularizacija tkiva. Primenom ovog tipa bioreaktora u kultivaciji miocita ostvaren je efikasan prenos kiseonika kroz samo tkivo, što je omogućilo uniformnu raspodelu ćelija i održavanje vijabilnosti u nosačima debljine oko 1,5 – 2 mm [34,56,57]. Perfuzioni bioreaktori su takođe pogodni za efikasan transport faktora rasta i kontrolu uslova u mikro-okolini ćelije, što je značajno za kultivaciju matičnih ćelija i podsticanje diferencijacije u određenom pravcu (npr. mezenhimalne matične ćelije kostne srži u pravcu ćelija hrskavice ili kosti [58–61]). Pored toga ovaj tip bioreaktora je korišćen i za efikasnu imobilizaciju ćelija koje su osetljive na smicajne napone i nedostatak kiseonika, kao što su ćelije srčanog mišića [62], a takođe i za postizanje uniformne raspodele ćelija po celoj zapremini nosača [63]. Posebnu atraktivnost ovog pristupa imobilizaciji ćelija predstavlja mogućnost imobilizacije ćelija i kultivacije tkiva u istom bioreaktoru, što pojednostavljuje proceduru i smanjuje mogućnost kontaminacije [64].

**Bioreaktori sa kontrolisanom dinamičkom kompresijom tkiva** (Sl. 26.5d) predloženi su za simulaciju uslova razvoja i održavanja tkiva hrskavice, kojima je ovo tkivo prirodno podvrgnuto u zglobovima [45,46,65–68]. Kompresivni naponi u artikularnoj hrskavici u zglobovima mogu da dostignu vrednosti i do 6 – 18 MPa (npr. u kukovima pri ustajanju iz sedećeg položaja [69,70]). U ispitivanjima i u *in vivo* i u *in vitro* uslovima pokazano je da mehanička stimulacija veoma utiče na metaboličku aktivnost hondrocyta, a time i na sastav, strukturu i biomehaničke karakteristike hrskavice. U kliničkim ispitivanjima se pokazalo da umerena vežba dovodi do povećanja sadržaja proteoglikana [71,72], dok imobilizacija zglobova do-

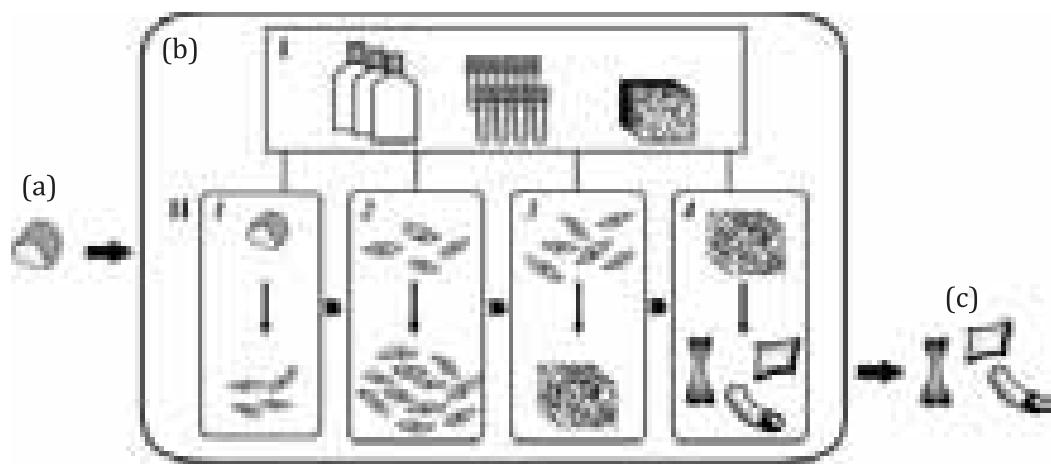
vodi do smanjivanja sadržaja ove komponente u hrskavici [73,74]. Slično, u *in vitro* uslovima statička kompresija uzoraka hrskavice dovodi do smanjenja biosintetičke aktivnosti hondrocita [75,76], dok ciklična stimulacija može da dovede do povećanja sinteze proteoglikana i proteina zavisno od primenjene frekvencije, intenziteta i trajanja stimulacije [77–82]. U razvoju bioreaktorskih sistema sa dinamičkom kompresijom, pošlo se od pretpostavke da su za funkcionalnu regeneraciju hrskavice u *in vitro* uslovima potrebnii mehanički signali slični mehaničkim naprezanjima u organizmu *in vivo*. Tkivo je kultivisano u kadicama napunjениmedijumom i podvrgnuto dinamičkoj kompresiji kontrolisanim kretanjem gornjih klipova, tako da se postižu fiziološki uslovi (5-10 % deformacija, 0,1-1 Hz frekvencija). Mehanička stimulacija je poboljšala sastav i mehaničke karakteristike kultivisanog tkiva hrskavice [65,67]. Uz to, u pojedinim eksperimentalnim grupama mehanički stimulisano tkivo je imalo bolje biomehaničke karakteristike ali približno isti biohemski sastav kao statički kultivisano tkivo, što potencijalno ukazuje da mehanička stimulacija podstiče i struktturnu organizaciju regenerisanog tkiva hrskavice [67]. Ipak jedan od problema u ovom tipu bioreaktora može da bude nedovoljan prenos mase i povećan konvektivni transport novosintetisanih komponenti iz tkiva, što može da proizvede ukupan negativan efekat kod inicijalno nedovoljno razvijenog tkiva [68].

**Bioreaktor sa kombinacijom napona u više pravaca** (Sl. 26.5e) odnosno mogućnošću torzije, kompresije i istezanja tkiva, razvijen je za kultivaciju tkiva ligamenta [47,83,84]. Ligamenti stabišu zglove i sastoje se od snopova fibroznih vlakana, koji su u normalnoj funkciji pri savijanju zglobova podvrgnuti istezanju i rotaciji. Prednji ukršteni ligament zajedno sa zadnjim ukrštenim ligamentom stabiše zglob kolena, i pri savijanju kolena trpi sile istezanja od 100–700 N i rotaciju do 140°. Ovaj ligament se sastoji od snopova vlakana kolagena i elastina orijentisanih u aksijalnom pravcu i spiralno oko ose ligamenta, dajući time ligamentu čvrstinu i elastičnost. U predloženom bioreaktorskem sistemu, kultivisano tkivo je pričvršćeno između dva držača, pri čemu gornji može da rotira oko svoje ose i da se kreće naviše i naniže, a kultivacioni medijum sa nutrijentima i kiseonikom struji oko tkiva. Na taj način su simulirane komplikovane mehaničke sile koje deluju na ligamente u zglobovima *in vivo*. Mehanička stimulacija od 90° torzije i 10 % istezanja pri frekvenciji od 0,167 Hz je za vreme od 3 nedelje izazvala diferencijaciju mezenhimalnih progenitorskih ćelija kultivisanih na nosačima od kolagena ili svile u pravcu ćelija ligamenta, bez upotrebe dodatnih biohemskih faktora koji bi indukovali diferencijaciju [47]. Ćelije su se orijentisale u pravcu rezultujuće sile, a na periferiji kultivisanog tkiva sintetisana su helikalno organizovana kolagenska vlakna karakteristična za prirodno tkivo ligamenta. Ova svojstva nisu dobijena u kulturama tkiva bez mehaničke stimulacije, navodeći na zaključak da je biomimični pristup obezbeđivanja relevantnih biomehaničkih signala u *in vitro* uslovima esencijalan za kultivaciju koštanih i hrskavičavih tkiva.

**Bioreaktori sa dinamičkim radijalnim istezanjima** (Sl. 26.5f) razvijeni su za kultivaciju krvnih sudova [48, 85–87]. Arterije transportuju krv kroz organizam pri visokom pulzatilnom pritisku (80–120 mmHg) što dovodi do cikličnih radijalnih istezanja zidova arterija do 10 %. Zidovi arterija se sastoje, kao što je već rečeno, od tri osnovna sloja. Mehaničke karakteristike krvnih sudova su u najvećoj meri određene osobinama i sastavom srednjeg sloja, koji obezbeđuje čvrstinu, elastičnost

kao i mogućnost kontrakcije krvnih sudova. Sintetički implantati se uspešno primenjuju za zamenu delova većih arterija (v. Gl. 23), ali pri implantaciji u krvne sudove manjeg prečnika (< 6 mm) dolazi do komplikacija, tako da se u tim slučajevima ne mogu primeniti. Biomimični pristup bioinženjerstvu krvnih sudova uz primenu mehaničke stimulacije, namenjen je rešavanju ovog problema. U predloženim bioreaktorskim sistemima glatke mišićne ćelije su imobilisane na cevastim polimernim nosačima i podvrgnute cikličnom radikalnom naprezanju (1,5–5 % pri frekvenciji od 60–165 pulzacija u minuti) direktnim uvođenjem pulsirajućeg toka medijuma kroz lumen nosača [87] ili indirektno kroz silikonsko crevo [85], tako imitirajući prirodne *in vivo* uslove u arterijama. Mehanička stimulacija je prouzrokovala radikalnu orijentaciju ćelija, slično prirodnoj strukturi zidova krvnih sudova [87]. Kultivacijom u toku 8 nedelja dobiveni su krvni sudovi prečnika 3 mm, dužine 8 cm i debljine zidova 200–400 µm, odličnih mehaničkih karakteristika, koji su uspešno implantirani i u eksperimentalnim životinjama *in vivo* tokom 3 nedelje [48].

Razvoj bioreaktorskih sistema za bioinženjerstvo tkiva za potencijalnu kliničku primenu, osim definisanja i obezbeđivanja kontrolisanih i u idealnom slučaju optimalnih uslova za regeneraciju ciljnog tkiva, mora da uključi i standardizaciju proizvodnje uz adekvatan monitoring ćelija i tkiva, i poželjno automatsku regulaciju [64]. Idealni bioreaktorski sistem bi mogao da uključi kultivaciju i ekspanziju ćelija, imobilizaciju ćelija na odgovarajući nosač i kultivaciju tkivnog ekvivalenta, čime bi se eliminisali problemi vezani za transport i procesiranje kultura ćelija i tkiva na različitim mestima (Sl. 26.6 [64]).



**SLIKA 26.6** Zamišljeni integrisani bioreaktorski sistem za kultivaciju tkiva: (a) uzorak tkiva dobijen biopsijom od pacijenta se prenosi u bioreaktor (b) koji sadrži (I) sve potrebne materijale za inženjerstvo tkiva (medijum za kultivaciju, bioaktivne molekule, nosače ćelija) i (II) specijalizovane bioreaktorske celine u kojima se vrši (1) izolacija ćelija iz uzorka tkiva, (2) ekspanzija i diferencijacija ćelija u željenom pravcu, (3) efikasna imobilizacija ćelija na odgovarajućem nosaču, i (4) kultivacija finkcionalnog tkiva; (c) dobijeni funkcionalni ekvivalenti tkiva se koristi za klinički tretman obolelog ili oštećenog tkiva; ceo postupak je strogo kontrolisan i automatizovan i odvija se u istoj ustanovi (prema [64]).

## 26.4 INTEGRACIJA TKIVNIH EKVIVALENATA U ŽIVI ORGANIZAM

Poslednja faza u potencijalnoj kliničkoj primeni bioinženjerstva tkiva je uspešna implantacija i funkcionalna integracija kultivisanog tkiva u živi organizam. I u ovom slučaju bioreaktori mogu da pruže kontrolisane uslove za istraživanje procesa integracije kultivisanog i prirodnog tkiva i uticaja specifičnih parametara na ove procese [88,89], ali, da bi se odredila funkcionalna performansa kultivisanog tkiva, potrebna je *in vivo* evaluacija. Koraci u ovoj fazi predstavljaju: (i) definisanje kliničkog problema, (ii) primena rezultata *in vitro* istraživanja na *in vivo* studije u eksperimentalnim životinjama, i (iii) primena rezultata istraživanja na životinjama u kliničkim ispitivanjima na ljudima.

Definisanje kliničkog problema predstavlja karakterizaciju ciljnog tkiva ili organa sa stanovišta biohemiskog sastava, morfologije i funkcije, kao i oboljenja ili defekta koji se tretiraju, i nivo do kog je potrebno regenerisati tkivo. U sledećem koraku je potrebno odabrati adekvatan životinjski model. Pri tome treba imati u vidu da su *in vivo* uslovi mnogo složeniji od *in vitro* uslova, jer uključuju krvni sistem i različite tipove ćelija i tkiva koja sintetišu raznovrsne bioaktivne molekule, zatim kompleksna mehanička naprezanja, i najzad promene svih ovih faktora sa vremenom. Eksperimenti na životinjama mogu da daju informacije o lokalnom i sistemskom odgovoru na implantirano kultivisano tkivo, kao i o funkcionalnosti implantata. Na kraju, u primeni rezultata dobijenih u eksperimentima na životinjama na klinička ispitivanja na ljudima, treba uzeti u obzir i razlike između ova dva *in vivo* sistema kao što su mesto i veličina defekta, razlike u karakteristikama i funkciji tkiva, starost i pol, vrsta i indikacije oboljenja, kao i inervacija i odgovor na bol kod ljudi.

Generalno, u *in vivo* evaluaciji kultivisanog tkiva teško je odrediti kvantitativne kriterijume uspešnosti performanse implantata, i ovo je problem kako u eksperimentima na životinjama tako i u kliničkim ispitivanjima [5]. Kultivisano tkivo je potrebno oceniti sa stanovišta imunološkog odgovora i biokompatibilnosti, morfoloških karakteristika, biohemiskog sastava i funkcionalnosti, a u pogledu kliničke primene i sa stanovišta olakšavanja tegoba i bola. Imunološki odgovor organizma može biti problem, kao što je već rečeno, pri primeni kultivisanih tkiva baziranih na alogenim i ksenogenim ćelijama, i u tom slučaju ispitivanja se vrše u pravcu zaštite implantiranog tkiva (npr. korišćenje semipermeabilne membrane) ili blokiranja prepoznavanja i imunoliske reakcije. Uz to, čak i u slučaju imuno-prihvatljivih implantata može doći do zapaljenja ili tromboze, što je naročito značajno pri bioinženjerstvu i implantaciji ekvivalenata krvnih sudova. Morfološke i biohemiske karakteristike kultivisanog tkiva mogu precizno da se odrede jedino biopsijom odnosno uzorkovanjem samog tkiva, pri čemu još i veći problem predstavlja nepoznavanje tačnih korelacija između karakteristika tkiva i njegove funkcionalnosti. Određivanje funkcionalnosti tkiva najčešće se bazira na merenju pojedinih karakteristika, kao što su mehanička svojstva tkiva. Međutim, u ovom pristupu problem predstavlja utvrđivanje relevantnih svojstava za datu funkciju tkiva, kao i pouzdanih zavisnosti između svojstava i funkcionalnosti. Na kraju, klinička ocena u odnosu na olakšavanje tegoba može se dobiti samo u kliničkim ispitivanjima, pri čemu su dinamika i

vreme potrebno za sigurnu evaluaciju nepoznati. U kliničkim ispitivanjima ocena performanse implantiranog tkiva formira se na osnovu semikvantitativne evaluacije olakšavanja tegoba, snimanja i neinvazivnog testiranja, kao i biopsije tkiva. Ovde se postavlja još jedno, zapravo osnovno pitanje – do kog nivoa je potrebno regenerisati tkivo da bi se dobio klinički zadovoljavajući rezultat, prvenstveno u pogledu olakšavanja tegoba i povraćaja funkcije. Odgovor na ovo pitanje zavisi od vrste tkiva i poremećaja, ali iskustva iz prakse ukazuju da u većini slučajeva nije neophodna potpuna regeneracija. Samo uporednim i sistematskim *in vitro* i *in vivo* istraživanjima će se definisati optimalni sistemi za bioinženjerstvo funkcionalnih tkivnih ekvivalenta koji će se uspešno primeniti u kliničkoj praksi.

## 26.5 PITANJA ZA REKAPITULACIJU

- 26.1 Koja od sledećih definicija bioinženjerstva tkiva je *najmanje odgovarajuća*:  
(a) dobijanje živih tkiva za terapeutsku primenu; (b) primena inženjerskih principa i saznanja iz oblasti medicine, biologije i hemije radi razvoja bioloških ekvivalenta za regeneraciju, povraćaj i poboljšanje funkcije tkiva; (c) ispitivanje i primena fundamentalnih principa razvoja tkiva radi dobijanja funkcionalnih tkivnih ekvivalenta za kliničku primenu; (d) primena inženjerskih principa i tehnika u oblasti medicine?
- 26.2 Implantirano tkivo koje se genetski razlikuje od primaoca iako dobijeno od iste vrste naziva se: (a) autologno; (b) alogeno; (c) ksenogeno.
- 26.3 Ćelija koja može da diferencira u pravcu svih ćelijskih linija naziva se: (a) totipotentna; (b) multipotentna; (c) adultna matična ćelija; (d) pluripotentna.
- 26.4 Navesti prednosti i nedostatke korišćenja matičnih ćelija u bioinženjerstvu tkiva.
- 26.5 Na osnovu literature, navesti tri primera korišćenja adultnih matičnih ćelija u bioinženjerstvu tkiva.
- 26.6 Opisati jedan od komercijalnih proizvoda za zamenu tkiva kože (Integra™, DermaGraft™, ApliGraft™, TransCyte™ itd.).
- 26.7 Opisati primer primene hidrogelova za bioinženjerstvo tkiva.
- 26.8 Opisati primer primene fotopolimerizujućeg hidrogela u regenerativnoj medicini.
- 26.9 Predložiti po tri biomaterijala za bioinženjerstvo tkiva: (a) kože; (b) hrska-vice; (c) kosti; (d) srčanog mišića; (e) krvnih sudova.
- 26.10 Na osnovu pregleda literature, opisati primer „inteligentnog biomaterijala“ i predložiti potencijalne mogućnosti za njegovu primenu u bioinženjerstvu tkiva.
- 26.11 Opisati primer primene samo-organizacije ćelija za bioinženjerstvo tkiva.
- 26.12 Korišćenjem literature, navesti i opisati uticaj tri biohemski faktora na *in vitro* regeneraciju tkiva.

- 26.13 Na osnovu pregleda literature, opisati primer primene biomaterijala sa kontrolisanim otpuštanjem bioaktivnih molekula u bioinženjerstvu tkiva.
- 26.14 Na osnovu pregleda literature, odabrat i opisati primer bioreaktorskog sistema i uticaja mehaničke stimulacije na struktturnu organizaciju regenerisanog tkiva.
- 26.15 Na osnovu pregleda literature, opisati primer integrisanog pristupa razvoju biomaterijala i bioreaktorskog sistema za bioinženjerstvo tkiva: (a) hrskavice; (b) kosti; (c) srčanog mišića; (d) krvnih sudova.

## **26.6 LITERATURA**

1. M. J. Lysaght, J. Reyers, The growth of tissue engineering, *Tissue Eng.* 7 (2001) 485–493.
2. J. A. Buckwalter, H. J. Mankin, Articular cartilage: degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration, and transplantation, *Instr. Course Lect.* 47 (1998) 487–504.
3. T. A. Einhorn, The cell and molecular biology of fracture healing, *Clin. Orthop.* 355S (1998) S7-S21.
4. S. W. O'Driscoll, Preclinical cartilage repair: current status and future perspectives. *Clin. Orthop.* 391 Suppl (2001) S397-S401.
5. R. M. Nerem, The challenge of imitating nature, in: R. P. Lanza, R. Langer, J. Vacanti (eds), *Principles of Tissue Engineering*, (Academic Press, 2000), Ch. 2, pp. 9–15.
6. M. M. Siddiqui, A. Atala, Stem cells – potential for tissue engineering, in: V. Nedovic, R. Willaert (eds.), *Focus on Biotechnology, Volume 8b: Applications of Cell Immobilisation Biotechnology* (Springer, Dordrecht, Netherlands, 2005), 167–181.
7. D. P. Lennon, A. I. Caplan, Mesenchymal stem cells for tissue engineering, in: G. Vunjak-Novakovic, R. I. Freshney (eds.), *Culture of Specialized Cells: Culture of Cells for Tissue Engineering* (John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2006), Ch. 2, 23–59.
8. A. I. Caplan, The mesengenic process, *Clin. Plastic Surg.* 21 (1994) 429–435.
9. M. F. Pittenger, A. M. Mackay, S. C. Beck, R. K. Jaiswal, R. Douglas, J. D. Mosca, M. A. Monorman, D. W. Simonetti, S. Craig, D. R. Marshak, Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells, *Science* 284 (1999) 143–147.
10. G. Vunjak-Novakovic, S. A. Goldstein, Biomechanical principles of cartilage and bone tissue engineering, in: V.C. Mow, R. Huiskes (eds.), *Basic Orthopaedic Biomechanics and Mechanobiology* (Lippincott-Williams and Wilkens, Philadelphia, 2005) 343–408.
11. I. V. Yannas, Regeneration templates, in: J.D. Bronzino (ed), *Biomedical Engineering Handbook* (CRC Press, Boca Raton, 1995) 1619–1635.
12. R. Langer, J. P. Vacanti, Tissue engineering, *Science*, 260 (1993) 920–926.
13. L. G. Cima, R. Langer, J. P. Vacanti, Polymers for tissue and organ culture, *J. Bioact. Compat. Polym.*, 6 (1991) 232–239.
14. B. Sharma, J. Elisseeff, Engineering structurally organized cartilage and bone tissues, *Annals Biomed. Eng.* 32 (2004) 148–159.

15. M. Weber, A. Steinert, A. Jork, A. Dimmler, F. Thurmer, N. Schutze, C. Hendrich, U. Zimmermann. Formation of cartilage matrix proteins by BMP-transfected murine mesenchymal stem cells encapsulated in a novel class of alginates, *Biomaterials.*, 23 (2002) 2003–2013.
16. C. G. Williams, T. K. Kim, A. Taboas, A. Malik, P. Manson, J. H. Elisseeff, In vitro chondrogenesis of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in a photopolymerizing hydrogel, *Tissue Eng.*, 9 (2003) 679–688.
17. J. Elisseeff, M. Ruffner, T.-G. Kim, C. Williams, Cellular photoencapsulation in hydrogels, in: G. Vunjak-Novakovic, R. I. Freshney (eds.), *Culture of Specialized Cells: Culture of Cells for Tissue Engineering* (John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2006), Ch. 9, 213–238.
18. L. E. Freed, G. Vunjak-Novakovic, R. Biron, D. Eagles, D. Lesnoy, S. Barlow, R. Langer, Biodegradable polymer scaffolds for tissue engineering, *Bio/Technology* 12 (1994) 689–693.
19. L.E. Freed, G. Vunjak-Novakovic, Tissue engineering of cartilage. In: Bronzino, J.D. (ed), *Biomedical Engineering Handbook*, (CRC Press, Boca Raton, 2000), Ch. 124: 1–26.
20. B. Obradovic, M. Radisic, G. Vunjak-Novakovic, Tissue engineering of cartilage and myocardium, in: V. Nedovic, R.G. Willaert (eds.), *Focus on Biotechnology, Vol. 8b: Applications of Cell Immobilisation Biotechnology* (Springer Dordrecht, Berlin, Heidelberg, New York, 2005) 99–133.
21. R. E. Akins, R. A. Boyce, M. L. Madonna, N. A. Schroedl, S. R. Gonda, T. A. McLaughlin, C. R. Hartzell, Cardiac organogenesis in vitro: reestablishment of three-dimensional tissue architecture by dissociated neonatal rat ventricular cells, *Tissue Eng.* 5 (1999) 103–118.
22. R. L. Carrier, M. Papadaki, M. Rupnick, F. J. Schoen, N. Bursac, R. Langer, L. E. Freed, G. Vunjak-Novakovic, Cardiac tissue engineering: cell seeding, cultivation parameters and tissue construct characterization, *Biotechnol. Bioeng.* 64 (1999) 580–589.
23. N. Bursac, M. Papadaki, R. J. Cohen, F. J. Schoen, S. R. Eisenberg, R. Carrier, G. Vunjak-Novakovic, L. E. Freed, Cardiac muscle tissue engineering: toward an in vitro model for electrophysiological studies, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 277 (1999) H433-H444.
24. M. Papadaki, N. Bursac, R. Langer, J. Merok, G. Vunjak-Novakovic, L. E. Freed, Tissue engineering of functional cardiac muscle: molecular, structural and electrophysiological studies, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 280 (2001) H168-H178.
25. B. Zavan, R. Cortivo, P. Brun, C. Tonello, G. Abatangelo, Bioartificial skin, in: V. Nedovic, R.G. Willaert (eds.), *Focus on Biotechnology, Vol. 8b: Applications of Cell Immobilisation Biotechnology* (Springer Dordrecht, Berlin, Heidelberg, New York, 2005) 55–68.
26. L. E. Niklason, Replacement arteries made to order, *Science*, 286 (1999) 1493–1494.
27. L. E. Niklason, J. Gao, W. M. Abbott, K.K. Hirschi, S. Houser, R. Marini, R. Langer, Functional arteries grown in vitro, *Science*, 284 (1999) 489–493.
28. J. A. McKee, S. S. Banik, M. J. Boyer, N. M. Hamad, J. H. Lawson, L. E. Niklason, C. M. Counter, Human arteries engineered in vitro, *EMBO Reports*, 4 (2003) 633–638.
29. S. Matsuda, Y. Ikada, Alimentary tract, in: A. Atala, R. P. Lanza (eds.), *Methods of tissue engineering* (Academic Press, San Diego, 2002), Ch. 84, 943–949.
30. D. J. Mooney, G. Organ, J. P. Vacanti, R. S. Langer, Design and fabrication of biodegradable polymer devices to engineer tubular tissues, *Cell Trans.*, 3 (1994) 203–210.

31. D. J. Mooney, R. S. Langer, Engineering biomaterials for tissue engineering: the 10 – 100 micron size scale, in: J.D. Bronzino (ed), *Biomedical Engineering Handbook* (CRC Press, Boca Raton, 1995) 1609–1618.
32. A. Atala, R. P. Lanza (eds.), *Methods of tissue engineering* (Academic Press, San Diego, 2002).
33. P. Sharma, S. Cartmell, A. J. El Haj, Bone tissue engineering, in: V. Nedovic, R. Willaert (eds.), *Focus on Biotechnology, Volume 8b: Applications of Cell Immobilisation Biotechnology* (Springer, Dordrecht, Netherlands, 2005), 153–166.
34. M. Radisic, H. Park, F. Chen, J. E. Salazar-Lazzaro, Y. Wang, R. G. Dennis, R. Langer, L. E. Freed, G. Vunjak-Novakovic, Biomimetic approach to cardiac tissue engineering: Oxygen carriers and channeled scaffolds, *Tissue Eng.* 12 (2006) 1–15.
35. M. Radisic, W. Deen, R. Langer, G. Vunjak-Novakovic, Mathematical model of oxygen distribution in engineered cardiac tissue with parallel channel array perfused with culture medium containing oxygen carriers, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 288 (2005) H1278–H1289.
36. F. A. Auger, C. A. Lopez Valle, R. Guingard, N. Tremblay, B. Noel, F. Goulet, L. Germain, Skin Equivalent produced with human collagen, *In Vitro Cell Dev. Biol.* 31 (1995) 432–439.
37. N. L'Heureux, S. Paquet, R. Labbe, L. Germain, F. A. Auger, A completely biological tissue-engineered human blood vessel, *FASEB J.*, 12 (1998) 47–56.
38. L. Germain, K. Laflamme, F. A. Auger, Tissue-engineered blood vessels and the future of tissue substitutes, in: V. Nedovic, R. Willaert (eds.), *Focus on Biotechnology, Volume 8b: Applications of Cell Immobilisation Biotechnology* (Springer, Dordrecht, Netherlands, 2005), 85–97.
39. T. Shimizu, M. Yamato, T. Akutsu, T. Shibata, Y. Isoi, A. Kikuchi, M. Umezawa, T. Okano, Electrically communicating three-dimensional cardiac tissue mimic fabricated by lazered cultured cardiomyocyte sheets, *J. Biomed. Mater. Res.* 60 (2002) 110–117.
40. T. Shimizu, M. Yamato, Y. Isoi, T. Akutsu, T. Setomaru, K. Abe, A. Kikuchi, M. Umezawa, T. Okano, Fabrication of pulsatile cardiac tissue grafts using a novel 3-dimensional cell sheet manipulation technique and temperature-responsive cell culture surfaces, *Circ. Res.* 90 (2002) e40–e48.
41. M. Pei, L. A. Solchaga, J. Seidel, L. Zeng, G. Vunjak-Novakovic, A.I. Caplan, L. E. Freed, Bioreactors mediate the effectiveness of tissue engineering scaffolds, *FASEB J.*, 16 (2002) 1691–1694.
42. L. E. Freed, G. Vunjak-Novakovic, Tissue engineering bioreactors, in: R. P. Lanza, R. Langer, J. Vacanti (eds.), *Principles of Tissue Engineering* (Academic Press, San Diego, CA, 2000), 143–156.
43. G. Vunjak-Novakovic, Fundamentals of tissue engineering: scaffolds and bioreactors, in: A. I. Caplan (ed.), *Tissue Engineering of Cartilage and Bone* (Wiley, London, 2003) 34–51.
44. G. Vunjak-Novakovic, B. Obradovic, H. Madry, G. Altman, D. Kaplan, Bioreactors for orthopaedic tissue engineering, in: A. I. Caplan, V. Goldberg (eds.), *Orthopaedic Tissue Engineering: Basic Science and Practice* (Marcel Dekker, New York, NY, 2004) 123–147.

45. R. L. Mauck, M. A. Soltz, C. C.-B. Wang, D. D. Wong, P. G. Chao, W. B. Valhmu, C. T. Hung, G. A. Ateshian, Functional tissue engineering of articular cartilage through dynamic loading of chondrocyte-seeded agarose gels, *J. Biomech. Eng.* 122 (2000) 252–260.
46. O. Demarteau, M. Jakob, D. Schafer, M. Heberer, I. Martin, Development and validation of a bioreactor for physical stimulation of engineered cartilage, *Biorheology* 40 (2003) 331–336.
47. G. H. Altman, R. L. Horan, I. Martin, J. Farhadi, P. R. Stark, V. Volloch, J. C. Richmond, G. Vunjak-Novakovic, D. L. Kaplan, Cell differentiation by mechanical stress, *Faseb J* 16 (2002) 270–272.
48. L. E. Niklason, J. Gao, W. M. Abbott, K. K. Hirschi, S. Houser, R., Marini, R. Langer, Functional arteries grown in vitro, *Science* 284 (1999) 489–493.
49. G. Vunjak-Novakovic, B. Obradovic, I. Martin, P. M. Bursac, R. Langer, L. E. Freed, Dynamic cell seeding of polymer scaffolds for cartilage tissue engineering, *Biotechnol. Prog.* 14 (1998) 193–202.
50. G. Vunjak-Novakovic, I. Martin, B. Obradovic, S. Treppo, A. J. Grodzinsky, L. E. Freed, Bioreactor cultivation conditions modulate the composition and mechanical properties of tissue-engineered cartilage, *J. Orthop. Res.* 17 (1999) 130–138.
51. G. Vunjak-Novakovic, B. Obradovic, I. Martin, L. E. Freed, Bioreactor studies of native and tissue engineered cartilage, *Biorheology*, 39 (2002) 259–268.
52. R. L. Carrier, M. Papadaki, M. Rupnick, F. J. Schoen, N. Bursac, R. Langer, L.E. Freed, G. Vunjak-Novakovic, Cardiac tissue engineering: cell seeding, cultivation parameters and tissue construct characterization, *Biotechnol. Bioeng.* 64 (1999) 580–589.
53. M. Radisic, B. Obradovic, G. Vunjak-Novakovic, Functional tissue engineering of cartilage and myocardium: bioreactor aspects, in: P.X. Ma, J. Elisseeff (eds.), *Scaffolding in Tissue Engineering* (Marcel Dekker, 2005) Ch. 33, 491–520.
54. B. Obradovic, I. Martin, L. E. Freed, G. Vunjak-Novakovic, Bioreactor studies of natural and tissue engineered cartilage, *Ortopedia Traumatologia Rehabilitacja*, 3 (2001) 181–189.
55. M. Papadaki, N. Bursac, R. Langer, J. Merok, G. Vunjak-Novakovic, L. E. Freed, Tissue engineering of functional cardiac muscle: molecular, structural and electrophysiological studies, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 280 (2001) H168–H178.
56. R. L. Carrier, M. Rupnick, R. Langer, F. J. Schoen, L. E. Freed, G. Vunjak-Novakovic, Perfusion improves tissue architecture of engineered cardiac muscle, *Tissue Eng.* 8 (2002) 175–188.
57. M. Radisic, L. Yang, J. Boublik, R.J. Cohen, R. Langer, L.E. Freed, G. Vunjak-Novakovic, Medium perfusion enables engineering of compact and contractile cardiac tissue, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 286 (2004) H507–516.
58. G. N. Bancroft, V. I. Sikavitsas, J. van den Dolder, T. L. Sheffield, C. G. Ambrose, J. A. Jansen, A. G. Mikos, Fluid flow increases mineralized matrix deposition in 3D perfusion culture of marrow stromal osteoblasts in a dose-dependent manner, *PNAS*, 99 (2002) 12600–12605.
59. L. Meinel, B. Obradovic, V. Karageorgiou, M. Radisic, H. Park, L. Freed, D. Kaplan, G. Vunjak – Novakovic, Biophysical regulation of adult human mesenchymal stem cells in engineered tissues, *Proc. Ann. Meet. AIChE*, San Francisco, Nov. 16–21, 2003, pp. 477d: 1–17.

60. V. I. Sikavitsas, G. N. Bancroft, H. L. Holtorf, J. A. Jansen, A. G. Mikos, Mineralized matrix deposition by marrow stromal osteoblasts in 3D perfusion culture increases with increasing fluid shear forces, *Proc Natl Acad Sci USA*, 100 (2003) 14683–14688.
61. H. L. Holtorf, J. A. Jansen, A. G. Mikos, Flow perfusion culture induces the osteoblastic differentiation of marrow stromal cells scaffold constructs in the absence of dexamethasone, *J Biomed Mater Res*;72A (2005) 326–334.
62. M. Radisic, M. Euloth, L. Yang, R. Langer, L. E. Freed, G. Vunjak-Novakovic, High density seeding of myocyte cells for tissue engineering, *Biotechnol. Bioeng.* 82 (2003) 403–414.
63. D. Wendt, A. Marsano, M. Jakob, M. Heberer, I. Martin, Oscillating perfusion of cell suspensions through three-dimensional scaffolds enhances cell seeding efficiency and uniformity, *Biotechnol. Bioeng.* 84 (2003) 205–214.
64. I. Martin, D. Wendt, M. Heberer, The role of bioreactors in tissue engineering, *TRENDS Biotechnol.*, 22 (2004) 80–86.
65. R. L. Mauck, S. L. Seyhan, G. A. Ateshian, C. T. Hung, Influence of seeding density and dynamic deformational loading on the developing structure/function relationships of chondrocyte-seeded agarose hydrogels, *Ann. Biomed. Eng.* 30 (2002) 1046–1056.
66. R. L. Mauck, S. B. Nicoll, S. L. Seyhan, G. A. Ateshian, C. T. Hung, Synergistic action of growth factors and dynamic loading for articular cartilage tissue engineering, *Tissue Eng.* 9 (2003) 597–611.
67. R. L. Mauck, C. C.-B. Wang, E. S. Oswald, G. A. Ateshian, C. T. Hung, The role of cell seeding density and nutrient supply for articular cartilage tissue engineering with deformational loading, *Osteoarthr. Cartilage* 11 (2003) 879–890.
68. O. Demarteau, D. Wendt, A. Braccini, M. Jakob, D. Schafer, M. Heberer, I. Martin, Dynamic compression of cartilage constructs engineered from expanded human articular chondrocytes, *Biochem. Bioph. Res. Co.* 310 (2003) 580–588.
69. V. C. Mow, A. Ratcliffe, A. R. Poole, Cartilage and diarthrodial joints as paradigms for hierarchical materials and structures, *Biomaterials*, 13 (1992) 67–97
70. G. A. Ateshian, C. T. Hung, Functional properties of native articular cartilage. in: F. Guilak, D. L. Butler, S. A. Goldstein, D.J. Mooney (eds.), *Functional Tissue Engineering* (Springer-Verlag, New York 2003) 46–68.
71. A. M. Saamanen, M. Tammi, I. Kiviranta, J. Jurvelin, H. J. Helminen, Maturation of proteoglycan matrix in articular cartilage under increased and decreased joint loading. A study in young rabbits, *Connect. Tissue Res.* 16 (1987) 163–175.
72. I. Kiviranta, M. Tammi, J. Jurvelin, A. M. Saamanen, H. J. Helminen, Moderate running exercise augments glycosaminoglycans and thickness of articular cartilage in the knee joint of young beagle dogs, *J. Orthop. Res.* 6 (1988) 188–195.
73. M. Palmoski, E. Perricone, K. D. Brandt, Development and reversal of a proteoglycan aggregation defect in normal canine knee cartilage after immobilization, *Arthritis Rheum.* 22 (1979) 508–517.
74. B. Vanwanseele, E. Lucchinetti, E. Stussi, The effects of immobilization on the characteristics of articular cartilage: Current concepts and future directions, *Osteoarthr. Cartilage* 10 (2002) 408–419.

75. T. Larsson, R. M. Aspden, D. Heinegard, Effects of mechanical load on cartilage matrix biosynthesis in vitro, *Matrix Biol.* 11 (1991) 388–394.
76. M. Wong, P. Wuethrich, M. D. Buschmann, P. Eggli, E. Hunziker, Chondrocyte biosynthesis correlates with local tissue strain in statically compressed adult articular cartilage, *J. Orthop. Res.* 15 (1997) 189–196.
77. M. L. Gray, A. M. Pizzanelli, R. C. Lee, A. J. Grodzinsky, D. A. Swann, Kinetics of the chondrocyte biosynthetic response to compressive load and release, *Biochim. Biophys. Acta* 991 (1989) 415–425.
78. R. L. Y. Sah, Y. J. Kim, J. Y. H. Doong, A. J. Grodzinsky, A. H. K. Plaas, J. D Sandy, Biosynthetic response of cartilage explants to dynamic compression, *J. Orthop. Res.* 7 (1989) 619–636.
79. J. J. Parkkinen, J. Ikonen, M. J. Lammi, J. Laakkonen, M. Tammi, H. J. Helminen, Effects of cyclic hydrostatic pressure on proteoglycan synthesis in cultured chondrocytes and articular cartilage explants, *Arch. Biochem. Biophys.* 300 (1993) 458–465.
80. J. Steinmeyer, S. Knue, The proteoglycan metabolism of mature bovine articular cartilage explants superimposed to continuously applied cyclic mechanical loading, *Biochem. Bioph. Res. Co.* 240 (1997) 216–221.
81. M. Wong, M. Siegrist, X. Cao, Cyclic, compression of articular cartilage explants is associated with progressive consolidation and altered expression pattern of extracellular matrix proteins, *Matrix Biol.* 18 (1999) 391–399.
82. A. J. Grodzinsky, M. E. Levenston, M. Jin, E.H. Frank, Cartilage tissue remodeling in response to mechanical forces, *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 2 (2000) 691–713.
83. G. H. Altman, R. L. Horan, H. H. Lu, J. Moreau, I. Martin, J. C. Richmond, D. L. Kaplan, Silk matrix for tissue engineered anterior cruciate ligaments, *Biomaterials* 23 (2002) 4131–4141.
84. G. H. Altman, H.H. Lu, R.L. Horan, T. Calabro, D. Ryder, D.L. Kaplan, P. Stark, I. Martin, J.C. Richmond, G. Vunjak-Novakovic, Advanced bioreactor with controlled application of multi-dimensional strain for tissue engineering, *J. Biomech. Eng.* 124 (2002) 742–749.
85. L. E. Niklason, Replacement arteries made to order, *Science* 286 (1999) 1493–1494.
86. J. A. McKee, S. S. Banik, M. J. Boyer, N. M. Hamad, J. H. Lawson, L. E. Niklason, C. M. Counter, Human arteries engineered in vitro, *EMBO Reports* 4 (2003) 633–638.
87. S. I. Jeong, J. H. Kwon, J. I. Lim, S.-W. Cho, Y. Jung, W. J. Sung, S. H. Kim, Y. H. Kim, Y. M. Lee, B.-S. Kim, C. Y. Choi, S.-J. Kim, Mechano-active tissue engineering of vascular smooth muscle using pulsatile perfusion bioreactors and elastic PLCL scaffolds, *Biomaterials* 26 (2005) 1405–1411.
88. B. Obradovic, I. Martin, R. F. Padera, S. Treppo, L. E. Freed, G. Vunjak-Novakovic, Integration of engineered cartilage, *J. Orthop. Res.* 19 (2001) 1089–1097.
89. E. Tognana, F. Chen, R. F. Padera, H. A. Leddy, S. E. Christensen, F. Guilak, G. Vunjak-Novakovic, L. E. Freed, Adjacent tissues (cartilage, bone) affect the functional integration of engineered calf cartilage in vitro, *Osteoarthritis Cartilage*, 13 (2005) 129–138.

## NANOMEDICINA: STANJE I PERSPEKTIVE<sup>1</sup>

Razvoj nanotehnologije, zahvaljujući svom potencijalu da iskoristi otkrića molekularne biologije, počeo je da menja osnove dijagnostike, terapije i prevencije bolesti. Primena nanotehnologije u tretmanu, dijagnozi, praćenju i kontroli bioloških sistema nedavno je definisana pod nazivom *nanomedicina* od strane Nacionalnog instituta za zdravlje SAD.

Nanomedicina je vrlo široka oblast i proučava nanočestice koje deluju kao biološki mimetici (npr. funkcionalizovane ugljenične nanotube), „nanomaštine“ (npr. one napravljene od DNK), nanovlakna i polimerne nanokonstrukte koje služe kao biomaterijali (npr. nanoporozne membrane), kao i različite uređaje koji deluju na nanonivou (npr. Si-mikročipovi za otpuštanje lekova i šuplje mikroiglice od Si-monokristala) (v. Dod. I). Takođe, postoji široko polje nanotehnologija sposobnih za ciljanu isporuku lekova, genetskog materijala i dijagnostičkih agenasa u određene ćelije i vanćelijske prostore u organizmu. Istraživanje racionalne i ciljane isporuke terapeutskih i dijagnostičkih agenasa upravo i predstavlja jedan od glavnih ciljeva nanomedicine. On obuhvata preciznu identifikaciju meta (ćelija i receptora) u određenim kliničkim stanjima, kao i izbor odgovarajućih nanonosilaca koji treba da obezbede postizanje željenog cilja uz što manje neželjenih efekata. Mononuklearni fagociti, dendritične ćelije, ćelije endotela i tumorske ćelije predstavljaju glavne mete u ovakovom pristupu.

Ovo poglavje bavi se ključnim aspektima dizajna nanočestica i njihovom ulogom u ciljanom isporučivanju lekova, imajući pri tome u vidu prednosti nanometarske veličine čestica, njihovo biološko ponašanje, kao i pitanja njihove potencijalne toksičnosti i sigurnosti primene.

### 27.1 NANOČESTICE U MEDICINSKOJ DIJAGNOSTICI

Nanotehnologija je oblast nauke posvećena manipulaciji atoma i molekula koje vode konstrukciji struktura veličine nanometra (uglavnom 100 nm i manje)

<sup>1</sup>Ovo poglavje napisali su Vladimir Trajković i Zoran Marković.

sa posebnim svojstvima. Fizička i hemijska svojstva materijala izuzetno se menjaju kada se broj atoma koji čine materijal znatno smanji. Mali broj uslovljava drugačiji raspored i međurastojanje za površinske atome, a ta svojstva dominiraju fizičkim i hemijskim svojstvima objekta [1]. Koloidno zlato, kristali gvožđe oksida i kvantne tačke primeri su nanočestica čija je tipična veličina u opsegu od 1 do 20 nm i koji imaju dijagnostičku primenu u biologiji i medicini (v. Dodatak II). Nanočestice Au imaju primenu kao umanjici (engl. *quencher*) fluoroscencije [2,3]. Nanokristali Fe sa superparamagnetenim svojstvima, zahvaljujući sposobnosti da prouzrokuju promene u relaksacionim vremenima spin-spin interakcije susednih molekula vode, koriste se kao kontrastna sredstva u magnetnoj rezonanci za detekciju tumora, ate-roskleroze i zapaljenskih promena mozga i zglobova [4].

Kvantne tačke se koriste za obeležavanje različitih bioloških sistema radi optičke detekcije *in vitro* i *in vivo* [5, 6]. Na primer, nedavno su objavljeni rezultati studije u kojoj su kvantne tačke korišćene za praćenje metastaziranja tumorskih ćelija [7]. Talasna dužina fluorescentne emisije kvantnih tačaka (od ultravioletne do bliske infracrvene) može se podešavati menjanjem veličine čestice. Njihov veliki odnos površine i zapremine pruža značajne mogućnosti u dizajniranju različitih funkcionalnih nanosistema. Primena ovakvih optičkih nanooruđa mogla bi da doprinese razumevanju kompleksnih regulacionih i signalnih mreža koje kontrolišu ponašanje ćelije u fiziološkim i patološkim stanjima.

## 27.2 NANOČESTICE KAO NOSIOCI LEKOVA

Pored pomenutih, postoje brojni konstrukti i sistemi čestica nanometarskih veličina (od nekoliko do 250 nm) koji bi mogli da se koriste za transport i isporuku lekova u organizmu. U ovu grupu spadaju polimerne micele, dendrimeri, polimerne i keramičke nanočestice, razni proteinski sklopovi, nanočestice od virusnih ovojnica i lipozomi (v. Dodatak II) [8,9]. Terapeutski i dijagnostički agensi mogu biti inkapsulirani, kovalentno povezani ili adsorbovani na pomenute nanonosioce. Na taj način se prevazilaze problemi rastvorljivosti leka, imajući u vidu da su mnogi kandidati za nove lekove nerastvorljivi u vodi.

Farmakokinetički profili injektovanih nanokristala mogu varirati od brzo-rastvornih do vrlo slaborastvornih u krvi. Zbog njihove male veličine i funkcionalizacije površine sintetičkim polimerima i odgovarajućim ligandima, nanočestični nosioci lekova mogu biti usmereni na specifične ćelije i lokacije unutar tela nakon intravenske i subkutane injekcije [8,10]. Takav pristup može povećati osetljivost detekcije u medicinskoj dijagnostici, poboljšati terapeutsku efikasnost i smanjiti neželjene efekte. Neki od nosilaca se mogu tako napraviti da se aktiviraju promenom pH okoline, hemijskim stimulusom, primenom visoko osculatornog magnetnog polja ili primenom spoljašnjeg izvora toplove [11]. Takve modifikacije omogućavaju da se kontroliše integritet čestice, brzina isporuke leka, kao i lokacija isporuke leka (npr. u specifičnim ćelijskim organelama). Neki nosioci su multifunkcionalni: imaju

sposobnost da se specifično vezuju za receptore na ciljanim ćelijama i da simultano isporuče lek i biosenzore koji detektuju efikasnu isporuku leka [12].

## 27.3 MEHANIZMI UKLANJANJA NANOČESTICA IZ ORGANIZMA I MOGUĆNOST CILJANE ISPORUKE LEKOVA

Nanočestice se ne ponašaju slično: njihovo ponašanje u okviru biološke mikrosredine, stabilnost, vanćelijska i ćelijska distribucija zavise od njihove hemijske strukture, morfologije i veličine. Ovi aspekti su diskutovani u zavisnosti od puta unošenja u organizam: preko krvotoka (intravenski) ili kroz kožu (subkutano).

Mreža krvnih i limfnih sudova u telu pruža prirodne puteve za distribuciju hranljivih materija, izbacivanje neželjenih materija i isporuku terapeutskih agenasa. Iako na prvi pogled ovakva organizacija pruža malo mogućnosti za kontrolisan prilaz željenom tkivu, nanočestični sistemi ipak omogućavaju ciljani prilaz određenim ćelijskim populacijama i delovima tela. Ako se unesu intravenskom injekcijom, čestice se brzo izbacuju iz cirkulacije unošenjem (fagocitozom) od strane Kupferovih ćelija jetre i makrofaga slezine [13]. Ovaj pasivan, prostorno-specifičan način uklanjanja (klirensa) predstavlja osnovni mehanizam deaktivacije stranih čestica od strane ćelija imunskog sistema. Opsonizacija, tj. adsorbcija određenih krvnih proteina (*opsonina*) kao što su fibronektin, imunoglobulini i proteini komplemenata, na površinu nanočestice, pomaže njenom prepoznavanju i uklanjanju od strane makrofaga [13]. Veličina i karakteristike površine nanočestice imaju važnu ulogu u procesu opsonizacije i kinetici klirensa [14]. Veće čestice (200 nm i veće) efikasnije aktiviraju sistem komplementa od manjih čestica, što vodi njihovoj efikasnijoj opsonizaciji i bržem uklanjanju iz krvi fagocitom. Takođe, intenzitet i mehanizam vezivanja opsonina za nanočestice znatno se razlikuju u zavisnosti od svojstava njenе površine, kao što su prisustvo i tip funkcionalnih grupa i gustina površinskog naelektrisanja [14]. Razlike u opsonizaciji rezultiraju u razlikama u brzini klirensa i makrofagnoj sekvestraciji nanočestica. Ovo je posebno važno ako se ima u vidu heterogenost makrofaga u odnosu na fenotip i fiziološku funkciju, čak i u okviru istog tkiva. Određene populacije fagocita mogu se razlikovati po mehanizmima prepoznavanja stranih čestica. Tako, dinamički proces adsorpcije proteina zajedno sa depozicijom različitih opsonina na površini nanočestice može da ima kao posledicu hijerarhijsko prepoznavanje od strane različitih populacija fagocita, što vodi njihovoj kooperaciji u uklanjanju čestice. Na primer, specifični receptor makrofaga može prepoznati najranije promene površine čestice u krvi, dok neki drugi receptori prepoznaju česticu u kasnijim fazama i tako omogućavaju njenu potpuno uklanjanje iz cirkulacije. Iako su ovi mehanizmi nedovoljno proučeni, njihovo razumevanje moglo bi da omogući dizajn i površinsku modifikaciju nanosistema koji bi bili selektivno usmereni na određene subpopulacije makrofaga/fagocita.

Mala veličina čestice znači veliku relativnu površinu. Ovo može stvoriti probleme aglomeracije primarnih nanočestica u biološkoj sredini, što onda utiče na efektivnu veličinu nanočestica i njihovu kinetiku klirensa. Na primer, poznato je da

dendrimeri i kvantne tačke aglomerisu u biološkoj sredini. Drugi primer je interakcija između nanosistema na bazi lipida i lipoproteina, što dovodi da dramatične promene veličine. Dakle, planiranje strukture površine je fundamentalno pitanje u dizajnu nanočestice. Precizna modifikacija površine sintetičkim polimerima može rešiti probleme agregacije i omogućiti kontrolu nad interakcijom nanočestice i biološkog sistema. Na primer, prevlake od polidentat fosfina ili modifikacija površine različitim hidrofilnim polimerima omogućavaju kvantnim tačkama rastvorljivost, disperzibilnost i stabilnost u serumu [6]. Postoje brojni primeri u literaturi gde je površina nanonosilaca pažljivo spojena sa „makromolekularnim dlakama“ (*hairs*) napravljenim od polietilen glikola (PEG) ili sličnih polimera [13]. Ova strategija sprečava prepoznavanje nanočestice od strane makrofaga, što se uglavnom postiže smanjenjem adsorpcije proteina i opsonizacije. Efikasnost ovih procesa zavisi od tipa polimera, njihove površinske stabilnosti, reaktivnosti i površinske gustine [13]. Ovakvo korišćenje „nevidljivog štita“ (*stealth*) slično je strategiji koju koriste patogeni organizmi da bi izbegli detekciju od strane ćelija imunskog sistema. Supresija procesa opsonizacije je važan prvi korak u smanjenju pasivne retencije nanočestica u makrofagima, što je neophodan preduslov za njihovo usmeravanje ka drugim mestima u organizmu. U ovom slučaju, izlaz čestice iz krvotoka je ograničen na ona mesta gde su kapilari obloženi endotelnim ćelijama između kojih su velike pore (tzv. fenestrirani endotel), kao što je slučaj u jetri, ili gde je integritet endotelijalne barijere narušen zapaljenjskim procesom ili rastom tumora [15]. Veličina pora u sinusoidnom endotelu jetre može dostići 150 nm, dok endotelne pore u tumorskim kapilarima dostižu i 300 nm. Producena cirkulacija nanočestica je idealna za sporo ili kontrolisano otpuštanje terapeutika u krvi radi tretmana vaskularnih obolenja. Osim modifikacije površine nanočestica postoje i drugi načini sprečavanja interakcije nanočestice i makrofaga. Nedavni napredak u hemiji sintetičkih polimera omogućio je preciznu kontrolu nad arhitekturom i disperzibilnošću polimera i njihovih konjugata. Neki od ovih novih materijala mogu da se samo-organizuju u nanočestice sposobne da izbegavaju makrofage [16].

Nedavni razvoj molekularne biologije otkrio je mnoštvo informacija o krvnim i limfnim sudovima, a naročito o endotelnim ćelijama koje ih oblažu. Zahvaljujući savremenim studijama globalne ekspresije gena, utvrđeno je da vaskularne endotelne ćelije, u zavisnosti od svoje lokalizacije, imaju karakteristične molekularne „profile“ [27]. Njihovo poznavanje predstavlja osnovu za potencijalno usmeravanje terapeutskih i dijagnostičkih entiteta u određena tkiva, uključujući i tumorska [6]. Ovo zahteva vezivanje nanonosača za odgovarajuće ligande sposobne da na osnovu ekspresije specifičnih molekula „prepoznaju“ endotel odgovarajućeg tkiva. Takvi entiteti se mogu posmatrati kao male podmornice koje plove krvotokom u potrazi za specifičnim markerima ciljnog tkiva.

Za razliku od intravenskog unosa, intersticijalna (npr. subkutana) injekcija nanočestica može biti metoda izbora ako je meta određeni limfni čvor ili grupa regionalnih limfnih čvorova. Sudbina intersticijalno injektovanih nanočestica zavisi od njihove veličine i površinskih karakteristika. Veličina čestice mora biti dovoljno velika da bi se sprečila difuzija u krvne kapilare. Čestice veličine od 30 do 100 nm obično zadovoljavaju ovaj uslov, dok se čestice veće od 100 nm kreću vrlo sporo i

podložne su klirensu od strane intersticijalnih makrofaga. Površinske karakteristike određuju nivo agregacije čestica u tkivnom intersticijumu, pa se kinetika dreniranja i retencija u limfnim čvorovima mogu optimizovati modifikacijama površine nanočestice. Tako npr. hidrofilne čestice odbijaju jedna drugu i interaguju vrlo slabo sa matriksom intersticijuma i dreniraju se veoma brzo.

## 27.4 USMERAVANJE NANOČESTICA

**Makrofagi.** Sposobnost makrofaga, osnovnih ćelija urođene imunosti, da prepoznaju i ingestiraju strane čestice procesom fagocitoze, obezbedila je racionalan pristup usmeravanju nanočestica ka ovim ćelijama. Promene u efektorskim funkcijama makrofaga doprinose mnogim patološkim stanjima kao što su ateroskleroza, autoimunitet i infekcije. Dakle, makrofag je validna farmaceutska meta i postoje brojne mogućnosti za terapeutske pristupe bazirane na selektivnoj isporuci nanočestica makrofagima [8]. Recimo, iako većinu mikrorganizama makrofagi efikasno fagocituju i ubijaju, mnogi patogeni infektivni agensi razvili su načine da izbegnu destrukciju posle fagocitoze. Dakle, pasivno usmeravanje nanočestica sa inkapsuliranim antimikrobijalnim agensima ka inficiranim makrofagima predstavlja logičnu strategiju za efikasno ubijanje mikroba [8]. Pošto, kao i mikrobi, podležu fagocitozi, ovakve nanočestice biće usmerene ka lizozomima, unutarćelijskim organelama u kojima umesto da budu uništeni, mikrororganizmi otporni na dejstvo lizozomalnih proteolitičkih enzima uspešno preživljavaju. Upravo aktivnost ovih enzima dovodi do degradacije nanočestičnog nosača i oslobođanja leka unutar lizozomne vezikule ili u samu citoplazmu, bilo prostom difuzijom ili pomoću specifičnih transportera. Odobrene formulacije za kliničku primenu su za sada ograničene na lipidne nanosisteme (100–200 nm) sa inkapsuliranim amfotericinom B (Amp B) i koriste se za tretman određenih gljivičnih infekcija [8]. Ovakvim pristupom znatno je smanjena klinički efektivna doza Amp B, pošto je lek usmeren direktno na inficirane makrofage. Druga prednost je smanjenje nefrotoksičnosti i oslobođanju proinflamatornih citokina, uobičajenih neželjenih efekata koji prate Amp B terapiju [17]. Drugi autori su koristili multifunkcionalne nosače za isporučivanje antibiotika makrofagima [18]. Intravenska injekcija lipozoma sa tuftsinom dovela je ne samo do efikasne isporuke inkapsuliranog antibiotika makrofagima, već i u njihovoј nespecifičnoj stimulaciji protiv parazitskih, gljivičnih i bakterijskih infekcija [18]. Ovakav efekat bio je posredovan vezivanjem tuftsina za specifični receptor na makrofagima, što je imalo za posledicu pojačavanje njihovog antimikrobnog dejstva.

Makrofagi i tzv. dendritične ćelije imaju glavnu ulogu u indukciji imunskog odgovora. Sistemi kao što su polimerne i keramičke nanosfere, nanoemulzije i lipozomi, ako su fizički ili kovalentno vezani za proteinske antigene, deluju kao stimulatori imunskog odgovora – tzv. adjuvansi [19]. Sposobnost nanočestica da obezbeđe indukciju imunskog odgovora rekombinantnim ili sintetičkim peptidima koji su sami po sebi slabo imunogeni ili neimunogeni, kvalificuje ih kao validne kandidate

za vakcine nove generacije. Takođe, genetska imunizacija pomoću nanočestica koje nose odgovarajuću DNK nedavno je privukla znatnu pažnju [20].

Obeležavanje makrofaga kontrastnim sredstvima u formi nanočestica predstavlja interesantan dijagnostički pristup. Nakon izlaska iz krvotoka, intravenski injektovani nanokristali paramagnetcog gvožđe oksida zadržavaju se u makrofagima limfnih čvorova. Njihova intračelijska akumulacija skraćuje spinske relaksacione procese, pa se na snimanju magnetnom rezonancom ovi čvorovi (koji akumuliraju kristale gvožđe oksida) detektuju kao tamniji u odnosu na ostalo tkivo. Ovo otkriće je olakšalo razlikovanje normalnih i tumorskih limfnih čvorova [21]. Korišćenjem ove metode detektovane su vrlo male metastaze (manje od 2 mm u prečniku) u limfnim čvorovima kod pacijenata sa kancerom prostate [22], dok ostale dijagnostičke tehnike ne mogu da otkriju tako male tumorske depozite. Superparamagnetni nanokonstrukti takođe pomažu u vizuelizaciji vaskularnih patoloških promena u artritisu [23] i aterosklerozi [24], što je odraz povećane permeabilnosti krvnog endotela i lakšeg pristupa tkivnim makrofagima. Slično, apsorpcija fluoroscentnih kvantnih tačaka u makrofagima limfnih čvorova omogućila je mapiranje limfnih čvorova i vizuelizaciju duboko lociranih limfnih čvorova [25].

**Endotelne ćelije.** Koncept usmeravanja nanočestica ka krvnim sudovima je veoma atraktivan, imajući u vidu važnu ulogu krvnog endotela u brojnim patološkim procesima uključujući tumore, zapaljenja, vaskularnu trombozu i dr. Brojne studije su pokazale selektivno nagomilavanje pasivno usmerenih nanočestica u specifičnim endotelnim ćelijama. Tako se npr. katjonski lipozomi nakon jednog sata od ulaska u krvotok lokalizuju u endozomima i lizozomima endotelnih ćelija određenih organa [26]. Ovakva selektivna distribucija nije povezana sa morfološkim karakteristikama endotela u određenom organu, već predstavlja rezultat specifične ekspresije receptora za ove nanočestice na endotelu određenih krvnih sudova.

Nedavni napredak u mapiranju vaskulature čoveka različitim tehnikama molekularne biologije stvorio je nove mogućnosti za specifično usmeravanje lekova [27, 28]. Nedavno je opisan prvi pokušaj mapiranja vaskulature čoveka tzv. „phage display“ tehnikom. Autori su otkrili 47160 sekvenci koje su lokalizovane u različitim organima i zaključili da u mnogim slučajevima sekvence odgovaraju poznatim molekulima na površini endotelnih ćelija. Ovakav pristup se sada koristi za usmeravanje terapeutskih agenasa u vaskulaturu čvrstih tumora pomoću nanopeptida koji se specifično vezuju za endotelne molekule iz klase integrina [29]. Vezivanjem integrin-specifičnog nanopeptida za antitumorski lek doksirubicin stvoreno je jedinjenje koje je znatno efikasnije od samog doksirubicina i sa manjim neželjenim efektima po srce i jetru. Heksapeptid NGR, koji se specifično veže za aminopetidazu N na endotelnim ćelijama novostvorenih krvnih sudova, povezan sa antitumorskim citokinom TNF, povećava 10 puta efikasnost doksirubicina protiv tumora [29]. Ovакви prostupi, za sada uspešni na animalnim modelima karcera, zasnovani su na pretpostavci da uništavanje novostvorene vaskulature koja hrani tumor posredno dovodi do uništavanja samih tumorskih ćelija.

**Tumorske ćelije.** Razvoj „stealth“ tehnologija kojima se nanočestice modifikuju tako da postanu „nevidljive“ za makrofage, omogućio je izbegavanje fago-citoze i pasivnu akumulaciju intravenski injektovanih nanočestica (20-150 nm)

u tumorima, za koje je poznato da imaju „propustljive“ krvne sudove sa velikim porama između endotelnih ćelija [13]. Međutim, zbog heterogene prokrvljenosti tumora, prostorna raspodela „stealth“ nanočestica je heterogena i nepredvidljiva, a strukturne i funkcionalne abnormalnosti krvnih i limfnih sudova, kao i ćelija unutar čvrstih tumora, ometaju efikasnu isporuku nanočestica [30]. Tako npr. hidrostaticki pritisak unutar tumorske ćelije veći je od pritska unutar zdrave ćelije, pa bi se efikasnija isporuka leka mogla postići ako se hidrostaticki pritisak izjednači u krvnim sudovima i tumoru [31]. Takođe, poremećena organizacija vanćelijskog matriksa ometa difuziju makromolekula i nanočestica u tumore [32]. Dakle, difuzija makromolekula i nanočestica će zavisiti od tipa tumora, anatomske lokacije, kao i organizacije vanćelijskog matriksa u samom tumoru.

Uprkos ovim ograničenjima, već postoje odobrene formulacije dugo cirkulijućih lipozoma sa inkapsuliranim doksorubicinom za tretman kancera materice i dojke [22,33]. Ovakvi lekovi imaju povoljniju farmakokinetiku u poređenju sa slobodnim lekom, jer je slobodna površina doksorubicina unutar lipozoma 300 puta veća od slobodnog doksorubicina, a klirens od strane makrofaga je smanjen najmanje 250 puta [33]. Zbog svog povoljnog farmakokinetičkog profila, doksorubicin unutar lipozoma se nalazi u fazi kliničkih istraživanja.

Brojna pitanja se moraju razmotriti u primeni „stealth“ nanočestica za terapiju kancera. Prvo, nosilac mora imati veliki kapacitet za adsorbciju leka i mora ostati stabilan unutar vaskulature uz minimalan gubitak leka. Drugo, utvrđeno je da većina nanonosilaca, uključujući i lipozome, ne stupa u kontakt sa tumorskim ćelijama [34]. Dakle, proces izlaska nanočestice iz krvnog suda mora biti praćen odvajanjem leka od nosioca, rezultirajući u izlaganju mete (tumorske ćelije, tumorskih makrofaga, tumorskog endotela) dejstvu leka. Oslobođanje leka iz lipozoma zavisi od tipa leka i metoda inkapsulacije [35]. Npr. lipozomi sa pasivno inkapsuliranim cisplatinom, zbog vrlo sporog otpuštanja leka iz lipozoma, nemaju antitumorsko dejstvo uprkos akumulaciji u tumoru [36]. S druge strane, hemijski metod inkorporacije doksorubicina omogućava bržu degradaciju lipozoma i brže oslobođanje leka. Najznačajnija osobina lipozomskog doksorubicina je smanjenje neželjenih efekata koje ima slobodni doksirubicin.

Otpuštanje leka iz nanonosilaca je ključno pitanje za hemoterapiju tumora. Trenutno najefikasniji pristup je inkapsulacija u lipozome, a manje efikasna je primena polimernih micela koje imaju malu zapreminu za inkapsulaciju. Postoje brojni načini za indukciju otpuštanja leka iz lipozoma po njihovoј akumulaciji u tkivu tumora. Jedan od njih je destabilizacija lipozoma putem enzima čija koncentracija je povećana u tumorskom tkivu, kao što je npr. fosfolipaza A2 [37]. Ovaj enzim vrši vrlo brzu hidrolizu estarske veze u fosfolipidima lipozoma [37]. Cisplatinski lipozomi sa visokim sadržajem fosfolipida osetljivih na dejstvo fosfolipaze A2 otpuštali su lek vrlo brzo u prisustvu enzima, dok je kontrolna grupa lipozoma bez A2-osetljivih lipida pokazala zanemarljivu citotoksičnost.

Iako postoje rezultati koji opisuju aktivno usmeravanje nanočestica ka tumorskim ćelijama, isporuka leka u ovim slučajevima je ipak ostala pasivna. Nanočestice se mogu usmeriti ka tumorskim ćelijama pomoću tumor-specifičnih antitela ili drugih molekula koji se specifično vezuju za tumorske ćelije, kao što je npr. folna

kiselina. Ekspresija receptora za folnu kiselinu ograničena je na karcinom materice, rektuma i pluća, i uglavnom nije karakteristika normalnog tkiva [38]. Usmeravanje pomoću folne kiseline je interesantan pristup koji pruža brojne prednosti u odnosu na antitela. Prvo, folat ne izaziva imunski odgovor kod pacijenata. Drugo, nanonosioci obloženi folnom kiselinom se vrlo brzo internalizuju zahvaljujući interakciji sa folnim receptorima tumorskih ćelija. Glavni problem je nivo otpuštanja leka iz internalizovanih nanočestica, koji veoma zavisi od pH sredine (kisela sredina endozoma ne favorizuje otpuštanje doksorubicina iz lizozoma).

## 27.5 TOKSIČNOST NANOČESTICA

Vezivanjem lekova za nanočestica kao nosioce mogu se prevazići problemi rastvorljivosti i stabilnosti leka, kao i smanjiti neželjeni efekti. Međutim, brojni toksikološki radovi u različitim biološkim sistemima pokazali su toksičnost samih nanočestica, kao što su kvantne tačke, polimerne micele, fuleren ( $C_{60}$ ) i njegovi derivati.

Iako su CdSe kvantne tačke puno obećavale u dijagnostici, malo je bilo poznato o njihovom metabolizmu i mogućim štetnim efektima. Otkriveno je da su CdSe kvantne tačke letalne za ćelije jer otpuštaju vrlo toksične Cd-jone [41]. Neke polimerne micele takođe mogu izazvati ćelijsku smrt [42,43], a imaju i sposobnost da menjaju ekspresiju gena u ciljnim ćelijama [44], što može dovesti do različitih neželjenih efekata prilikom upotrebe polimernih struktura kao nosilaca lekova.

Različiti derivati fulerena rastvorljivi u vodi, zahvaljujući sposobnosti da neutrališu kiseonične slobodne radikale, uglavnom se smatraju citoprotективnim agensima [40]. Međutim, nedavna istraživanja su pokazala da fuleren i njegovi derivati u određenim uslovima (npr. posle ozračivanja vidljivom svetlošću ili ultraljubičastim zracima) mogu da proizvode kiseonične radikale i tako oštećuju ćelije [41]. Od svih nanočestica na bazi fulerena, najtoksičniji je vodeni koloid čistog, nederivativisanog fulerena, tzv. nano- $C_{60}$  (Sl. 27.1). Nedavno je pokazano da je ovaj kristal fulerena (30–300 nm) nekoliko reda veličine toksičniji prema različitim ćelijama sisara od polihidroksilovanog fulerena  $C_{60}(OH)_n$  i drugih fulerenских derivata rastvorljivih u vodi [40]. Zahvaljujući sposobnosti da u uslovima ambijentalnog osvetljenja proizvodi velike količine visoko reaktivnih kiseoničnih radikala, nano- $C_{60}$  u veoma niskim koncentracijama prouzrokuje izuzetno brzu destrukciju ćelijske membrane i smrt ćelije u roku od samo nekoliko sati.



*Slika 27.1 TEM mikrofotografija nanokristala C60*

ko sati. Za razliku od nano-C<sub>60</sub>, vodorastvorni derivati fulerena u odsustvu ultraljubičastih zračenja ne proizvode kiseonične radikale i pokazuju vrlo nisku toksičnost tek u veoma visokim koncentracijama i posle višednevne kultivacije. U nižim, netoksičnim koncentracijama, vodorastvorni derivati fulerena uglavnom deluju kao antioksidansi koji štite ćelije od oksidativnog stresa [40].

## 27.6 BUDUĆNOST NANOMEDICINE

Nanotehnologija je nedavno počela da menja metode medicinske dijagnostike i isporuke lekova. Razvoj različitih laboratorijskih dijagnostičkih oruđa i metoda na bazi nanočestica (nosači iglica za mikroskope, sekvenciranje DNK na nanopora-ma i dr.), kao i nanoentiteta za kliničku dijagnostiku i terapiju, uveliko prate progres antitumorskih strategija i nalaze se među glavnim ciljevima postojećih projekata. Da bi se realizovao *in vivo* potencijal nanotehnologije u ciljanoj dijagnostici i isporuci lekova, nanoentiteti moraju biti multifunkcionalni i što „pametniji“, tj. sposobni da obave više različitih zadataka što efikasnije i uz odsustvo neželjenih efekata. Za ostvarenje ovog cilja neophodna su dalja bazična i primenjena istraživanja usmerno ka razumevanju fizičko-hemijskih svojstava nanočestica, kao i njihove interakcije sa ćelijama i tkivima tokom različitih fizioloških i patoloških procesa.

## 27.7 DODATAK I: PRIMERI UPOTREBE NANOČESTICA

**Nanopore za sekvenciranje DNK.** Ovo je metoda ultra-brzog sekvenciranja DNK koja se zasniva na nanoinženjeringu pora [46]. Mali električni potencijal vuče nanelektrisani lanac DNK kroz poru prečnika 1–2 nm u α-hemolizin protein-skom kompleksu umetnutom u lipidni dvosloj koji razdvaja dva provodnika. Strujni i vremenski profili se snimaju i pretvaraju u električne impulse pomoću kojih se identificuje svaka baza koja ulazi u sastav DNK nukleotida. Ova metoda, kojom se može sekvencirati više od 1000 baza u sekundi, ima veliki potencijal za detekciju genskih polimorfizama i gensku dijagnozu patogena.

**Konzole sa funkcionalizovanim iglicama.** Visoka prostorna i hemijska rezolucija mikroskopa atomske sile (AFM) i mikroskopa hemijske sile (CFM) može se iskoristiti u dizajniranju dijagnostičkih metoda na nanonivou [47]. AFM detektuje intramolekularne sile između iglice (sonde) od veoma finog funkcionalizovanog Si ili jednozidne nanocevi (nalazi se na kraju male poluge) i površine (v. Od. 10.3). Sonda se može hemijski modifikovati u svrhu snimanja željene molekularne strukture potencijalnog leka, kao i merenja različitih biohemijskih interakcija (npr. između antogena i antitela).

**Mikroigle.** Mikro igle i lancete sa podesivim nagibnim uglovima, debljinom zida i dimenzijama kanala, prave se od monokristalnog Si kombinacijom fuzionog povezivanja, fotolitografije i anizotropnim nagrizanjem plazmom [48]. Ova tehn-

logija se primenjuje za bezbolnu infuziju lekova, injektovanje ćelija, kao i u brojnim dijagnostičkim procedurama (npr. praćenje nivoa glukoze).

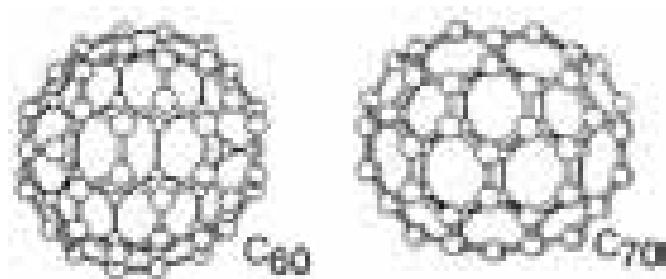
**Mikročipovi za isporuku leka.** Ovo su mikrouređaji koji sadrže mikropumpe, ventile i protočne kanale i dopuštaju kontrolisano oslobađanje jednog ili više lekova [49]. Mehanizam oslobađanja se zasniva na elektrohemiskom rastvaranju tanke anodne membrane koja prekriva mikrorezervoare ispunjene lekovima. Na taj način, sistemi sa kontrolisanom isporukom leka mogu se napraviti tako da oslobađaju impulse (male količine) različitih lekova korišćenjem različitih materijala za izradu membrana. Nedavno je od polilaktične kiseline napravljen mikročip prečnika 1,2 cm, debljine od približno 500 µm sa 36 rezervoara za lekove.

**Nanočestice na bazi DNK.** DNK se može programirati tako da se samoorganizuje u različite nanometarske strukture koje se razlikuju od dvostrukе spirale karakteristične za organizaciju DNK [50]. DNK kocka i oktaedar su dva primera samoorganizacije DNK. Ovakve DNK strukture mogu držati biološke molekule u uređenoj mreži neophodnoj za rendgensku kristalografsku strukturu (npr. određeni ćelijski receptori za koje se vezuju lekovi). Buduća istraživanja mogu dovesti do nastanka DNK uređaja koji bi mogli sami da se umnožavaju, kao i DNK mašina sa pokretnim delovima kao što su nanomehanički senzori, prekidači i sekači.

## 27.8 DODATAK II: DEFINICIJE NEKIH NANOČESTICA SA PRIMENOM NANOVLAKANA

Nanovlakna različitih struktura mogu se formirati primenom metoda molekularnog samouređivanja [52]. Nanovlakna se mogu dizajnirati tako da poseduju veliku gustinu bioaktivnih molekula koji pospešuju rast ćelija.

**Fulereni.** Nakon prve sinteze i karakterizacije fulerenata (1985), oni su privukli pažnju istraživača zbog izuzetnih svojstava [53]. Tipičan fuleren  $C_{60}$ , ima strukturu u kojoj su ugljenični atomi smešteni u 60 rogljeva usečenog ikosaedra, što je tipičan izgled fudbalske lopte (v. Sl. 27.2 i Od. 10.4). Ovaj ugljenični molekul je hemijski i termalno stabilan. Može se rastvoriti, prečistiti, funkcionalizovati, sublimovati i polimerizovati. Trenutno se ispituju različiti metodi sinteze fulerenata, ali se svi bazuju na isparavanju ugljenika u atmosferi inertnog gasa. Pri tome se za isparavanje ugljenika koriste različiti tehnike, kao što su laserska ablacija, električni luk, radiofrekventna plazma i solarna energija. Fulereni koji se pri proizvodnji formiraju u većim količinama od drugih fulerenata nazivaju se magičnim fulerenima ( $C_{60}$ ,  $C_{70}$ ,  $C_{84}$ ), v. Sl. 27.2 i 27.3. Fulereni bi mogli da se koriste u različitim oblastima: biomedicini, zaštiti okoline, energetici, informatici, komunikacijama, itd. Ovaj material i njegovi derivati imaju potencijalno korisna biološka svojstva, kao što su cepanje DNK, inhibicija replikacije HIV virusa, neuroprotekcija i indukcija ćelijske smrti. Osnovni problem za primenu fulerenata u medicini je njihova ekstremna hidrofobičnost, zbog

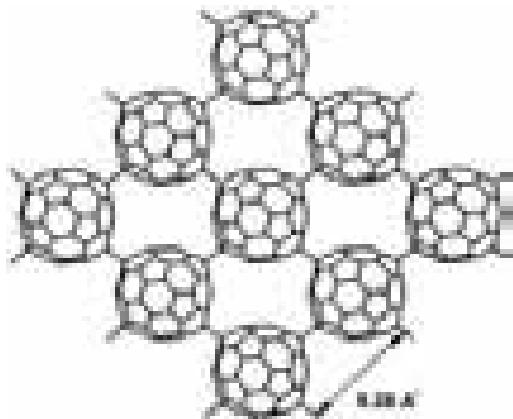


SLIKA 27.2 Prikaz molekula C60 i C70

koje su nederivativizovani fulereni rastvorni u aromatičnim rastvaračima, ali ne i u vodi. Da bi se mogli koristiti u biomedicinske svrhe, fulereni i metalofulereni moraju se derivativizovati sa hidrofilnim substituentima. Pored prevođenja fulerena u vodorastvorne oblike, derivativna hemija se koristi za proizvodnju lekova na bazi fulerena koji bi ciljano delovali na određeno tkivo.

**Ugljenične nanotube.** Ugljenične nanotube sastoje se od grafitnih ravni savijenih u cilindričnu formu [53] (v. Sl. 27.4 i Od. 10.4). Ove strukture mogu biti ili jednozidne ili viševidne. Prečnik jednozidnih nanotuba se kreće u opsegu između 0,5–3 nm, a njihova dužina dostiže 20–1000 nm. Odgovarajuće dimenzije za viševidne nanotube su 1,5–100 nm (prečnik) i 1–50 µm (dužina). Funkcionalizacijom površine, nanotube mogu postati rastvorljive u vodi. Na osnovu svojstva nanotuba da molekuli i joni mogu biti transportovani kroz njih, napravljeni su molekularni senzori i uređaj za sekvenciranje DNK. Ugljenične nanotube mogu probiti ćelijsku membranu bez poremećaja integriteta membrane, pri čemu bi kroz ovakve „nanohole“ mogli da se unose lekovi.

**Superparamagnetni kristali gvožđe oksida.** Ove nanočestice se obično pripremaju alkalnom ko-precipitacijom odgovarajućih odnosa  $\text{Fe}^{2+}$  i  $\text{Fe}^{3+}$  soli u vodi u prisustvu pogodnih hidrofilnih polimera kao što su dekstran ili polietilenglikol [4].



SLIKA 27.3 Prikaz jedne kristalne ravni iz nanokristala sastavljenog od molekula C60

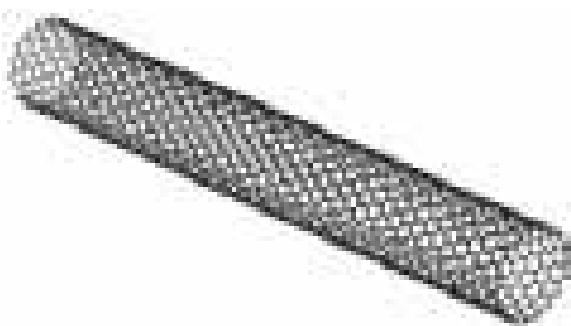
Pri tome nastaje čestica sa gvozdenim jezgrom prečnika oko 5 nm, koja je heksagonalnog oblika i obložena molekulima dekstrana ili polietilenglikola. Ovakvi kristali imaju velike magnetne momente kad se ubace u magnetno polje, što prouzrokuje lokalne poremećaje u homogenosti magnetnog polja. Kao posledica ovih magnetnih poremećaja nastaje velika razlika u susceptibilnosti između superparamagnetskih kristala gvožđe oksida (Sl. 27.5) i okolnih protona vode što rezultira smanjenjem  $T_2$  relaksacionih vremena i gubitkom lokalnog signala. Dakle ovi kristali se ponašaju kao „negativni pojačivači“. Površinu superparamagnetskog kristala gvožđe oksida lako je funkcionalizovati viševivalentnim malim molekulima, proteinima, antitelima, oligonukleidima i folnom kiselinom.

**Kvantne tačke.** Kvantne tačke su neorganske kristalne strukture koje apsorbuju belu svetlost, a zatim je nakon nekoliko nanosekundi reemituju na određenoj talasnoj dužini [54]. U zavisnosti od veličine i sastava kvantne tačke, talasna dužina se može podesiti od plave boje do bliske infracrvene. Na primer, kvantna tačka prečnika 2 nm luminescira zelenu svetlost, dok kvantna tačka prečnika 5 nm luminescira crvenu svetlost. Kvantne tačke imaju veliku fleksibilnost u poređenju sa ostalim fluorescentnim materijalima i mogu se iskoristiti za različite aplikacije u kojima se svetlost koristi za procesiranje informacija. Ovi nanokristali i višekolorno „šifriranje“ koje omogućavaju, nude nove pravce razvoja u proučavanju ekspresije gena, kao i za *in vivo* „imaging“.

**Dendrimeri.** Dendrimeri predstavljaju vrlo razgranate makromolekule sa kontrolisanom 3D arhitekturom koja polazi od centralnog jezgra, v. Sl. 27.6. Rast polimera počinje od centralnog molekula i odvija se radikalno nizom reakcija polimerizacije. Precizna kontrola veličine može se postići nivoom polimerizacije. Krajevi dendrimera mogu se kovalentno povezati sa terapeutskim ili dijagnostičkim agensima.

**Polimerne micele.** Micele se formiraju u rastvoru kao agregati u kojima se molekuli komponente (npr. blok kopolimeri AB ili ABA tipa, gde je A hidrofobna, a B hidrofilna komponenta) uređuju u sferoidalnu strukturu sa hidrofobnim jezgrom zaštićenim od vode omotačem od hidrofilnih grupa [16]. Ovi sistemi, čiji prečnik uglavnom ne prelazi 50 nm, koriste se za sistemsku isporuku lekova koji nisu rastvorljivi u vodi. Takvi lekovi ili kontrastna sredstva mogu da se fizički zarođe unutar hidrofobnog jezgra ili kovalentno povežu sa komponentnim molekulima micele.

**Lipozomi.** Lipozomi su zatvoreni mehuri koji se formiraju hidratacijom suvih fosfolipida iznad njihove tranzicione temperature. Lipozomi se klasificuju u tri osnovna tipa na osnovu veličine i broja dvoslojeva. Multilaminarni mehuri sastoje se od nekoliko lipidnih dvoslojeva koji su međusobno razdvojeni vodom. Veličina lipozoma kreće se od nekoliko stotina do nekoliko hiljada nanometara. Molekuli leka

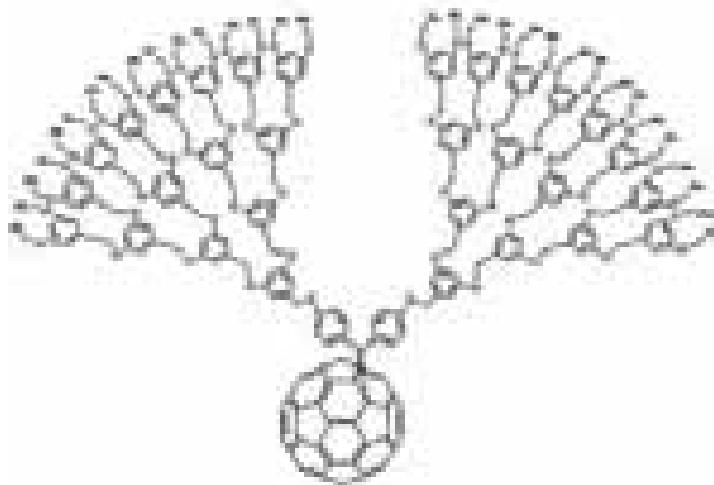


SLIKA 27.4 Prikaz ugljenične nanotube



SLIKA 27.5 TEM snimak nanokristala superparamagnetskog gvožđe oksida

se zarobe ili u vodi ili se interkaliraju u lipidni dvosloj lipozoma, zavisno od fizičko-hemijskih karakteristika leka. Površina lipozoma se može modifikovati raznim ligandima u skladu sa biološkom namenom.



SLIKA 27.6 Prikaz dendrimera čije je jezgro molekul C60

## 27.9 PITANJA ZA REKAPITULACIJU

- 27.1 Opisati princip funkcionisanja mikroskopa atomske sile (AFM).
- 27.2 Opisati princip funkcionisanja mikročipova za isporuku lekova.
- 27.3 Šta su fulereni?
- 27.4 Navesti osnovne metode za sintezu fulerena.
- 27.5 Šta su nanotube i kolike su im dimenzije?

- 27.6 Koje je najinteresantnije svojstvo nanokristala superparamagnetcog gvožđe oksida i kolike su mu tipične dimenziye?
- 27.7 Koje je najinteresantnije svojstvo kvantnih tačaka?
- 27.8 Šta je dendrimer?

## 27.10 LITERATURA

1. C. P. Poole, *Introduction to Nanotechnology* (Wiley, New Jersey, 2003).
2. S. Tyagi, F. R. Kramer, *Nat. Biotechnol.* 14 (1996) 303.
3. T. A. Taton, G. Lu, C. A. Mirkin, *Am. Chem. Soc.* 123 (2003) 5164.
4. F. A. Jaffer, R. Weissleder, *Circ. Res.* 94 (2004) 433.
5. A. Watson, X. Wu, M. Bruchez, *Biotechniques* 34 (2003) 296.
6. M. E. Akerman, W. C. W. Chan, P. Laakkonen, S. N. Bhatia, E. Ruoslahti, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 99 (2002) 12617.
7. E. B. Voura, J. K. Jaiswal, H. Matoussi, S. M. Simon, *Nat. Med.* 10 (2004) 993.
8. T. M. Allen, P. R. Cullis, *Science* 303 (2004) 1818.
9. G. Verdone, N. Van Craynest, O. Boussif, C. Santaella, R. Bischoff, H. V. J. Kolbe, P. Vierling, *J. Med. Chem.* 43 (2000) 1367.
10. V. P. Torchilin, A. Lukyanov, Z. Gao, B. Papahadjopoulos-Sternberg, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100 (2003) 6039.
11. D. C. Drummond, M. Zignani, J.-C. Leroux, *Prog. Lipid. Res.* 39 (2000) 409.
12. A. Quintana, E. Racza, L. Piehler, I. Lee, A. Myc, I. Majoros, A. K. Patri, T. Thomas, J. Mulé, J. R. Baker Jr., *Pharm. Res.* 19 (2002) 1310.
13. S. M. Moghimi, A. C. Hunter, J. C. Murray, *Pharmacol. Rev.* 53 (2001) 283.
14. S. M. Moghimi, A. C. Hunter, *Pharm. Res.* 18 (2001) 1.
15. L. L. Munn, *Drug. Disov. Today.* 8 (2003) 396.
16. Z. G. Gao, A. Lukyanov, A. Singhal, V. Torchilin, *Nano Lett.* 2 (2002) 979.
17. Y. Shadkhan, Y. Keisari, E. Segal, *Med. Mycol.* 42 (2004) 123.
18. A. K. Agrawal, C. M. Gupta, *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 41 (2000) 135.
19. N. Kossovsky, A. Gelman, S. Rajguru, R. Nguyen, E. Sponsler, H. J. Hnatyszyn, K. Chow, A. Chung, M. Torres, J. Zemanovich, J. Crowder, P. Barnajian, K. Ly, J. Philipose, D. Ammons, S. Anderson, C. Goodwin, P. Soliemanzadeh, G. Yao, J. Wei, *J. Control. Release* 39 (1996) 383.
20. A. K. Salem Searson, P.C., Leong, K.W., *Nat. Mat.* 2 (2003) 668.
21. S. M. Moghimi, B. Bonnemain, *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 37 (1999) 295.
22. M. G. Harisinghani, J. Barentsz, P. F. Hahn, W. M. Deserno, S. Tabatabaei, C. H. Van de Kaa, J. De la Rosette, R. Weissleder, *N. Engl. J. Med.* 348 (2003) 2491.

23. B. J. Dardzinski, V. J. Schmithorst, S. K. Holland, G. P. Boivin, T. Imagawa, S. Watanabe, J. M. Lewis, R. Hirsch, *Magn. Res. Imaging*, 19 (2001) 1209.
24. S. G. Ruehm, C. Corot, P. Vogt, S. Kolb, J. F. Debatin, *Circulation* 103 (2001) 415.
25. S. Kim, Y. T. Lim, E. G. Soltesz, A. M. De Grand, J. Lee, A. Nakayama, J. A. Parker, J. V. Frangioni, *Nat. Biotechnol.* 22 (2004) 93.
26. J. W. McLean, E. A. Fox, P. Baluk, P. B. Bolton, A. Haskell, R. Pearlman, G. Thurston, D. M. McDonald, *Am. J. Physiol.* 273 (1997) H387.
27. St. B. Croix, C. Rago, V. Velculescu, G. Traverso, K. E. Romans, E. Montegomery, A. Lal, G. J. Riggins, C. Lengauer, B. Vogelstein, K. W. Kinzler, *Science* 289 (2000) 1197.
28. W. Arap, M. G. Kolonin, M. Trepel, J. Lahdenranta, M. Cardó-Vila, R. J. Giordano, P. J. Mintz, P. U. Ardelt, V. J. Yao, C. I. Vidal, L. Chen, A. Flamm, H. Valtanen, L. M. Weavind, M. E. Hicks, R. E. Pollock, G. H. Botz, C. D. Bucana, E. Koivunen, D. Cahill, P. Troncoso, K. A. Baggerly, R. D. Pentz, K. -A. Do, C. J. Logothetis, R. Pasqualini, *Nat. Med.* 8 (2002) 121.
29. N. Assa-Munt, X. Jia, P. Laakkonen, E. Ruoslahti, *Biochemistry* 40 (2001) 2373.
30. F. Curnis, A. Sacchi, A. Corti, *J. Clin. Invest.* 110 (2000) 475.
31. R. K. Jain, *J. Control Release* 74 (2001) 7.
32. T. P. Padera, B. R. Stoll, J. B. Tooredman, D. Capen, E. Di Tomaso, R. K. Jain, *Nature* 427 (2004) 695.
33. A. Pluen, Y. Boucher, S. Ramanujan, T. D. McKee, T. Gohongi, E. Di Tomaso, E. B. Brown, Y. Izumi, R. B. Campbell, D. A. Berk, R. K. Jain, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98 (2001) 4628.
34. A. Gabizon, H. Shmeeda, Y. Barenholz, *Clin. Pharmacokinetics* 42 (2003) 419.
35. D. C. Drummond, O. Meyer, K. Hong, D. B. Kirpotin, D. Papahadjopoulos, *Pharmacol. Rev.* 51 (1999) 691.
36. Y. Barenholz, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 6 (2001) 66.
37. S. Banadak, D. Goren, A. Horowitz, D. Tzemach, A. Gabizon, *Anticancer Drugs* 10 (1999) 911.
38. T. L. Andersen, J. Davidsen, M. Begtrup, O. G. Mouritsen, K. Jorgensen, *J. Med. Chem.* 47 (2004) 1694.
39. J. Sudimack, R. J. Lee, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 41 (2000) 147.
40. A. Isaković, Z. Markovic, B. Todorovic-Marcovic, N. Nikolic, S. Vranjes-Djuric, M. Mirkovic, M. Dramicanin, L. Harhaji, N. Raicevic, Z. Nikolic, V. Trajkovic, *Tox. Sci.* 91(1) (2006) 173.
41. B. Vileno, M. Lekka, A. Sienkiewicz, P. Marcoux, A. J. Kulik, S. Kasas, S. Catsicas, A. Graczyk, L. Forró, *J. Phys.: Condens. Matter* 17 (2005) S1471.
42. A. A. Shvedova, V. Castranova, E. R. Kisin, D. Schwegler-Berry, A. R. Murray, V. Z. Gannelsman, A. Maynard, P. Baron, *J. Toxicol. Environ. Health* 66 (2003) 1909.
43. A. M. Derfus, W. C. W. Chan, S. N. Bhatia, *Nanolet.* 4 (2004) 11.
44. R. Savic, L. Luo, A. Eisenberg, D. Maysinger, *Science* 300 (2003) 615.
45. S. M. Moghini, A. C. Hunter, J. C. Murray, A. Szewczyk, R. Savić, L. Luo, A. Eisenberg, D. Maysinger, *Science* 303 (2004) 626.

46. N. Nishiyama, F. Koizumi, S. Okazaki, Y. Matsumura, K. Nishio, K. Kataoka, *Bioconjugate Chem.* 14 (2003) 449.
47. C. M. Chen, E. -H. Peng, *Appl.Phys.Lett.* 82 (2003) 1308.
48. E. Meyer, H. J. Hug, R. Bennewitz, *Scanning Probe Microscopy: The Lab on a Tip* (Springer-Verlag, Berlin, 2003).
49. D. Sparks, T. Hubbard, *J. Micromechan.Microengineering*, 14 (2004) 1230.
50. A. C. R. Grayson, I. S. Choi, B. M. Tyler, P. P. Wang, H. Brem, M. J. Cima., P. Langer, *Nat. Mat.*, 2 (2003) 767.
51. H. Yan, X. Zhang, Z. Shen, N. C. Seeman, *Nature* 415 (2002) 62.
52. G. A. Silva, C. Czeisler, K. L. Niece, E. Beniash, D. A. Harrington, J. A. Kessler, S. I. Stupp, *Science* 303 (2004) 1352.
53. M. S. Dresselhaus, G. Dresselhaus, P. C. Eklund, *Science of Fullerenes and Carbon Nanotubes* (Academic Press, San Diego, 1996)
54. D. A. Tomalia, J. M. J. Fréchet, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* 40 (2002) 2719.

---

## KVANTNA MEDICINA: STANJE I PERSPEKTIVE<sup>1</sup>

I pored angažovanih ogromnih materijalnih i umnih resursa u biomedicinskim istraživanjima i zdravstvenoj zaštiti, zdravlje ljudi je i dalje veoma ugroženo mnogobrojnim savremenim *psihosomatskim bolestima*, koje nalaze plodno tle kod današnjeg čoveka izloženog svakodnevnom *stresu*. Pošto savremene parcijalne metode nisu pokazale željenu efikasnost u prevenciji ili lečenju psihosomatskih poremećaja, neophodni su novi pristupi, koji će uključiti i *holističke metode*, orijentisane na *lečenje čoveka kao celine* a ne bolesti kao simptoma poremećaja te celine [1], implicirajući njihovo dublje *kvantno poreklo*.

U fokusu ovih kvantno-holističkih metoda jesu *akupunkturni sistem* i svest, međusobno blisko povezani u tradicionalnoj/komplementarnoj medicini i transpersonalnoj psihologiji, sa biomedicinskim idealom *holističke prevencije i kontrole/očuvanja zdravog stanja* na svim nivoima (socijalno okruženje-organizam-organski sistemi-organi-tkiva-ćelije) [1-3], što je krajnji cilj i *nauke i tehnologije biomaterijala* (od sintetičkih nedegradiabilnih i degradabilnih biomaterijala, preko nanomaterijala i nanomedicinskih tehnologija, bioinženjeringu ćelija i tkiva i kultivacije organa, do kontrole/očuvanja morfogeneze zdravog organizma) [3]!

### 28.1 MAKROSKOPSKI KVANTNI EFEKTI U BIOFIZICI I KVANTNO-HOLISTIČKE PSIHOSOMATSKE IMPLIKACIJE

Danas preovlađujuća naučna paradigma je da se procesiranje informacija na nivou centralnog nervnog sistema odigrava posredstvom *hijerarhijski organizovanih i povezanih neuronskih mreža* [3-13]; izgleda da se ova hijerarhija bioloških neuronskih mreža spušta sve do subćelijskog *citoskeletalnog* nivoa, za koji neki istraživači veruju da predstavlja interfejs između *neuralnog* i *kvantnog* nivoa [14,15] – za koji se nedavno ispostavilo da u Fejnmanovoj propagatorskoj verziji

---

<sup>1</sup>Ovo poglavље napisali su Dejan Raković, Drago Đorđević, Milenko Plavšić i Irena Čosić.

Šredingerove jednačine ima matematički formalizam *analogan Hopfieldovoj asocijativnoj neuronskoj mreži*, što predstavlja osnovu *kvantne neuronske holografije* [16]. Pomenuta analogija otvara i dodatno fundamentalno pitanje, kako sa *kvantnog* paralelno procesirajućeg nivoa nastaje *klasični* paralelno procesirajući nivo, što je inače i generalni problem veze kvantnog i klasičnog nivoa u *kvantnoj teoriji dekoherencije* [17]; naravno, isto pitanje je blisko povezano i sa fundamentalnom prirodom svesti, čija indeterministička svojstva slobodne volje [18–20] i druge holističke manifestacije poput prelaznih stanja svesti [20,21] i izmenjenih stanja svesti [20], prelaza svesno/nesvesno i prožimanja tela svešću [22] – nužno ukazuju da neke manifestacije svesti moraju imati dublje *kvantno poreklo*, sa značajnim potencijalnim *psihosomatskim implikacijama*.

Naime, kako pokazuju *kvantno-kohерентне карактеристике* rusko-ukrajinske škole *mikrotalasne rezonantne terapije* (MRT) [23, 24] (visoko rezonantni mikrotalasni senzorni odgovor obolelog organizma, biološki efikasno netermalno mikrotalasno zračenje ekstremno niskog intenziteta i energije, i zanemarljivi mikrotalasni energetski gubici duž akupunktturnih meridijana) – *akupunktturni sistem* je verovatno jedini *makroskopski kvantni sistem* u našem telu (dok mozak izgleda ipak to nije [25]).

Sitko i saradnici zvanično su predstavili MRT metodu 1989. godine na međunarodnom simpozijumu u Kijevu, gde je ekspertska komisija na čelu sa Frelihom proglašila MRT perspektivnim pristupom u regulaciji živih sistema, a MRT kliničke rezultate visoko efikasnim. MRT se pojavljuje i pod drugim sinonimima: KTT (kratko talasna terapija), MMT (milimetarsko talasna terapija), ITT (informaciono talasna terapija)... Metoda je porekлом sa teritorije bivšeg Sovjetskog Saveza, a prva istraživanja 1960-ih godina, koja su rezultirala i konstruisanjem prve generacije MRT generatora, nisu bila vezana za njihovu medicinsku primenu već za vojnu industriju i satelitske telekomunikacije. Kasnije su usledila istraživanja delovanja ovih talasa na biološke sisteme (Zaljubovskaja u Harkovu i Devjatkovičeva grupa u Moskvi [23], uz suštinsko otkriće Sitkove grupe u Kijevu o neophodnosti i reproduktivnosti MRT primene na *akupunktturnim tačkama* [24]), što je sukcesivno dovelo do razvoja druge generacije uskopojasnih i treće generacije širokopojasnih MRT generatora. Uskopojasni MRT generatori sa promenljivim frekventnim opsegom manje su pogodni u praksi, zbog znatno dužeg traženja rezonantne frekvencije, koja zavisi od individualnih karakteristika organizma i subjektivnog stanja pacijenta, što može rezultirati u terapeutskim greškama i predoziranjima. S druge strane, širokopojasni MRT generatori omogućavaju istovremenu eksitaciju svih mogućih rezonantnih MT frekvencija, tako da organizam kontinualno rezonantno reaguje na trenutno odgovarajuću (i promenljivu tokom terapije) frekvenciju.

Delovanjem mikrotalasnih (MT) generatora frekvencije 52–78 GHz na odgovarajuće akupunkturne tačke, postignuti su značajni klinički rezultati u *prevenciji i terapiji stresa*, kao i mnogih *psihosomatskih oboljenja* (kardiovaskularnih, respiratornih, gastro-intestinalnih, nefro-uroloških, endokrinih, ginekološko-akušerskih, neuroloških, psihijatrijskih, dermatoloških, traumatološko-ortopedskih, oftalmoloških, ORL, stomatoloških, pedijatrijskih, bolesti zavisnosti ...) – sa srednjom efikasnošću od preko 80% kod hroničnih i do 100% kod akutnih bolesti, proverenom

na populaciji od više miliona pacijenata različitih patologija u više hiljada MRT kabineta u Ukrajini i Rusiji. S druge strane, MRT je relativno *retko kontraindikovana* (akutni bol u abdomenu koji zahteva operaciju, trudnoća, menstrualni period). Broj preporučenih MRT polusatnih seansi u jednom ciklusu je 10, sa pauzom od mesec dana u slučaju da je potrebno ponavljanje terapijskog ciklusa. Profilaktički MRT ciklusi savetuju se na svakih 6 meseci.

MRT je praktična realizacija *teorije samoorganizacije* živih sistema nobelovca Prigožina [3]. Sitko i saradnici (stimulisani prethodnim istraživanjima Freliha) pretpostavili su početkom 1980-ih godina da je akupunktturni sistem makroskopska kvantna dinamička struktura [24], koja se uprošćeno može shvatiti [26] kao rezultat diferenciranja molekularnih subjedinica čelijskih membrana i proteina, mikrotubula i dr. na mestima maksimuma trodimenzionalnih stoećih talasa, formiranih usled refleksije koherentnih MT Frelihovih eksitacija [27]. Ovome idu u prilog i novija fiziološka istraživanja koja ukazuju da bi diferenciranje interčelijskih jonskih „gap junction“ kanala (čija je gustina veća na mestima akupunktturnih kanala i tačaka [28]) – kao evolutivno starijeg tipa međučelijske komunikacije, koji između neeksistabilnih ćelija prenose metabolite ili regulatorne molekule a između eksitabilnih ćelija (srčanog mišića, glatkih mišića, jetre, neurona sa električnim sinapsama, akupunktturnih tačaka i kanala) prenose i jonske električne signale – moglo biti blago osetljivo i na promene elektromagnetnog (EM) polja [29].

U tom kontekstu treba tražiti i *objašnjenje efikasnosti* MRT, kao neinvazivne terapeutske metode [26]: neki poremećaj u organizmu dovodi do deformacije u strukturi električnog polja organizma u MT dijapazonu, što utiče na izvesnu promenu prostorne strukture akupunktturnog sistema, i sledstveno rezonantne frekvencije njegovih meridijana, što dovodi do poremećaja u morfogenezi i do bolesti; pri terapiji, delovanjem MRT sondom na odgovarajuću akupunktturnu tačku, pobuđeni akupunktturni sistem obolelog relaksira u prethodno zdravo stanje, dostižući normalni rezonantni frekventni odgovor svojih meridijana na širokopojasni MRT izvor – a zatim posredstvom mehanizama akupunkturne regulacije morfogeneze organizam i prevladava bolest (v. Dodatak).

S druge strane, imajući u vidu gore pomenute *kvantno-koherentne karakteristike* MRT kao i da nedavna teorijska istraživanja pokazuju da svaki kvantni sistem ima formalnu matematičku strukturu *kvantno-holografske asocijativne neuronske mreže* [13, 16] – to se *memorijski atraktori akupunkturne mreže* mogu potencijalno tretirati kao *psihosomatski poremećaji* koji predstavljaju EM MT *kvantno-holistički zapis* (koji se otuda samo holistički može i izbrisati, na šta ukazuje izuzetno visoka efikasnost MRT terapije, koja uklanja i samu informaciju o psihosomatskim poremećajima) – što bi moglo predstavljati biofizičku osnovu (akupunkturno *privremeno reprogramabilne!*) *kvantno-holističke lokalne psihosomatike* [2, 20, 30].

Naime, i prema *tibetanskoj tradicionalnoj medicini* [31] akupunkturna procedura mora se *ponavljati* svakih nekoliko meseci – verovatno kao posledica *obnovljenih* pacijentovih mentalnih opterećenja iz njegovog *mentalnog transpersonalnog okruženja*, koji su ostali *ne-reprogramirani* na nivou kvantno-holografske kolektivne svesti, što podržava i tibetanska *puls dijagnostika* bazirana na 20 pulseva, koja

omogućava preciznu dijagnozu psihosomatskih poremećaja ne samo pacijenata već i njihovih članova familije i neprijatelja).

Dodatnu potvrdu da je akupunkturni sistem zaista povezan sa svešću i psihosomatikom, predstavljaju nove *meridijanske (psihoenergetske) terapije* (sa vrlo brzim uklanjanjem upornih fobija, alergija i drugih psihosomatskih poremećaja [32]), kod kojih bi se simultani efekti *vizualizacije i tapkanja/dodirivanja akupunkturnih tačaka* mogli teorijski interpretirati kao „*rasplinjavanje memorijskih atraktora* psihosomatskih poremećaja, kroz vizualizaciju psihosomatskih problema i sukcesivno postavljanje novih graničnih uslova u prostoru energija-stanje akupunkturnog sistema [27].

Istovremeno, pomenuta analogija matematičkih formalizama Hopfieldove asocijativne neuronske mreže i Fejnmanove propagatorske verzije Šredingerove jednačine ukazuje na *kolektivnu svest* kao moguće *ontološko svojstvo samog fizičkog polja* [20,30] sa različitim mikrokvantnim i makrokvantnim (i nebiološkim i biološkim) eksitacijama, što je i široko rasprostranjena teza *istočnačkih ezoterijsko/religijskih tradicija* [33]. Tada bi *memorijski atraktori kvantno-holografske prostorno-vremenske mreže kolektivne svesti* mogli biti tretirani kao *psihosomatski kolektivni poremećaji* koji predstavljaju *generalizovane kvantno-holističke povezane-sa-poljem zapise* (uključujući interpersonalna isihastičkom-molitvom *konačno-reprogramabilna opterećenja* [30, 34]!) – što bi moglo predstavljati biofizičku osnovu *kvantno-holističke globalne psihosomatike* [2, 20, 30] – sa religijsko/društvenim potencijalnim implikacijama o neophodnosti transpersonalnog spiritualno-posredovanog kvantno-holografskog brisanja svih nepoželjnih kolektivnih memorijskih atraktora (koji bi ne-reprogramirani molitvom inače vremenom doveli do razvoja psihosomatskih bolesti ili međuljudskih sukoba u ovoj i/ili narednim generacijama kojima se transpersonalno i nesvesno potencijalno prenose).

Tako se čini da bi moglo biti da je čitava *psihosomatika kvantni hologram*, i da se to odnosi i na kolektivnu i na individualnu svest (što asocira na hinduistički odnos Braman/Atman, kao celine i dela u kome je sadržana informacija o celini [35]; v. i Dodatak). Pomenuta kvantno-holografska slika implicira i da kvantno-holografski hijerarhijski delovi nose informaciju o celini, omogućavajući suptilnu potencijalanu kvantno-informacionu *fraktalnu spregu* između različitih hijerarhijskih nivoa (na šta ukazuju akupunkturni sistem i njegove mnogobrojne projekcione zone [36]), što izgleda podržava i neobično otkriće kvantno-holografskog uticaja jezičke komunikacije na ekspresiju ćelijskog genoma (govornom-modulacijom obavljajućeg-laserskog-signala) [37]. Ona implicira i potencijalni kvantno-holografski povratni uticaj *EM polja akupunkturnog sistema na ćelijske konformacione enzimske promene i ekspresiju genoma* [38] (tzv. makroskopski „downward causation“ [39], v. i Dodatak), a ne samo obrnuto (mikroskopski „upward causation“), uz uzajamnu *kvantno-informacionu kontrolu ontogeneze/embriogeneze i morfogeneze*, i to počev od prve deobe oplođene jajne ćelije kojom započinje i diferenciranje akupunkturnog sistema (električno-sinaptičkih) „gap-junction“ spojeva [28] (što može biti povezano i sa sličnim idejama *opšte teorije sistema* primjenjenim na biološke sisteme, sa poznatim otvorenim problemom „*emergentne kontrole*“ viših hijerarhijskih nivoa nad nižim u *kognitivnim naukama* [39]).

U tom kontekstu, moglo bi se ispostaviti (što bi buduće kliničke studije trebalo temeljnije da ispitaju!) da postoje *tri linije fronta integrativne psihosomatske medicine* [2]: (1) duhovnost, koja kroz molitvu za druge trajno uklanja uzajamne memorijske atraktore na nivou kolektivne svesti; (2) *istočnačka tradicionalana holistička medicina i dubinska psihoterapija*, koje privremeno uklanjaju memorijске atraktore na nivou akupunktturnog sistema/individualne svesti i sprečavaju ili ublažavaju njihovu somatizaciju, kao posledicu nemara na prvom nivou; (3) *zapadnačka simptomatska medicina*, koja kroz imunologiju, farmakologiju, preventivnu dijagnostiku i hirurgiju sprečava ili ublažava somatizovane posledice nemara na prva dva nivoa. Posebno treba istaći, da bi nužne aktivnosti na drugom i trećem nivou, uz zanemarivanje prvog, imale za posledicu dalje prenošenje memorijskih atraktora na nivou individualne i kolektivne svesti u ovoj i narednim generacijama, samo *nagomilavajući kvantno-holografska nelokalna opterećenja* koja bi prouzrokovala potom ne samo bolesti, već i međuljudske sukobe, ratove i druga stradanja.

U Dodatku biće razmotrene kvantna dekoherenca i kvantna neuronska holografija kao potencijalne bioinformacione osnove kvantne medicine i kvantne informatike [2], sa mogućim značajnim implikacijama po procesu biomolekularnog prepoznavanja i akupunkturne regulacije i njihove kvantno-holografske sprege; takođe, biće razmotrena i moguća kvantno-holistička veza svesti/kolektivne svesti sa kolapsom talasne funkcije u kontekstu kanalisanja nelokalnih transpersonalnih komunikacija.

## 28.2 DODATAK: BIOINFORMACIONE OSNOVE KVANTNE MEDICINE I KVANTNO-HOLOGRAFSKE INFORMATIKE

Pojednostavljeno rečeno, pod procesom (efektom) *dekoherencije* podrazumeva se fizički proces „indukovan“ okruženjem  $E_k$   $k$ -tog kvantomehaničkog sistema, koji kroz neizbežnu interakciju okruženja i kvantnog sistema vodi efektivnom, približno *klasično-fizičkom ponašanju kvantnog sistema  $S_k$*  [17]; pri tome kompozitni sistem  $S_k + E_k$ , kao zatvoreni kvantni sistem, podvrgava se Šredingerovoj jednačini (ali to ne važi pojedinačno ni za  $S_k$  ni za  $E_k$ , koji se nazivaju *otvoreni kvantni sistemi!*), sa Hamiltonijanom  $\hat{H} = \hat{H}_{S_k} + \hat{H}_{E_k} + \hat{H}_{\text{int}}$  koji figuriše u unitarnom operatoru vremenske evolucije kompozitnog sistema:  $\hat{U}(t) = \exp(-2\pi i \hat{H} t / \hbar) \cong \exp(-2\pi i \hat{H}_{\text{int}} t / \hbar)$  (pošto je obično interakcioni Hamiltonijan  $\hat{H}_{\text{int}}$  mnogo veći od međusobno neinteragujućih „samo-Hamiltonijana“ sistema  $\hat{H}_{S_k}$  i okruženja  $\hat{H}_{E_k}$ ). Pokazuje se, skoro nezavisno od modela okruženja  $E_k$ , da interakcioni Hamiltonijan tipa  $\hat{H}_{\text{int}} = C \hat{K}_{S_k} \otimes \hat{D}_{E_k}$  ispunjava potrebne uslove za dekoherenčiju [40] (gde je  $C$  konstanta interakcije,  $\hat{K}_{S_k} = \sum_i k_i |\phi^{(k_i)}\rangle_{S_k S_k} \langle \phi^{(k_i)}|$  odgovarajuća opservabla kvantnog sistema  $S_k$ , a  $\hat{D}_{E_k}$  je proizvoljna opservabla okruženja  $E_k$ ) – dovodeći za vreme dekoherenčije  $\tau_D$  do prelaza iz kvantno-koharentne superpozicije stanja  $|\phi^{(k)}(t)\rangle_{S_k} = \sum_i c_{k_i}(t) |\phi^{(k_i)}\rangle_{S_k}$  u klasično-redukovano stohastičko stanje  $\hat{\rho}_{S_k}^{(k)}(t) = \sum_i |c_{k_i}(t)|^2 |\phi^{(k_i)}\rangle_{S_k S_k} \langle \phi^{(k_i)}|$  (sa verovatnoćama

$|c_{k_i}(t)|^2$  realizacije jednog od klasično-redukovanih stanja  $|\phi^{(k_i)}\rangle_{S_k}$  u procesu sličnom kvantnom merenju nad početnim kvantno-koherentnim stanjem  $|\phi^{(k)}(t)\rangle_{S_k}$ ). Međutim, u slučaju *nestacionarnih* kratkotrajnih spoljašnjih pobuđenja, mogući su i obrnuti prelazi iz  $\hat{\rho}_{S_k}^{(k)}(t)$  u neku novu kvantno-koherentnu superpoziciju  $|\phi^{(k')}(t)\rangle_{S_k} = \sum_i c_{k_i}(t) |\phi^{(k_i)}\rangle_{S_k}$  (pošto se sistem više kratkotrajan ne nalazi ni u jednom od klasično-redukovanih stanja  $|\phi^{(k_i)}\rangle_{S_k}$ , već u *nestacionarnom* stanju koje može biti opisano nekom novom njihovom superpozicijom) – koje potom u procesu dekoherencije indukovanim okruženjem može preći u novo klasično-redukovano stohastičko stanje  $\hat{\rho}_{S_k}^{(k')}(t) = \sum_i |c_{k_i}(t)|^2 |\phi^{(k_i)}\rangle_{S_k} \langle \phi^{(k_i)}|$  [41, 42].

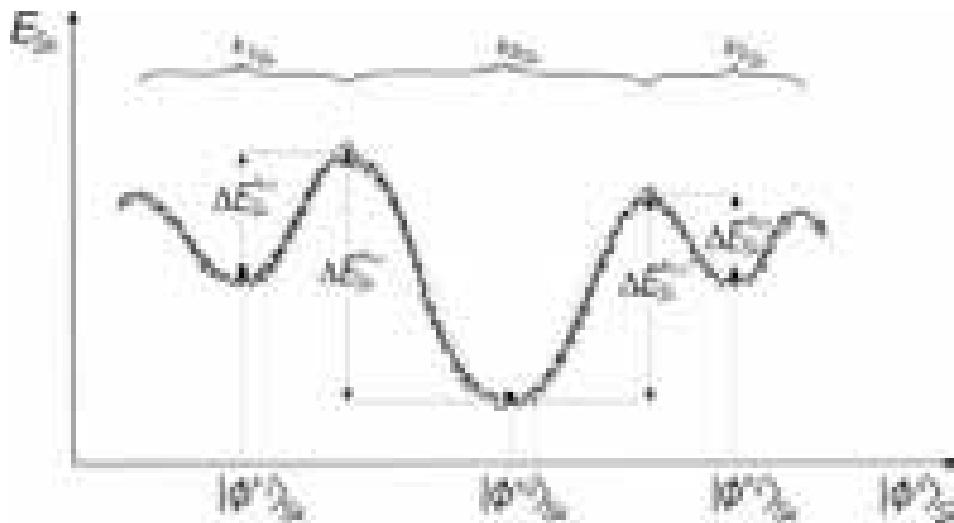
Ovi procesi se pod *nestacionarnim* uticajem okruženja mogu dinamički neprekidno smenjivati dovodeći do intermedijarne adaptacije kvantno-koherentnih i klasično-redukovanih stanja *otvorenog* kvantnog sistema  $S_k$ . S jedne strane, vremenska evolucija (tokom intervala neperturbovanog okruženjem) *kvantno-koherentnog stanja*  $|\phi^{(k)}(t)\rangle_{S_k}$  može se u Fejnmanovoj reprezentaciji opisati kvantno-holografском Hopfieldovom neuronskom mrežom [13, 16, 30, 43], preko dinamičke jednačine za *kvantno-holografsku memoriju/propagator kvantnog sistema*,

$$G^{(k)}(\mathbf{r}_2, t_2, \mathbf{r}_1, t_1) = \sum_{i=0}^{P_k-1} \phi^{(k_i)}(\mathbf{r}_2, t_2) \phi^{(k_i)}(\mathbf{r}_1, t_1)^* = \sum_{i=0}^{P_k-1} A_{k_i}(\mathbf{r}_2, t_2) A_{k_i}(\mathbf{r}_1, t_1) e^{\frac{i}{\hbar}(\alpha_{k_i}(\mathbf{r}_2, t_2) - \alpha_{k_i}(\mathbf{r}_1, t_1))}$$

(koja opisuje dvojako prostorno-vremensko memorijsko kodiranje kvantnog sistema, kroz amplitudne korelacije slično Hebovom pravilu kod klasičnih asocijativnih neuronskih mreža [8, 9] i kroz fazne razlike slično holografiji [11]), sa *dinamičkim asocijativnim memorijskim prepoznavanjem* jednog od  $P_k$  memorijskih atraktorskih stanja u Hopfieldovoj kvantno-holografskoj neuronskoj mreži  $S_k$  ulazno-izlaznom transformacijom  $\phi_{\text{out}}^{(k)}(\mathbf{r}_2, t_2) = G^{(k)}(\mathbf{r}_2, t_2, \mathbf{r}_1, t_1) \phi_{\text{in}}^{(k)}(\mathbf{r}_1, t_1) d\mathbf{r}_1 dt_1$ . S druge strane, vremenska evolucija (perturbovanog okruženjem) *klasično-redukovanih stohastičkih stanja*  $\hat{\rho}_{S_k}^{(k)}(t)$  (kao posledica *nestacionarne interakcije otvorenog kvantnog sistema*  $S_k$  sa okruženjem  $E_k$  koje prevodi sistem  $S_k$  iz stacionarnog klasično-redukovanih stanja u nestacionarno kvantno-koherentno stanje i potom ponovo u stacionarno klasično-redukovano stanje) može se opisati klasičnom Hopfieldovom neuronskom mrežom [8, 9, 30, 38] predstavljenim promenama oblika potencijalne hiperpovrši u prostoru energija-stanje otvorenog kvantnog sistema  $S_k$ , šematski prikazanim na Sl. 28.1 za slučaj akupunktturnog sistema/svesti.

U ovom kontekstu, *kvantna teorija dekoherencije* i *kvantna neuronska holografija* biće primjenjeni na *modelno kvantno-holografsko biomolekularno prepoznavanje*, *modelnu kvantno-holografsku akupunktturnu regulaciju morfogeneze*, i na *svest/kolektivnu svest i modelno nelokalno kanalisanje kvantnog kolapsa*, kako će biti prikazano u nastavku ovog dodatka.

**Model kvantno-holografskog biomolekularnog prepoznavanja.** Dva *otvorena pitanja* semi-klasično postavljenih problema u molekularnoj biofizici jesu *nerazumno dugo vreme* potrebno za izmenu biomolekularnih konformacija i *dugo-dometna usmerenost* selektivnih procesa biomolekularnog prepoznavanja, čija rešenja prirodno treba tražiti u *okviru kvantne mehanike* [38, 44].



Slika 28.1 Šematska prezentacija memorijskih atraktora u prostoru energija-stanje ( $E_{S_k}(\phi^{k_i})$ ) kvantno-holografske memorije/propagatora makroskopskog otvorenog kvantnog akupunktturnog sistema/svesti:

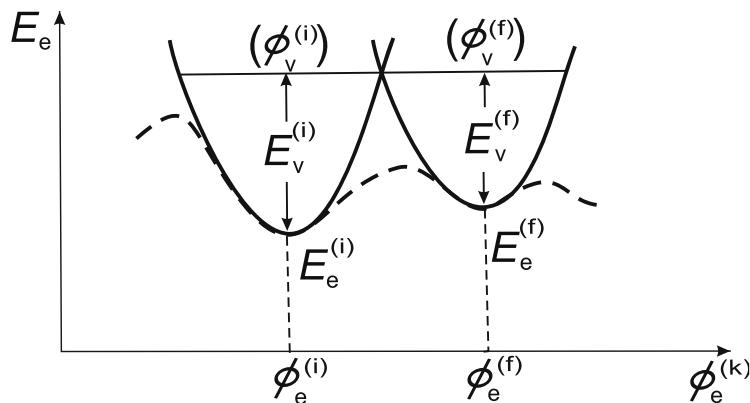
$$G(k)(r_2, t_2, r_1, t_1) = \sum_{i=0}^{P_k-1} \phi^{(k_i)}(r_2, t_2) \phi^{(k_i)}(r_1, t_1)^* = \sum_{i=0}^{P_k-1} A_{k_i}(r_2, t_2) A_{k_i}(r_1, t_1) e^{\frac{i}{\hbar}(\alpha_{k_i}(r_2, t_2) - \alpha_{k_i}(r_1, t_1))}.$$

Treba istaći da bi kvantna dekoherencija mogla igrati fundamentalnu ulogu u biološkim kvantno-holografskim neuronskim mrežama, kroz prikazanu adaptaciju oblika energetske hiperpovrši (za razliku od veštačkih kubitnih kvantnih računara gde se mora po svaku cenu izbegavati do krajnjeg akta očitavanja kvantnog računanja [42]) – što ukazuje da je Priroda izgleda izabrala elegantno sobno-temperatursko rešenje za biološko kvantno-holografsko procesiranje informacija, stalno fluktuirajuće između kvantno-koherentnog stanja  $|\phi^k(t)\rangle_{S_k} = \sum_i c_{k_i}(t) |\phi^{k_i}\rangle_{S_k}$  i klasično redukovanih stanja  $\hat{\rho}_{S_k}^k(t) = \sum_i |c_{k_i}(t)|^2 |\phi^{k_i}\rangle_{S_k} \langle \phi^{k_i}|$  akupunktturnog sistema/svesti [41], kroz nestacionarne interakcije sa vantelesnim daljim okruženjem i kroz dekoherenciju telesnim bližim okruženjem. Tako bi kvantna neuronska holografija kombinovana sa kvantnom dekoherencijom mogla biti veoma značajan element povratno-sregnute bioinformatike, od nivoa ćelije do nivoa organizma.

Na kvantu prirodu nestacionarnih procesa *biomolekularnog prepoznavanja* ukazuje i teorija *neradijativnih rezonantnih prelaza* u mono-molekularnim i bi-molekularnim reakcijama [45], realizovanim kroz intermedijarne kvantno-koherentne superpozicije okruženjem pobuđenih elektronsko-vibracionih stanja participirajućih biomolekula. U okviru standardnog *kvantno-hemijskog Hamiltonijana* (koji uključuje kinetičke energije i kulonovske interakcije svih elektrona i jezgara biomolekula) i Born-Openhajmerove *adijabatske aproksimacije* (razdvajanja elektronskih i vibracionih stepeni slobode biomolekula), (semi)klasični problem više-elektronske hiperpovrši  $E_e(\phi_e^{(k)})$ , adijabatski loše definisan pri prelazu između dva susedna lokalna minimuma, zamenjuje se bolje definisanim problemom dve (virtuelno presecajuće) izomerne

više-elektronske hiperpovrši (hiperparaboloida) kao potencijalnih hiperpovrši za dva vibraciona (izomerna) problema, v. Sl. 28.2.

Prema ovakvom prilazu, *spoljašnjom perturbacijom* izomera, na samom preseku ovih hiperpovrši ispunjeni su uslovi za elektronsko-vibracione neradijativne rezonantne prelaze između dva izomera ( $i, f$ ): ova rezonantna elektronsko-vibraciona stanja dva izomera transformišu se od odgovarajućeg (neperturbovanog) proizvoda elektronskih i vibracionih talasnih funkcija ( $\phi_e^{(i)} \phi_v^{(i)}, \phi_e^{(f)} \phi_v^{(f)}$ ) u (perturbovane) simetrizovane superpozicije ( $\phi_e^{(i)} \phi_v^{(i)} \pm \phi_e^{(f)} \phi_v^{(f)})/\sqrt{2}$ , i njihove (neperturbovanе) energije od rezonirajućih (jednakih) superpozicija osnovnih elektronskih energija odgovarajućih minimuma više-elektronske hiperpovrši i vibracionih energija viših eksitiranih stanja ( $E_e^{(i)} + E_v^{(i)} = E_e^{(f)} + E_v^{(f)}$ ) u (perturbovani) blago rascepljeni energetski dublet ( $E_e^{(i)} + E_v^{(i)} + \frac{1}{2}\Delta E, E_e^{(f)} + E_v^{(f)} - \frac{1}{2}\Delta E$ ), sa  $\Delta E = (E_e^{(i)} + E_v^{(i)})S$  (gde su elektronsko-vibracioni integralni prekrivanja između dva rezonirajuća izomerna stanja ( $i, f$ ) jednaki  $S = \phi_e^{(f)} \phi_v^{(f)} \phi_e^{(i)} * \phi_v^{(i)} * dV_e dV_v \approx S_v^{(i,f)} S_e^{(i,f)}$ , pri čemu su  $S_v^{(i,f)}$  i  $S_e^{(i,f)}$  odgovarajući integrali prekrivanja vibracionih i elektronskih komponenti). U prvoj aproksimaciji,



*SLIKA 28.2 (Semi)klasični problem više-elektronske hiperpovrši  $E_e(\phi_e^{(k)})$ , kao potencijalne energije za adijabatski raspregnut Q1D vibracioni i konformacioni sistem (sa lokalnim minimumima kao semi-klasičnim 'pozicijama', tj. više-atomskim izomernim konfiguracijama na više-elektronskoj hiperpovrši (ispredvana linija na slici)) - adijabatski loše-definisane pri prelasku između dva bliska lokalna minimuma - zamenjuje se u okviru teorije neradijativnih rezonantnih prelaza bolje definisanim problemom dve (virtuelno presecujuće) izomerne više-elektronske hiperpovrši (hiperparaboloida) koji služe kao potencijalne hiperpovrši za dva vibraciona (izomerna) problema (puna linija na slici) [45]. Prema ovakvom prilazu, spoljašnjom perturbacijom izomera, na samom preseku ovih hiperpovrši ispunjeni su uslovi za elektronsko-vibracione neradijativne rezonantne prelaze između dva izomera ( $i, f$ ): u prvoj aproksimaciji matrični element dipolnog prelaza iz  $i$ -tog u  $f$ -ti izomer jednak je  $\mu_e^{(i,f)} \approx \mu_e^{(i,f)} S_v^{(i,f)} + \mu_v^{(i,f)} S_e^{(i,f)}$ , i očito je da će prelaz između dva izomera biti dozvoljen kada komponente odgovarajućih dipolnih momenata,  $\mu_e^{(i,f)}$  i  $\mu_v^{(i,f)}$ , i integrala prekrivanja,  $S_v^{(i,f)}$  i  $S_e^{(i,f)}$ , ne isčezavaju! Takođe, tokom ovih rezonantnih prelaza perturbovani biomolekularni sistem je kratko-trajno opisan kvantno-koherentnom superpozicijom ( $\phi_e^{(i)} \phi_v^{(i)} \pm \phi_e^{(f)} \phi_v^{(f)})/\sqrt{2}$ , pre njene kvantne dekoherenčije u finalno elektronsko stanje  $\phi_e^{(f)}$  ili u inicijalno elektronsko stanje  $\phi_e^{(i)}$  (sa potonjim deeksitacijama u niža vibraciona stanja).*

matrični element *dipolnog prelaza* iz  $i$ -tog u  $f$ -ti izomer jednak je  $\mu^{(i,f)} \approx \phi_e^{(f)} \phi_v^{(f)} (\mu_e + \mu_v) \phi_e^{(i)} * \phi_v^{(i)} * dV_e dV_v \approx \mu_e^{(i,f)} S_v^{(i,f)} + \mu_v^{(i,f)} S_e^{(i,f)}$ , gde su  $\mu_e$  i  $\mu_v$  odgovarajuće elektronske i nuklearne komponente operatora totalnog dipolnog momenta. Očito je da će prelaz između dva izomera biti dozvoljen kada komponente odgovarajućih dipolnih momenata,  $\mu_e^{(i,f)}$  i  $\mu_v^{(i,f)}$ , i integrala prekrivanja,  $S_v^{(i,f)}$  i  $S_e^{(i,f)}$ , ne iščezavaju!

Iz gornjih razmatranja može se zaključiti da su *dovoljeni prelazi* između izomernih stanja  $(i,f)$  mogući samo za bliska stanja sa *neiščezavajućim integralima prekrivanja*  $S_v^{(i,f)}$  i  $S_e^{(i,f)}$ , ili u *kaskadnim rezonantnim prelazima* između *bliskih intermedijarnih* participirajućih izomernih stanja.

Takođe, tokom ovih rezonantnih prelaza perturbovani biomolekularni sistem je kratkotrajno opisan *kvantno-koherenom superpozicijom*  $(\phi_e^{(i)} \phi_v^{(i)} \pm \phi_e^{(f)} \phi_v^{(f)})/\sqrt{2}$ , pre njene *kvantne dekoherencije* u finalno elektronsko stanje  $\phi_e^{(f)}$  ili u inicijalno elektronsko stanje  $\phi_e^{(i)}$  (sa potonjim deeksitacijama u niža vibraciona stanja).

Ova slika u potpunosti podržava pristup primene *kvantne teorije dekoherencije*, kojim je moguće reprodukovati istovremeno i *egzistenciju i stabilnost* (stacionarnih) biomolekularnih protein/supstrat(i) ključ-brava uklapajućih i neuklapajućih konformacija, i kratke vremenske skale za kvantno-mehaničke procese koji efektivno rezultuju u odgovarajućim (nestacionarno) indukovanim konformacionim ključ-brava uklapajućim *prelazima biomolekularnog prepoznavanja* pod promenljivim spoljašnjim uticajem (kompozicionim/hemijskim, topotnim, optičkim...) na čelijsko komplementarno citoplazmatsko okruženje [35, 44]. Pošto ovi elektronsko-konformacioni spregnuti procesi dovode do dinamičke modifikacije (više-elektronske) hiperpovrši energija-stanje,  $E_e(\phi_e^{(k)})$ , čelijskog kvantno-ansamblskog protein/supstrat(i) biomolekularnog makroskopskog otvorenog kvantnog sistema, to ukazuje na potencijalnu mogućnost razmatranja čelijskog biomolekularnog prepoznavanja (u Fejnmanovoj reprezentaciji [13, 16]) kao Hopfieldove kvantno-holografske asocijativne neuronske mreže [2, 35, 44].

Konkretnije, vremenska evolucija  $|\phi_e^{(k)}(t)\rangle_{K_e}$  kvantno-koherenog stanja svih biomolekularnih protein/supstrat(i) ključ-brava uklapajućih i neuklapajućih konformacija  $(\phi_e^{(k)})$  mogla bi se opisati u Fejnmanovoj reprezentaciji *kvantno-holografском Hopfieldovom neuronskom mrežom*, dok bi se vremenska evolucija  $\hat{\rho}_{K_e}^{(k)}(t)$  klasično-redukovanih stohastičkih stanja svih biomolekularnih protein/supstrat(i) ključ-brava uklapajućih i neuklapajućih konformacija mogla opisati *klasičnom Hopfieldovom neuronskom mrežom*, predstavljenom promenom oblika više-elektronske hiperpovrši  $E_e(\phi_e^{(k)})$  čelijskog proteinsko/supstratnog biomolekularnog makroskopskog kvantnog sistema (ostvarenom pobuđivanjem čelijskog proteinsko/supstratnog biomolekularnog makroskopskog kvantnog sistema iz inicijalnog *stacionarnog klasično-redukovanih stohastičkih stanja*  $\hat{\rho}_{K_e}^{(k)} = \sum_i |c_{k_i}|^2 |\phi_e^{(k_i)}\rangle_{K_e} \langle \phi_e^{(k_i)}|$  preko intermedijarne eksterne *nestacionarne eksitirajuće* (tokom  $T_{ext}$ ) *kvantno-koherenne superpozicije*  $|\phi_e^{(k)}(t)\rangle_{K_e} = \sum_i c_{k_i}(t) |\phi_e^{(k_i)}\rangle_{K_e}$  (fluktuirajuće u  $\hat{\rho}_{K_e}^{(k)}(t)$ ), i *nestacionarne relaksirajuće* (tokom  $T_{rel}$ ) *kvantno-koherenne superpozicije*  $|\phi_e^{(k)}(t)\rangle_{K_e} = \sum_i c_{k_i}''(t) |\phi_e^{(k_i)}\rangle_{K_e}$  (fluktuirajuće u  $\hat{\rho}_{K_e}^{(k)}(t)$ ), što dovodi do dekoherencije usled ponovo uspostavljene početne interakcije  $\hat{H}_{int}$  (ili, u opštem slučaju, sa njim komutirajuće novouspostavljene in-

terakcije  $\hat{H}_{\text{int}}^{''''}$ ) u potonje (tokom *nestacionarnog dekoherentnog prelaza*  $\tau_D$ ) finalno *stacionarno klasično-redukovano stohastičko stanje*  $\hat{\rho}_{K_e}^{(k''')} = \sum_i |c_{k_i}|^2 |\phi_e^{(k_i)}\rangle_{K_e K_e} \langle \phi_e^{(k_i)}|$ , sa različitim relativnim brojem (koncentracijom) konformacija,  $|c_{k_i}'''|^2 \neq |c_{k_i}|^2$ ). Kao efekat, ostvarena je neuklapajuće-uklapajuća *konformaciona promena* – što je upravo *traženi efekat!* Pošto je  $T_{\text{ext}} + T_{\text{rel}} \gg \tau_D$ , *trajanje neuklapajuće-uklapajuće konformacione nestacionarne promene u našem modelu je reda*  $T \approx T_{\text{ext}} + T_{\text{rel}}$  – što principijelno razrešava probleme vezane za nerealistične procene bazirane na (semi)klasičnoj analizi (tzv. Levintalov paradoks [46], koji ukazuje na nerazumno dugo vreme potrebno za semi-klasičnu realizaciju svih mogućih konformacija biopolimernog lanca, baziranu na sukcesijama elementarnih rotacija polimernih karika u lancu).

Kvantnu prirodu *biomolekularnog prepoznavanja* podržava i visoka efikasnost *modela rezonantnog prepoznavanja* (Resonant Recognition Model, RRM), potvrđenog na više od 1000 proteina iz više od 30 funkcionalnih grupa [47] (sa brojnim potencijalnim praktičnim primenama u molekularnoj biologiji, medicini, biotehnologiji, poljoprivredi i nanotehnologiji) – baziranog na otkriću da postoji značajna korelacija između spektara numeričke reprezentacije linearnih sekvenci konstitutivnih elemenata (aminokiselina, nukleotida) i njihove biološke aktivnosti ili interakcije u odgovarajućim biomolekulima (proteini, DNK). RRM-model interpretira ovu linearnu informaciju korišćenjem elemenata digitalne analize signala i fizike čvrstog stanja [47], pridruživanjem vrednosti elektron-jon interakcionog potencijala svakom konstitutivnom elementu primarne sekvence opisujući tako srednja energetska stanja njihovih valentnih elektrona [48], sa potonjim korišćenjem metoda analize signala u brzoj Furije-transformaciji ove numeričke serije u jedno-elektronski domen RRM-talasni broj/frekvencija i određivanjem zajedničkih frekventnih komponenti kao frekventnih pikova u višestrukoj kros-spektralnoj funkciji za grupu primarnih sekvenci [47]. Prisustvo pika sa značajnim odnosom signal-šum u višestrukoj kros-spektralnoj funkciji grupe sekvenci sa istom biološkom funkcijom znači da sve analizirane sekvence unutar grupe imaju isti zajednički jedno-elektronski pik RRM-talasni broj/frekvencija, sa sledećim opštim zaključcima: (i) takav pik postoji samo za grupu biomolekula iste funkcije; (ii) ne postoji značajan pik za biološki nevezane biomolekule; (iii) pik frekvencaje su različite za različite biološke funkcije; (iv) proteini i njihovi biomolekularni supstrati imaju isti zajednički frekventni pik ali skoro suprotne faze – omogućujući takođe nove teorijeske mogućnosti za proteinski *de novo* dizajn sa željenim funkcijama.

U kontekstu RRM-modela, ista karakteristična jedno-elektronska RRM frekvencija, i skoro suprotna faza, verovatno karakteriše ne samo biomolekularnu enzimsku i supstratnu zajedničku funkciju, već takođe njihovo *makroskopsko kvantno biomolekularno prepoznavanje/interakciju* na nivou biološke *ćelije* – verovatno kroz eksterno *aktiviranu* (kompoziciono/hemijski, kroz usrednjeno zbližavanje biomolekula proteina i supstrata neophodno za neščezavanje integrala prekrivanja odgovarajućih elektronskih i vibracionih talasnih funkcija, ili toplotno/optički... kroz dovođenje vibracione energije neophodne da se ostvare uslovi za elektronsko-vibracione neradiativne rezonantne prelaze između dva izomera (*i, f*), v. Sl. 28.2) protein-supstrat RRM kvantno-rezonantnu elektron-elektron interakciju *praćenu* sa

$\phi_e^{(i)}$ -anihilacijom i  $\phi_e^{(j)}$ -kreacijom konformonskih kvanata u dvo-konformacionim prelazima  $\phi_e^{(i)} \rightarrow \phi_e^{(j)}$  (dovodeći na makroskopskom kvantnom nivou ćelije do (energetski-favorizujućeg) energetskog produbljivanja finalnog stanja  $\phi_e^{(j)}$  i energetskog-upličavanja inicijalnog stanja  $\phi_e^{(i)}$ , tj. do *dinamičke modifikacije više-elektronske hiperpovrši  $E_e(\phi_e^{(k)})$  ćelijskog protein/supstrat(i) biomolekularnog makroskopskog kvantnog sistema* [2, 35, 44], što je u punoj analogiji sa situacijom obučavanja u Hopfieldovom asocijativnim neuronским mrežama [13, 16] kako je već otkriveno u asocijativnom memorijskom proteinsko-konformacionom prepoznavanju [49]).

Da generalizujemo, gore pomenuta dinamička modifikacija (više-elektronske) hiperpovrši energija-stanje,  $E_e(\phi_e^{(k)})$ , ćelijskog kvantno-ansambalskog protein-skog (enzimskog) biomolekularnog makroskopskog otvorenog kvantnog sistema (preko promene operatora gustine stanja  $\rho_e(t)$ ), prirodna je posledica pomenutih elektronsko-konformacionih spregnutih procesa – što ukazuje na potencijalnu mogućnost razmatranja ćelijskog biomolekularnog prepoznavanja kao *Hopfieldove kvantno-holografске asocijativne neuronske mreže* (v. Sl. 28.1). Ovakav pristup podrazumeva standardni ćelijski lokalni tretman kvantnog ansambla ne-interagujućih dinamički ne-spregnutih  $N$  različivih biomolekularnih enzima iste vrste (i njihovih korespondentnih biomolekularnih klase supstrata).

Međutim, postoji i alternativna mogućnost *holističkog ćelijskog ne-lokalnog tretmana kvantnog sistema ne-interagujućih dinamički spregnutih  $N$  ne-različivih kvantnih biomolekularnih enzima iste vrste* (i njihovih korespondentnih biomolekularnih klase supstrata). Tada se dinamička modifikacija više-elektronske hiperpovrši energija-stanje ćelijskog biomolekularnog enzimskog makroskopskog otvorenog kvantnog sistema (i analogno njihovih korespondentnih biomolekularnih klase supstrata), može najbolje predstaviti u formalizmu *druge kvantizacije* [2, 50], koji tretira sve *biomolekule iste atomske konfiguracije* kao *identične kvantne čestice* koje zauzimaju različita izomerno-konformaciona stanja (što automatski dovodi do *plauzibline kvantno-holističke* slike ćelije, a posebno do *fenomenološki opravdane kvantno-holografске sprege* hijerarhijskih nivoa ćelije, akupunktturnog sistema/svesti i kolektivne svesti – sa značajnim psihosomatskim i kognitivnim bioinformacionim implikacijama [36, 37]!).

U formalizmu druge kvantizacije posmatra se ćelijsko  $N$ -čestično enzimsko kvantno stanje u kvantno-mehaničkom *okupacionom bazisu*, koji opisuje broj enzima koji zauzima svako od mogućih stanja (najčešće više njih što je karakteristika svih bozona, odnosno enzima celobrojnog spina sa parnim brojem kovalentno vezanih elektrona!), u kompletном skupu jednočestičnih-izomerno/konformacionih enzimskih stanja:  $|n_0 n_1 n_2 \dots n_{P_k-1}\rangle_e$ , uz uslove  $N = n_0 + n_1 + n_2 + \dots + n_{P_k-1}$  i  $E_{S_k} = n_0 E_e^{(0)} + n_1 E_e^{(1)} + n_2 E_e^{(2)} + \dots + n_{P_k-1} E_e^{(P_k-1)}$ , gde je  $E_{S_k}$  višeelektronska energija ukupnog ćelijskog  $N$ -čestičnog-enzimskog kvantnog stanja, dok su  $E_e^{(0)}, E_e^{(1)}, E_e^{(2)}, \dots, E_e^{(P_k-1)}$  višeelektronske energije odgovarajućih jednočestičnih-enzimskih kvantnih izomerno/konformacionih stanja 0, 1, 2, ...,  $P_k-1$ . Energetska hiperpovrš takvog  $N$ -čestičnog izomerno/konformacionog kvantnog stanja ima šematski prikaz kao na Sl. 28.1, gde je unutrašnja površina svakog minimuma srazmerna parcijalnoj energiji ( $n_i E_e^{(i)}$ ) i-tog jednočestičnog-biomolekularnog izomerno/konformacionog stanja kojeg zauzimaju  $n_i$  enzima iste konformacije ( $i = 0, 1, 2, \dots, P_k-1$ ), tako da je

ukupna energija ( $E_{S_k}$ ) posmatranog čelijskog  $N$ -čestičnog-enzimskog kvantnog stanja srazmerna sumi unutrašnjih površina svih minimuma na posmatranoj potencijalnoj hiperpovrši.

Treba dodati da uključivanje u razmatranje i vibracionih stepeni slobode (fonona) svakog od  $P_k$  izomerno/konformacionih stanja, zahteva njihovo posmatranje u kvantno-mehaničkom bazisu koji opisuje broj fonona koji zauzima svako stanje u kompletном skupu jednočestičnih fononskih stanja svih enzimskih izomera:  $|n_1^{(0)} n_2^{(0)} \dots n_{3N-6}^{(0)} n_1^{(1)} n_2^{(1)} \dots n_{3N-6}^{(1)} n_1^{(2)} n_2^{(2)} \dots n_{3N-6}^{(2)} \dots \dots n_1^{(P_k-1)} n_2^{(P_k-1)} \dots n_{3N-6}^{(P_k-1)}\rangle_v$  gde svaki enzim sastavljen od  $N_i$  atoma ima u opštem slučaju  $3N_i-6$  vibracionih stepeni slobode (tipova fonona), od kojih svako fononsko stanje može zauzimati neograničen broj fonona (što je karakteristika svih bozona, odnosno čestica celobrojnog spina) [50]. Istaknimo da energetska hiperpovrš takvog  $P_k(3N_i-6)$ -dimenzionog fononskog kvantnog stanja ima takođe šematski prikaz kao na Sl. 28.1, sa potencijalno neograničenim brojem fonona u svakom od jednočestičnih fononskih stanja. Ova energetska hiperpovrš više-fononskog kvantnog stanja može takođe uključiti nisko-energetske dugo-dometne mikrotalasne Frelihove eksitacije (stvorene kao rezultat interakcije elektronskih i fononskih izomernih podsistema [27, 51] – od posebnog značaja u mikrotalasnoj rezonantnoj terapiji (MRT) dinamičke modifikacije EM multi-fononskog (i povezanog više-elektronskog) akupunktturnog makroskopskog kvantnog podsistema!) – što je takođe u punoj analogiji sa situacijom obučavanja u Hopfieldovom asocijativnim neuronskim mrežama [13, 16].

Dakle, u kvantno-holografskoj slici bi na čelijskom nivou  $N$ -čestičnog enzimskog makroskopskog kvantnog sistema praktično postojala dva (*interagujuća*) čelijska enzimska makroskopska kvantna podsistema – jedan sa modifikacijom više-elektronske enzimske hiperpovrši  $E_e(\phi_e^{(k)})$  i drugi sa modifikacijom EM više-fononske enzimske hiperpovrši  $E_v(\phi_v^{(k)})$  – opisana hamiltonijanom

$$\begin{aligned}\hat{H} = & \hat{H}_{is}^{(0)} + \hat{H}_{ph}^{(0)} + \hat{H}_{int}^{is-E} + \hat{H}_{int}^{ph-E} + \hat{H}_{int}^{is-ph} = \\ & \sum_i E_{is}^{(i)} a_i^+ a_i + \sum_i \sum_{i=1}^{3N-6} E_{ph}^{(i,j)} b_{i,j}^+ b_{i,j} + H_{int}^{is-E} + H_{int}^{ph-E} + \hat{H}_{int}^{is-ph},\end{aligned}$$

u kojem su  $a_i^+, a_i$  operatori kreacije i anihilacije različitih izomerno/konformacionih enzimskih stanja,  $b_{i,j}^+, b_{i,j}$  operatori kreacije i anihilacije različitih fononskih stanja u odgovarajućim izomerno/konformacionim enzimskim stanjima,  $\hat{H}_{int}^{is-E}$  je modelni interakcioni hamiltonijan različitih izomerno/konformacionih enzimskih stanja sa okruženjem,  $\hat{H}_{int}^{ph-E}$  je modelni interakcioni hamiltonijan fonona različitih izomerno/konformacionih enzimskih stanja sa okruženjem, a  $\hat{H}_{int}^{is-ph}$  je modelni interakcioni hamiltonijan različitih izomerno/konformacionih enzimskih stanja sa fononima.

**Model kvantno-holografske akupunkturne regulacije morfogeneze.** Gore razmatrana kvantno-koherentna nelokalnost mogla bi se dalje proširiti na makroskopski kvantni nivo organizma, što fenomenološki potvrđuje makroskopska kvantna mikrotalasna rezonantna terapija (MRT) akupunktturnog sistema [23, 24, 26]. U kontekstu generalnih kvantno-hemijskih razmatranja gore primenjenih na

nivou biomolekularnih prelaza, proširenjem više-elektronskog sistema sa nivoa ćelije na nivo akupunktturnog sistema/svesti – moglo bi se zaključiti da su *dozvoljeni prelazi* između više-elektronskih akupunktturnih stanja ( $i, f$ ) takođe mogući za *neiščezavajuće integrale prekrivanja*  $S_v^{(i,f)}$  i  $S_e^{(i,f)}$ , ili u *kaskadnim rezonantnim prelazima* između *bliskih intermediarnih* participirajućih akupunktturnih stanja – verovatno baziranim na niskoenergetskim *dugodometnim koherentnim mikrotalasnim* Frelihovim eksitacijama jako polarizovanih molekularnih subjedinica u ćelijskim membranama i citoskeletalnim proteinima [27, 51].

Takođe, tokom ovakvih rezonantnih prelaza perturbovani akupunktturni sistem/svest bio bi kratkotrajno opisan *kvantno-koherentnom superpozicijom*, pre njegove *kvantne dekoherencije* u finalno elektronsko stanje  $\phi_e^{(f)}$  ili u inicijalno elektronsko stanje  $\phi_e^{(i)}$  (sa potonom deeksitacijom u niža mikrotalasnna energetska stanja). Pošto bi ovakve elektronsko-mikrotalasne rezonantne interakcije između različitih svojstvenih elektronskih stanja akupunktturnog sistema dovele do *dinamičke modifikacije* više-elektronske hiperpovrši energija-stanje *akupunktturnog kvantno-ansambalskog makroskopskog kvantnog sistema*, to otvara potencijalnu mogućnost razmatranja akupunktturnog sistema/svesti kao makroskopske *Hopfieldove kvantno-holografske asocijativne neuronske mreže*. Ovo takođe podržavaju *potrebni uslovi* za process dekoherencije, koji ističu da je definisanje otvorenog kvantnog sistema i njegovog (komplementarnog) okruženja simultani proces – stvarajući takođe uslove za proces dekoherencije u kontekstu postojanja *relativne granice* [40]: |otvoreni kvantni sistem $_S$ | (komplementarno) okruženje $_E$ .

Na toj liniji, možemo redefinisati otvoreni kvantni sistem  $S_k$  (da uključi akupunktturni sistem/svest) i njegovo (komplementarno) okruženje  $E_k$ . Otuda, primenom *kvantne teorije dekoherencije* kvantno-koherentno stanje akupunktturnog sistema/svesti  $S_{kp}$   $|\phi_e^{(k)}(t)\rangle_{S_{kp}} = \sum_i c_{k_i}(t) |\phi_e^{(k_i)}\rangle_{S_{kp}}$ , može se opisati superpozicijom svih njegovih mogućih stanja  $(\phi_e^{(k_i)})$ , koja posle kvantnog kolapsiranja u klasično-redukovano stanje dovodi do stohastičkog stanja opisanog matricom gustine  $\hat{\rho}_{S_{kp}}^{(k)}(t) = \sum_i |c_{k_i}(t)|^2 |\phi_e^{(k_i)}\rangle_{S_{kp}} \langle \phi_e^{(k_i)}|$ , sa verovatnoćama  $|c_{k_i}|^2$  realizacije jednog od klasično-redukovanih stanja  $|\phi_e^{(k_i)}\rangle_{S_{kp}}$  – u procesu sličnom kvantnom merenju nad inicijalnim kvantno-koherentnim stanjem  $|\phi_e^{(k)}(t)\rangle_{S_{kp}}$ . Vremenska evolucija  $|\phi_e^{(k)}(t)\rangle_{S_{kp}}$  (neperturbovanog okruženjem) *kvantno-koherentnog stanja* akupunktturnog sistema/svesti može se u Fejnmanovoj reprezentaciji opisati kvantno-holografskom Hopfieldovom neuronskom mrežom preko dinamičke jednačine za *kvantno-holografsku memoriju/propagator* [13, 16, 30, 43], dok se vremenska evolucija (perturbovanog okruženjem) *klasično-redukovanih stohastičkih stanja*  $\hat{\rho}_{S_{kp}}^{(k)}(t)$  akupunktturnog sistema/svesti  $S_k$  može opisati klasičnom Hopfieldovom neuronskom mrežom [8, 9, 30, 38] *predstavljenim promenama oblika više-elektronske hiperpovrši* u prostoru energija-stanje  $E_{s_k}(\phi^{(k)})$  otvorenog akupunktturnog sistema/svesti  $S_k$ , šematski prikazanim na Sl. 28.1.

Dodajmo, da slično gore opisanoj situaciji na ćelijskom nivou, i na akupunktturnom nivou praktično bi mogla postojati dva *akupunkturna makroskopska*

*kvantna sistema [2] – jedan sa modifikacijom više-elektronske hiperpovrši  $E_e(\phi_e^{(k)})$  i drugi sa modifikacijom EM više-fononske hiperpovrši  $E_v(\phi_v^{(k)})$ , koji se nalaze u stalnoj interakciji, pri čemu ovaj drugi uključuje i niskoenergetske dugodometne koherentne mikrotalasne Frelihove eksitacije, nastale kao rezultat interakcija elektronskog i fononskog podistema [27, 51], koje su od posebnog značaja u mikrotalasnoj rezonantnoj terapiji (MRT). Primena specijalno odabrane EM MRT-terapije za uklanjanje nepoželjnog psihosomatskog poremećaja akupunktturnog sistema  $S_k$  (koji pored zdravog stanja sadrži i mnoštvo drugih bočnih poremećenih stanja), prevdila bi poremećenu EM više-fononsku hiperpovrš  $E_v(\phi_v^{(k)})$  *inicijalnog stacionarnog klasično-redukovanih stanja*  $\hat{\rho}_{S_{kv}}^{(k)} = \sum_i |c_{k_i}|^2 |\phi_v^{(k_i)}\rangle_{S_{kv}S_{kv}} \langle \phi_v^{(k_i)}|$  u novo zdravije stacionarno klasično-redukovano stanje  $\hat{\rho}_{S_{kv}}^{(k''')} = \sum_i |c_{k_i}'''|^2 |\phi_v^{(k_i)}\rangle_{S_{kv}S_{kv}} \langle \phi_v^{(k_i)}|$ , sa smanjenom verovatnoćom (dubinom)  $i$ -tog poremećenog stanja,  $|c_{k_i}'''|^2 < |c_{k_i}|^2$  (kao posledica *nestacionarne interakcije akupunktturnog sistema sa MRT aparatom*, koji dovodi spoljašnju mikrotalasnu energiju za savlađivanje potencijalne barijere poremećenog stanja ( $\Delta E_{S_{kv}}^{k_i,0}$ ) i prevodi akupunktturni sistem iz *inicijalnog stanja*  $\hat{\rho}_{S_{kv}}^{(k)}$  u nestacionarno kvantno-koherentno stanje, a potonji relaksacioni proces uz odvodenje viška energije ( $\Delta E_{S_{kv}}^{k_0,i}$ ) i ponovo uspostavljena interakcija  $\hat{H}_{int}$  sa telesnim okruženjem prevode akupunktturni sistem u *novu zdravije stanje*  $\hat{\rho}_{S_{kv}}^{(k'''')}$ ) – što bi uz višestruko ponavljanje ovog procesa dovelo do potpunog brisanja nepoželjnog psihosomatskog poremećaja  $|\phi_v^{(k_i)}\rangle_{S_{kv}}$  uz produbljivanje zdravog stanja  $|\phi_v^{(k_0)}\rangle_{S_{kv}}$ , odnosno do *dinamičke modifikacije EM više-fononske hiperpovrši akupunktturnog makroskopskog kvantnog sistema*, analogno situaciji obučavanja klasičnih Hopfieldovih asocijativnih neuronskih mreža u njihovim prostorima energija-stanje, i Hebove modifikacije dubine minimuma energetske hiperpovrši kao atraktora memorijskih oblika  $|\phi_v^{(k_0)}\rangle_{S_{kv}}, |\phi_v^{(k_1)}\rangle_{S_{kv}}, |\phi_v^{(k_2)}\rangle_{S_{kv}}, \dots$  Hopfieldove kvantno-holografske neuronske mreže sa Sl. 28.1). Istaknimo da bi se zbog stalno prisutne interakcije elektronskog i fononskog podistema – pomenute *dinamičke modifikacije EM više-fononske hiperpovrši povratno odražavale i na dinamičke modifikacije više-elektronske hiperpovrši akupunktturnog sistema!**

Treba dodati da se korišćenjem izraza za matricu gustine akupunktturnog sistema/svesti  $\hat{\rho}_{S_{kv}}^{(k)} = \sum_i |c_{k_i}|^2 |\phi_v^{(k_i)}\rangle_{S_{kv}S_{kv}} \langle \phi_v^{(k_i)}| \equiv \sum_i p_{k_i} |\phi_v^{(k_i)}\rangle_{S_{kv}S_{kv}} \langle \phi_v^{(k_i)}|$ , fon Nojmanova kvantnomehanička entropija može izraziti u obliku [2,18,42]  $S = -kTr(\hat{\rho}_{S_{kv}}^{(k)} \ln \hat{\rho}_{S_{kv}}^{(k)})$ , koji se posle izračunavanja traga svodi na poznatu Šenonovu entropiju  $S = -k \sum_i p_{k_i} \ln p_{k_i}$  (gde su  $p_{k_i}$  verovatnoće realizacije  $k_i$ -tog stanja). U pomenutoj kvantno-holografskoj slici, *entropija čisto-zdravog stanja* akupunktturnog sistema/svesti (opisanog jednim članom u sumi:  $\hat{\rho}_{S_{kv}}^{(k_0)} = |\phi_v^{(k_0)}\rangle_{S_{kv}S_{kv}} \langle \phi_v^{(k_0)}|$ , verovatnoće  $p_{k_0} = 1$ ), bila bi jednaka  $S_{k_0} = 0$  (kao posledica činjenice da čisto kvantno stanje  $\hat{\rho}_{S_{kv}}^{(k_0)}$  daje maksimalnu moguću informaciju o kvantnom akupunktturnom sistemu/svesti), dok bi *entropija mešano-poremećenog stanja* akupunktturnog sistema/svesti (opisanog sumom:  $\hat{\rho}_{S_{kv}}^{(k)} = \sum_i p_{k_i} |\phi_v^{(k_i)}\rangle_{S_{kv}S_{kv}} \langle \phi_v^{(k_i)}|$ , sa sumom verovatnoća  $\sum_i p_{k_i} = 1$ ), bila jednaka  $S_{\hat{\rho}} > 0$  (kao posledica činjenice da mešano stohastičko stanje  $\hat{\rho}_{S_{kv}}^{(k)}$  daje nepotpunu informaciju o

kvantnom akupunkturnom sistemu/svesti). Dakle, u pomenutoj kvantno-holografskoj slici *psihosomatsko zdravlje* je stanje *minimalne entropije*, dok je *psihosomatska bolest* stanje *povećane entropije* akupunkturnog sistema/svesti; u istom kontekstu, *terapija* prirodno dovodi do *smanjenja entropije* (degradacije) odnosno do *povećanja informacije* (organizacije) akupunkturnog sistema/svesti [2].

Gore pomenuti prikaz dinamičke promene EM više-fononske hiperpovrši akupunkturnog sistema/svesti mogao bi se generalizovati i na *EM kvantno-holografiku kolektivnu svest*, sa religijsko/društvenim potencijalnim implikacijama o neophodnosti transpersonalnog spiritualnog kvantno-holograforskog brisanja svih nepoželjnih bočnih memorijskih atraktora (koji će nereprogramirani molitvom inače vremenom dovesti do razvoja psihosomatskih bolesti ili međuljudskih sukoba u ovoj i/ili narednim generacijama, kojima se transpersonalno i nesvesno potencijalno prenose ova memorijska opterećenja na nivou kolektivne svesti) [2, 27, 43]. Naime, u aproksimaciji skoro ne-interagujućih individualnih svesti, stanje kolektivne svesti bilo bi  $|\Phi(t)\rangle_S \sim \prod_{S_k} |\phi^k(t)\rangle_{S_k}$  gde je *kvantno-koherentno stanje*  $k$ -te individualne svesti opisano superpozicijom  $|\phi^k(t)\rangle_{S_k} = \sum_i c_{k_i}(t) |\phi^{k_i}\rangle_{S_k}$  svih njenih mogućih stanja  $|\phi^{k_i}\rangle_{S_k}$ , koje potom pod uticajem bližeg ili daljeg okruženja kvantno kolapsira u *klasično-redukovano stohastičko stanje* opisano matricom gustine  $\bar{\rho}_{S_k}^k(t) = \sum_i |c_{k_i}(t)|^2 |\phi^{k_i}\rangle_{S_k} \langle \phi^{k_i}|$ . U ovom kontekstu, treba istaći da u opštem slučaju transpersonalnih interakcija  $k$ -tog akupunkturnog sistema/svesti  $S_k$  sa svojim okruženjem  $E_k$ , odgovarajuća kvantna opservabla sistema,  $\hat{K}_{S_k} = \sum_{i=0}^{P_k-1} k_i |\phi^{k_i}\rangle_{S_k} \langle \phi^{k_i}|$  (sa  $P_k$  svojstvenih stanja, odnosno memorijskih atraktorskih stanja ša Sl. 28.1), koja figuriše u početnom interakcionom Hamiltonijanu  $\hat{H}_{\text{int}}$ , posle novouspostavljene interakcije  $\hat{H}_{\text{int}}''' = \hat{C}\hat{K}_{S_k}''' \otimes \hat{D}_{S_k}'''$  može imati izmenjeni broj  $P_k'''$  memorijskih atraktorskih stanja – kao posledica modelnih prostorno-vremenski-nelimitiranih kvantno-gravitaciono-tunelirajućih interakcija sa drugim mentalno-povezanim akupunkturnim sistemima/svestima, odnosno kvantno-koherentnih/kvantno-holografskih hijerarhijskih projekcija sa nivoa kosmičke kolektivne svesti na nivo  $k$ -tog akupunkturnog sistema/svesti – što se sve potom dalje kvantno-koherentno/kvantno-holografski projektuje na niži hijerarhijski nivo ćelijske citoplazme i genoma (kao suptilni biofizički „downward causation“ modelni mehanizam povratne kvantno-informacione fraktalne sprege akupunkturnog sistema i ćelije) [2]. Istaknimo da zbog stalno prisutne interakcije elektronskog i fononskog podsistema – pomenute *dinamičke modifikacije EM više-fononske hiperpovrši* povratno bi se odražavale i na *dinamičke modifikacije više-elektronske hiperpovrši – od akupunkturnog do ćelijskog nivoa!*

Posebno je zanimljivo ovde istaći da bi *kvantna dekoherencija* potencijalno mogla igrati fundamentalnu ulogu u *procesiranju* informacija kod svih pomenutih *bioloških* kvantno-holografskih neuronskih mreža, kroz *adaptaciju* oblika energetske hiperpovrši (Sl. 28.1) [2], dok se kod *veštačkih* kubitnih kvantnih računara ona mora po svaku cenu *izbegavati* do krajnjeg akta očitavanja kvantnog računanja (da ne razruši kvantnu koherenciju stanja koje omogućava kvantno-paralelno procesiranje informa-

cija svakim članom u superpoziciji, pa zahteva rad kubitnih procesora na ekstremno niskim temperaturama [42]) – što ukazuje da je Priroda izgleda izabrala jedno vrlo elegantno i sobno-temperatursko *biološko rešenje kvantno-holografskog procesiranja informacija* [2], stalno *fluktuirajuće* između kvantno-koherentnog  $|\phi^k(t)\rangle_{S_k}$  i klasično redukovanih stanja  $\tilde{\rho}_{S_k}^k(t)$  *makroskopskog otvorenog kvantnog akupunktturnog sistema/svesti*, kroz nestacionarne interakcije sa vantelesnim daljim okruženjem i kroz dekoherenciju telesnim bližim okruženjem; isto bi se moglo odnositi i na niži hijerarhijski kvantno-holografski *makroskopski otvoreni kvantni ćelijski enzimsko-genomski nivo*, koji bi takođe funkcionalisao na nivou neprekidnog *kvantno-konformacionog kvantno-holografiski sličnog molekularnog prepoznavanja* – pa bi tako *kvantna neuronska holografija* kombinovana sa *kvantnom dekoherencijom* mogla biti veoma značajan element povratno-spregnute *bioinformaticke*, od nivoa ćelije do nivoa organizma [2,38]!

**Svest/kolektivna svest i modelno nelokalno kanalisanje kvantnog kolapsa.** U kontekstu potrebnih uslova za ostvarenje dekoherencije [40] definisanje otvorenog kvantnog sistema i njegovog okruženja jeste *simultani proces*, tako da je u kontekstu univerzalnog važenja kvantne mehanike *svest potencijalno relativan koncept*, nelokalno određen i udaljenim delovima postojećeg opserviranog svemira (i obrnuto!) [52], istovremeno stvarajući uslove i za proces dekoherencije u kontekstu postojanja relativne granice:

$$|\Phi\rangle_S |\Psi\rangle_E \equiv (parcijalna) \text{ individualna/kolektivna svest}_S / (komplementarno) \text{ okruženje}_E.$$

Ovo je u punom skladu sa idejom o *kolektivnoj svesti* kao mogućem *ontološkom svojstvu samog fizičkog polja*, sa različitim mikrovantnim i makrovantnim (i nebiološkim i biološkim, i realnim i virtuelnim) eksitacijama. U tom kontekstu, rezultati Prinstonskih transpersonalnih eksperimentata operator/mašina [53] mogli bi se interpretirati [2, 30, 43] intencionalnim prelaznim transpersonalnim biološkim (ne-Šredingerovski neunitarno upravljanim) kvantno-gravitacionim tuneliranjem operatorove individualne svesti sa mentalnim adresiranjem na mašinski sadržaj kolektivne svesti u operatorovim prelaznim stanjima svesti, tako intencionalno kanališući kompozitno stanje „polja“ kolektivne svesti maštine-pod-uticajem-operatora ( $|\Phi\rangle_S \rightarrow |\Phi_j\rangle_S$ ), i automatski utičući na komplementarni „čestični“ izlaz maštine-pod-uticajem-operatora ( $|\Psi\rangle_E \rightarrow |\Psi_j\rangle_E$ ) u ne-Šredingerovski kvantno-gravitacionom upravljanju kolapsirajućeg procesa ( $|\Phi\rangle_S |\Psi\rangle_E = \sum_i c_i |\Phi_i\rangle_S |\Psi_i\rangle_E \rightarrow |\Phi_j\rangle_S |\Psi_j\rangle_E$ ).

Ovo bi moglo biti povezano sa suštinskom *ulogom svesti* u tzv. *kvantnom kolapsu talasne funkcije* [18–20], jedinom indeterminističkom svojstvu kvantne mehanike, koji još ima *manifestno otvorene probleme* fizičke prirode *nelinearnog kolapsa* i relativistički nekonzistentnog trenutnog delovanja na daljinu *nelokalnog kolapsa talasne funkcije* [19, 20]. Jedno od rešenja problema (nelinearnog) kolapsa predložio je Penruž [54] u *gravitaciono-indukovanoj objektivnoj redukciji* talasnog paketa u kojem gravitaciono polje aparature uključeno u superpoziciju korespondentnih mogućih probabilističkih stanja merne aparature implicira superpoziciju različitih prostorno-vremenskih geometrijskih struktura.

trija, pa kada te geometrije postanu dovoljno različite (na Plank-Vilerovojoj skali  $\sim 10^{-35}$  m) to implicira prestanak standardne probabilističke superpozicije stanja kvantni sistem/merna aparatura (kvantno nedefinisane u striktno razdvojenim prostorno-vremenskim geometrijama) pa Priroda mora izabрати jedno od njih čime izaziva objektivnu redukciju talasnog paketa:  $|\Phi\rangle_s |\Psi\rangle_E = \sum c_i |\Phi_i\rangle_s |\Psi_i\rangle_E \rightarrow |\Phi_j\rangle_s |\Psi_j\rangle_E$  (a što se tiče nealgoritamskih kvantno-gravitacionih aspekata svesti, Penrouz je pokušao da potraži postojanje dovoljno izolovanih relevantnih makroskopskih kvantnih stepeni slobode u mikrotubularnim citoskeltalnim strukturama neurona, što je Tegmark u svom radu podvrgao žestokoj kritici [25]).

Saglasno biofizičkom kvantno-holografskom/kvantno-relativističkom modelu svesti [20], slična objektivna redukcija talasnog paketa mogla bi imati kvantno-gravitaciono poreklo u minijaturnim prostorno-vremenskim „wormhole“ tunelima visoko neinercijalnih mikročestičnih interakcija u situacijama sličnim kvantnom mernju (potpuno ekvivalentnim, prema Ajnštajnovom principu ekvivalencije, snažnim gravitacionim poljima u kojima se otvaraju „wormhole“ tuneli [55]) – implicirajući i da bi fon Nojmanov *ad hoc projekcioni postulat* [18] mogao biti baziran na kvantno-gravitacionim fenomenima [20], koji su na dubljem nivou od nerelativističkih kvantno-mehaničkih. Osim toga, nelokalnost kolektivne svesti [20], kao džinovske prostorno-vremenske asocijativne neuronske mreže sa raspodeljenim individualnim svestima (koje su, saglasno biofizičkom kvantno-holografiskom/kvantno-relativističkom modelu svesti vezane kod čoveka za telesne akupunkturne EM/jonske mikrotalasne ultraniskofrekventno-modulisane kvantno-holografiske neuronske mreže [20, 26, 30], i koje međusobno interaguju kvantno-gravitaciono u prelaznim stanjima individualnih svesti [20]), mogla bi objasniti (prividno) trenutno delovanje na daljinu u (nelinearno) kvantno-gravitaciono indukovanim i (nelokalno) kanalisanom kolapsu posredstvom kolektivne svesti [20].

Relikt pomenutih mikroskopskih procesa ostao je izgleda i na makroplanu u prelaznim stanjima individualne svesti (kao visoko neinercijalnim procesima vantelesnog prostorno-vremenskog kvantno-gravitacionog mentalno-kanalisanog tuneliranja dela akupunkturne EM/jonske kvantno-holografiske neuronske mreže [20]), što bi moglo predstavljati biofizičku osnovu [20, 30] za mnoge transpersonalne komunikacije bez prostorno-vremenskih barijera: prekognicija i druge ezoterijske pojave i vantelesna iskustva [56], iskustva i eksperimenti sa molitvom [57] i drugim nelokalnim interakcijama [53, 58]. Ovo bi istovremeno moglo biti objašnjenje i zašto su ti transpersonalni fenomeni kratkotrajni i slabo reproduktivni, kao i zašto se najlakše mentalno kontrolišu neposredno pred ulazak u izmenjeno stanje svesti, poput spavanja [20]) – kod kojih neophodnost mentalnog adresiranja na metu implicira i jednoznačni ontološki ličnosni aspekt individualne ljudske svesti [20,30], što je široko rasprostranjena teza hrišćanske religijske tradicije sa dobro poznatim post-mortem implikacijama [34].

U sličnom kontekstu, pošto kosmička kolektivna svest  $|\Phi\rangle_s$  (koincidentna sa „poljem“ samog Kosmosa) ima komplementarno „čestično“ kosmičko okruženje  $|\Psi\rangle_E$ , to njihova jaka-interakciona-sprega dovodi do dekoherenčije „polja“ kosmičke kolektivne svesti u stacionarno klasično-redukovano stohastičko stanje,  $\hat{\rho}_s =$

$\sum |c_i|^2 |\Phi_i\rangle_s \langle \Phi_i|$ . Međutim, *evolucija kosmičkog kompozitnog kvantnog stanja*  $|\Phi\rangle_s |\Psi\rangle_E$  opisana je determinističkom unitarnom evolucijom upravljanom Šredingerovom (ili Fejnmanovom propagatorском) jednačinom, *bez kolapsa* (usled odsustva komplementarnog van-kosmičkog okruženja!), što ukazuje da je u celini Kosmos kvantni hologram podvrgnut determinističkoj Šredingerovoj evoluciji [2]. Ipak, molitvom-indukovane hipotetičke makroskopske spiritualne vakuumskе eksitacije mogle bi uspostavljanjem novih graničnih uslova (ne-Šredingerovski) modifikovati *kvantno stanje kosmičke kolektivne svesti*  $|\Phi'\rangle_s \sim \prod |\phi^k\rangle_{S_k}$  i time *kosmičko kompozitno kvantno stanje*  $|\Phi'\rangle_s |\Psi'\rangle_E$ , odnosno *klasično-redukovano stohastičko stanje kosmičke kolektivne svesti*  $\hat{\rho}_s = \sum |c_i|^2 |\Phi_i\rangle_s \langle \Phi_i|$ , ukazujući tako na potencijalnu mogućnost *optimizacije-molitvom* (najverovatnije i energetski najpovoljnije) preferencije kosmičke kolektivne svesti (i recipročno, na modifikaciju kosmičkom-svešću-observabilnog *klasično-redukovanih stohastičkih stanja komplementarnog „čestičnog“ kosmičkog okruženja*  $\hat{\rho}_E = \sum |c_i|^2 |\Psi_i\rangle_E \langle \Psi_i|$ , ukazujući na potencijalnu mogućnost *optimizacije-molitvom* (najverovatnije i energetski najpovoljnije) preferencije budućih kosmičkih alternativa) [2].

### 28.3 PITANJA ZA REKAPITULACIJU

- 28.1 Obrazložiti vezu akupunktturnog sistema i svesti sa kvantno-holističkim metodama tradicionalne/komplementarne medicine i transpersonalne psihologije.
- 28.2 Šta je krajnji cilj biomedicine i nauke i tehnologije biomaterijala?
- 28.3 Navesti kvantno-koherentne karakteristike MRT terapije akupunktturnog sisrema.
- 28.4 Kakva je informaciona struktura svakog kvantnog sistema?
- 28.5 Šta bi mogla biti biofizička osnova kvantno-holističke lokalne psihosomatike?
- 28.6 Šta bi mogla biti biofizička osnova kvantno-holističke globalne psihosomatike?
- 28.7 Kakve su potencijalne implikacije tibetanske tradicionalne medicine po razumevanje prirode kvantno-holističke psihosomatike?
- 28.8 Kakve su potencijalne implikacije meridijanskih (psihoenergetskih) terapija po razumevanje prirode kvantno-holističke psihosomatike?
- 28.9 Kakve su potencijalne implikacije holističke slike da je čitava psihosomatika kvantni hologram?
- 28.10 Koje su fenomenološko/teorijske potvrde kvantno-informacione fraktalne sprege između različitih hijerarhijskih nivoa u Prirodi?
- 28.11 Kakve su potencijalne implikacije kvantno-holografskog povratnog uticaja EM polja akupunktturnog sistema na ćelijske konformacione enzimske promene i ekspreziju genoma?
- 28.12 Kakve su potencijalne implikacije kvantno-informacione fraktalne sprege različitih hijerarhijskih nivoa na integrativnu psihosomatsku medicinu?
- 28.13 Kakve su implikacije kvantne dekoherencije i kvantne neuronske holografije kao potencijalnih bioinformacionih osnova kvantne medicine i kvantne informatike?

- 28.14 Na kakve bi kvantne sisteme mogle biti primenjene kvantna teorija dekoherencije i kvantna neuronska holografija?
- 28.15 Kakva je forma dinamičke asocijativne memorije otvorenih (bioloških) kvantnih sistema?
- 28.16 Razmotriti fundamentalne razloge za potencijalnu primenu kvantno-holografske slike biomolekularnog prepoznavanja na nivou ćelije kao celine.
- 28.17 Razmotriti fundamentalne razloge za potencijalnu primenu kvantno-holografske slike lokalne psihosomatike i akupunkturne regulacije morfogeneze.
- 28.18 Razmotriti fundamentalne razloge za potencijalnu primenu kvantno-holografske slike globalne psihosomatike i posredne reperkusije po akupunktturnu regulacije morfogeneze.
- 28.19 Zašto se dinamička modifikacija više-elektronske/više-fononske hiperpovrši (bioloških) otvorenih kvantnih sistema fizički najelegantnije može predstaviti u formalizmu druge kvantizacije?
- 28.20 U kontekstu fon Nojmanove kvantomehaničke entropije, razmotriti odnos entropija psihosomatskog zdravlja i psihosomatskih bolesti u kvantno-holografskoj slici, kao i odgovarajuću ulogu psihosomatskih terapija akupunktturnog sistema/svesti.
- 28.21 Povući paralelu između uloge kvantne dekoherencije u potencijalnom procesiranju informacija kod (bioloških) kvantno-holografskih neuronskih mreža i kod (veštačkih) kubitnih kvantnih računara.
- 28.22 Razmotriti potencijalnu ulogu svesti/kolektivne svesti u nelokalnom kanalisanju kvantnog kolapsa.
- 28.23 Kakve su reperkusije potrebnih uslova za ostvarenje dekoherencije na definisanje otvorenog kvantnog sistema i njegovog okruženja, i da li je u kontekstu univerzalnog važenja kvantne mehanike svest potencijalno relativni ili absolutni koncept?
- 28.24 Kakva je potencijalna reperkusija kvantne teorije dekoherencije i univerzalnog važenja kvantne mehanike na (Šredingerovsku) vremensku evoluciju kompozitnog kvantnog stanja kosmosa kao celine, a kakva na njegova parcijalna kvantna stanja „polja“ kolektivne kosmičke svesti i komplementarnog „čestičnog“ kosmičkog okruženja?

## **28.4 LITERATURA**

1. Grupa autora, *Anti-stres holistički priručnik: sa osnovama akupunkture, mikrotalasne rezonantne terapije, relaksacione masaže, aerojonoterapije, autogenog treninga i svesti* (IASC, Beograd, 1999); [www.iasc-bg.org.yu](http://www.iasc-bg.org.yu).
2. D. Raković, Kvantne i klasične neuronske mreže i integrativna medicina: psihosomatsko/kognitivne i religijsko/društvene implikacije, *Integrativna medicina '06*, Beograd, 5–7 maj 2006, Plenarno predavanje (Preprint); D. Raković, Scientific bases of quantum-holographic paradigm, in: I. Kononeko (ed), *Proc. Int. Conf. Measuring Energy Fields*, Kamnik, Slovenia, 13–14 Oct. 2007, Invited lecture.

3. D. Raković, *Osnovi biofizike* 2. izd. (Grosknjiga, Beograd, 1995) & 3. izd. (IASC & IE-FPG, Beograd, 2008) Gl. 2, 5–7; D. Raković, *Integrativna biofizika, kvantna medicina i kvantno holografska informatika: psihosomatsko-kognitivne implikacije* (IASC & IEFPG, Beograd, 2008).
4. K. R. Popper, J. C. Eccles, *The Self and Its Brain* (Springer, Berlin, 1977), Chs. E2,3.
5. B. J. Baars, *A Cognitive Theory of Consciousness* (Cambridge Univ. Press, Cambridge, MA, 1988).
6. F. Crick, *The Astonishing Hypothesis: The Scientific Search for the Soul* (Charles Scribner's Sons, New York, 1994).
7. D. Raković, Dj. Koruga (eds.), *Svest: naučni izazov 21. veka* (ECPD & Čigoja, Beograd, 1996).
8. J. J. Hopfield, Neural networks and physical systems with emergent collective computational abilities, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79 (1982) 2554–2558.
9. D. Amit, *Modeling Brain Functions: The World of Attractor Neural Nets* (Cambridge Univ. Press, Cambridge, MA, 1989).
10. H. Haken, *Synergetic Computers and Cognition, A top-Down Approach to Neural Nets* (Springer, Berlin, 1991).
11. J. G. Sutherland, Holographic model of memory, learning and expression, *Int. J. Neural Sys.* 1 (1990) 256–267.
12. T. Kohonen, *Self-Organization and Associative Memory* (Springer, Berlin, 1984).
13. M. Peruš, Neuro-quantum parallelism in mind-brain and computers, *Informatica* 20 (1996) 173–183; M. Peruš, Multi-level synergetic computation in brain, *Nonlinear Phenomena in Complex Systems* 4 (2001) 157–193.
14. S. R. Hameroff, Quantum coherence in microtubules: a neural basis for emergent consciousness?, *J. Consciousn. Stud.* 1 (1994) 91–118.
15. Dj. Koruga, Informaciona fizika: u potrazi za naučnim osnovama svesti, u knjizi D. Raković, Dj. Koruga (eds.), *Svest: naučni izazov 21. veka* (ECPD, Beograd, 1996).
16. M. Peruš, S. K. Dey, Quantum systems can realize content-addressable associative memory, *Appl. Math. Lett.* 13 (2000) 31–36; C. K. Loo, M. Peruš, H. Bischof, Simulated quantum-optical object recognition from high-resolution images, *Optics and Spectroscopy* 99(2) (2005) 218–223. Ovako ubedljive demonstracije modelne primene kvantno-holografskih Hopfieldovih neuronskih mreža za superiorno prepoznavanje oblika, ukazuju da se *kvantno-holografski informacioni zakoni* pojavljuju kao *strukturno-invarijantne karakteristike svakog kvantnog sistema*.
17. D. Giulini, E. Joos, C. Kiefer, J. Kupsch, I. -O. Stamatescu, H. D. Zeh, *Decoherence and the Appearance of a Classical World in Quantum Theory* (Springer, Berlin, 1996); M. Dugić, *Dekoherenca u klasičnom limitu kvantne mehanike*, *SFIN* XVII(2) (Institut za fiziku, Beograd, 2004).
18. J. von Neumann, *Mathematical Foundations of Quantum Mechanics* (Princeton Univ. Press, Princeton, NJ, 1955).
19. H. P. Stapp, Quantum theory and the role of mind in nature, *Found. Phys.* 31 (2001) 1465–1499; H. Stapp, *Mind, Matter, and Quantum Mechanics* (Springer, New York & Berlin, 1993).

20. D. Raković, Moždani talasi, neuronske mreže, i jonske strukture: biofizički model izmenjenih stanja svesti, u knjizi D. Raković, Dj. Koruga (eds), *Svest: naučni izazov 21. veka* (ECPD & Čigoja, Beograd, 1996); D. Raković, Prospects for conscious brain-like computers: Biophysical arguments, *Informatica (Special Issue on Consciousness as Informational Phenomenalism)* 21 (1997) 507–516; D. Raković, Transitional states of consciousness as a biophysical basis of transpersonal transcendental phenomena, *Int. J. Appl. Sci. & Computat.* 7 (2000) 174–187 (also presented at *Int. Conf. Consciousness in Science & Philosophy*, Nov. 1998, Charleston, IL, USA).
21. C. Tart (ed.), *Altered States of Consciousness* (Academic, New York, 1972).
22. A. Shimony, in: R. Penrose, A. Shimony, N. Cartwright, S. Hawking (eds.), *The Large, the Small and the Human Mind* (Cambridge Univ. Press, Cambridge, 1995).
23. N. P. Zalyubovskaya, *An Estimation of Effects of Millimetre and Submillimetre Microwaves upon Various Biological Objects*, M.S. Thesis in Biological Sciences (Kharkov State University, 1970), in Russian; N. D. Devyatkov, Influence of the millimetre wavelength range electromagnetic radiation upon biological objects, *Soviet Physics – Uspekhi* 110 (1973) 452–469; N. D. Devyatkov, O. Betskii (eds.), *Biological Aspects of Low Intensity Millimetre Waves* (Seven Plus, Moscow, 1994).
24. Ye. A. Andreyev, M. U. Bely, S. P. Sit'ko, *Manifestation of characteristic eigenfrequencies of human organism*, Application for the Discovery to the Committee of Inventions and Discovery at the Council of Ministers of the USSR, No. 32-OT-10609, 22 May 1982, in Russian; S. P. Sit'ko, Ye. A. Andreyev, I. S. Dobronravova, The whole as a result of self-organization, *J. Biol. Phys.* 16 (1988) 71–73; S. P. Sit'ko, V. V. Gzhko, Towards a quantum physics of the living state, *J. Biol. Phys.* 18 (1991) 1–10; S. P. Sit'ko, L. N. Mkrtchian, *Introduction to Quantum Medicine* (Pattern, Kiev, 1994).
25. M. Tegmark, Importance of quantum decoherence in brain processes, *Phys. Rev. E* 61 (2000) 4194–4206.
26. Z. Jovanović-Ignjatić, D. Raković, A review of current research in microwave resonance therapy: Novel opportunities in medical treatment, *Acup. & Electro-Therap. Res., The Int. J.* 24 (1999) 105–125; D. Raković, Z. Jovanović-Ignjatić, D. Radenović, M. Tomašević, E. Jovanov, V. Radivojević, Ž. Martinović, P. Šuković, M. Car, L. Škarić, An overview of microwave resonance therapy and EEG correlates of microwave resonance relaxation and other consciousness altering techniques, *Electro- and Magnetobiology* 19 (2000) 193–220 (also presented at *10th Int. Montreux Congress on Stress*, Feb. 1999, Montreux, Switzerland); Grupa autora, *Anti-stres holistički priručnik: sa osnovama akupunkture, mikrotalasne rezonantne terapije, relaksacione masaže, aerojonoterapije, autogenog treninga i svesti* (IASC, Beograd, 1999), Od. 1.4 i Gl. 6.
27. H. Frohlich, Long-range coherence and energy storage in biological system, *Int. J. Quantum Chem.* 2 (1968) 641; H. Frohlich, Theoretical physics and biology, in H. Frohlich (ed.), *Biological Coherence and Response to External Stimuli* (Springer, New York, 1991).
28. S.E. Li, V.F. Mashansky, A.S. Mirkin, Niskochastotnie volnovie processi v biosistemah, v *Vibracionnaya biomehanika. Ispolzovanie vibracii v biologii i medicine*, Chast I: *Teoreticheskie osnovi vibracionnoy biomehaniki*, K.V. Frolov, ed. (Nauka, Moskva, 1989), Gl. 3; D. Đorđević, *Elektrofiziološka istraživanja mehanizama refleksoterapije*, Magistarska teza (Medicinski fakultet, Beograd, 1995), Gl. 1.2 i tamošnje reference; Grupa autora, *Anti-stres holistički priručnik: sa osnovama akupunktura, mikrotalasne rezonantne terapije i svesti* (IASC, Beograd, 1999), Od. 1.4 i Gl. 6.

- pije, relaksacione masaže, aerojonoterapije, autogenog treninga i svesti* (IASC, Beograd, 1999), Gl. 2.
29. E.R. Kandel, S.A. Siegelbaum, J.H. Schwartz, Synaptic transmission, in *Principles of Neural Science*, E.R. Kandel, J.H. Schwartz, T.M. Jessell, eds. (Elsevier, New York, 1991), Ch. 9; M.V.L. Benett, L.C. Barrio, T.A. Bargiello, D.C. Spray, E. Hertzberg, J.C. Ssez, Gap junctions: New tools, new answers, new questions, *Neuron* 6 (1991) 305–320.
  30. D. Raković, Biofizičke osnove i granice (kvantno)holističke psihosomatike, u knjizi V. Jerotić, Dj. Koruga, D. Raković (eds.), *Nauka – religija – društvo* (Bogoslovski fakultet SPC & Ministarstvo vera Republike Srbije, Beograd, 2002); D. Raković, Hopfield-like quantum associative neural networks and (quantum)holistic psychosomatic implications, in B. Reljin, S. Stanković (eds.), *Proc. NEUREL-2002*, Sept. 2002, IEEE Yugoslavia Section, Belgrade; D. Raković, M. Dugić, Quantum and classical neural networks for modeling two modes of consciousness: Cognitive implications, in B. Reljin, S. Stanković (eds.), *Proc. NEUREL-2004*, Sept. 2004, IEEE Yugoslavia Section, Belgrade; D. Raković, M. Dugić, M. M. Ćirković, Macroscopic quantum effects in biophysics and consciousness, *NeuroQuantology* ([www.NeuroQuantology.com](http://www.NeuroQuantology.com)) 2(4) (2004) 237–262.
  31. S. Petrović, *Tibetanska medicina* (Narodna knjiga – Alfa, Beograd, 2000). O savremenim globalnim holističkim iskustvima sličnog tipa, v. knjigu S. N. Lazarev, *Dijagnostika karme (knjiga prva). Sistem samoregulacije polja* (DI Konstanta, Beograd, 1995), prema kojoj karmu treba pre tumačiti kao psihosomatska opterećenja koja se prenose transpersonalno između bližnjih i neprijatelja, slično hrišćanskom konceptu greha
  32. R. J. Callahan, J. Callahan, *Thought Field Therapy and Trauma: Treatment and Theory* (Indian Wells, CA, 1996); R. J. Callahan, The impact of thought field therapy on heart rate variability (HRV), *J. Clin. Psychol.*, Oct. 2001, [www.interscience.Wiley.com](http://www.interscience.Wiley.com); Ž. Mihajlović Slavinski, *PEAT i neutralizacija praiskonskih polariteta* (Beograd, 2000); D. Raković, Ž. Mihajlović-Slavinski, Meridijanske (psiho)terapije i kvantno-holografska informatika: psihosomatske implikacije, u knjizi S. Jovičić, M. Sovilj (eds), *Govor i jezik: interdisciplinarna istraživanja srpskog jezika*, II (IEFPG, Beograd, 2008).
  33. J. S. Hagelin, Is consciousness the unified field? A field theorist's perspective, *Modern Sci. & Vedic Sci.* 1 (1987) 29–88, and references therein.
  34. J. Vlahos, *Pravoslavna psihoterapija: svetočaščka nauka* (Pravoslavna misionarska škola pri Hramu Sv. Aleksandra Nevskog, Beograd, 1998).
  35. K. Wilber, *The Atman Project* (Quest, Wheaton, IL, 1980).
  36. Park Džae Vu, *Sam svoj Su Đok doktor* (Balkan Su Jok Therapy Center, 2003), prevod sa ruskog originala, 2001.
  37. Pregled ruskih istraživanja o kvantno-holografskom uticaju jezičke komunikacije na ekspresiju genoma dat je u knjigama [P. P. Garajev, *Volnovoy geneticheskiy kod*, Moscow, 1997, in Russian; P. P. Garajev, U. Kämpf, E. A. Leonova, F. Muchamedjarov, G. G. Tertishny, *Fractal Structure in DNA Code and Human Language: Towards a Semiotics of Biogenetic Information*, Dresden, 1999]. O fraktalno-informacionoj sprezi različitim hijerarhijskim nivoa u prirodi v. [M. Rakočević, Univerzalna svest i univerzalni kod, i Dj. Koruga, Informaciona fizika: u potrazi za naučnim osnovama svesti, u knjizi D. Raković, Dj. Koruga (eds.), *Svest: naučni izazov 21. veka* (ECPD & Čigoja, Beograd, 1996); Y. J. Ng, From computation to black holes and space-time foam, *Phys. Rev. Lett.* 86 (2001) 2946–2949]. O fascinantnoj mogućnosti da je istorija civilizacije (kosmičke kolektivne

svesti) preferentno kodirana (kvantno-holografski) Starim Zavetom otkrivenim Mojsiju na planini Sinaju pre 3000 godina, svedoči otkriće 'biblijskog koda' [D. Witztum, E. Rips, Y. Rosenberg, Equidistant letter sequences in The Book of Genesis, *Statistical Science* 9 (1994) 429–438; M. Drosnin, *The Bible Code* (Simon & Schuster, New York, 1997), prevedeno i kod nas; M. Drosnin, *Bible Code II: The Countdown* (Viking Penguin, New York, 2002)] – što ipak ne znači striktnu determinisanost Istorije postojećim stanjem kolektivne svesti, čiji se memorijski atraktori mogu reprogramirati milosrdnom molitvom za druge kroz uklanjanje međuljudskih opterećenja kvantno-holografske Hopfieldove mreže kolektivne svesti – ostavljajući tako prostor za slobodnu volju i utičući na izmenu budućih preferencija [20,27].

38. D. Raković, M. Dugić, M. Plavšić, Biopolymer chain folding and biomolecular recognition: A quantum decoherence theory approach, *Materials Science Forum* 494 (2005) 513–518; D. Raković, M. Dugić, M. Plavšić, I. Čosic, Kvantna teorija dekoherencije i biomolekularno prepoznavanje, u Zborniku *Teorijska i eksperimentalna ispitivanja u nanomaterijalima*, ANU RS, Banja Luka, 2005; D. Raković, M. Dugić, M. Plavšić, G. Keković, I. Čosic, D. Davidović, Quantum decoherence and quantum-holographic information processes: from biomolecules to biosystems, *Materials Science Forum* 518 (2006) 485–490.
39. J. Szentagothai, Downward causation?, *Ann. Rev. Neurosci.* 7 (1984) 1–11; R. W. Sperry, Discussion: Macro- versus micro-determinism, *Philosophy of Science* 53 (1986) 265–270; L. Von Bertalanffy, *General System Theory* (Braziller, New York, 1968); M. D. Mesarović, D. Macko, Y. Takahara, *Theory of Hierarchical Multilevel Systems* (Academic Press, New York, 1970).
40. M. Dugić, On diagonalization of the composite-system observable separability, *Phys. Scripta* 56 (1997) 560–565; M. Dugić, *Doprinos zasnivanju teorije dekoherencije u relativističkoj kvantnoj mehanici*, Doktorska disertacija (Prirodnomatematički fakultet, Kragujevac, 1997).
41. Za dobar pregled osnovnih ideja, problema i literature o kubitnom kvantnom računanju v. M. Dugić, *Osnove kvantne informatike i kvantnog računanja*, E-udžbenik, Prirodnomatematički fakultet, Kragujevac, dok je referentna knjiga u ovoj oblasti M.A. Nielsen, I.L. Chuang, *Quantum Computation and Quantum Information*, Cambridge Univ. Press, Cambridge, 2002.
42. Iako sa stanovišta fon Nojmanove entropije,  $S = -kTr(\hat{\rho}_{S_k}^{(k)} \ln \hat{\rho}_{S_k}^{(k)})$ , prelazi pod uticajem okruženja iz 'mešanog stanja'  $\hat{\rho}_{S_k}^{(k)}(t)$  u 'čisto stanje'  $|\phi^{(k)}(t)\rangle_{S_k}$  izgledaju kao prelazi sa smanjenjem entropije, ipak treba istaći da su  $\hat{\rho}_{S_k}^{(k)}(t)$  tzv. 'redukovana mešana stanja' otvorenog kvantnog (pod)sistema  $S_k$  po stepenima slobode njegovog kvantnog okruženja  $E_k$ , odnosno tzv. 'mešavine druge vrste', pa je u strogom smislu opis stanja (pod) sistema  $S_k$  'redukovanim statističkim operatorom'  $\hat{\rho}_{S_k}^{(k)}(t)$  više matematička pogodnost nego fizički opis (jer se u okviru kvantne teorije dekoherencije strogo može definisati samo stanje ukupnog zatvorenog kvantnog sistema  $S_k + E_k$ , na koje se može egzaktno primeniti Šredingerova jednačina!) [17,40,41]. Osim toga, eksitiranje bioloških sistema daleko od ravnoteže može saglasno Prigožinovoj teoremi dovesti i do smanjenja entropije u otvorenim neravnotežnim sistemima [3]!
43. D. Raković, M. Dugić, Kvantne i klasične neuronske mreže: implikacije za modeliranje psihosomatskih i kognitivnih funkcija, u knjizi S. T. Jovičić, M. Sovilj (eds.), *Govor i jezik:*

- interdisciplinarna istraživanja srpskog jezika I* (IEFPG, Beograd, 2004); D. Raković, M. Dugić, Quantum-holographic and classical Hopfield-like associative nnets: Implications for modeling two cognitive modes of consciousness, *Opticheskii J.* 72(5) (2005) 13–18 (*Special Issue on Topical Meeting on Optoinformatics “Optics Meets Onmuka”*, 18–21 Oct. 2004, Saint-Petersburg, Russia).
44. D. Raković, M. Dugić, M. Plavšić, The polymer conformational transitions: A quantum decoherence theory approach, *Materials Science Forum* 453–454 (2004) 521–528; M. Dugić, D. Raković, M. Plavšić, The polymer conformational stability and transitions: A quantum decoherence theory approach, in A. Spasić, J-P. Hsu (eds.), *Finely Dispersed Particles: Micro-, Nano-, and Atto-Engineering* (CRC Press, New York, 2005), Ch. 9; J. Jeknić, M. Dugić, D. Raković, A unified decoherence-based model of microparticles in a solution, *Materials Science Forum* 555 (2007) 405–410.
  45. L. A. Gribov, *Ot teorii spektrov k teorii himicheskikh prevraschenii* (URSS, Moskva, 2001).
  46. B. Levinthal, Are there pathways for protein folding?, *J. Chem. Phys.* 65 (1968) 44–45.
  47. I. Cosic, *The Resonant Recognition Model of Macromolecular Bioactivity: Theory and Applications* (Birkhauser Verlag, Basel, 1997); I. Cosic, Macromolecular bioactivity: Is it resonant interaction between macromolecules? – Theory and applications, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 41(12) (1994) 1101–1114; I. Cosic, Virtual spectroscopy for fun and profit, *Bio/Technol.* 13(3) (1995) 236–238; E. Pirogova, M. Akay, I. Cosic, Investigation of the structural and functional relationships of oncogene proteins, *Proc. IEEE* 90(12) (2002) 1859–1867; i tamošnje reference.
  48. V. Veljkovic, *A Theoretical Approach to Preselection of Cancerogens and Chemical Carcinogenesis* (Gordon & Breach, New York, 1980); I. Veljkovic, M. Slavic, General model of pseudopotentials, *Phys. Rev. Lett.* 29 (1972) 105–108.
  49. T. M. A. Fink, R. C. Ball, How many conformations can a protein remember?, *Phys. Rev. Lett.* 87(19) (2001) 198103.
  50. A. L. Fetter, J. D. Walecka, *Quantum Theory of Many-Particle Systems* (McGraw-Hill, New York, 1971).
  51. G. Keković, D. Raković, M. Satarić, Dj. Koruga, A kink-soliton model of charge transport through microtubular cytoskeleton, *Materials Science Forum* 494 (2005) 507–512; G. Keković, D. Raković, D. Davidović, Relevance of polaron/soliton-like transport mechanisms in cascade resonant isomeric transitions of Q1D-molecular chains, *Materials Science Forum* 555 (2007) 119–124.
  52. M. Dugić, M. M. Ćirković, D. Raković, On a possible physical metatheory of consciousness, *Open Systems and Information Dynamics* 9 (2002) 153–166.
  53. R. J. Jahn, B. J. Dunne, *Margins of Reality* (Harcourt Brace, New York, 1988); i mnoge arhivske publikacije i tehnička saopštenja PEAR (Princeton Engineering Anomalies Research), [www.princeton.edu/~pear](http://www.princeton.edu/~pear); R. G. Jahn, The persistent paradox of psychic phenomena: an engineering perspective, *Proc. IEEE* 70 (1982) 136–170; M. Talbot, *Holografski univerzum* (Artist, Beograd, 2006), prevod sa engleskog originala.
  54. R. Penrose, *The Emperor’s New Mind* (Oxford Univ. Press, New York, 1989); R. Penrose, *Shadows of the Mind: A Search for the Missing Science of Consciousness* (Oxford Univ. Press, Oxford, England, 1994).

55. M. S. Morris, K. S. Thorne, U. Yurtsever, Wormholes, time machines, and the weak energy condition, *Phys. Rev. Lett.* 61 (1988) 1446–1449; K. S. Thorne, *Black Holes and Time Warps: Einstein's Outrageous Legacy* (Picador, London, 1994).
56. R. A. Moody, jr., *Life after Life* (Bantam, New York, 1975), prevedeno i kod nas; A. Liptay-Wagner, Differential diagnosis of the near-death experience: which illness cannot be considered as NDE?, *Proc. 6th Int. Multi-Conf. Information Society IS'2003, Mind-Body Studies*, Oct. 2003, IS, Ljubljana; P. van Lommel, R. van Wees, V. Meyers, I. Elfferich, Near-death experience in survivors of cardiac arrest: prospective study in the Netherlands, *The Lancet*, 15. Dec. 2001; [www.revital.negral.hu](http://www.revital.negral.hu).
57. Čuda na grobu Gospodnjem (Pravoslavna misionarska škola pri Hramu Sv. Aleksandra Nevskog, Beograd, 1998), prevod sa ruskog originala; S. Milenković, Molitva između nauke i religije, u knjizi V. Jerotić, Dj. Koruga, D. Raković (eds.), *Nauka – religija – društvo* (Bogoslovski fakultet SPC & Ministarstvo vera Republike Srbije, Beograd, 2002); L. Dossey, *Healing Words: The Power of Prayer and The Practice of Medicine* (Harper Paperbacks, New York, 1993); <http://www.dukenews.duke.edu> 1998, 9 Nov., News, Medical Center News Office, Duke University, NC, USA.
58. V. P. Kaznacheev, A. V. Trofimov, *Cosmic Consciousness of Humanity* (Elendis-Progress, Tomsk, 1992); W. A. Tiller, W. E. Dibble, Jr., M. J. Kohane, Exploring robust interactions between human intention and inanimate/animate systems, *Int. Conf. Toward a Science of Consciousness – Fundamental Approaches*, May 1999, UN Univ., Tokyo, Japan; M. A. Persinger, E. W. Tsang, J. N. Booth, S. A. Koren, Enhanced power within prediction narrow band of theta activity during stimulation of another by circum-cerebral weak magnetic fields after weekly spatial proximity: Evidence for macroscopic quantum entanglement? *NeuroQuantology* ([www.NeuroQuantology.com](http://www.NeuroQuantology.com)) 6(1) (2008) 7-21.

---

## ZADACI SA REŠENJIMA<sup>1</sup>

### 10. PROSTORNA STRUKTURA

**10.1** Odrediti konstantu rešetke  $a$  i poluprečnik atoma Al, ako se zna atomska masa aluminijuma ( $A_{\text{Al}}=26,98$ ), specifična gustina ( $\rho_{\text{Al}}=2,70 \text{ g/cm}^3$ ), i Avogadrov broj ( $N_{\text{Av}}=6,023 \cdot 10^{23} \text{ atoma/mol}$ ). Aluminijum kristališe po površinskim centriranoj kubičnoj kristalnoj rešetki.

**Rešenje:**

Zapremina jednog gram-mola Al je:

$$V_{\text{mol}}^{\text{Al}} = \frac{A_{\text{Al}}[\text{g}]}{\rho_{\text{Al}}[\text{g}/\text{cm}^3]} = \frac{26,98\text{g}}{2,70\text{g}/\text{cm}^3} = 9,99\text{cm}^3.$$

Po jednom atomu Al otpada zapremina  $V_{\text{mol}}^{\text{Al}}/N_{\text{Av}}$ , a pošto u elementarnoj čeliči aluminijuma (PCKR) ima 4 atoma Al (sa po 1/8 osam atoma u rogljevima kocke, i sa po 1/6 šest atoma u preseku dijagonala strana kocke), to je:

$$a^3 = 4 \frac{V_{\text{mol}}^{\text{Al}}}{N_{\text{Al}}} = 4 \frac{9,99\text{cm}^3}{6,023 \cdot 10^{23}} \approx 6,63 \cdot 10^{-23}\text{cm},$$

odakle je parametar rešetke

$$a \approx 4,05 \cdot 10^{-10}\text{m} \approx 0,405 \text{ nm}.$$

Pošto se u PCKR rešetki susedni atomi dodiruju duž dijagonale kvadrata, to je poluprečnik atoma aluminijuma

$$r = \frac{a\sqrt{2}}{4} \approx 0,143\text{nm}$$

---

<sup>1</sup>Ovo poglavlje napisali su Dejan Raković i Dejan Veljković.

**10.2** Odrediti parametar rešetke  $a$ , atomski poluprečnik  $r$ , kao i relativnu gustinu pakovanja za kristal silicijuma (Si). Silicijum kristališe po dijamantskoj kristalnoj rešetki, a poznati su i atomska masa silicijuma  $A_{\text{Si}}=28,09$ , specifična gustina  $\rho_{\text{Si}}=2330 \text{ kg/cm}^3$  i Avogadrovo broj  $N_{\text{Av}}=6,023 \times 10^{23}$  atoma/mol.

### REŠENJE:

Na Sl. 10.5(b) prikazana je dijamantska kristalna rešetka, koja se može predstaviti kao superpozicija dve površinskim centrirane kubične kristalne rešetke (PCKR), pomerene jedna u odnosu na drugu duž diagonale kocke za  $1/4$  te diagonale.

Broj atoma po elementarnoj čeliji je 8, s obzirom da jednoj elementarnoj čeliji pripada sa po  $1/8$  osam atoma u rogljevima kocke (ostalih  $7/8$  pripada susednim elementarnim čelijama koje se dodiruju u roglju sa posmatranom elementarnom čelijom), sa  $1/2$  šest atoma u preseku diagonala strana kocke, i u celini 4 atoma koji potiču od druge PCKR (pomerene duž diagonale kocke za  $1/4$  diagonale):  $8(1/8)+6(1/2)+4=8$ .

Zapremina jednog gram-mola Si je  $V_{\text{mol}}^{\text{Si}} = A_{\text{Si}} / \rho_{\text{Si}}$ . Pošto u jednom molu bilo koje supstance ima Avogadrovo broj molekula, to po jednom atomu Si otpada zapremina  $V_{\text{mol}}^{\text{Si}} / N_{\text{Av}}$ , a imajući u vidu da u elementarnoj čeliji Si ima 8 atoma, to je zapremina te elementarne čelije (u obliku kocke)  $a^3 = 8(A_{\text{Si}} / \rho_{\text{Si}} N_{\text{Av}}) = 160 \times 10^{-30} \text{ m}^3$ . Onda je parametar rešetke Si jednak

$$a = 0,53 \times 10^{-9} \text{ m} = 0,53 \text{ nm.}$$

Pošto se „pomereni“ (za  $1/4$  diagonale kocke) atom dodiruje sa nepomerenim atomima (u rogljevima tetraedra), to mora biti  $2r = a\sqrt{3}/4$ , odnosno poluprečnik atoma Si je  $r=0,12 \text{ nm}$ .

Relativna gustina pakovanja je odnos zauzete i nezauzete zapremine rešetke:

$$\varepsilon = V_z / a^3 = 8(4/3\pi r^3) / a^3 = \frac{\pi\sqrt{3}}{16} \approx 0,34$$

Znači 34% dijamantske kristalne rešetke je zauzeto atomima, dok je ostatak prazan međuatomski prostor – u ovoj aproksimaciji gde su atomi predstavljeni u vidu krutih sfera.

**10.3** Razmotriti analogiju između svojstava polimera podložnih velikim mehaničkim izduženjima (termoplasti, elastomeri) i idealnog gasa. Kakve su posledice toga na prostornu strukturu polimera?

### Rešenje:

Visokoelastičnost polimera (relativnog izduženja i do  $\sim 1000\%$ ) iz klase termoplasta (npr. polietilen) ili elastomera (npr. kaučuk) jedno je od najvažnijih specifičnih svojstava polimera. Polimeri se, kao i ostala elastična tela, pri malim deformacijama potčinjavaju Hukovom zakonu,

$$\sigma = E \frac{\Delta l}{l_0} \equiv E\varepsilon, \quad (1)$$

gde je  $\sigma$  – mehanički napon ( $\sigma \equiv f/S_0$ , gde je  $f$  – sila istezanja polimera, a  $S_0$  – površinski presek polimernog uzorka),  $E$  – Jungov modul (modul elastičnosti) polimera,  $l_0$  – dužina nerastegnutog polimernog uzorka,  $\Delta l$  – promena dužine rastegnutog polimernog uzorka ( $l = l_0 + \Delta l$ ),  $\varepsilon \equiv \Delta l/l_0$  – relativno izduženje polimera ( $\varepsilon[\%]$   $\equiv (\Delta l/l_0) \times 100$  – procentualno relativno izduženje). Za čelik je  $E \sim 0,2$  GPa, dok je za gumu  $E \sim 0,2\text{--}8$  MPa (u zavisnosti od stepena vulkanizacije kaučuka). U tom smislu, visokoelastični polimeri podsećaju na idealni gas!

Za idealni gas važi Klapljronov zakon

$$pV=RT, \quad (2)$$

gde su  $p$ ,  $V$  i  $T$  – pritisak, zapremina i (apsolutna) temperatura gasa, respektivno, a  $R$  – gasna konstanta. Pri izotermnoj ( $T=\text{const}$ ) kompresiji gasa u cilindru, pritisak gasa se poveća za  $dp$ , a zapremina smanji za  $dV$ . Iz (2) diferenciranjem sledi

$$dp = -p \frac{dV}{V} = -p \frac{\Delta l}{l_0}, \quad (3)$$

gde je  $l$  – visina gasnog stuba u cilindru pre dodatne kompresije, a  $\Delta l$  – promena visine gasnog stuba posle kompresije. Izraz (3) je analogan izrazu (1), s tim što ulogu modula elastičnosti  $E$  igra pritisak  $p$ . Dodajmo da atmosferskom pritisku odgovara  $E \sim 0,1$  MPa – veličina istog reda veličine kao modul elastičnosti gume!

Idealni gas se zagreva pri adijabatskoj kompresiji, i analogno se visokoelastični polimer zagreva pri adijabatskom istezanju polimera. To znači da u oba slučaja pri deformaciji dolazi do umanjenja entropije. Naime, rad pri istezanju polimera za dužinu  $dl$  silom  $f$  jednak je

$$fdl = dF = dU - TdS, \quad (4)$$

gde je  $dF$  – promena (Helmholcove) slobodne energije,  $dU$  – promena unutrašnje energije, a  $dS$  – promena entropije u tom procesu. Elastična sila pri izotermnom istezanju polimera jednaka je

$$f = \left( \frac{\partial F}{\partial l} \right)_T = \left( \frac{\partial U}{\partial l} \right)_T - T \left( \frac{\partial S}{\partial l} \right)_T. \quad (5)$$

Eksperiment kod gume pokazuje da je sila  $f$  proporcionalna sa  $T$ , pri čemu prava  $f(T)$  prolazi u blizini koordinatnog početka. Drugim rečima,

$$\left( \frac{\partial U}{\partial l} \right)_T \approx 0, \quad (6)$$

slično tome kao što unutrašnja energija idealnog gasa ne zavisi od zapremine pri konstantnoj temperaturi:

$$\left( \frac{\partial U}{\partial V} \right)_T = 0. \quad (7)$$

Elastična sila u oba slučaja određuje se ne promenom unutrašnje energije – već promenom entropije! Za visokoelastične polimere je

$$f = -T \left( \frac{\partial S}{\partial l} \right)_T \quad (8)$$

(U tome se i ogleda principijelna razlika između visokoelastičnog polimera i čelične opruge, čija je elastičnost određena promenom unutrašnje energije!)

Zašto visokoelastični polimer podseđa na idealan gas? Kod gasa se entropija pri izotermnoj kompresiji smanjuje, jer gas prelazi iz verovatnijeg razređenog stanja u manje verovatno – komprimovano. Idealni gas se sastoji od neinteragujućih molekula gasa. Znači, i visokoelastični polimer se, upršćeno govoreći, sastoji od velikog broja nezavisnih elemenata – karika u lancu polimera – podvrgnutih toplotnom kretanju, ali pri istezanju polimer prelazi u manje verovatno, rastegnuto stanje.

Dakle, ulogu nezavisnih elemenata u visokoelastičnom polimeru igraju delovi lanca (*karike*), koje mogu da obavljaju *nezavisne rotacije* oko kovalentnih  $\sigma$ -veza, što omogućava *konformacionu gipkost* polimera!

**10.4.** Za slučaj da konformacija jedne karike u lancu polimera zavisi od konformacije susednih karika u lancu (slučaj realnog visokoelastičnog polimera), takav polimer se naziva *kooperativni*. Izvesti Kramers-Vanijeov izraz za statističku sumu  $Z$  jednodimenzionog kooperativnog sistema (polimera), čija svaka karika ima  $r$  mogućih konformacija u odnosu na susedne.

#### REŠENJE:

Prema uslovu formulisanog problema, potencijalna energija polimera zavisiće od konformacije dve susedne karike u lancu:

$$U(\Omega_1, \Omega_2, \dots, \Omega_N) = \sum_{i=1}^N U(\Omega_{i-1}, \Omega_i) \quad (1)$$

gde je  $\Omega_i$  – konformacija  $i$ -te karike polimera određena odgovarajućim ugljovima rotacije, a  $N$  – broj karika u polimeru.

Konformaciona statistička suma polimera u odsustvu spoljašnjih sila ima oblik

$$Z = \sum_{\Omega_1} \sum_{\Omega_2} \cdots \sum_{\Omega_N} e^{-\frac{U(\Omega_1, \Omega_2, \dots, \Omega_N)}{kT}}; \quad (2)$$

sumiranje se vrši po  $r$  konformerama svake karike. Zamenom (1) u (2) dobija se

$$Z = \sum_{\Omega_1} \sum_{\Omega_2} \cdots \sum_{\Omega_N} \prod_{i=1}^N e^{-\frac{U(\Omega_{i-1}, \Omega_i)}{kT}} \equiv \sum_{\Omega_1} \sum_{\Omega_2} \cdots \sum_{\Omega_N} \prod_{i=1}^N g(\Omega_{i-1}, \Omega_i) \quad (3)$$

Smatrajući da se polimer sastoji od ponavljajućih jednakih karika, veličine  $g(\Omega_{i-1}, \Omega_i)$  mogu se tretirati kao elementi matrice

$$\mathbf{G} = \begin{pmatrix} g(\Omega^{(1)}, \Omega^{(1)}) & \cdots & g(\Omega^{(1)}, \Omega^{(r)}) \\ \vdots & & \vdots \\ g(\Omega^{(r)}, \Omega^{(1)}) & \cdots & g(\Omega^{(r)}, \Omega^{(r)}) \end{pmatrix} \quad (4)$$

označimo, dalje,

$$g(\Omega_{i-1}^{(m)}, \Omega_i^{(n)}) = G_{\Omega_{i-1}^{(m)}, \Omega_i^{(n)}}.$$

Statistička suma (3) može se prepisati u obliku

$$Z = \sum_{\Omega_1} \sum_{\Omega_2} \cdots \sum_{\Omega_N} G_{\Omega_0 \Omega_1} G_{\Omega_1 \Omega_2} \cdots G_{\Omega_{N-1} \Omega_N}, \quad (5)$$

i po pravilu množenja matrica ( $\Omega_1^{(m)}, \dots, \Omega_{N-1}^{(m)}$  – su „nemi indeksi“, po kojima je obavljeno sumiranje) nalazimo

$$Z = \sum_{\Omega_N} G_{\Omega_0 \Omega_N} \Big|_{\Omega_N = \Omega_0} = \lambda_1^N + \lambda_2^N + \cdots + \lambda_r^N, \quad (6)$$

gde je korišćen uslov cikličnosti ( $\Omega_N = \Omega_0$ ) dugog polimernog lanca ( $N \gg 1$ ), dok su  $\lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_r$  – dijagonalni članovi matrice  $\mathbf{G}$ , koji se za dijagonalizovanu formu matrice  $\mathbf{G}$  svode na njene svojstvene vrednosti! Svi elementi matrice  $\mathbf{G}$  su pozitivni, oda-kle sledi da ona ima maksimalnu svojstvenu vrednost  $\lambda_1$ , koja je realna, pozitivna i nedegenerisana (teorema Frobenijusa). Pri  $N \gg 1$ , tada se (6) svodi na

$$Z \approx \lambda_1^N. \quad (7)$$

Na taj način, izračunavanje *konformacione statističke sume* svodi se na nalaže-nje maksimalnog korena matrice,  $\lambda_1$ ! Dalje, znajući  $Z$  mogu se naći sve *termodinamičke karakteristike polimera*!

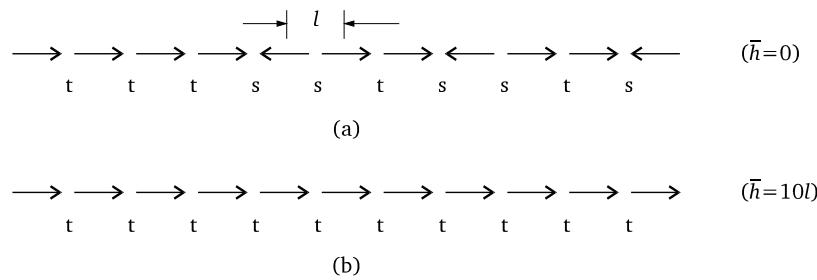
**10.5** Primeniti Kramers-Vanijeov izraz za statističku sumu  $Z$  polimera (v. Zad.10), na slučaj istezanja jednodimenzionog (1D) kooperativnog Izingovog modela silom  $f$  (prelaz lanca iz stanje (a) u stanje (b) na donjoj slici). Smatrati da postoje 2 tipa konformerata: *t*-tip (sa dve susedne paralelne karike ( $\rightarrow\rightarrow$ ), energije  $-E$ ), i *s*-tip (sa dve susedne antiparalelne karike ( $\rightarrow\leftarrow$ ), energije  $E$ ).

#### REŠENJE:

Razlika energija konformerata *s* i *t* jednaka je  $\Delta E = 2E$ . Ovaj uslov može se za-pisati u obliku

$$E_{ij} = \begin{cases} -E\sigma_i\sigma_j & , \quad i = j + 1, \\ 0 & , \quad i \neq j + 1. \end{cases} \quad (1)$$

Tu je  $\sigma_i = 1$  ako je karika (strelica) okrenuta nadesno, a  $\sigma_i = -1$  ako je okrenuta nalevo. Korelacija, saglasno uslovu (1) postoji samo između susednih strelica. Ako de-luje spoljašnja sila  $f$  koja orijentiše strelice udesno (Sl.1(b)), to svaka karika dužine  $l$  dobija dopunsку energiju



SLIKA 1 Šematski prikaz Izingovog 1D-lanca u (a) neuređenom i (b) uređenom stanju.

$$E_f = -lf \cos\varphi = -lf\sigma_i, \quad (2)$$

gde je  $\varphi$  – ugao između smera strelice i spoljašnje sile  $f$ . Pošto se svaka strelica (karika) može nalaziti samo u dva položaja, to će matrica  $\mathbf{G}$  (izraz (4) u Zad. 10.2) biti reda  $r=2$ . Saglasno izrazu (3) iz Zad. 10.4, može se napisati ( $U(\Omega_j, \Omega_{j+1}) = -E\sigma_j\sigma_{j+1} - lf\sigma_j$ )

$$g(\sigma_j, \sigma_{j+1}) = e^{\frac{E}{kT}\sigma_j\sigma_{j+1} + \frac{lf}{kT}\sigma_j}, \quad (3)$$

pa se matrica  $\mathbf{G}$  dobija zamenom vrednosti  $\sigma_j$  i  $\sigma_{j+1}$ , jednakih +1 i -1:

$$\mathbf{G} = \begin{pmatrix} g(1,1) & g(1,-1) \\ g(-1,1) & g(-1,-1) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} e^{a+b} & e^{-a+b} \\ e^{-a-b} & e^{a-b} \end{pmatrix} \quad (4)$$

gde smo uveli oznake  $a \equiv E/kT$  i  $b \equiv lf/kT$ . Svojstvene vrednosti matrice  $\mathbf{G}$  dobijaju se iz jednačine  $|\mathbf{G} - \lambda \mathbf{I}| = 0$ :

$$\begin{vmatrix} e^{a+b} - \lambda & e^{-a+b} \\ e^{-a-b} & e^{a-b} - \lambda \end{vmatrix} = 0. \quad (5)$$

One su jednake

$$\lambda_{1,2} = e^a \operatorname{ch} b \pm \sqrt{e^{2a} \operatorname{sh}^2 b + e^{-2a}}.$$

Pošto je  $\lambda_1 > \lambda_2$ , to je (prema izrazu (7) u Zad. 10.4) statistička suma  $Z$  jednaka

$$Z \approx \lambda_1^N = \left( e^a \operatorname{ch} b + \sqrt{e^{2a} \operatorname{sh}^2 b + e^{-2a}} \right)^N. \quad (6)$$

Korišćenjem dobijenog izraza (6) može se izračunati *srednja dužina lanca*:

$$\bar{h} = kT \frac{\partial \ln Z}{\partial f} = NkT \frac{\partial \ln \lambda_1}{\partial f} = Nl \frac{\operatorname{sh} b}{\sqrt{\operatorname{sh}^2 b + e^{-4a}}}, \quad (7)$$

gde je primjenjen izraz za statističku sumu,  $Z \sim e^{\bar{h}/kT}$ , u kojem je zamenjena potencijalna energija izduženog lanca,  $U \sim -f\bar{h}$ . Mera kooperativnosti je ovde veličina  $a \equiv E/kT = \Delta E/2kT$ .

U odsustvu kooperativnosti ( $a = 0$ ) je

$$\bar{h}' = Nl \operatorname{th} \frac{lf}{kT}, \quad (8)$$

odnosno, pri slobodnoj orijentaciji strelica dužina lanca je utoliko veća ukoliko je veća sila  $f$  i niža temperatura  $T$ .

Za slučaj *velike kooperativnosti* ( $a \gg 1$ ) je

$$\bar{h}'' = N, \quad (9)$$

nezavisno od veličine sile. Lanac je krut i sasvim istegnut. Taj isti rezultat se dobija i pri velikim silama, tj. pri  $fl \gg kT$ .

Vidi se da korelacija, određena pogodnošću paralelnog rasporeda strelica, izduže lanac ( $\bar{h}'' \gg \bar{h}'$ ). S druge strane, u odsustvu sile  $f$  ili pri visokoj temperaturi  $T$ , vidi se da je  $\bar{h}' = 0$ , što je 1D analogon 3D-faznog prelaza *lanac-klupko*!

**10.6** Koristeći Kramers-Vanijeov matrični pristup (v. Zad. 10.4), pokazati da je prelaz  $\alpha$ -spirala-globula kod proteina – kooperativan.

---

#### Rešenje:

Svaka karika proteina može se nalaziti u stanju nevezanom vodoničnim vezama (oznaka  $\mu_i = 0$ ) i stanju vezanom vodoničnim vezama ( $\mu_i = 1$ ). Slobodna energija lanca zavisi od skupa vrednosti  $\mu_i$ , pri čemu su međusobno povezane konformacije četiri uzastopne karike (jer su u  $\alpha$ -spirali proteina obrazovane vodonične veze između C = O grupe date karike i N-H grupe četvrte prethodne karike). Zato je (Gibsova) slobodna energija lanca jednaka

$$G\{\mu_i\} \equiv G(\mu_1, \mu_2, \dots, \mu_N) = \sum_{i=1}^N G(\mu_{i-3}, \mu_{i-2}, \mu_{i-1}, \mu_i) \quad (1)$$

Kao i ranije, smatra se da je lanac polimera veoma dug ( $N \gg 1$ ) i zanemaruju se efekti krajeva lanca (uslov cikličnosti). Dalje, očigledno je da je slobodna energija potrebna za oslobođenje jedne ili dve karike smeštene među vezanim karikama u proteinu veoma velika, pošto ustvari u tom slučaju i nema oslobođenja jer karike ostaju u spirali; zato je moguće uzeti da

$$G(\mu_{i-3}, 1, 0, 1) \rightarrow \infty, \quad G(1, 0, 0, 1) \rightarrow \infty, \quad (2)$$

pa ta stanja praktično i ne daju doprinos u statističkoj sumi

$$Z = \sum_{\{\mu_i\}} e^{-\frac{G\{\mu_i\}}{E}}. \quad (3)$$

Doprinos u statističkoj sumi (3) daće samo stanja tipa  $G(1, 1, 0, 0)$ ,  $G(1, 0, 0, 0)$ ,  $G(0, 1, 0, 0)$  i  $G(0, 0, 0, 0)$ , pa se možemo ograničiti samo na susedne karike i uprostiti izraz (1):

$$G\{\mu_i\} \equiv G(\mu_1, \mu_2, \dots, \mu_N) = \sum_{i=1}^N G(\mu_{i-1}, \mu_i) \quad (4)$$

Pri tome, imaćemo posla samo sa četiri tipa doprinosa:  $G(1,1)$ ,  $G(1,0)$ ,  $G(0,1)$  i  $G(0,0)$ . Dalje, smatraćemo da spiralizacija  $\alpha$ -spirale ide kooperativno od kraja 1 do kraja  $N$ , kao i da je slobodna energija karike u slobodnom stanju ( $\mu_i=0$ ) jednaka nuli – karika se nije “uplela” u lanac:

$$G_{\text{slob}} = G(0,0) = G(1,0) = 0 . \quad (5)$$

Za kariku u vezanom stanju ( $\mu_i=1$ ) je

$$G_{\text{vez}} = G(1,1) = \Delta G . \quad (6)$$

I, na kraju, stanje  $\mu_{i,1} = 0$  i  $\mu_i = 1$  može se tretirati kao sukcesija vezivanja  $\mu_{i,1} = 1$ ,  $\mu_i = 1$  i raskidanja  $\mu_{i,1} = 0$  i  $\mu_i = 1$ , pa je slobodna energija tog stanja

$$G(0,1) = G_{\text{vez}} + G_{\text{rask}} . \quad (7)$$

Veličine (5) – (7), koje ulaze u vidu eksponenata u statističku sumu (3), daju sledeće doprinose toj sumi:  $G_{\text{slob}}$  – daje doprinos 1,  $G_{\text{vez}}$  – množitelj

$$s = e^{-\frac{\Delta G}{kT}} , \quad (8)$$

(koji ima smisao konstante ravnoteže za obrazovanje vodonične veze u karici), a  $G_{\text{rask}}$  – množitelj

$$\sigma = e^{-\frac{G_{\text{rask}}}{kT}} . \quad (9)$$

(koji karakteriše stepen kooperativnosti proteina: maksimalna kooperativnost za  $G_{\text{rask}} \rightarrow \infty$ , kada je  $\sigma = 0$ ; odsustvo kooperativnosti za  $G_{\text{rask}} = 0$ , kada je  $\sigma = 1$ ). Kramers-Vanijeova matrica (v. izraz (4) u Zad. 10.4) biće reda  $r = 2$ , i imaće oblik

$$\mathbf{G} = \begin{pmatrix} g(0,0) & g(0,1) \\ g(1,0) & g(1,1) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & s\sigma \\ 1 & s \end{pmatrix} \quad (10)$$

Svojstvene vrednosti matrice  $\mathbf{G}$  dobijaju se iz jednačine  $|\mathbf{G}-\lambda I| = 0$ , koja se svodi na karakterističnu jednačinu

$$(1 - \lambda)(s - \lambda) - s\sigma = 0 \quad (11)$$

sa svojstvenim vrednostima

$$\lambda_{1,2} = \frac{1+s}{2} \pm \sqrt{\frac{(1-s)^2}{4} + s\sigma} . \quad (12)$$

Tako je statistička suma  $Z$  jednaka (izraz (6) u Zad. 10.4)

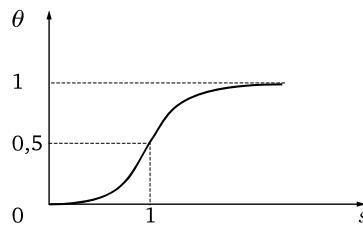
$$Z = \lambda_1^N + \lambda_2^N \approx \lambda_1^N , \quad (13)$$

gde su  $\lambda_1$  i  $\lambda_2$  dati izrazom (12).

Korišćenjem dobijenih izraza (12) i (13), stepen spiralizovanosti lanca ( $\theta$ ) dobija oblik:

$$\theta = \frac{1}{N} \frac{\partial \ln Z}{\partial \ln s} \approx \frac{s^n}{1+s^n}, \quad (14)$$

gde je primjenjen izraz za statističku sumu,  $Z \sim e^{-N\theta\Delta G/kT}$ , u kojem je zamenjena potencijalna energija spiralizovanog lanca,  $U \sim N\theta\Delta G$ , sa stepenom spiralizovanosti u granicama  $0 < \theta < 1$ ; u izrazu (14) je  $0 < n < N$ .



*SLIKA 1 Zavisnost stepena spiralizovanosti ( $\theta$ ) proteinskog lanca od konstante ravnoteže ( $s$ ) za obrazovanje vodonične veze u proteinskoj karici.*

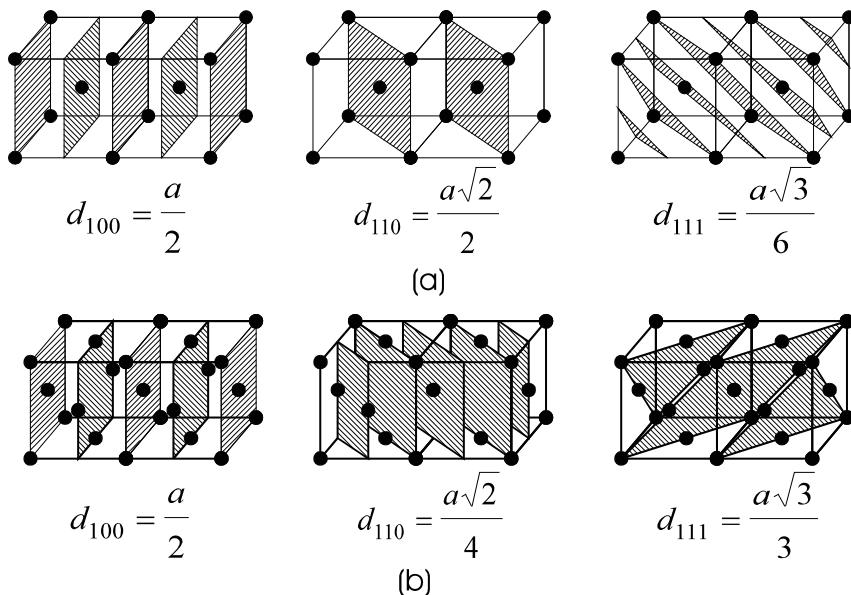
Izraz (14) opisuje kooperativno rastvaranje  $\alpha$ -spirale pri  $s < 1$  (kada je, sa-glasno (8),  $\Delta G \equiv G_{vez} > 0$ , odnosno vezivanje tj. spiralizacija nije energetski pogodno!) ako je  $n \gg 1$  (što doprinosi daljem sklupčavanju proteina u globulu, odnosno faznom prelazu spirala-globula)! Obrnuto, pri  $s > 1$  (tj.  $\Delta G < 0$ ) i  $n \gg 1$  dobija se  $\theta \gg 1$ , odnosno dolazi do spiralizacije proteina! Pri  $s \gg 1$  (tj.  $\Delta G \gg 0$ ) je  $\theta \gg 0,5$ , što odgovara tački faznog prelaza na krivoj  $\theta(s)$  (v. Sl. 1).

## 11. FIZIČKA KARAKTERIZACIJA

**11.1** Mnoštvo paralelnih međusobno jednakih udaljenih atomskih ravni čini skupinu ekvivalentnih atomskih ravni (koje zajedno sadrže sve čvorove kristalne rešetke), klasifikovanih Milerovim indeksima ( $hkl$ ) definisanim preko recipročnih vrednosti odsečaka  $s_1, s_2, s_3$  (merenim u jedinicama parametara elementarne ćelije  $a_1, a_2, a_3$ , koje jedna od atomskih ravni iz svoje skupine odseca na koordinatnim osama  $x, y, z$ ), izraženih preko odnosa tri najmanja cela broja:  $h : k : l = s_1^{-1} : s_2^{-1} : s_3^{-1}$ . Za UCKR i PCKR kristalne rešetke, nacrtati predstavnike skupina ravni označenih Milerovim indeksima (100), (110) i (111), i odrediti odgovarajuća rastojanja između susednih atomskih ravni.

### Rešenje:

Na Sl. 1(a,b) prikazani su predstavnici skupina ravni označenih Milerovim indeksima (100), (110) i (111) za UCKR i PCKR kristalne rešetke, zajedno sa rastojanjima između susednih atomskih ravni.



*SLIKA 1 Rastojanje ravni (100), (110) i (111) kod (a) unutrašnjecentrirane (UCKR) i (b) površinskicentrirane (PCKR) kristalne rešetke.*

Na ovom primeru UCKR i PCKR rešetki, vidi se da su rastojanja kristalnih ravni sa istim Milerovim indeksima različita za različite tipove kristalnih rešetki, što predstavlja osnovu za određivanje tipa i parametara kristalne rešetke ispitivanog materijala – što je ilustrovano u Zad. 11.2.

Osim toga, u Zad. 11.3 je pokazano kako se difrakciona metoda i poznavanje rastojanja odgovarajućih Milerovih ravni može iskoristiti i za određivanje sačinioca linearne termičkog širenja ispitivanog materijala.

**11.2** Merenjem je nađeno, pri ispitivanju difrakcije X-zraka na kristalu NaCl pomoću Bragovog spektrometra, da su u prvom redu refleksije uglovi maksimalnog pojačanja kod tri značajne Milerove ravni (100), (110) i (111), dati vrednostima  $\Theta_{100} = 5,9^\circ$ ,  $\Theta_{110} = 8,4^\circ$  i  $\Theta_{111} = 5,2^\circ$ . Talasna dužina X-zraka kojima je izvršen difrakcioni eksperiment je  $\lambda = 0,06$  nm. Odrediti kako kristališe NaCl i parametar elementarne ćelije NaCl.

#### Rešenje:

Primenom Bragovog zakona ( $n\lambda = 2ds\sin\theta$ ) za prvi red refleksije ( $n = 1$ ), može se napisati sledeći odnos:

$$d_{100} : d_{110} : d_{111} = (\sin\Theta_{100})^{-1} : (\sin\Theta_{110})^{-1} : (\sin\Theta_{111})^{-1} = 1 : 0,705 : 1,14.$$

Taj isti odnos važi kod PCKR rešetke:

$$d_{100} : d_{110} : d_{111} = \left( \frac{a}{2} \right) : \left( \frac{a\sqrt{2}}{4} \right) : \left( \frac{a\sqrt{3}}{3} \right),$$

na osnovu čega se može zaključiti da NaCl kristališe po površinskim centriranoj kubičnoj rešetki.

Korišćenjem Bragovog zakona za slučaj refleksije prvog reda ( $n=1$ ) na jednoj klasi Milerovih kristalnih ravnih, na primer (100),

$$2d_{100} \sin\theta_{100} = \lambda \quad (\text{gde je } d_{100} = a/2),$$

dobija se veličina parametra elementarne celije

$$a = \lambda / \sin\theta_{100} = 0,56 \text{ nm}.$$

**11.3** Na difraktogramu srebra pri temperaturama  $18^\circ\text{C}$  i  $630^\circ\text{C}$  odgovarajuća linija prvog reda pojavila se pri uglovima  $80^\circ 9'$  i  $76^\circ 54'$ . Izračunati sačinilac linearног termičkog širenja srebra.

---

**Rešenje:**

Ako su  $d_1$  i  $d_2$  međuravanska rastojanja datog sistema ravnih pri temperaturama  $t_1$  i  $t_2$ , to iz Bragove formule ( $2d \sin\theta = n\lambda$ ,  $n = 1$ ) imamo:

$$d_1 = \frac{\lambda}{2 \sin\theta_1}, \quad d_2 = \frac{\lambda}{2 \sin\theta_2}.$$

Po definiciji, sačinilac linearног termičkog širenja je

$$\alpha = \frac{\Delta d}{d \Delta t} = \frac{d_2 - d_1}{d_1 (t_2 - t_1)}.$$

Zamenom  $d_1$  i  $d_2$  u izraz za  $\alpha$ , dobija se

$$\alpha = \frac{\frac{\lambda}{2} \left( \frac{1}{\sin\theta_2} - \frac{1}{\sin\theta_1} \right)}{\frac{\lambda}{2 \sin\theta_1} (t_2 - t_1)} = \frac{\sin\theta_1 - \sin\theta_2}{\sin\theta_2 \cdot (t_2 - t_1)},$$

odakle je

$$\alpha \approx 18,9 \cdot 10^{-6} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}.$$

**11.4** Koje Milerove ravni ( $hkl$ ) UCKR kristalne rešetke ne daju refleksije na retengramu?

---

**Rešenje:**

Prostornocentrirana kubična rešetka može se posmatrati kao složena kubična rešetka sa monoatomskim bazisom od 2 atoma sa koordinatama  $(0,0,0)$  i  $(1/2, 1/2, 1/2)$ , mereno u parametrima kristalne rešetke  $a$ . Predstavljajući vektore položaja bazisnih atoma u obliku

$$d_i = u_i a_1 + v_i a_2 + w_i a_3, \quad (i = 1, 2),$$

a vektor translacije u recipročnom prostoru kao

$$K = hA_1 + kA_2 + lA_3,$$

izraz za tzv. strukturnu amplitudu dobija oblik

$$S_{K_{hkl}} = f_0 \sum_{i=1}^2 e^{iKd_i} = f_0 \sum_{i=1}^2 e^{i2\pi(hu_i + kv_i + lw_i)},$$

gde je korišćena relacija ortogonalnosti između primitivnih vektora direktne (Braveove) i recipročne rešetke (imajući u vidu izraz (9) u Zad. 11.5):

$$A_i \cdot a_j = 2\pi\delta_{ij} \quad (i,j = 1,2,3).$$

Zamenom koordinata dvaju atoma u bazisu, dobija se

$$S_{K_{hkl}} = f_0 \left[ 1 + e^{i\pi(h+k+l)} \right] = f_0 \{ 1 + \cos\pi(h+k+l) + i\sin\pi(h+k+l) \}.$$

Pošto je  $h + k + l$  uvek ceo broj, to je  $\sin[\pi(h + k + l)] = 0$ , pa će strukturna amplituda biti nula kada je

$$\cos[\pi(h + k + l)] = -1,$$

a to važi pri

$$h + k + l = 2n + 1, \quad (n - \text{ceo broj}).$$

**11.5** Izvesti izraz za primitivne vektore recipročne rešetke, ako su poznati odgovarajući vektori direktne (Braveove) rešetke.

#### Rešenje:

Ako se svaki čvor Braveove rešetke može dosegnuti pomoću vektora translacije

$$R = n_1 a_1 + n_2 a_2 + n_3 a_3 = \sum_{i=1}^3 n_i a_i \quad (n_i = 0, \pm 1, \pm 2, \dots) \quad (1)$$

onda se  $a_i$  ( $i = 1,2,3$ ) nazivaju *primitivnim* vektorima direktne rešetke. Ovi vektori definišu *primitivnu celiju* kristalne rešetke (direktnog prostora), pridruženu samo *jednom* čvoru rešetke. Ceo prostor ispunjen rešetkom može se reprodukovati beskonačnim ponavljanjem primitivnih celija, čija je zapremina

$$V_0 = a_1(a_2 \times a_3) = [a_1 a_2 a_3].$$

Translaciona simetrija rešetke nameće *periodičan* vid mnogim fizičkim veličinama koje opisuju kristalnu strukturu. Jedna od takvih veličina je potencijalna energija kristalne rešetke:

$$V(r) = V(r + R) \quad (\text{za } \forall R), \quad (2)$$

gde je  $R$  dato izrazom (1). Razvojem u Furijeov red:

$$V(r+R) = \sum_K V_K e^{iK(r+R)} \text{ (za } \forall R\text{)}, \quad (3)$$

uz korišćenje uslova (2), dobija se da vektori  $\mathbf{K}$  moraju zadovoljavati jednačinu (za  $\forall \mathbf{K}$ )  $e^{iKR} = 1$ , odnosno

$$\mathbf{K}R = \sum_{i=1}^3 n_i \mathbf{K} \mathbf{a}_i = 2\pi m \quad (m = 0, \pm 1, \pm 2, \dots),$$

za sve celobrojne vrednosti  $n_1, n_2$  i  $n_3$ . Ovo je jedino moguće samo kada je

$$\mathbf{K} \mathbf{a}_i = 2\pi m_i \quad (i = 1, 2, 3; m_i = 0, \pm 1, \pm 2, \dots). \quad (4)$$

Jednačina (4), koja se svodi na tri skalarne jednačine u potpunosti određuje vektore  $\mathbf{K}$ .

Predstavimo vektor  $\mathbf{K}$  razlaganjem po tri nekomplanarna vektora  $\mathbf{a}_2 \times \mathbf{a}_3, \mathbf{a}_3 \times \mathbf{a}_1, \mathbf{a}_1 \times \mathbf{a}_2$ , normalna na odgovarajuće primitivne vektore  $\mathbf{a}_1, \mathbf{a}_2, \mathbf{a}_3$ :

$$K = \alpha_1(\mathbf{a}_2 \times \mathbf{a}_3) + \alpha_2(\mathbf{a}_3 \times \mathbf{a}_1) + \alpha_3(\mathbf{a}_1 \times \mathbf{a}_2). \quad (5)$$

Skalarnim množenjem jednačine (5) primitivnim vektorima  $\mathbf{a}_i$  ( $i = 1, 2, 3$ ) dobija se

$$K \mathbf{a}_i = \alpha_i [\mathbf{a}_1 \mathbf{a}_2 \mathbf{a}_3] = 2\pi m_i \quad (6)$$

gde je korišćena osobina mešovitog proizvoda:

$$\mathbf{a}_1(\mathbf{a}_2 \times \mathbf{a}_3) = \mathbf{a}_2(\mathbf{a}_3 \times \mathbf{a}_1) = \mathbf{a}_3(\mathbf{a}_1 \times \mathbf{a}_2) \equiv [\mathbf{a}_1 \mathbf{a}_2 \mathbf{a}_3],$$

kao i jednačina (4). Iz jednačine (6) dobijaju se koeficijenti  $\alpha_i$ :

$$\alpha_i = \frac{2\pi}{[\mathbf{a}_1 \mathbf{a}_2 \mathbf{a}_3]} m_i \quad (i = 1, 2, 3), \quad (7)$$

pa izraz za vektor  $K$  postaje

$$K = m_1 \mathbf{A}_1 + m_2 \mathbf{A}_2 + m_3 \mathbf{A}_3 = \sum_{i=1}^3 m_i \mathbf{A}_i \quad (m_i = 0, \pm 1, \pm 2, \dots) \quad (8)$$

gde su uvedeni novi vektori  $\mathbf{A}_i$  ( $i = 1, 2, 3$ ):

$$\begin{aligned} \mathbf{A}_1 &= 2\pi \frac{\mathbf{a}_2 \times \mathbf{a}_3}{[\mathbf{a}_1 \mathbf{a}_2 \mathbf{a}_3]} = \frac{2\pi}{V_0} (\mathbf{a}_2 \times \mathbf{a}_3) \\ \mathbf{A}_2 &= 2\pi \frac{\mathbf{a}_3 \times \mathbf{a}_1}{[\mathbf{a}_1 \mathbf{a}_2 \mathbf{a}_3]} = \frac{2\pi}{V_0} (\mathbf{a}_3 \times \mathbf{a}_1), \\ \mathbf{A}_3 &= 2\pi \frac{\mathbf{a}_1 \times \mathbf{a}_2}{[\mathbf{a}_1 \mathbf{a}_2 \mathbf{a}_3]} = \frac{2\pi}{V_0} (\mathbf{a}_1 \times \mathbf{a}_2) . \end{aligned} \quad (9)$$

Vektori  $\mathbf{A}$  i  $\mathbf{K}$  dimenziono predstavljaju recipročnu dužinu [ $l^{-1}$ ] pa se vektori  $\mathbf{A}_i$  ( $i = 1, 2, 3$ ) definišu kao primitivni vektori u novom, *recipročnom* prostoru,

u kome vektor  $\mathbf{K}$  predstavlja *vektor translacije* (v. jednačinu (8)), koji doseže svaki čvor recipročne rešetke. Paralelopiped formiran na vektorima  $\mathbf{A}_i$  ( $i = 1, 2, 3$ ), naziva se *primitivnom celijom recipročne rešetke*.

**11.6** Pokazati da primitivna celija u recipročnom prostoru određuje tzv. prvu Briulenovu zonu.

**Rešenje:**

Talasna funkcija elektrona u kristalnoj rešetki ima oblik Blohovih funkcija,

$$\Psi_{\mathbf{k}}(\mathbf{r}) = e^{i\mathbf{k}\mathbf{r}} u_{\mathbf{k}}(\mathbf{r}), \quad (1)$$

gde je  $u_{\mathbf{k}}(\mathbf{r})$  periodična funkcija s periodom rešetke:

$$u_{\mathbf{k}}(\mathbf{r}) = u_{\mathbf{k}}(\mathbf{r} + \mathbf{R}), \quad (2)$$

odakle sledi da je elektronska gustina  $|\Psi_{\mathbf{k}}(\mathbf{r})|^2 = |\Psi_{\mathbf{k}}(\mathbf{r} + \mathbf{R})|^2$  periodična funkcija u kristalu. Jednačina (1) pokazuje da je talasna funkcija elektrona koji se kreće u periodičnom električnom polju kristala *modulisani ravanski talas*. Vektor  $\mathbf{k}$  naziva se *kvazitalasnim* vektorom, jer je *nejednoznačno* određen. Naime, kombinujući jednačine (1) i (2) dobijamo:

$$\Psi_{\mathbf{k}}(\mathbf{r} + \mathbf{R}) = e^{i\mathbf{k}\mathbf{R}} \Psi_{\mathbf{k}}(\mathbf{r}), \quad (3)$$

pa ako izvršimo smenu  $\mathbf{k} \rightarrow \mathbf{k} + \mathbf{K}$ , gde je  $\mathbf{K}$  vektor translacije recipročne rešetke (jednačina (8) u prethodnom zadatku), vidimo da talasna funkcija elektrona (jednačina (3)) ostaje neizmenjena (pošto je  $e^{i\mathbf{K}\mathbf{R}} = 1$ , iz uslova periodičnosti kristala). To znači da su fizički neekvivalentne vrednosti kvazitalasnog vektora određene unutrašnjošću primitivne celije recipročne rešetke:

$$\mathbf{k} = q_1 \mathbf{A}_1 + q_2 \mathbf{A}_2 + q_3 \mathbf{A}_3 \quad (0 \leq q_i \leq 1, \quad i = 1, 2, 3),$$

dok su sve ostale tačke  $\mathbf{k} \rightarrow \mathbf{k} + \mathbf{K}$  recipročnog prostora fizički ekvivalentne. Pošto prva Briulenova zona obuhvata samo vrhove fizički neekvivalentnih vrednosti talasnog vektora  $\mathbf{k}$ , vidi se da je ona određena primitivnom celijom u recipročnom prostoru.

U jednodimenzionom slučaju primitivni vektor recipročne rešetke je intenziteta  $|A| = 2\pi/a$  ( $a$  – period jednodimenzione rešetke), pa su stanja elektrona sa vrednostima talasnog broja  $k$  i  $k' = k + n \cdot (2\pi/a)$  ( $n = 0, \pm 1, \pm 2, \dots$ ), fizički nerazličiva. To omogućava da sve Briulenove zone (različitog  $|n|$ ) svedemo na prvu zonu:  $-\pi/a \leq k \leq \pi/a$ .

## 12. MEHANIČKA KARAKTERIZACIJA

**12.1** Potrebno je izvlačenjem čelične šipke silom od 30.000 N postići konačnu dužinu od 1800 mm i prečnik od 10 mm. Koju dužinu bi trebalo da ima šipka pre nego što je uklonjena sila izvlačenja? Granica elastičnosti ovog čelika posle izvlačenja je 435 N/mm<sup>2</sup> a modul elastičnosti 24.000 N/mm<sup>2</sup>.

**Rešenje:**

Napon izvlačenja po završetku procesa je

$$\sigma_f = \frac{F_1}{\pi d_r^2 / 4} = \frac{30.000 \text{ N}}{\pi (10 \text{ mm})^2 / 4} = 382 \text{ N/mm}^2 < \sigma_{ef} = 435 \text{ N/mm}^2,$$

zbog čega je šipka na kraju izvlačenja izložena elastičnoj deformaciji! Zato se konačna dužina čipke  $l$ , pre nego što je uklonjena sila izvlačenja, dobija iz izraza (12.2) za konačno jedinično izduženje,  $\varepsilon_f = (l - l_f) / l_f$ , odakle je

$$l = l_f (1 + \varepsilon_f) = 1800 \text{ mm} (1 + 0,0018) = 1803,24 \text{ mm},$$

gde je  $\varepsilon_f$  dobijeno iz izraza (12.3) za modul elastičnosti,  $E_f = \sigma_f / \varepsilon_f$ :

$$\varepsilon_f = \frac{\sigma_f}{E_f} = \frac{382 \text{ N/mm}^2}{210.000 \text{ N/mm}^2} = 0,0018 \text{ mm/mm}.$$

**12.2** Epruveta od aluminijumske legure početne dužine 50 mm i prečnika 10 mm ima posle kidanja dužinu 54,87 mm i prečnik 7,88 mm. Izračunati plastičnost ove legure.

**Rešenje:**

Plastičnost legure se može izraziti na dva načina, izrazi (12.4) i (12.5),

$$\% \text{ izduženje} = \frac{l_f - l_o}{l_o} \cdot 100 = \frac{54,87 - 50}{50} \cdot 100 = 9,74\%,$$

$$\% \text{ smanjenje poprečnog preseka} = \frac{S_o - S_k}{S_o} \cdot 100 =$$

$$= \frac{\pi (d_o^2 - d_k^2) / 4}{\pi d_o^2 / 4} = \frac{10^2 - 7,88^2}{10^2} = 37,9\%.$$

**12.3** Modul preloma kompozita ojačanog staklenim vlaknima je 310 N/mm<sup>2</sup>. Epruveta širine 12,5 mm, debljine 10 mm i dužine 200 mm, oslonjena je između dve šipke udaljene 125 mm. Koja sila je potrebna za prelom materijala?

**Rešenje:**

Iz izraza (12.6) za modul preloma,  $\sigma_s = 3Fl / 2wh^2$ , dobija se potrebna sila:

$$F = \frac{\sigma_s wh^2}{3l/2} = \frac{310 \text{ N/mm}^2 (10 \text{ mm})}{1,5 \cdot 125 \text{ mm}} = 2066 \text{ N}.$$

**12.4** Za veliku ploču, geometrijski faktor  $f$  je 1. Pretpostaviti da čelik ima kritičnu prelomnu žilavost  $2760 \text{ N/mm}/\text{mm}^2$ . U toku rada čelik će biti izložen naponu  $310 \text{ N/mm}^2$ . Izračunati maksimalnu dozvoljenu veličinu pukotine na površini i u unutrašnjosti čelične ploče. Imajući u vidu da je kritična prelomna žilavost keramika oko 20–40 puta manja, proceniti maksimalnu dozvoljenu veličinu pukotine u keramikama.

**Rešenje:**

Polazeći od izraza (12.7) za kritičnu prelomnu žilavost,  $K_c = f\sigma \sqrt{a\pi}$ , dobija se veličina površinske pukotine čelika

$$a = \frac{1}{\pi} \left( \frac{K_c}{f\sigma} \right)^2 = 25 \text{ mm},$$

dok se za unutrašnju pukotinu dobija dvostruko veća vrednost,  $2a = 50 \text{ mm}$ .

U keramikama je  $K_c$  oko 20–40 puta manje, pa je  $a$  oko 0,01 mm.

**12.5** Brinelov test tvrdoće izvršen je na čeliku korišćenjem kuglice utiskivača prečnika 10 mm, silom od 25.000 N. Na površini čelika izmeren je otisak prečnika 3 mm. Izračunati tvrdoću po Brinelu, zateznu čvrstoću i granicu izdržljivosti čelika.

**Rešenje:**

Tvrdoća po Brinelu data je izrazom (12.8), odakle je

$$HB = \frac{F}{S} = \frac{2F}{\pi D(D - \sqrt{D^2 - d^2})} = \frac{2 \cdot 25.000 \text{ N}}{\pi 10 (10 - \sqrt{100 - 9}) \text{ mm}^2} = 352 \text{ kp/mm}^2$$

Odatle se može odrediti i zatezna čvrstoća, korišćenjem empirijske relacije (12.9) za čelik,

$$\sigma_m \approx 3,45 HB = 1214,4 \text{ N/mm}^2.$$

Konačno, može se izračunati i granica izdržljivosti, korišćenjem empirijske relacije (12.13) za legure gvožđa,

$$\sigma_{zmin} \approx 0,5 \sigma_m = 607,2 \text{ N/mm}^2.$$

**12.6** Na čeličnu šipku prečnika 25 mm, koja rotira brzinom 3.000 ob/min, primenjen je konstantni napon od  $550 \text{ N/mm}^2$ . Proceniti vreme do kidanja šipke. Izračunati prečnik šipke koja neće pući od zamora, ako je granica izdržljivosti ovog čelika  $410 \text{ N/mm}^2$ .

**Rešenje:**

Iz izraza (12.12) za napon zamaranja,  $\sigma_z = 10,18 lF/d^3$ , vidi se da je za konstantno  $l$  i  $F$  proizvod  $\sigma_z \cdot d^3$  konstantan. Odatle se dobija da je prečnik šipke koja neće pući, pri granici izdržljivosti  $\sigma_z = 410 \text{ N/mm}^2$  i primenjenom naponu  $\sigma_z = 550 \text{ N/mm}^2$  na šipku debljine  $d = 25 \text{ mm}$ ,

$$d_i = d \sqrt[3]{\frac{\sigma_z}{\sigma_{zi}}} = 27,57 \text{ mm.}$$

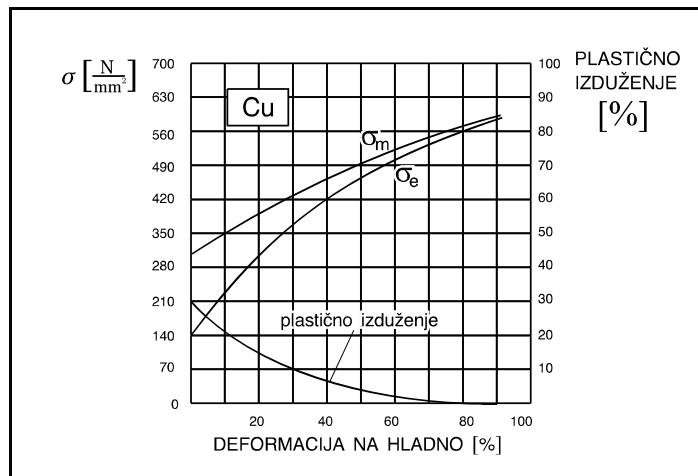
Sa dijagrama (v. Sl. 12.10) dobija se za  $\sigma_z = 550 \text{ N/mm}^2$  da je broj ciklusa do preloma  $n_z = 250.000$ , odakle je vreme do kidanja šipke jednako

$$t_k = \frac{n_z}{3.000 \text{ ob/min}} = \frac{250.000 \text{ ob}}{3.000 \text{ ob/min}} \approx 83 \text{ mm.}$$

## 17 METALI

**17.1** Potrebno je smanjiti debljinu bakarne ploče na 1 mm, tako da poseduje zateznu čvrstoću od bar  $450 \text{ N/mm}^2$ , granicu elastičnosti od  $420 \text{ N/mm}^2$  i plastično izduženje od bar 5%. Odrediti: (a) potreban procenat deformacije na hladno; (b) početnu debljinu ploče. Na slici su dati dijagrami zavisnosti zatezne čvrstoće, granice elastičnosti i plastičnog izduženja – od deformacije na hladno.

**Rešenje:**



(a) Sa dijagrama se vidi da za pomenute zahteve  $\sigma_m \geq 450 \text{ N/mm}^2$ ,  $\sigma_e \geq 420 \text{ N/mm}^2$ , i plastično izduženje  $\geq 5\%$ , deformacija na hladno mora biti  $\geq 35\%$ ,  $\geq 40\%$ , i  $\leq 45\%$ , respektivno.

Ovi uslovi će biti istovremeno zadovoljeni ako je

$$40\% \leq \text{deformacija na hladno} \leq 45\%.$$

(b) Imajući u vidu da se širina ploče pri deformaciji valjanjem ne menja, već samo debljina ploče (i njena dužina), iz rešenja pod (a) može se odrediti početna debljina ploče:

$$40\% = \frac{d_{\min} - 1}{d_{\min}} \cdot 100 \Rightarrow d_{\min} = 1,67 \text{ mm},$$

$$45\% = \frac{d_{\max} - 1}{d_{\max}} \cdot 100 \Rightarrow d_{\max} = 1,82 \text{ mm},$$

odnosno, početna debljina ploče može ležati u granicama

$$1,67 \text{ mm} \leq d \leq 1,82 \text{ mm}.$$

**17.2** Bakarna šipka prečnika 6,5 mm treba da se izvuče kroz otvor prečnika 5 mm u procesu izvlačenja žice. Kolika je sila potrebna za deformaciju metala? Da li je ta sila dovoljna da izazove kidanje žice posle izvršenog procesa izvlačenja?

**Rešenje:**

$$\text{deformacija na hladno} = \frac{S_o - S_f}{S_o} \cdot 100 = \frac{\pi (d_o^2 - d_f^2) / 4}{\pi d_o^2 / 4} \cdot 100 = \frac{6,5^2 - 5^2}{6,5^2} \cdot 100 \approx 41\%.$$

Početno  $\sigma_0$  (za 0% deformacije na hladno) je sa dijagrama iz Zad. 17.1 jednako  $\sigma_{eo} = 140 \text{ N/mm}^2$ , dok je krajnje  $\sigma_{ef}$  (za 41% deformacije na hladno) jednako  $\sigma_{ef} = 420 \text{ N/mm}^2$ .

Sila izvlačenja  $F_i$ , potrebna da plastično deformiše početnu bakarnu šipku je

$$F_i = \sigma_{eo} \cdot S_o = 140 \text{ N/mm}^2 \cdot \frac{\pi}{2} (6,5 \text{ mm})^2 \approx 4645 \text{ N}.$$

Mehanički napon koji deluje na žicu na kraju procesa izvlačenja je

$$\sigma_f = \frac{F_i}{S_f} = \frac{4645 \text{ N}}{\frac{\pi}{4} (5 \text{ mm})^2} \approx 236 \text{ N/mm}^2 < \sigma_{ef} = 420 \text{ N/mm}^2.$$

Dakle, pošto je  $\sigma_f < \sigma_{ef}$ , žica se neće prekinuti na kraju procesa izvlačenja!

**17.3** Dizajnirati proces neophodan za valjanje bakarne ploče dimenzija 10 mm × 60 mm na dimenzije 1 mm × 60 mm, koja će imati granicu elastičnosti iznad 420 N/mm<sup>2</sup> i plastično izduženje od bar 5%.

**Rešenje:**

U Zad. 17.1 odredili smo, za zahtevana mehanička svojstva i konačnu debljinu od 1mm, da je početna neophodna debljina ploče u granicama od 1,67 mm i 1,82 mm. Proverimo sada da li je moguće obradom na hladno izvršiti valjanje ploče sa 10 mm na debljinu od 1,67 mm, odnosno 1,82 mm.

$$(\text{deformacija na hladno})_{\max} = \frac{d_o - d_{\min}}{d_o} \cdot 100 = \frac{10 - 1,67}{10} \cdot 100 = 83,3\%,$$

$$(\text{deformacija na hladno})_{\min} = \frac{d_o - d_{\max}}{d_o} \cdot 100 = \frac{10 - 1,82}{10} \cdot 100 = 81,8\%.$$

Pošto su dobijene deformacije manje od maksimalne deformacije za bakar (90%), to je moguće izvršiti pomenutu redukciju debljine.

Tako bi ceo proces tekao na sledeći način:

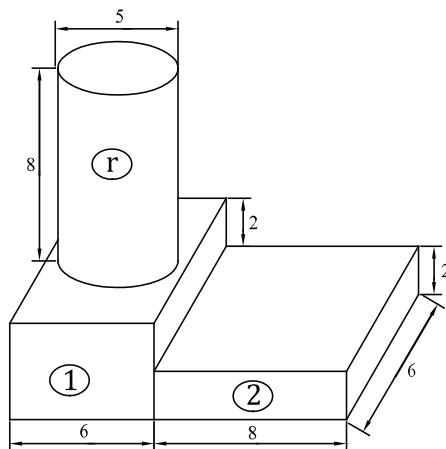
- Hladno valjanje ploče debljine 10 mm (koja mora biti prethodno u odgrejnom stanju) deformacijom 81,8–83,3%, do međudebljine 1,67–1,82 mm.
- Odgrevanje dobijene ploče iznad temperature rekristalizacije, da bi se povratila plastičnost materijala.
- Hladno valjanje ploče deformacijom 40–45%, sa debljine 1,67–1,82 mm na konačnu debljinu od 1 mm. Ovo daje potrebnu konačnu debljinu i zahtevane mehaničke osobine.

**17.4** Stepenasti kalup za livenje prikazan je na Sl. 1, zajedno sa cilindričnim rezervoarom. Uporediti vremena kristalizacije svakog od stepenastih livenih delova i rezervoara, i na osnovu toga zaključiti da li će rezervoar spričiti pojavu šupljina u stepenastom livu. Koji stepenasti deo liva će biti mehanički jači?

#### REŠENJE:

Primenom pravila Čvorinova (17.1) za vreme kristalizacije, na stepenaste delove liva 1 i 2, kao i rezervoara  $r$ , dobija se

Vidi se da je  $t_{sr} > t_{s_1} > t_{s_2}$ , odnosno rezervoar kristališe posle delova liva u stepenastom kalupu, što znači da neće doći do pojave šupljina u stepenastom livu.



SLIKA 1 Stepenasti kalup za livenje (1 i 2), zajedno sa cilindričnim rezervoarom ( $r$ ).

$$t_{s_1} = B \left( \frac{V_1}{S_1} \right)^2 = B \left( \frac{6 \cdot 6 \cdot 4}{2 \cdot 6 \cdot 6 + 2 \cdot 6 \cdot 4 + 2 \cdot 6 \cdot 4} \right)^2 = B \cdot 0,735,$$

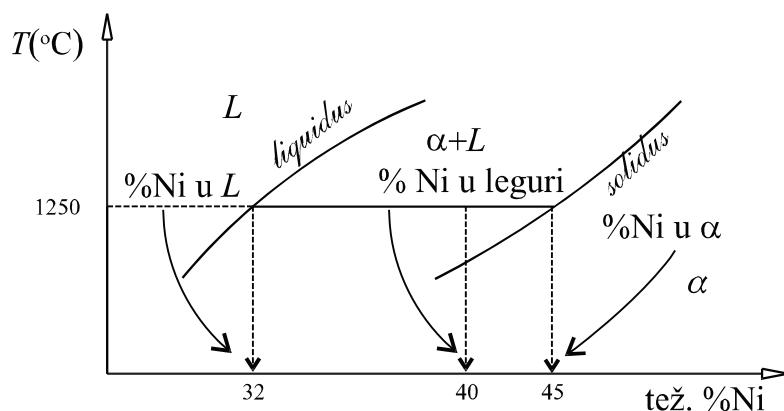
$$t_{s_2} = B \left( \frac{V_2}{S_2} \right)^2 = B \left( \frac{8 \cdot 6 \cdot 2}{2 \cdot 8 \cdot 6 + 2 \cdot 8 \cdot 2 + 2 \cdot 6 \cdot 2} \right)^2 = B \cdot 0,399,$$

$$t_{sr} = B \left( \frac{V_r}{S_r} \right)^2 = B \left( \frac{8 \cdot \pi \cdot 25/4}{2 \cdot \pi \cdot 25/4 + 8 \cdot 2 \cdot \pi \cdot 5/2} \right)^2 = B \cdot 0,907.$$

Vidi se da je  $t_{sr} > t_{s_1} > t_{s_2}$ , odnosno rezervoar kristališe posle delova liva u stepenastom kalupu, što znači da neće doći do pojave šupljina u stepenastom livu.

Pošto je  $t_{s_2} < t_{s_1}$ , znači da je stepenasti deo 2 mehanički jači od stepenastog dela 1, pošto ima sitnozrnastiju strukturu zbog brže kristalizacije liva.

**17.5** Izračunati procentualne udele  $\alpha$  i  $L$  faza na  $1250^{\circ}\text{C}$  u Cu-40%Ni leguri, čiji je deo faznog dijagrama prikazan na Sl. 1.



SLIKA 1 Deo faznog dijagrama Cu-Ni legure.

### REŠENJE:

Primenom pravila poluge, dobija se da na temperaturi  $1250^{\circ}\text{C}$  legura Cu-40% Ni sadrži sledeće procentualne udele  $\alpha$ -faze (sadržaja Cu-45%Ni, određenog presekom izoterme  $1250^{\circ}\text{C}$  sa krivom solidus; označene sa  $\alpha_{45}$ ) i  $L$ -faze (sadržaja Cu-32%Ni, određene presekom izoterme  $1250^{\circ}\text{C}$  sa krivom likvidus; označene sa  $L_{32}$ ):

$$\% \alpha_{45} = \frac{40\% - 32\%}{45\% - 32\%} \cdot 100 = 62\%,$$

$$\% L_{32} = \frac{45\% - 40\%}{45\% - 32\%} \cdot 100 = 38\%.$$

**17.6** Odrediti totalni procentualni sadržaj  $\beta$ -faze i eutektike u sledećim Pb-Sn legurama: 10% Sn, 20% Sn, 60% Sn i 95% Sn.

### Rešenje:

Sa Sl. 17.13, totalna količina  $\beta$ -faze određuje se primenom pravila poluge na sobnoj temperaturi, a eutektike neposredno ispod  $183^{\circ}\text{C}$ :

LEGURA	% $\beta$	% EUTEKTIKE
Pb-10%Sn	$\frac{10-2}{100-2} \cdot 100 = 8,2\%$	0 %
Pb-20%Sn	$\frac{20-2}{100-2} \cdot 100 = 18,4\%$	$\frac{20-19}{61,9-19} \cdot 100 = 2,3\%$
Pb-60%Sn	$\frac{60-2}{100-2} \cdot 100 = 59,2\%$	$\frac{60-19}{61,9-19} \cdot 100 = 95,6\%$
Pb-95%Sn	$\frac{95-2}{100-2} \cdot 100 = 94,9\%$	$\frac{97,5-95}{97,5-61,9} \cdot 100 = 7\%$

**17.7** Pokazati da sastav legure Fe-6,67%C dovodi do formiranja intermetalnog jedinjenja. Atomska masa gvožđa je 55,85, ugljenika 12,01, a Avogadroov broj  $N_{av} = 6,02 \times 10^{23}$  atoma/mol.

**Rešenje:**

Potrebno je konvertovati težinske u atomske procente legure. Na 100 g legure Fe-6,67%C dolazi 93,33 g Fe i 6,67 g C, pa se u tim masama nalazi sledeći broj atoma gvožđa i ugljenika:

$$N_{Fe} = \frac{93,33 \text{ g}}{55,85 \text{ g/mol}} \cdot 6,02 \cdot 10^{23} \text{ atoma/mol} = 10,06 \cdot 10^{23} \text{ atoma Fe}$$

$$N_C = \frac{6,67 \text{ g}}{12,01 \text{ g/mol}} \cdot 6,02 \cdot 10^{23} \text{ atoma/mol} = 3,34 \cdot 10^{23} \text{ atoma C}$$

Odatle se vidi da ima 3 puta više atoma Fe nego atoma C, odnosno da je u pitanju intermetalno jedinjenje  $Fe_3C$ .

**17.8** Izračunati količine  $\alpha$ -ferita i cementita u perlitu.

**Rešenje:**

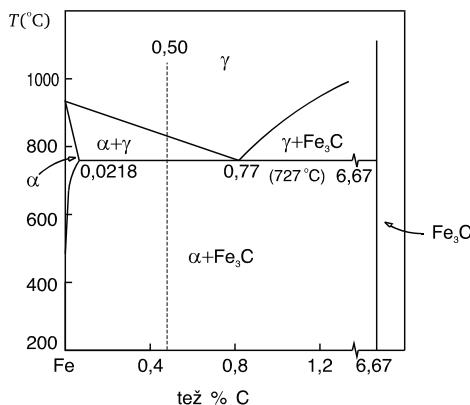
Sa faznog dijagrama na Sl. 17.15, vidi se da perlit sadrži 0,77% C. Korišćenjem zakona poluge, neposredno ispod temperature od 727°C, sa Sl. 17.15 dobija se

$$\% \alpha = \frac{6,67 - 0,77}{6,67 - 0,0218} \cdot 100 = 88\%,$$

$$\% Fe_3C = \frac{0,77 - 0,0218}{6,67 - 0,0218} \cdot 100 = 12\%.$$

Vidi se da je najveći deo perlita sastavljen od mekog i plastičnog  $\alpha$ -ferita, koji okružuje lamele tvrdog i krtočeg cementita  $Fe_3C$ . Zato je ceo perlit jak, a plastičan.

- 17.9** U ugljeničnom čeliku sastava Fe-0,50%C izračunati procentualnu količinu ferita i cementita neposredno ispod eutektoidne temperature. U kojoj formi se dobija mikrostruktura ovog čelika posle hlađenja? Deo faznog dijagrama Fe-C legure prikazan je na Sl. 1.



SLIKA 1. Deo faznog dijagrama Fe-C legure.

**Rešenje:**

Ispod eutektoidne temperature, faze su  $\alpha$ -ferit i cementit ( $Fe_3C$ ). Koristeći pravilo poluge, može se izračunati procentualna količina  $\alpha$  i  $Fe_3C$  faza:

$$\% \alpha = \frac{6,67 - 0,50}{6,67 - 0,0218} \cdot 100 = 92,8\%,$$

$$\% Fe_3C = \frac{0,50 - 0,0218}{6,67 - 0,0218} \cdot 100 = 7,8\%.$$

Mikrostruktura ovog podeutektoidnog čelika posle hlađenja je perlit u  $\alpha$ -feritnoj matrici (v. Sl. 17.15).

- 17.10** Odlična kombinacija tvrdoće, jačine i žilavosti dobija se kod beinita. Eutektoidno gvožđe je grejano na  $750^{\circ}C$ , kvenčovano na  $250^{\circ}C$  i držano oko 15 min, i konačno ohlađeno lagano do sobne temperature. Da li je postignuta struktura beinita?

**Rešenje:**

Sa Sl. 17.16, posle grejanja na  $750^{\circ}C$ , dobija se 100%  $\gamma$  struktura. Posle nalogog hlađenja na  $250^{\circ}C$ , nestabilni austenit ostaje oko 100 s, kada počinje rast beinita. Posle 15 min = 900 s, oko 50% beinita je oformljeno, dok je ostatak čelika u formi nestabilnog austenita ( $\gamma_u$ ). Daljim hlađenjem do sobne temperature, nestabilni austenit prelazi u martenzit, pa je konačna struktura na sobnoj temperaturi mešavina beinita i tvrdog, krtog martenzita.

Dakle, termički tretman je bio neuspešan! Trebalo bi držati čelik na  $250^{\circ}C$  bar  $10^4$  s (oko 3 h).

**17.11** Čelik sadržaja 0,40% C je grejan na 740°C i onda naglo ohlađen. Odrediti količinu i sadržaj martenzita.

**Rešenje:**

Zagrevanjem Fe-0,40% C do 740°C, sa Sl. 17.15 vidi se da se dobija mešavina ferita ( $\alpha$ ) i austenita ( $\gamma$ ). Na toj temperaturi austenit ima sastav Fe-0,68%C i on se kompletno pretvara u martenzit Fe-0,68%C. Prema pravilu poluge je

$$\%M = \% \gamma = \frac{0,40 - 0,021}{0,68 - 0,021} \cdot 100 = 58\% \text{ martenzita.}$$

**17.12** Izračunati promenu zapremine kada gvožđe ( $\rho_{Fe} = 7,87 \text{ g/cm}^3$ ) oksidiše u FeO ( $\rho_{FeO} = 5,95 \text{ g/cm}^3$ ). Atomska masa gvožđa je 55,85 g/mol, a kiseonika 16 g/mol.

**REŠENJE:**

Zapremina jednog mola Fe je  $(55,85 \text{ gmol}^{-1})/(7,87 \text{ gcm}^{-3}) = 7,1 \text{ cm}^3/\text{mol}$ , a FeO je  $(71,85 \text{ gmol}^{-1})/(5,95 \text{ gcm}^{-3}) = 12,08 \text{ cm}^3/\text{mol}$ , pa je relativna promena zapremine  $\Delta V = (12,08 - 7,1)/7,1 = 0,7$  odnosno 70% povećanja zapremine oksidacijom!

Ovo povećanje zapremine čini oksid veoma poroznim, tako da se potonja oksidacija može odigravati daljom difuzijom kiseonika u gvožđe prekriveno oksidnim slojem.

**17.13** Izračunati broj atoma Co oslobođenih tokom godine iz femoralne glave (nominalnog prečnika 28 mm) veštačkog kuka napravljenog od CoCrMo legure, koja sadrži oko 65% Co. Uzeti da je brzina abrazije 0,14 mm/god i da se svi atomi jonizuju. Gustina Co je  $8,83 \text{ g/cm}^3$  a atomska masa 58,93, dok je Avogadroov broj  $6,02 \cdot 10^{23} \text{ at/mol}$ .

**Rešenje:**

Površina femoralne glave (nominalnog prečnika 28 mm) je  $4\pi(1,4 \text{ cm})^2 \approx 32 \text{ cm}^2$ , od čega je polovina u kontaktu sa čašicom kuka. Otuda je zapremina godišnje abradiranog materijala  $0,5 \cdot 32 \text{ cm}^2 \cdot 0,014 \text{ cm/god} \approx 0,224 \text{ cm}^3/\text{god}$ . Pošto je gustina Co  $8,83 \text{ g/cm}^3$ , njegova atomska masa 58,93 dok CoCrMo legura sadrži oko 65% Co, to je godišnje abradirani broj atoma Co

$$[0,65 \cdot 0,224 \text{ cm}^3/\text{god} \cdot 8,83 \text{ g/cm}^3 \cdot 6,02 \cdot 10^{23} \text{ at/mol}] / 58,93 \text{ at/mol} \approx \\ 12,8 \cdot 10^{21} \text{ at/god} \approx 4 \cdot 10^{14} \text{ at/s.}$$

**17.14** Razmotriti koroziju plombe od zubnog amalgama, legure gustine  $11 \text{ g/cm}^3$  i atomske težine 150 ajm, čija je koroziona gustina struje  $100 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ . (a) Koliko će se jednovalentnih jona godišnje osloboditi iz plombe površine oko  $0,1 \text{ cm}^2$ ? (b) Ako je korozija uniformna, koliko milimetara dubine amalgama će se godišnje izgubiti? Prodiskutovati odgovor.

**Rešenje:**

Godišnji protok jona oslobođen korozijom amalgama jednak je

$$\begin{aligned} J &= 10^{-4} \text{ A/cm}^2 \cdot 0,1 \text{ cm}^2 = 10^{-5} \text{ C/s} = \\ &10^{-5} \text{ e}^- / 1,6 \cdot 10^{-19} \text{ s} \cdot [3,15 \cdot 10^7 \text{ s/god}] \approx 2 \cdot 10^{21} \text{ e}^-/\text{god}. \end{aligned}$$

Dubina izgubljenog amalgama jednaka je

$$L = [2 \cdot 10^{21} \cdot 150 \text{ g} / 6,02 \cdot 10^{23} \text{ god}] \cdot [1/11 \text{ g/cm}^3] \cdot [1/0,1 \text{ cm}^2] = 0,45 \text{ cm/god}.$$

Ova dubina daleko prevazilazi realno uočene vrednosti za zubni amalgam. Naime, usvojena vrednost korozione gustine struje od  $100 \mu\text{A/cm}^2$  je konzervativna procena iz polarizacionih krivih sa Sl. 17.21, dok se u stvarnosti tokom vremena mogu odigravati promene površine *in vivo*.

## 18. KERAMIKE

**18.1** Izračunati teorijsku gustinu kristala hidroksiapatita  $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$  koji kristališe po heksagonalnoj kristalnoj rešetki sa parametrima jedinične čelije  $a = 0,9432 \text{ nm}$  i  $c = 0,6881 \text{ nm}$ . Poznate su i atomske mase Ca (40), P (31), O (16) i H (1), kao i Avogadrov broj ( $6,02 \cdot 10^{23} \text{ at/mol}$ ).

**REŠENJE:**

Teorijska gustina hidroksiapatita jednaka je

$$\begin{aligned} \rho &= [(10 \cdot A_{\text{Ca}} + 6 \cdot A_{\text{P}} + 26 \cdot A_{\text{O}} + 2 \cdot A_{\text{H}}) \cdot \text{ajm}] / [6 \cdot a^2 (\sqrt{3}/4) c] \\ &= [(10 \cdot 40 + 6 \cdot 31 + 26 \cdot 16 + 2 \cdot 1) \cdot (6,02 \cdot 10^{23})^{-1} \text{ g}] / [6 \cdot (0,9432)^2 (\sqrt{3}/4) \cdot \\ &\quad 0,6881 \cdot 10^{-24} \text{ cm}^3] = 3,16 \text{ g/cm}^3, \end{aligned}$$

što je vrlo blisko eksperimentalno određenoj literaturnoj vrednosti.

**18.2** Odrediti koeficijent refleksije ultrazvučnih talasa koji prelaze iz mišića u kost. Akustička impedansa mišića je  $Z_1 = 1,70 \cdot 10^6 \text{ kg} \cdot \text{s/m}^2$ , a kosti  $Z_2 = 7,80 \cdot 10^6 \text{ kg} \cdot \text{s/m}^2$ . Razmotriti posledice rezultata na ultrazvučni pregled tkiva koja se nalaze iza neke kosti.

**REŠENJE:**

Koeficijent refleksije zvučnih talasa na prelazu iz sredine 1 u sredinu 2 jednak je:

$$R_A = (Z_2 - Z_1) / (Z_2 + Z_1) = 0,642$$

Zbog prilično velike vrednosti koeficijenta refleksije, veoma je otežan ultrazvučni pregled organa koji se nalaze iza kostiju (pogotovu kada se tkivo od interesa nalazi potpuno iza kostiju kao što je slučaj sa mozgom).

**18.3** Proceniti dimenziju površinske pukotine na staklu, čiji je Jungov modul elastičnosti,  $E=70$  GPa, a konstanta površinskog napona,  $\gamma = 8 \cdot 10^{-5}$  J/cm<sup>2</sup>. Pretpostaviti da staklo puca pri mehaničkom naponu  $\sigma = 100$  MPa.

**Rešenje:**

Napon pucanja je  $\sigma_f = (2\gamma E/(\pi a))^{1/2}$ , odakle je dimenziju površinske pukotine na staklu  $a = 2\gamma E/(\pi\sigma_f^2) = 3,565$  μm.

**19. POLIMERI**

**19.1** Komad polietilena je izdužen 20%. Kada je mehanički napon uklonjen, on se oporavio na 50% inicijalnog izduženja posle 1 sat na sobnoj temperaturi. (a) Koliko je vreme retardacije  $\tau$  pretpostavljajući jednoeksponecnijalni model  $\varepsilon(t) = \varepsilon_0 \exp(-t/\tau)$ ? (b) Koliko je oporavljen izduženje posle 5 sati na sobnoj temperaturi?

**Rešenje:**

(a) Pošto se izduženje oporavilo od početnog  $\varepsilon_0$ , onda je oporavljen izduženje jednako

$$\varepsilon_{\text{opor}} = \varepsilon_0 - \varepsilon_0 \exp(-t/\tau) = \varepsilon_0 [1 - \exp(-t/\tau)]$$

odakle je  $\varepsilon/\varepsilon_0 = 0,5 = 1 - \exp(-1/\tau)$ , odnosno  $\tau = 1,443$  h.

(b) Oporavljen izduženje posle 5 sati na sobnoj temperaturi je  $\varepsilon_{\text{opor}} = 0,2[1 - \exp(-5/1,443)] = 0,194$ , odnosno 19,4% (što je samo nešto manje od inicijalnog izduženja od 20%).

**19.2** Relativna deformacija od 0,5 dovodi do napona od 2 MPa u gumenom užetu. Nakon 10 dana napon opadne na 1 MPa. Opadanje napona kod gume je opisano jednoeksponecnijalnim modelom  $\varepsilon(t) = \varepsilon_0 \exp(-t/\tau)$ . Odrediti: (a) Relaksaciono vreme gume; (b) Relativnu deformaciju nakon 100 dana.

**Rešenje:**

(a) Napon i relativna deformacija povezani su Hukovim zakonom  $\sigma = E\varepsilon$ , gde je  $E$  Jungov modul. Uvedeći oznake  $\varepsilon_0 = 0,5$ ,  $\sigma_0 = 2$  MPa,  $t_1 = 10$  dana, biće  $E = \sigma_0/\varepsilon_0$ . Pošto je proces relaksacije opisan jednoeksponecnijalnim modelom, to je  $\varepsilon(t_1) = \varepsilon_0 \exp(-t_1/\lambda)$ , gde je  $\lambda$  relaksaciono vreme gume. Odатле je  $\lambda = -t_1/\ln(\varepsilon(t_1)/\varepsilon_0) = -t_1/\ln(\sigma(t_1)/\sigma_0) = 14,43$  dana.

(b) Nakon  $t_2 = 100$  dana relativna deformacija će iznositi:  $\varepsilon(t_2) = \varepsilon_0 \exp(-t_2/\lambda) = 0,000489$ .

**19.3** Sočivo normalnog ljudskog oka je konveksno, ima radijuse krivina  $r_2 = 10,2$  mm i  $-r_1 = 6$  mm, i debljinu 2,4 mm. Indeks prelamanja ovog sočiva zavisi od pozicije na sočivu, ali se može uzeti da ima vrednost  $n_2 = 1,386$ . Odrediti op-

tičku moć i žižnu daljinu, smatrajući *in vivo* da je sočivo potopljeno u okularni fluid.

**Rešenje:**

Optička moć sočiva je

$$P = 1/f = (n_2 - n_1)(1/r_2 - 1/r_1) = (1,386 - 1,33)(1/10,2 + 1/6) \cdot 10^3 = 22,76 \text{ D},$$

gde je  $n_1$  indeks prelamanja okularne tečnosti za koji uzimamo vrednost koju ima voda  $n_1 = 1,33$ . Žižna daljina je  $f = 1/P = 43,9 \text{ mm}$ .

**19.4** Razmotriti veštačka PMMA sočiva (prečnika 8,3 mm, debljine 2,4 mm), indeksa prelamanja  $n_s = 1,49$ , prednjeg poluprečnika krivine  $r_1 = 17,8 \text{ mm}$  i zadnjeg poluprečnika krivine  $r_2 = -10,7 \text{ mm}$ . Odrediti optičku moć ( $P = 1/f$ ) i žižnu daljinu ( $f$ ) sočiva u vazdušnom ( $n_m = 1$ ) i vodenom medijumu ( $n_m = 1,33$ ).

**Rešenje:**

Koristeći jednačinu sočiva

$$\frac{1}{f} = (n_s - n_m) \left( \frac{1}{r_1} - \frac{1}{r_2} \right),$$

u vazduhu se dobija

$$P = \frac{1}{f} = (1,49 - 1) \left( \frac{1}{0,0178} - \frac{1}{-0,0107} \right) = 73 \text{ m}^{-1} = 73 \text{ D}, \text{ odnosno } f = 13,6 \text{ mm},$$

a u vodi

$$P = \frac{1}{f} = (1,49 - 1,33) \left( \frac{1}{0,0178} - \frac{1}{-0,0107} \right) = 24 \text{ m}^{-1} = 24 \text{ D}, \text{ odnosno } f = 42 \text{ mm}.$$

Primetimo da prirodna sočiva u oku imaju optičku moć od 19 D.

**19.5** Izračunati procenat kristaliničnosti ultravisokomolekularnog polietilena UHMWPE, znajući da je njegova gustina  $0,94 \text{ g/cm}^3$ , kao i da je gustina nekristaličnog polietilena  $0,85 \text{ g/cm}^3$  a 100% kristaličnog polietilena  $1,01 \text{ g/cm}^3$ .

**Rešenje:**

$$\% \text{ kristaliničnosti} = (0,94 - 0,85) / 1,01 - 0,85 = 0,56 \text{ ili } 56\%$$

Tabelirane literaturne vrednosti dobijene iz difrakcionih merenja su oko 30% više.

**19.6** Fino mleveni prah silike ( $\text{SiO}_2$ ) gustine  $\rho_1 = 2,65 \text{ g/cm}^3$  koristi se kao punilac za polidimetil siloksan (Delrin) gustine  $\rho_2 = 0,90 \text{ g/cm}^3$ . (a) Koliki zapreminski procenat praha  $\text{SiO}_2$  se zahteva za izradu silastičke gume gustine  $\rho = 1,25 \text{ g/cm}^3$ ? (b) Koliki je traženi težinski procenat praha  $\text{SiO}_2$ ?

**Rešenje:**

(a) Gustina ovog dvokomponentnog materijala jednaka je

$$\rho = \rho_1 V_1 + \rho_2 V_2,$$

uz uslov  $V_1 + V_2 = 1$ , odakle je zamenom zadatih vrednosti

$$1,25 = 2,65V_1 + 0,90(1 - V_1),$$

što rešavanjem daje

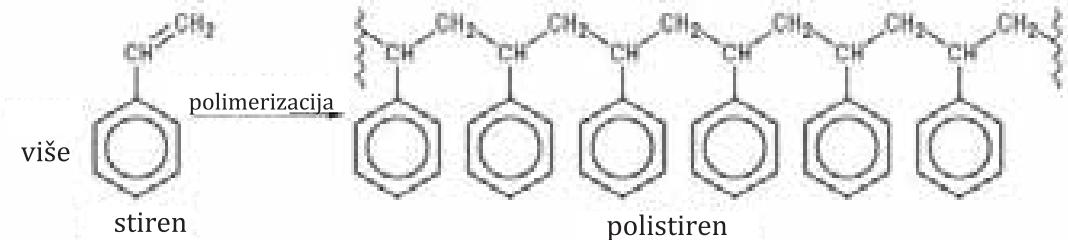
$$V_1 = 0,20 \text{ ili } 20 \text{ vol\%}.$$

(b) Pošto je težina  $1 \text{ cm}^3$  gume  $1,25 \text{ g}$ , a zapremski udeo je  $0,2$  – to je težinski procenat praha  $\text{SiO}_2$  u gumi jednak

$$W_1 = 0,2 \cdot 2,65 / 1,25 = 0,42 \text{ ili } 42 \text{ tež\%}.$$

**19.7** Srednja energija veze C-Cl kod polivinil hlorida je  $340.000 \text{ J/mol}$ . Može li vidljiva svetlost ( $\lambda = 4000 \div 7000 \text{ Å}$ ) da razbije vezu?**Rešenje:**Energija veze C-Cl je  $340.000 \text{ J/N}_A = 3,4 \cdot 10^5 \text{ J} / 6,023 \cdot 10^{23} = 5,64 \cdot 10^{-19} \text{ J}$ . Foton u vidljivoj svetlosti može imati energiju najviše  $hc/\lambda_{\min} = 6,625 \cdot 10^{-34} \text{ Js} \cdot 3 \cdot 10^8 \text{ m/s} / 4 \cdot 10^{-7} \text{ m} = 4,97 \cdot 10^{-19} \text{ J}$  što je manje od energije veze C-Cl. Dakle vidljiva svetlost ne može da razbije vezu C-Cl kod polivinil hlorida.**19.8** Srednja dužina lanca amorfnih polimera može se izraziti formulom  $L = lm^{1/2}$  gde je  $l$  međuatomsko rastojanje ( $1,54 \text{ Å}$  za C-C vezu), a  $m$  broj veza. Izračunati prosečnu dužinu lanca polistirena, ako je njegova prosečna molarna masa  $M_{\text{pol}} = 20800 \text{ g}$ . Atomska masa ugljenika je  $A_c = 12,0107$ , a vodonika  $A_H = 1,00794$ **Rešenje:**

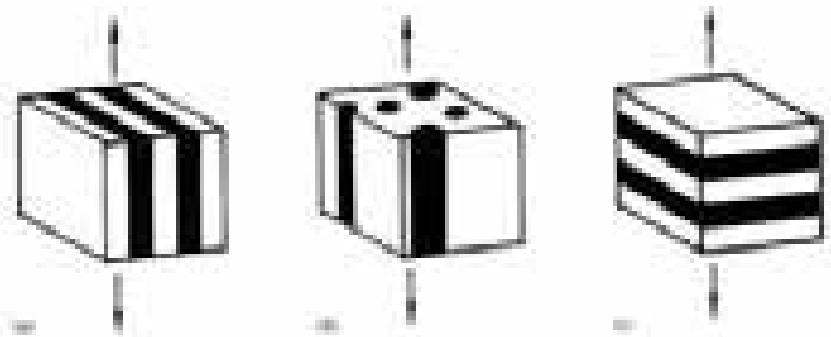
Polistiren se dobija polimerizacijom stirena:

Masa jednog radikalala u polimernom lancu iznosi  $A_1 = 8A_c + 9A_H = 105,157$ . Prosečna dužina lanca je  $m = M_{\text{pol}} / A_1 [\text{g}] = 20800 \text{ g} / 105,157 \text{ g} = 197,8$ . Dakle srednja dužina polistirenskog molekula je:

$$L = lm^{1/2} = 1,54 \text{ Å} \cdot 197,8^{1/2} = 14 \text{ Å}.$$

## 20. KOMPOZITI

**20.1** Odrediti Jungov modul kompozita sa Vojtovim strukturama (Sl. 1a,b), uzimajući da je poznat Jungov modul kao i zapreminske udjele svakog konstituentenata.



*SLIKA 1 Kompozitni (a) Vojtov pločasti, (b) Vojtov vlaknasti i (c) Reusov pločasti model, podvrgnuti dejstvu pritiska u pravcu kojeg pokazuju strelice*

### Rešenje:

Za Vojtove strukture, kod kojih je mehanički napon primjenjen kao na Sl. 1a,b, kompozitni konstituenti deformati su zajedno sa jednakim izduženjem ( $\varepsilon_k = \varepsilon_p = \varepsilon_m$ , gde se indeks  $k$  odnosi na kompozit,  $p$  na tamni precipitat i  $m$  na svetlu matriku), i uzima se linearno elastično ponašanje ( $\sigma_k = E_k \varepsilon_k$ ,  $\sigma_p = E_p \varepsilon_p$ ,  $\sigma_m = E_m \varepsilon_m$ ). Sila koja deluje na kompozitni blok ( $F_k = \sigma_k S_k$ ) suma je sila koje deluju na precipitate ( $\sigma_p S_p$ ) i maticu ( $\sigma_m S_m$ ):

$$F_k = \sigma_k S_k = \sigma_p S_p + \sigma_m S_m = E_p \varepsilon_p S_p + E_m \varepsilon_m S_m,$$

odakle se dobija deobom sa poprečnim presekom kompozita  $S_k$  i jednakim izduženjem  $\varepsilon_p = \varepsilon_m = \varepsilon_k$ , imajući u vidu i da su za ovu geometriju zapreminske udeli  $V_p$  i  $V_m$  isti kao i udeli površinskih poprečnih preseka  $S_p/S_k$  i  $S_m/S_k$ , tzv. Vojtovo pravilo mešavina:

$$E_k = E_p V_p + E_m V_m = E_p V_p + E_m (1 - V_p).$$

Vojtovo pravilo daje gornju granicu krutosti za proizvoljnu geometriju faza kompozita.

**20.2** Odrediti Jungov modul kompozita sa Reusovom struktururom (Sl. 1c), uzimajući da je poznat Jungov modul kao i zapreminske udjele svakog konstituentenata.

### Rešenje:

Za Reusovu strukturu, kod koje je mehanički napon primjenjen kao na Sl. 1c, na kompozitne konstituente deluju jednake sile ( $F = \sigma_k S_k = \sigma_p S_p = \sigma_m S_m$ , gde se in-

deks  $k$  odnosi na kompozit,  $p$  na tamni precipitat i  $m$  na svetlu matricu). Elongacija kompozita je zbog Reusove strukture aditivna ( $\Delta l_k = l_k \varepsilon_k = \Delta l_p + \Delta l_m = l_p \varepsilon_p + l_m \varepsilon_m$ ), pa uzimajući linearno elastično ponašanje ( $\sigma_k = E_k \varepsilon_k$ ,  $\sigma_p = E_p \varepsilon_p$ ,  $\sigma_m = E_m \varepsilon_m$ ) dobija se

$$l_k F / S_k E_k = l_p F / S_p E_p + l_m F / S_m E_m,$$

odakle se dobija (pošto je evidentno  $S_k = S_p = S_m$ )

$$l_k / E_k = l_p / E_p + l_m / E_m,$$

pa deobom sa  $l_k$  dobija, imajući u vidu i da su za ovu geometriju zapreminske udeli  $V_p$  i  $V_m$  isti kao i linearne udeli površinskih poprečnih preseka  $l_p / l_k$  i  $l_m / l_k$ , tzv. Reusovo pravilo mešavina:

$$E_k = [V_p / E_p + V_m / E_m]^{-1} = [V_p / E_p + (1 - V_p) / E_m]^{-1}.$$

Reusovo pravilo daje donju granicu krutosti za proizvoljnu geometriju faza kompozita.

Primetimo da je Reusov pločasti kompozit jednak sa Vojtovim pločastim kompozitom, izuzev za rotaciju kada se uzme u obzir i pravac opterećenja. Zbog toga je elastičnost pločastih kompozita anizotropna, što znači da zavisi od pravca. Uopšte, anizotropija je karakteristika kompozitnih materijala!

**20.3** Izračunati zapreminske udjele svake od većih komponenata sveže kosti, ako su poznati njihovi težinski udeli, tj. 9, 69 i 22 tež% za vodu, mineralnu i organsku fazu, respektivno. Poznate su gustine mineralne faze ( $3,16 \text{ g/cm}^3$ ), organske faze ( $1,03 \text{ g/cm}^3$ ) i vode ( $1 \text{ g/cm}^3$ ).

---

#### Rešenje:

Bazirano na  $100 \text{ g}$  kosti, zapremina  $V$  svake od komponenata može se izračunati odgovarajućim deljenjem mase  $m$  sa gustom  $\rho$ :

Komponenta	tež%	$m (\text{g})$	$V (\text{cm}^3)$	vol%
Mineralna	69	69	21,8	41,8
Organska	22	22	21,8	41,0
Voda	9	9	9,0	17,2
Ukupno	100	100	52,2	100

**20.4** Izračunati gustom mineralne faze suve goveđe butne kosti gustum  $2,06 \text{ g/cm}^3$ , ako su gustine organske faze i vode  $1 \text{ g/cm}^3$ , respektivno. Saglasno prethodnom zadatku uzeti da su zapreminske udeli mineralne i organske faze približno po 0,5 jer se zapreminske udjele vode u suvoj kosti može zanemariti.

---

**Rešenje:**

Saglasno prostom pravilu mešavine, zanemarujući vodu u suvoj kosti, može se napisati

$$\rho_k = \rho_{\text{org}} V_{\text{org}} + \rho_{\text{min}} V_{\text{min}}$$

uz uslov  $V_{\text{org}} = V_{\text{min}} = 0,5$ , pa se zamenom svih brojnih vrednosti u gornji izraz dobija

$$2,06 = 1 \cdot 0,5 + 0,5 \cdot 0,5$$

odakle je gustina mineralne faze goveđe butne kosti  $\rho_{\text{min}} = 3,12 \text{ g/cm}^3$ .

**20.5** Izračunati korišćenjem Vojtovog vlaknastog modela (Sl. 1b) procentualni ideo opterećenja koje nosi mineralna faza goveđe butne kosti podvrgnuta totalnom opterećenju od 500 N. Poznati su Jungovi moduli mineralnog i kolagenskog dela kosti su oko 17 GPa i 0,1 GPa, respektivno, kao i zapreminske udeli mineralne (51 vol%) i kolagenske faze (49 vol%).

**Rešenje:**

Prema Vojtovom vlaknastom modelu prikazanom na Sl. 1b, totalno opterećenje kosti ( $F_k$ ) je podeljeno na mineralni ( $F_{\text{min}}$ ) i kolagenski ( $F_{\text{kol}}$ ) deo kosti:  $F_k = F_{\text{min}} + F_{\text{kol}}$ . Pošto je  $\sigma = F/S = E\varepsilon$ , onda je

$$F_{\text{min}} = S_{\text{min}} E_{\text{min}} \varepsilon_{\text{min}},$$

gde su  $S_{\text{min}}$ ,  $E_{\text{min}}$  i  $\varepsilon_{\text{min}}$  površina poprečnog preseka, Jungov modul i relativno izduženje mineralnog dela kosti, respektivno. Prema konfiguraciji Vojtovog modela relativna izduženja kosti i njenog mineralnog i kolagenskog dela jednaka su ( $\varepsilon_k = \varepsilon_{\text{min}} = \varepsilon_{\text{kol}}$ ), pa je zato

$$F_k / S_k E_k = F_{\text{min}} / S_{\text{min}} E_{\text{min}},$$

Korišćenjem Vojtovog uslova

$$S_k E_k = S_{\text{min}} E_{\text{min}} + S_{\text{kol}} E_{\text{kol}}$$

(koji sledi iz  $F_k = F_{\text{min}} + F_{\text{kol}}$  i  $\varepsilon_k = \varepsilon_{\text{min}} = \varepsilon_{\text{kol}}$ ), iz prethodnog izraza se konačno dobija

$$F_{\text{min}} = F_k S_{\text{min}} E_{\text{min}} / (S_{\text{min}} E_{\text{min}} + S_{\text{kol}} E_{\text{kol}}).$$

Zamenom brojnih vrednosti u poslednji izraz, dobija se relativni odnos opterećenja kojeg nosi mineralna faza kosti,

$$F_{\text{min}} / F_k = 0,51 \cdot 17 / (0,51 \cdot 17 + 0,49 \cdot 0,1) \approx 0,995$$

(gde je korišćena karakteristika Vojtovog modela da su zapreminske udeli isti kao i udeli površinskih poprečnih preseka dvaju faza u kosti), odnosno saglasno proceni

Vojtovog modela oko 99,5% opterećenja nosi mineralna faza kosti, dok preostalih 0,5% opterećenja nosi kolagenska faza kosti.

Međutim, realno kolagenska faza ipak nosi veći udeo opterećenja (5–10%) jer Vojtov model daje samo procenu gornje granice Jungovog modula kosti, dok je struktura kosti znatno složenija od one za koju važi Vojtov model kompozita sa vla-knima orijentisanim u pravcu primjenjenog opterećenja.

**20.6** Žica prečnika 1mm od eutektoidnog čelika obložena je slojem aluminijuma debljine 1 mm. Za eutokteidni čelik i za aluminijum poznati su respektivno sledeći parametri: Jungov modul elastičnosti  $E_c = 205 \text{ GPa}$ ,  $E_{Al} = 70 \text{ GPa}$ ; napon kidanja:  $\sigma_c = 300 \text{ MPa}$ ,  $\sigma_{Al} = 100 \text{ MPa}$ ; gustina:  $\rho_c = 7,84 \text{ g/cm}^3$ ,  $\rho_{Al} = 2,7 \text{ g/cm}^3$ ; temperaturski koeficijent širenja:  $\alpha_c = 1,08 \cdot 10^{-5}$ ,  $\alpha_{Al} = 2,25 \cdot 10^{-5}$ . (a) Kada se ova kompozitna žica optereti rastućim opterećenjem, koji će se metal najpre pokidati? (b) Koliki je Jungov modul kompozitne žice? (c) Kolika je gustina kompozita?

#### Rešenje:

(a) Opterećenje se na delove kompozitne žice raspoređuje proporcionalno površini poprečnog preseka. Dakle, ako je  $F$  sila opterećenja žice, tada je čelični deo opterećen silom  $(S_c/S) \cdot F = (5 \text{ mm})^2/(6 \text{ mm})^2 \cdot F = 0,6944 F$ , dok je aluminijumski deo opterećen silom  $F - 0,6944 F = 0,3056 \cdot F$ . Odnos opterećenja delova alumi-nijumskog i čeličnog dela:  $0,3056/0,6944 = 0,44$  veći je od odnosa odgovarajućih napona kidanja:  $\sigma_{Al}/\sigma_c = 100 \text{ MPa}/300 \text{ MPa} = 0,33$ , pa će najpre doći do kidanja aluminijumskog dela.

(b) Jungov modul kompozitne žice je shodno Vojtovom modelu:

$$E = (E_c S_c + E_{Al} S_{Al})/S = 160 \text{ GPa}.$$

(c) Gustina kompozita jednaka je ukupnoj masi žice podeljenoj sa zapreminom:

$$E = (\rho_c S_c l + \rho_{Al} S_{Al} l)/(Sl) = 6,12 \text{ g/cm}^3$$

**20.7** Razmotrili izotropni kompozit, sastavljen od silika vlakana Jungovog modula  $E_{Sil} = 72 \text{ Gpa}$ , ugrađenih u polimernu matricu Jungovog modula  $E_m = 1 \text{ GPa}$ . Odrediti Jungov modul kompozita ukoliko je zapremski udeo silika vlakana  $V_{Sil} = 33\%$ .

#### Rešenje:

U ovom slučaju imamo vlknasti Vojtov kompozit, pa se Jungov modul kompozita računa kao:

$$E_k = E_{Sil} V_{Sil} + E_m V_m = 72 \text{ GPa} \cdot 0,33 + 1 \text{ GPa} \cdot 0,67 = 24,43 \text{ GPa}$$

**20.8** Matematički model za modelovanje elastičnog ponašanja kosti predstavljen je jednačinom:

$$1/E_t = x \cdot (E_m V_m + E_c V_c)^{-1} + (1 - x) \cdot (V_m/E_m + V_c/E_c)$$

gde je  $x$  relativni udeo faze kosti sa paralelno orijentisanim kolagenom, a  $(1 - x)$  sa upravno orijentisanim kolagenom, u odnosu na osu kosti. Izračunati udeo  $x$  ako je Jungov modul kosti  $E_t = 17$  GPa, prepostavljajući da je  $V_m = V_c$  i  $E_m = 100$  GPa i  $E_c = 0,1$  GPa.

**Rešenje:**

Pošto je  $E_m V_m \gg E_c V_c$  i  $V_m/E_m \ll V_c/E_c$ , to je  $x \approx (1/E_t - V_c/E_c)/((E_m V_m)^{-1} - V_c/E_c) \approx 1$ , što znači da je po predloženom modelu udeo faze kosti sa paralelno orijentisanim kolagenom apsolutno dominantan. Međutim, druga izračunavanja govore da se kost ipak ne može modelovati Vojtovim paralelnim modelom. Naime, realno je pokazano da kolagenska faza kosti nosi veće mehaničko opterećenje nego što daje proračun po Vojtovom paralelnom modelu. Zaključak je da u zadatku propisani matematički model nije dobar.

## 23. MEKOTKIVNI IMPLANTATI

**23.1** Najljonski šav je implantiran u trbušnu duplju psa. Šav je uklonjen posle 10 i 20 dana, i izmerena je njegova srednja zatezna čvrstoća, koja je opala za 40% i 50%, respektivno. Koliko će biti potrebno da čvrstoća opadne za 60% u odnosu na inicijalnu čvrstoću? Uzeti da važi zakon eksponencijalnog opadanja zatezne čvrstoće:  $\sigma_t/\sigma_0 = A \exp(-Bt)$ , gde su  $A$  i  $B$  konstante,  $t$  je vreme u danima, dok su  $\sigma_t$  i  $\sigma_0$  čvrstoće u trenutku  $t$  i na samom početku.

**Rešenje:**

Zamenom datih podataka u eksponencijalni zakon opadanja zatezne čvrstoće, dobija se

$$\begin{aligned} 0,6 &= A \exp(-10B), \\ 0,5 &= A \exp(-20B), \end{aligned}$$

čije simultano rešavanje daje

$$\sigma_t/\sigma_0 = 0,72 \exp(-0,018t),$$

odakle se konačno dobija

$$0,4 = 0,72 \exp(-0,018t),$$

odnosno  $t = 33$  dana.

- 23.2** Razmotrimo dren za hiruršku operaciju spoljašnjeg prečnika 4 mm, i debljine 0,5 mm, načinjen od silikonske gume koja ima Poasonov broj 0,4999. Koliko je relativno smanjenje volumena, ukoliko se dren istegne za 20%? Poasonov broj definiše se kao:  $\mu = -\varepsilon_x/\varepsilon_z$  gde su  $\varepsilon_x$  i  $\varepsilon_z$  odgovarajuće relativne deformacije u pravcu  $x$  i  $z$  ose uzorka konstantnog poprečnog preseka na koji u pravcu  $z$  ose deluje sila.

**Rešenje:**

Relativna promena poprečnih linearnih dimenzija cevi drena je  $\varepsilon_x = \mu\varepsilon_z = 0,4999 \cdot 0,2 = 0,09998$ . Unutrašnji prečnik pre istezanja gume je bio  $D_u = 4 \text{ mm} - 1 \text{ mm} = 3 \text{ mm}$ . Volumen cevi drena dužine  $l$  pre istezanja je  $V = (D_s^2 - D_u^2)l\pi/4 = 5,4978l \text{ mm}^2$ , a nakon istezanja:

$$V' = (1 - 0,09998)^2(D_s^2 - D_u^2) \cdot 1,2l\pi/4 = 5,3441l \text{ mm}^2$$

Relativna promena volumena cevi je  $\varepsilon_V = (V' - V)/V \approx 0,028 = 2,8\%$ .

- 23.3** Iskustvo je pokazalo da je silikonska membrana korišćena u implantatima veštačkih silikonskih grudi ispuštala silikonski fluid u okolno tkivo. Izračunati količinu curenja silikona tokom 1 godine. Uzeti da se curenje odigrava kompletno putem difuzije, a ne putem makroskopskih pora. Silikonsko ulje ima gustinu od  $1,5 \text{ g/cm}^3$ , dok silikonska membrana ima debljinu od 1 mm i površinu od  $400 \text{ cm}^2$  kao i difuzionu konstantu  $D = 5 \cdot 10^{-17} \text{ cm}^2/\text{s}$  na telesnoj temperaturi.

**Rešenje:**

Iz I Fikovog zakona difuzije, fluks difundujućih čestica jednak je  $F = -D(dc/dx)$ , gde je  $D$  difuziona konstanta a  $c$  je koncentracija difundujućih čestica. Uzimajući da je koncentracija difundujućih čestica u okolnom tkivu u početku jednaka nuli, tada je broj difundovanih čestica kroz površinu  $S$  membrane jednak

$$F \cdot S = 5 \cdot 10^{-17} \text{ cm}^2/\text{s} \cdot [(1,5 \text{ g/cm}^3 - 0)/0,1 \text{ cm}] \cdot 400 \text{ cm}^2 = 3 \cdot 10^{-13} \text{ g/s} = 9,6 \cdot 10^{-6} \text{ g/god.}$$

Ovako malu količinu silikona telo sasvim dobro toleriše, a problemi mogu nastati pri curenju većih količina silikonskog fluida ili gela kroz pore ili pukotine u silikonskoj membrani, izazvane zamorom materijala.

- 23.4** Izračunati broj jona oslobođenih tokom 1 godine sa platinskog vrha pejsmeka, uzimajući da je njegova površina  $1 \text{ cm}^2$  i da je srednja struja  $10 \mu\text{A}$ .

**Rešenje:**

Platina je dvovalentna,  $\text{Pt} \rightarrow \text{Pt}^{2+} + 2e^-$ , tako da je broj atoma Pt oslobođenih tokom godine jednak

$$\begin{aligned} [10 \cdot 10^{-6} \text{ C/s} \cdot 3,15 \cdot 10^7 \text{ s/god}]/[1,6 \cdot 10^{-19} \text{ C/elektr}] = \\ 1,97 \cdot 10^{21} \text{ elektr/god} = 9,9 \cdot 10^{20} \text{ at/god.} \end{aligned}$$

**23.5** Napon  $\sigma = 1 \text{ MPa}$  potreban je za razvlačenje trake od aorte na 2,3 cm. Nakon  $t_1 = 1\text{h}$  u rastegnutoj poziciji, napon trake opadne na  $\sigma = 0,75 \text{ MPa}$ . Prepostaviti da se fizički parametri aorte ne menjaju tokom eksperimenta. Izračunati vreme relaksacije, pretpostavljajući da je moguće primeniti prost eksponencijalni model. Koji će napon trake biti nakon  $t_2 = 5 \text{ h}$ ?

**Rešenje:**

Prost eksponencijalni model,  $\sigma(t_1) = \sigma_0 \exp(-t_1/\tau)$ , daje  $\tau = -t_1/\ln(\sigma(t_1)/\sigma_0) = 3,48 \text{ h}$ . Posle  $t_2 = 5 \text{ h}$  napon trake će biti  $\sigma(t_2) = \sigma_0 \exp(-t_2/\tau) = 0,24 \text{ MPa}$ .

## 24. ČVRSTOTKIVNI IMPLANTATI

**24.1** Od bioinženjera je traženo da načini kompozitni materijal od ugljeničnih vlakana i PMMA gume (kao matrice) za frakturnu pločicu. Na raspolaganju su mu sledeći podaci o Jungovom modulu ( $E$ ), gustini ( $\rho$ ) i zateznoj čvrstoći ( $\sigma$ ) dva materijala:

Materijal	$E \text{ (GPa)}$	$\rho \text{ (g/cm}^3\text{)}$	$\sigma \text{ (MPa)}$
Ugljenična vlakna	250	1,95	5000
PMMA	3	1,20	70

- (a) Koja je količina ugljeničnih vlakana potrebna da se načini ploča Jungovog modula od 100 GPa? Uzeti da su vlakna orijentisana duž pravca delovanja test opterećenja.
- (b) Koliko ugljeničnih vlakana je potrebno ako je prečnik vlakna  $10 \mu\text{m}$  a površina poprečnog preseka uzorka  $1 \text{ cm}^2$ ?
- (c) Koliki mehanički napon može izdržati ovaj kompozit u pravcu vlakana?

**Rešenje:**

(a) Koristeći Vojtov model vlaknastog kompozita, sa jednostavnim pravilom mešavine

$$E_k = E_p V_p + E_m (1 - V_p),$$

dobija se

$$V_p = (E_k - E_m)/(E_p - E_m) = 0,39 \text{ (39 vol%).}$$

(b) Odnos zapremina  $N$  vlakana poluprečnika  $r$  i kompozita dužine  $L$ , jednak je

$$S_p L / S_k L = [\pi r^2 N L] / [1 \text{ cm}^2 L] = 0,39$$

odakle je broj ugljeničnih vlakana

$$N = 0,39 / \pi (10 \cdot 10^{-4})^2 = 1,24 \cdot 10^5.$$

(c) Za Vojtov model važi

$$\sigma_k = \sigma_p V_p + \sigma_m V_m$$

odakle je

$$\sigma_k = 5000 \cdot 0,39 + 70 \cdot 0,61 \approx 2 \text{ GPa.}$$

Inače, vlakno se može istegnuti samo 2% ( $5.000/250.000$ ) pri svom maksimalnom opterećenju, dok se PMMA može istegnuti 2,3% ( $70/3.000$ ) pri svom maksimalnom opterećenju. Ustvari, pri toj geometriji i vlakna i matrica su podvrgnuti istom relativnom izduženju kada je kompozit opterećen duž vlakana.

**24.2** Biostaklo je naneto na površinu nerđajućeg čelika radi izrade biokompatibilnih implantata. Nerđajući čelik prečnika 10 mm prekriven je sa slojem biostakla debljine 1 mm. Na raspolaganju su sledeći podaci o Jungovom modulu ( $E$ ), gustini ( $\rho$ ) i zateznoj čvrstoći ( $\sigma$ ) dva materijala:

Materijal	$E$ (GPa)	$\rho$ (g/cm <sup>3</sup> )	$\sigma$ (MPa)
Nerđajući čelik	200	7,9	300
Biostaklo	300	4,5	300 (fraktur)

(a) Koliko je maksimalno relativno izduženje ovog kompozita u aksijalnom pravcu?

(b) Koliko je maksimalno opterećenje koje može nositi kompozit u aksijalnom pravcu?

(c) Koliki je Jungov modul kompozita u aksijalnom pravcu?

(d) Kolika je gustina kompozita?

(e) Dati dva razloga zašto ne biste koristili ovaj kompozit za izradu ortopedskih implantata?

### Rešenje:

(a) U ovom kompozitu izračunavamo maksimalno relativno izduženje ( $\varepsilon$ ) svakog od konstituenata korišćenjem Hukovog zakona ( $\sigma = E\varepsilon$ ) i tabličnih podataka za dva materijala:

$$\varepsilon_{nč} = (300 \cdot 10^6 \text{ N/m}^2) / (200 \cdot 10^9 \text{ N/m}^2) = 1,5 \cdot 10^{-3}$$

$$\varepsilon_{bs} = (300 \cdot 10^6 \text{ N/m}^2) / (300 \cdot 10^9 \text{ N/m}^2) = 1,0 \cdot 10^{-3}$$

pa je maksimalno relativno izduženje ovakve kompozitne strukture manja od te dve vrednosti:

$$\varepsilon_k = 1,0 \cdot 10^{-3}.$$

(b) Površina poprečnog preseka svakog konstituenta je

$$S_{nč} = \pi \cdot (5 \cdot 10^{-3} \text{ m})^2 = 25\pi \cdot 10^{-6} \text{ m}^2$$

$$S_{bs} = \pi \cdot (6 \cdot 10^{-3} \text{ m})^2 - \pi(5 \cdot 10^{-3} \text{ m})^2 = 11\pi \cdot 10^{-6} \text{ m}^2.$$

Onda je maksimalno opterećenje koje može nositi ovakva kompozitna struktura jednako zbiru maksimalnih opterećenja koje mogu nositi konstituenti:

$$F_k = F_{nc} + F_{bs} = 300 \cdot 10^6 \text{ N/m}^2 \cdot 25\pi \cdot 10^{-6} \text{ m}^2 + 300 \cdot 10^6 \text{ N/m}^2 \cdot 11\pi \cdot 10^{-6} \text{ m}^2 \approx 34 \text{ kN.}$$

(c) Prema Vojtovom pravilu mešavine Jungov modul kompozitne strukture je

$$E_k = E_{nc} V_{nc} + E_{bs} V_{bs} = 200 \text{ GPa} \cdot 25\pi/36\pi + 300 \text{ GPa} \cdot 11\pi/36\pi \approx 230 \text{ GPa.}$$

(d) Prema Vojtovom pravilu mešavine gustina kompozitne strukture je

$$\rho_k = \rho_{nc} V_{nc} + \rho_{bs} V_{bs} = 7,9 \text{ g/cm}^3 \cdot 25\pi/36\pi + 4,5 \text{ g/cm}^3 \cdot 11\pi/36\pi \approx 6,85 \text{ g/cm}^3.$$

(e) Teško je dobiti savršenu vezu između nerđajućeg čelika i biostakla zbog razlika u koeficijentima termičkog širenja; usto, biostaklo je krto pa će umereno opterećenje na savijanje prouzrokovati razvoj pukotina i mikropukotina u biostaklu. Osim toga, veza između (tvrdog) koštanog tkiva i biostakla ne može se dugotrajno ostvariti bez daljeg slabljenja biostakla, pošto je neprekidno rastvaranje njegovog površinskog filma suštinsko za ostvarivanje veze koštanog tkiva i biostakla (podsetimo se da se koštane ćelije obnavljaju).

**24.3** Izračunati verovatnoću da komplikacije kod veštački ugrađenog kuka, nastanu tokom prve godine nakon ugradnje, i tokom 10 godina nakon ugradnje. Verovatnoće nastanka različitih komplikacija po uzrocima su:

Infekcije:  $f_l(t) = 0,05\exp(-t)$ ;

Rasklačivanje:  $f_{LO}(t) = 0,01\exp(+0,2t)$ ;

Frakturna:  $f_{FR}(t) = 0,01\exp(+0,12t)$ ;

Habanje:  $f_w(t) = 0,01\exp(+0,1t)$ ;

Hirurška greška:  $f_{SE}(t) = 0,001$ ;

gde je vreme  $t$  dato u godinama.

#### Rešenje:

Verovatnoću nalazimo primenom metode suprotnog događaja. Verovatnoća da komplikacije nastanu tokom  $n$ -te godine je

$$p(n) = 1 - (1 - f_l(n))(1 - f_{LO}(n))(1 - f_{FR}(n))(1 - f_w(n))(1 - f_{SE}(n)),$$

tako da je verovatnoća da komplikacije nastanu tokom prve godine  $p(1) = 0,0529$ , a tokom prvih deset godina  $p(10) = 0,13$ .

**24.4** Veoma često postoje teškoće u skidanju koštanog cementasa kostiju nogu, prilikom rađenja revizije kod ugrađenog veštačkog kuka. Tehnika koja se primenjuje je tzv. ESWL (extracorporeal shock wave lithotripsy), nehirurška me-

toda originalno razvijena u cilju razbijanja kamena u bubregu snažnim ultrazvučnim impulsima. Izračunati odnos jačine zvučnog talasa nakon prolaska kroz  $d_1 = 5$  cm mišićne i  $d_2 = 2$  cm koštane sredine, i njegove početne jačine. Koeficijenti slabljenja intenziteta zvučnog talasa za mišić i kost su respektivno  $\alpha_1 = 2,5 \text{ dB/cm}$  i  $\alpha_2 = 15 \text{ dB/cm}$ .

**REŠENJE:**

Prostirući se kroz sredinu 1 (mišić) i sredinu 2 (kost), jačina ultrazvuka opada sa faktorom:

$$10^{(-\alpha_1 d_1 - \alpha_2 d_2)/10} = 10^{-4,2} = 6,3 \cdot 10^{-5}.$$

**24.5** Da bi se popunila cilindirčna šupljina na zubu prečnika 2 mm, i dubine 4 mm, može se koristiti amalgam, kao i akrilna smola. Smatrali da je moguća temperaturna varijacija na mestu zuba  $50^\circ\text{C}$ . Modul elastičnosti amalgama iznosi  $E_{\text{am}} = 20 \text{ GPa}$ , a smole  $E_{\text{as}} = 2,5 \text{ GPa}$ . Modul elastičnosti zubne kosti je  $E_{\text{dentin}} = 18 \text{ GPa}$ , dok su temperaturski koeficijenti širenja amalgama, akrilne smole i zubne kosti respektivno  $\alpha_{\text{am}} = 25 \cdot 10^{-6} \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $\alpha_{\text{as}} = 2,5 \cdot 10^{-6} \text{ }^\circ\text{C}$  i  $\alpha_{\text{dentin}} = 11 \cdot 10^{-6} \text{ }^\circ\text{C}$ , dok je Poissonov koeficijent za oba materijala plombe  $\nu = 1/3$ . Izračunati (a) promenu zapremine za zadatu temperaturnu varijaciju; (b) silu pritiska plombe na zubnu kost, primenom jednodimenzionalnog modela; (c) silu pritiska plombe na zubnu kost, primenom trodimenzionalnog modela.

**Rešenje:**

(a) Promena zapremine sa temperaturom za neko telo iznosi  $\Delta V = 3\alpha V_0 \Delta T$ . Tražene promene za amalgam odnosno akrilnu smolu su

$$\Delta V_{\text{am}} = 3\alpha_{\text{am}} V_0 \Delta T = 0,03 \text{ mm}^2.$$

$$\Delta V_{\text{as}} = 3\alpha_{\text{as}} V_0 \Delta T = 0,14 \text{ mm}^2$$

(b) Širenje plombe posmatramo kao jednostavnu jednomeničionalnu deformaciju koja nastaje usled razlike u koeficijentima širenja. Ta deformacija jednaka je

$$\Delta\varepsilon = (\alpha_{\text{am/as}} - \alpha_{\text{dentin}}) \Delta T$$

dok je odgovarajuća sila jednaka proizvodu mehaničkog napona na plombi i površine plombe (omotača šupljeg cilindra  $S=Dh\pi$ , gde je  $D$  prečnik, a  $h$  dubina plombe):

$$F = \sigma S = ES\Delta\varepsilon$$

tako da je u slučaju amalgamske plombe  $F_{\text{am}} = 420 \text{ N}$ , a u slučaju plombe od akrilne smole  $F_{\text{as}} = 228 \text{ N}$ .

(c) Posmatrajmo Zub kao cilindričnu šupljinu debljine zida  $t$ , dužine  $L$  i radijusa  $R$ . Trodimenične jednačine koje povezuju deformaciju sa temperaturskom promenom mogu se napisati kao

$$\varepsilon_{fx} = [\sigma_x - \nu_f(\sigma_y + \sigma_z)]/E + \alpha_f \Delta T$$

$$\varepsilon_{fy} = [\sigma_y - \nu_f(\sigma_x + \sigma_z)]/E + \alpha_f \Delta T$$

Napon u pravcu  $z$  ose zanemaruјemo zbog otvorenosti plombe sa jedne strane. Zbog cilindrične geometrije, i izotropnosti materijala, deformacije u pravcu  $x$  i  $y$  ose će biti jednake. U cilindričnoj geometriji posmatraju se tangencijalna i radijalna deformacija koje su u ovom slučaju jednake, i iznose

$$\varepsilon_f = \sigma_f(1 - \nu_f)/E_f + \alpha_f \Delta T$$

gde se indeks  $f$  odnosi se na materijal plombe.

Posmatrajući Zub možemo pretpostaviti da je on u obliku šupljeg cilindra sa tankim zidovima, pa je kod njega radijalna komponenta napona zanemarljiva, dok je tangencijalna komponenta jednaka

$$\varepsilon_t = \sigma_t/E_t + \alpha_t \Delta T$$

gde se indeks  $t$  odnosi na materijal zuba, odnosno na zubnu kost. Pošto između plombe i zuba nema šupljina, mora biti  $\varepsilon_f = \varepsilon_t$  tj.

$$\sigma_f(1 - \nu_f)/E_f + \alpha_f \Delta T = \varepsilon_t = \sigma_t/E_t + \alpha_t \Delta T$$

Kako je  $\sigma_f = F/(2R\pi L)$ , dok je  $\sigma_t = PR/t = (R/t)[F/(2R\pi L)] = F/(2\pi Lt)$ , dobijamo konačno

$$F = [2\pi (\alpha_f - \alpha_t) \Delta TL] / [1/(tE_t) + (1 - \nu_f)/(RE_f)].$$

Konačni izraz daje vrednost sile 528 N za amalgamsku plombu, odnosno 574 N za akrilnu plombu.

## LITERATURA

1. D. Raković, *Fizičke osnove i karakteristike elektrotehničkih materijala* (Elektrotehnički fakultet / Akademska misao, Beograd, 1995 / 1997; 2000).
2. D. Raković, S. Krstić, Lj. Turković, *Savremeni materijali i tehnologije* (Grosknjiga, Beograd, 1997).
3. D. R. Skoog, *The Science and Engineering of Materials* (PWS-KENT, Boston, 1989).
4. D. Raković, *Osnovi biofizike* (Grosknjiga, Beograd, 1994; 1995; IASC & IEFPG, Beograd, 2008).
5. M. V. Volkenstein, *Biofizika* (Nauka, Moskva, 1981).
6. J. B. Park, R. S. Lakes, *Biomaterials, An Introduction*, 2nd ed (Plenum, New York, 1992).

# 30

---

## ISPITNA TEST PITANJA<sup>1</sup>

### 1. UVOD

- 1.1 Moderna primena biomaterijala započinje: (a) 1930-tih; (b) 1950-tih; (c) 1960-tih godina?
- 1.2 U savremenu kategorizaciju biomaterijala spadaju: (a) metalni, keramički i staklasti, sintetički polimerni, kompozitni, biodegradabilni i bioderativativni polimerni, pasivne i bioaktivne prevlake; (b) metalni, keramički, polimerni, kompozitni; (c) metalni, keramički, polimerni, kompozitni, pasivne i bioaktivne prevlake.
- 1.3 Osnovni zahtevi za primenu biomaterijala su: (a) biokompatibilnost, mehanički kontinuitet, netoksičnost, niska cena; (b) biokompatibilnost, mehanički kontinuitet, netoksičnost, niska cena, bioaktivnost, biodegradacija; (c) biokompatibilnost, mehanički kontinuitet, netoksičnost, niska cena, bioaktivnost, biodegradacija, otpornost na infekcije, trombootpornost, propustljivost!
- 1.4 Nauka o biomaterijalima je: (a) visoko specijalizvana; (b) interdisciplinarna; (c) visoko multidisciplinarna?
- 1.5 Etička pitanja u vezi nauke o biomaterijalima su: (a) beznačajna; (b) značajna; (c) veoma značajna?

---

<sup>1</sup>Ovo poglavlje napisali su Dejan Raković i Drago Đorđević.

## 2. ĆELIJE I TKIVA

- 2.1 Maladaptacija je sinonim za distres, oštećenje, poremećaj ili bolest: (a) jeste, (b) nije?
- 2.2 Protoplazma se sastoји od: (a) citoplazme i jedra, (b) organela i citoplazme, (c) jedra i organela?
- 2.3 Savremeni model strukture ćelijske membrane odnosi se na dopunu fluidnog mozaičkog modela membranskim: (a) glikolipidima, (b) proteinima, (c) fosfogliceridima?
- 2.4 Šta morfološki organizuje ćelije u tkiva i organe: (a) međućelijski spojevi, (b) specijalizovani spojevi i integrini, (c) međućelijski spojevi, integrini i kadherini?
- 2.5 Vode u telu ima najviše u: (a) ćeliji, (b) vanćelijskom prostoru, (c) krvi.
- 2.6 Osnovna supstanca ima ulogu: (a) struktturnu, (b) funkcionalnu, (c) vezivnu?
- 2.7 Šta je najopasnije po život: (a) atrofija, (b) hipertrofija, (c) metaplasija, (d) displazija?
- 2.8 Smrt ćelije i tkiva nastaje zbog: (a) deplecije ATP, (b) stvaranja slobodnih radikala, (c) poremećaja kalcijuma, (d) deplecije ATP i stvaranja slobodnih radikala, (e) stvaranja slobodnih radikala i poremećaja kalcijuma, (f) deplecije ATP, stvaranja slobodnih radikala i poremećaja kalcijuma?
- 2.9 Nekroza je tip ćelijske smrti: (a) fiziološki, (b) patološki, (c) fiziološki i patološki?
- 2.10 Koliko postoji vrsta infarkta: (a) jedna, (b) dve, (c) tri?

## 3. INTERAKCIJE SA BIOMATERIJALIMA

- 3.1 Interakcija ćelija sa čvrstim substratom ostvaruje se pomoću: (a) integrinskih receptora, (b) adhezionih proteina, (c) vezivanjem integrinskih receptora za adheziona proteine?
- 3.2 Postoji li takmičenje (kompeticija) među proteinima pri adsorpciji za stranu površinu: (a) postoji, (b) ne postoji, (c) tvrdi se, ali nije dokazano?
- 3.3 Posledice adsorpcije su u promenama: (a) fizičkim, (b) struktturnim, (c) biološkim?
- 3.4 Tri najvažnija adsorptivna proteina su: (a) albumin,  $\beta$ -globulin, fibrinogen; (b) fibronektin, vitronektin, fibrinogen; (c) albumin, IgG, fibrinogen?
- 3.5 Koja vrsta ćelija krvi najbolje dokazuje interakcije ćelija sa biomaterijalom: (a) eritrociti, (b) leukociti, (c) trombociti?
- 3.6 Integrinske vezujuće sekvene označavaju se sa: (a) VCAM, (b) RGD, (c) RGDS?

- 3.7 Smičući napon normalno deluje na vaskularne ćelije: (a) fiziološki, (b) patološki, (c) patofiziološki?
- 3.8 Postoje mehanotransduksijski putevi: (a) klasični, (b) alternativni, (c) obe vrste?
- 3.9 Posledice smičućeg napona na endotelne ćelije ispoljavaju se: (a) na sintezu i sekreciju proteina, (b) na nivo mRNK, (c) na sintezu i sekreciju proteina i nivo mRNK?
- 3.10 Smičući napon deluje na duge kosti putem prenošenja mehaničkih sila kroz: (a) cementnu supstancu, (b) kostne ćelije (c) intersticijumsku tečnost?

#### 4. ZAPALJENJE I ZARASTANJE

- 4.1 Akutno zapaljenje se odlikuje: (a) vaskularnim promenama, (b) infiltracijom zapaljenskim ćelijama, (c) pojavom eksudata?
- 4.2 „Frustirana fagocitoza“ proces koji je: (a) koristan, (b) beskoristan, (c) štetan?
- 4.3 Infiltracija mononuklearnih ćelija je znak zapaljenja: (a) akutnog, (b) subhroničnog, (c) hroničnog?
- 4.4 Histamin i serotonin su medijatori zapaljenja: (a) subakutnog, (b) akutnog, (c) hroničnog?
- 4.5 Sekretorni produkti makrofaga su: (a) enzimi, (b) enzimi i medijatori, (c) enzimi, medijatori i koagulacioni faktori?
- 4.6 Sa ugradnjom implantata prvo se javlja: (a) infiltracija inflamatornih ćelija, (b) adhezija proteina, (c) adhezija monocita?
- 4.7 Reparativni proces u toku implantacije biomaterijala počinje: (a) prvog dana, (b) trećeg dana, (c) sedmog dana, (d) desetog dana?
- 4.8 Remodeliranje tkiva je: (a) završni proces pri formiraju ožiljka, (b) početni proces pri povredi, (c) stalan adaptivni proces?
- 4.9 Usporeno zarastanje rane nastaje najčešće usled: (a) lošeg krvotoka, (b) lokalne infekcije, (c) traume?
- 4.10 Ruptura rane je komplikacija: (a) operativna, (b) postoperativna, (c) zarastanja?

#### 5. IMUNOLOŠKE REAKCIJE

- 5.1 Primarni limfni organi su: (a) slezina, (b) limfni čvorovi, (c) kostna srž i timus?
- 5.2 Urođeni imunitet sadrži: (a) makrofage, mikrofage, NK-ćelije, komplement, (b) limfocite i antitela, (c) imunske komplekse antigen-antitelo?

- 5.3 Stečeni imunitet sadrži: (a) komplement i NK-ćelije, (b) citochine, (c) limfocite?
- 5.4 Klasa MHC I proteina je eksprimovana na limfocitima: (a) Th, (b) Tc, (d) Ts?
- 5.5 APĆ kontaktira sa ćelijama koje sadrže klasu MHC proteina: (a) I, (b) II, (c) I i II?
- 5.6 Antigen, imunogen i alergen se razlikuju uopšteno: (a) da, (b) ne, (c) sinonimi su?
- 5.7 Najčešća reakcija na biomaterijale je: (a) I tipa, (b) II tipa, (c) III tipa, (d) IV tipa?
- 5.8 Granulom stvaraju: (a) leukociti, (b) makrofagi, (c) epiteloidne ćelije?
- 5.9 Reakcija primaoca protiv davaoca može se javiti kod razlika u HLA lokusima: (a) samo velikih, (b) samo velikih i malih, (c) malih i onih u ne-MHC lokusu?
- 5.10 Kalem se odbacuje obično zbog loše: (a) operacije, (b) cirkulacije, (c) infekcije?

## 6. KOAGULACIJA KRVI

- 6.1 Hemostaza je proces u kome dolazi do zaustavljanja: (a) krvavljenja, (b) toka krvi, (c) cirkulacije?
- 6.2 Stvaranje krvnog ugruška je proces koji se naziva: (a) hemostaza, (b) tromboza, (c) embolija?
- 6.3 Glavne komponente hemostaze su: (a) vaskularni endotel, trombociti, koagulaciona kaskada, (b) vaskularni endotel, trombociti, fibrinolitički sistem, (c) trombociti, koagulaciona kaskada, fibrinolitički sistem?
- 6.4 Pri povredi krvnog suda ili tkiva organizam uključuje mehanizam za zaustavljanje krvavljenja: (a) vazokonstrikciju, (b) adsorpciju proteina, (c) agregaciju trombocita?
- 6.5 Endotel fiziološki ispoljava efekte na cirkulaciju: (a) antikoagulacione, anti-trombotičke, fibrinolitičke, (b) prokoagulantne, trombocitne, antifibrinolitičke, (c) prokoagulantne, protrombotičke, profibrinolitičke?
- 6.6 Trombociti normalno luče svoje medijatore iz granula: (a) alfa, gustih, (b) alfa, gustih delta, (c) alfa, gustih, lizozomskih?
- 6.7 Za rast trombocitnog agregata najvažniji su: (a) ADP, trombin, TXA<sub>2</sub>, (b) ADP, ATP, TXA<sub>2</sub>, (c) trombomodulin, trombin, i TXA<sub>2</sub>?
- 6.8 Koagulaciona kaskada se aktivira kontaktom krvi sa oštećenim: (a) endotelom i leukocitima, (b) endotelom i trombocitima, (c) endotelom i tkivom?
- 6.9 Centralnu ulogu u mehanizmima hemostaze i njenim interakcijama sa drugim sistemima ima: (a) protrombin, (b) trombin, (c) fibrin?
- 6.10 Najmoćniji antikoagulacioni faktor je: (a) trombin, (b) antitrombin III, (c) fibrinolizin?

## 7. SISTEMSKA TOKSIČNOST, HIPERSENZITIVNOST, TUMOROGENEZA, INFEKCIJE

- 7.1 Koji metalni joni biomaterijala su toksični: (a) Fe i Zn, (b) Ni, Co, Cr i Hg, (d) Al, Mo, Ti i Cu?
- 7.2 Toksičnost biomaterijala određuje: (a) doza, (b) doza i vreme izlaganja, (c) vreme i mesto izlaganja?
- 7.3 Postoji starosna i individualna dozna zavisnost toksičnosti biomaterijala: (a) da, (b) ne, (c) možda?
- 7.4 Razgradnju i odstranjivanje sastojaka biomaterijala vrše: (a) polimorfonuklearni i monociti, (b) makrofagi i monociti, (c) polimorfonuklearni, tkivni makrofagi i monociti?
- 7.5 Hiperosenzitivnost označava imunsku reakciju: (a) velikog intenziteta prema maloj količini stranih supstanci, (b) velikog intenziteta prema velikoj količini stranih supstanci, (c) velikog intenziteta prema prosečnoj količini stranih supstanci?
- 7.6 Imunološka hipersenzitivnost obuhvata: (a) alergiju i atopiju, (b) alergiju i netoleranciju, (c) atopiju i netoleranciju?
- 7.7 Najjači hemijski alergeni su obično: (a) hapteni, (b) proteini, (c) lipidi?
- 7.8 Najčešći tipovi alergija na biomaterijale su: (a) tip I i II, (b) tip I i III, (c) tip I i IV?
- 7.9 Imunološka senzibilizacija deluje na proces odbacivanja implantata tako što ga: (a) smanjuje, (b) povećava, (c) nema pravila?
- 7.10 Autoimunska reakcija može biti posledica uticaja biomaterijala na imunski sistem: (a) da, (b) ne, (c) tvrdi se, ali nije dokazano?
- 7.11 Tumori nastaju kao rezultat poremećaja procesa ćelijske: (a) proliferacije, diferencijacije i maturacije, (b) proliferacije i diferencijacije, (c) proliferacije, diferencijacije i apoptoze?
- 7.12 U proces onkogeneze uključena je i grupa gena koja reguliše: (a) proliferaciju ćelije, (b) reparaciju oštećene DNK, (c) nekrozu ćelije?
- 7.13 Metod za određivanje tumorske klonalnosti uključuje analizu koja se naziva: (a) HUMARA, (b) HUMANA, (c) ELISA?
- 7.14 Maligni tumori vezivnog tkiva nazivaju se: (a) karcinomi, (b) sarkomi, (c) hondromi?
- 7.15 Rast neoplazme je regulisan: (a) faktorima rasta, (b) citokinima (c) nije regulisan?
- 7.16 Pojava tumora na granici sa implantatom siguran je dokaz da biomaterijal uzrokuje tumor: (a) da, (b) ne, (c) možda?
- 7.17 Neoplazme se obično pojavljuju zavisno od vrste biomaterijala i mesta ugradnje: (a) tačno, (b) moguće, (c) netačno?
- 7.18 Tumorogeneza se pojavljuje posle mnogo godina zahvaljujući: (a) padu otpornosti organizma, (b) toksičnim oštećenjima, (c) akumulaciji uzastopnih genetskih oštećenja?

- 7.19 Koji su faktori značajniji za nastanak implantat-indukovanih tumora: (a) fizički efekti, (b) hemijske karakteristike, (c) biološka svojstva stranih tela?
- 7.20 Fibrozna kapsula stranog tela je značajna za razvoj neoplazije: (a) da, (b) ne, (c) moguće?
- 7.21 Normalna mikroflora obuhvata mikroorganizme koji su: (a) patogeni, (b) uslovno patogeni, (c) nepatogeni?
- 7.22 U sastavu normalne mikroflore zdravih najzastupljeniji je: (a) *Staphylococcus epidermalis*, (b) *Staphylococcus aureus*, (c) *Propionibacterium acnes*?
- 7.23 Infekcije koje prate implantaciju biomaterijala u telu najčešće su: (a) virusne i bakterijske infekcije, (b) oportunističke infekcije, (c) gljivične infekcije?
- 7.24 Sklonost udruživanju ili formiranju kolonija, zvanih *biofilmovi*, imaju: (a) virusi, (b) bakterije, (c) virusi i bakterije?
- 7.25 Biofilm najčešće formiraju pripadnici: (a) normalne flore, (b) patogeni, (c) paraziti?
- 7.26 Mikrokolonije biofilmova grade oblike slične: (a) kulama i pečurkama, (b) stogovima i kapljicama, (c) kuglicama i lopticama?
- 7.27 Za suzbijanje propratne infekcije implantata koriste se: (a) antibiotici i ultrazvuk, (b) antibiotici i UV-zraci, (c) antibiotici, ultrazvuk i veoma slaba elektromagnetna polja jednosmerne struje?
- 7.28 Pored upotrebe sistemske terapije antibioticima i drugih baktericidnih sredstava, protiv infekcija implantata koristi se: (a) oslobođanje antibiotika i drugih baktericidnih sredstava iz biomaterijala i ispiranje rane, (b) lokalna primena antibiotika i UV-zraka, (c) sterilizacija instrumenata i primena antibiotika?
- 7.29 Uzročnici najtvrdokornijih infekcija pridruženih implantiranim biomaterijalima su: (a) mikrobi osjetljivi na klasične antibiotike, (b) rezistentni sojevi na antibiotike, (c) gljivice i paraziti?
- 7.30 Dosad je poznato nekoliko mehanizama rezistencije na antibiotike, od kojih su glavna: (a) dva, (b) tri, (c) četiri?

## **8. BIOLOŠKA KARAKTERIZACIJA BIOMATERIJALA**

- 8.1 Procena biomaterijala na mestu primene se vrši zbog: (a) biokompatibilnosti i adekvatnog funkcionisanja, (b) inertnosti i normalnog funkcionisanja, (c) nepostojanja interakcije?
- 8.2 Za procenu bikompatibilnosti materijala dovoljni su rezultati testova: (a) *in vitro*, (b) *in vivo*, (c) *in vitro* i *in vivo*?
- 8.3 Toksični materijal je svaki materijal koji ispušta dovoljnu količinu hemikalije koja inhibicijom ključnih metaboličkih tokova, može, na direktni ili indirektni način, da: (a) poremeti funkcije ćelije, (b) ošteti ćeliju, (c) ubije ćeliju?

- 8.4 Zvanično opšteprihvaćena lista standardizovanih testova za procenu kompatibilnosti krvi sa biomaterijalima: (a) postoji, (b) ne postoji, (c) razmatra se?
- 8.5 Virhovljevu trijadu čine faktori koji stvaraju predispoziciju za koagulaciju krvi i formiranje tromba: (a) povreda endotela krvnog suda, poremećen krvotok i hiperkoagulabilnost krvi, (b) endotel, krvotok i koagulacija krvi, (c) površina, normalan krvotok i tromboza?
- 8.6 Merenje veka trombocita vrši se foto kamerama ili radioizotopskim obeležavanjem krvnih elemenata: (a) tačno, (b) još se ispituje, (c) postoje standarnije tehnike?
- 8.7 Sve nesavršenosti površine, naprsline, vazdušni procepi ili dr. mogu indukovati stvaranje tromba u odsustvu heparina: (a) tačno, (b) netačno, (c) nije dokazano?
- 8.8 Hijreahija testiranja, koja počinje *in vitro* sistemima i nastavlja *in situ* implantatima, pored ostalog, zahteva dugoročni implantat kod: (a) zečeva, (b) pacova, (c) pasa?
- 8.9 Svrha bezbedonosnih testova novih uređaja i biomaterijala na životinjama je, pre svega, otkrivanje posledica: (a) pozitivnih, (b) negativnih, (c) pozitivnih i negativnih?
- 8.10 U praktičnom smislu preporučuje se upotreba virtuelnih (kompjuterskih i drugih) umesto stvarnih laboratorija u eksperimentalnom izučavanju života uopšte: (a) da, (b) ne, (c) to je samo predlog?

## 9. DEGRADACIJA BIOMATERIJALA

- 9.1 Biodegradacija je hemijsko razaranje materijala od strane živih organizama koje vodi: (a) promenama fizičkih svojstava, (b) ne menja bitno fizička svojstva, (c) nijedan odgovor nije tačan?
- 9.2 Koje ćelije vrše degradaciju biomaterijala u organizmu: (a) makrofagi, (b) mikrofagi, (c) fagociti?
- 9.3 Degradacija biomaterijala uglavnom se sastoji od procesa: (a) hidrolize, (b) oksidacije, (c) hidrolize i oksidacije?
- 9.4 Mehaničko raspadanje u biološkoj sredini obuhvata: (a) metale i keramiku, (b) metale, keramiku i staklo, (c) metale, keramiku i polimere?
- 9.5 Na habanje su najotporniji: (a) čisti materijali, (b) legure, (c) hibridni bio-kompoziti?
- 9.6 Prisustvo proteina može uticati na brzinu korozije nekih metala: (a) tačno, (b) netačno, (c) može biti?
- 9.7 Postoji granica opterećenja (granica izdržljivosti) ispod koje pucanje izazvana korozijom neće nastupiti: (a) tačno, (b) netačno, (c) može biti?
- 9.8 Polimeri podložni pucanju usled opterećenja sredine su: (a) poliakrilamid i poliuretan, (b) poliuretan i polisulfon, (c) metilmetakrilat i poliuretan?

- 9.9 Kalcifikacija biomaterijala je proces koji se može zaustaviti upotrebot lekova bez sporednih štetnih efekata po organizam: (a) tačno, (b) netačno, (c) tvrdi se, ali nije dokazano?
- 9.10 Sprečavanje kalcifikacije biomaterijala uglavnom se sprovodi pomoću: (a) predtretmana deterdžentom,  $\text{Al}^{3+}$  ili  $\text{Fe}^{3+}$  i protaminom, te  $\text{Al}^{3+}$  (kontrolisano oslobođanje) i određenim fosfonatima, (b) predtretmana bifosfonatima i protaminom, (c) predtretmana bifosfonatima,  $\text{Al}^{3+}$  (kontrolisano oslobođanje) i protaminom?

## 10. STRUKTURA BIOMATERIJALA

- 10.1 Atomi dvovalentnih elemenata međusobno su povezani: (a) metalnim, (b) jonskim, (c) kovalentnim hemijskim vezama.
- 10.2 Atomi četvorovalentnih elemenata međusobno su povezani: (a) metalnim, (b) jonskim, (c) kovalentnim hemijskim vezama.
- 10.3 Dobru kombinaciju čvrstoće i plastičnosti obezbeđuju: (a) metalne, (b) jon-ske, (c) kovalentne hemijske veze.
- 10.4  $\gamma$ -Fe kristališe po: (a) PCKR, (b) UCKR, (c) dijamantskom tipu kristalne rešetke.
- 10.5 Fizički ekvivalentne kristalne ravni označavaju se: (a) Milerovim, (b) Bragovim, (c) Blohovim indeksima.
- 10.6 Najznačajnije kristalne nesavršenosti za mehanička svojstva metala su: (a) tačkaste, (b) linijske, (c) površinske?
- 10.7 Sposobnost plastične deformacije metala poboljšava: (a) sitnozrnasta, (b) krupnozrnasta, (c) višefazna struktura?
- 10.8 Idealnu kombinaciju čvrstoće, tvrdoće, plastičnosti i žilavosti imaju: (a) metalni, (b) kompozitni, (c) polimerni materijali.
- 10.9 Elektronska struktura ugljeničnih nanotuba bazirana je na: (a)  $\text{sp}^3$ , (b)  $\text{sp}^2$ , (c) modifikovanoj  $\text{sp}^2$ -hibridizaciji.
- 10.10 Za biološku funkcionalnost proteina odgovorna je: (a) primarna, (b) sekundarna, (c) tercijarna struktura biopolimera.
- 10.11 Osnovne gradivne jedinice proteina su: (a) aminokiseline, (b) nukleotidi, (c) mikrotubule.
- 10.12 Osnovne gradivne jedinice nukleinskih kiselina su: (a) aminokiseline, (b) nukleotidi, (c) mikrotubule.

## 11. FIZIČKA KARAKTERIZACIJA

- 11.1 Molekulska težina molekula biomaterijala može se odrediti: (a) sedimentacijom u centrifugi, (b) rentgenskom difrakcijom, (c) nuklearnom magnetnom rezonancom.
- 11.2 Struktura kristalne rešetke biomaterijala može se odrediti: (a) rentgenskom difrakcijom, (b) neutronskom difrakcijom, (c) elektronском difrakcijom.
- 11.3 Položaj vodonikovih atoma u kristalnoj strukturi biomaterijala može se odrediti: (a) rentgenskom difrakcijom, (b) neutronskom difrakcijom, (c) elektronском difrakcijom.
- 11.4 Površinska struktura biomaterijala sa subatomskom rezolucijom može se odrediti: (a) rentgenskom difrakcijom, (b) neutronskom difrakcijom, (c) elektronском difrakcijom.
- 11.5 Od navedene tri metode najveći stepen rezolucije pokazuje: (a) metalografска, (b) skenirajuća elektronska, (c) transmisiona elektronska mikroskopija.
- 11.6 Pojavu hijerarhije položaja elektronskih, vibracionih i rotacionih energetskih nivoa omogućava: (a) adijabatska, (b) harmonijska, (c) anharmonijska aproksimacija.
- 11.7 Najbržu identifikaciju karakterističnih delova primarne (i sekundarne) strukture biomolekula omogućavaju metode: (a) luminiscencije, (b) rasejanja, (c) apsorpcije svetlosti.
- 11.8 Informativna spektroskopija biomolekula po intenzivnosti, polarizaciji i vremenu deeksitacije jeste: (a) luminiscencija, (b) rasejanje, (c) apsorpcija svetlosti.
- 11.9 Kvalitativno i kvantitativno određivanje sastava biomaterijala omogućava: (a) difrakcija, (b) rasejanje, (c) fluorescencija X-zraka.
- 11.10 Na stepen spiralnosti biopolimera posebno je osetljiva metoda: (a) difrakcije, (b) rasejanja, (c) prelamanja i apsorpcije polarisane svetlosti.
- 11.11 Prostorna struktura nekristalnih biomaterijala može se najlakše odrediti: (a) vibracionom, (b) NMR, (c) elektronском spektroskopijom.
- 11.12 Lokalno okruženje biomolekula može se najlakše odrediti: (a) vibracionom, (b) NMR, (c) elektronском spektroskopijom.
- 11.13 Opšti naziv familija mikroskopskih tehnika zasnovanih na različitim interakcijama sa silama koje deluju na površini ispitivanog materijala jeste: (a) skenirajuća tunelska mikroskopija, (b) skenirajuća elektronska mikroskopija, (c) mikroskopija skenirajućom probom.

## 12. MEHANIČKA KARAKTERIZACIJA

- 12.1 Najznačajniji mehanički pokazatelj biomaterijala sa stanovišta eksploracije, odnosno sposobnosti oblikovanja je: (a) granica elastičnosti, (b) zatezna čvrstoća, (c) Jungov modul.
- 12.2 Najznačajniji mehanički pokazatelj biomaterijala sa stanovišta dozvoljene male dimenzione tolerancije u toku eksploracije je: (a) granica elastičnosti, (b) zatezna čvrstoća, (c) Jungov modul.
- 12.3 Najznačajniji mehanički pokazatelj biomaterijala sa stanovišta konstrukcije i izloženosti velikim naprezanjima je: (a) granica elastičnosti, (b) zatezna čvrstoća, (c) elastično jedinično izduženje.
- 12.4 Najznačajniji mehanički pokazatelj biomaterijala sa stanovišta plastičnosti je: (a) granica elastičnosti, (b) zatezna čvrstoća, (c) procentualno izduženje.
- 12.5 Najznačajniji mehanički pokazatelj biomaterijala sa stanovišta otpornosti na habanje je: (a) granica elastičnosti, (b) zatezna čvrstoća, (c) procentualno izduženje.
- 12.6 Najznačajniji mehanički pokazatelj biomaterijala sa stanovišta otpornosti na udarna opterećenja je: (a) modul preloma, (b) granica izdržljivosti, (c) površina ispod krive mehanički napon-jedinično izduženje.
- 12.7 Najznačajniji mehanički pokazatelj biomaterijala sa stanovišta otpornosti na naizmenična opterećenja je: (a) modul preloma, (b) granica izdržljivosti, (c) površina ispod krive mehanički napon-jedinično izduženje.
- 12.8 Najznačajniji mehanički pokazatelj biomaterijala sa stanovišta čvrstoće materijala sa pukotinama je: (a) modul preloma, (b) granica izdržljivosti, (c) površina ispod krive mehanički napon-jedinično izduženje.
- 12.9 Dijagram napon-jedinično izduženje: (a) zavisi, (b) ne zavisi, (c) jako zavisi od dimenzija epruvete.
- 12.10 Zatezna čvrstoća čelika može se indirektno proceniti preko: (a) granice elastičnosti, (b) Brinelove tvrdoće, (c) Jungovog modula.
- 12.11 Za određivanje polikristalnih i/ili višefaznih makroskopskih nesavršenosti u biomaterijalu pretežno se primenjuje: (a) metalografska mikroskopija, (b) elektronska mikroskopija, (c) radiografska defektoskopija.
- 12.12 Makroskopski defekti u strukturi biomaterijala mogu se odrediti: (a) metalografskom mikroskopijom, (b) elektronskom mikroskopijom, (c) radiografskom defektoskopijom.
- 12.13 Najbolji odnos  $\sigma_m/\rho$  imaju: (a) metalni, (b) polimerni, (c) kompozitni biomaterijali.

## 13. MODELIRANJE BIOMATERIJALA I TKIVA

- 13.1 Mehanički napon je: (a) skalarna, (b) vektorska, (c) tenzorska veličina.

- 13.2 Generalno deformacije mogu biti: (a) male i velike, (b) normalne i smičuće, (c) logaritamske.
- 13.3 Male deformacije su: (a) slabe i jake, (b) normalne i smičuće, (c) logaritamske.
- 13.4 Velike deformacije su: (a) slabe i jake, (b) normalne i smičuće, (c) logaritamske.
- 13.5 Princip virtualnog rada: (a) uključuje, (b) implicitno uključuje, (c) ne uključuje materijalne karakteristike sredine.
- 13.6 Veza između napona i deformacija opisana je: (a) konstitutivnim, (b) virtualnim, (c) logaritamskim relacijama.
- 13.7 Osnovne relacije na kojima počiva metoda konačnih elemenata daju se u: (a) adijabatskoj, (b) harmonijskoj, (c) izoparametarskoj formulaciji.
- 13.8 Matrica krutosti sistema u metodi konačnih elemenata je: (a) simetrična, (b) antisimetrična, (c) asimetrična.
- 13.9 Optimalno rešenje modeliranja preloma kuka sa ugrađenim implantatom korišćenjem programa za konačne elemente jeste ono sa korišćenjem: (a) 5, (b) 3, (c) 2 zavrtnja.
- 13.10 Model konačnih elemenata koji se koristi za simuliranje mehaničkog ponašanja biološke membrane koristi: (a) linearne, (b) nelinearne, (c) stacionarne konstitutivne relacije.
- 13.11 Mehanički uticaj surfaktanta na pokrivajuću membranu ostvaruje se preko površinskog napona koji tokom promene površine može imati: (a) nelinearnu, (b) linearnu, (c) histerezisnu karakteristiku.
- 13.12 Ukoliko su stimulisani dovoljno visokom frekvencijom, mišići imaju osobinu da generišu maksimalnu силу koja ostaje konstantna u vremenu, i takvo stanje mišića se naziva: (a) tetanizovanim, (b) netetanizovanim, (c) antitetanizovanim stanjem.
- 13.13 U metodi konačnih elemenata konstitutivna relacija mišića može se definisati: (a) Hakslijevim, (b) Hodžkinovim, (c) Hilovim fenomenološkim materijalnom modelom.

## 14. MODELIRANJE KRVOTOKA, DISAJNIH ORGANA I HRSKAVICE

- 14.1 Osnovne jednačine balansa fluida su: (a) jednačina kontinuiteta, Navije-Stoksove jednačine (b) Navije-Stoksove jednačine, (c) zakon održanja mase.
- 14.2 Jedna od najčešće zastupljenih metoda rešavanja strujanja fluida je: (a) mešovita, (b) adijabatska, (c) harmonijska formulacija.
- 14.3 Jednačina ravnoteže sila za fluid zbog prisustva konvektivnog člana koristi: (a) simetrični, (b) nesimetrični, (c) antisimetrični solver.
- 14.4 U jednačinama balansa konačnog elementa za fluid pojavljuju se: (a) matrice masa, konvektivnog člana, viskoznog člana i gradijenta pritiska i vektori zapreminske i površinske sila; (b) matrice masa, konvektivnog člana i

- gradijenta pritiska i vektori zapreminske sila; (c) matrice masa, viskoznog člana i gradijenta pritiska i vektori površinskih sila.
- 14.5 Za solid-fluid interakciju koristi se: (a) jako sprezanje, (b) slabo sprezanje, (c) jako i slabo sprezanje.
- 14.6 Za modeliranje solid-fluid interakcije u metodi slabog sprezanja spoljašnjim programom se upravlja rešavanjem problema solida i problema fluida: (a) istovremeno, (b) posebno, (c) naizmenično.
- 14.7 Za razvoj arteroskleroze, dokazani klinički parametri u strujanju krvi za procenu opasnih zona su: (a) niske vrednosti smičućeg napona i pojave oscilatornog indeksa smičućeg napona, (b) niske vrednosti smičućeg napona, (c) pojave oscilatornog indeksa smičućeg napona.
- 14.8 Pri modeliranju najboljeg stenta u krvnom sudu koristi se materijalni model: (a) čelika, (b) nitinola, (c) titana.
- 14.9 Kao posledica kompleksne geometrije i složenih uslova strujanja vazduha koji karakterišu uzastopne bifurkacije, u plućima se javlja: (a) taloženje čestica i raspršivanje aerosola, (b) taloženje čestica, (c) raspršivanje aerosola – što može značajno pomoći ranom otkrivanju mnogih bolesti respiratornog sistema.
- 14.10 Hrskavica se modelira kao porozna sredina sa: (a) solidom, (b) spregnutim solidom i fluidom, (c) fluidom.

## **15. MODELIRANJE MIKROMEHANIKE KOD ČESTIČNO KOMPOZITNIH BIOMATERIJALA**

- 15.1 Metoda Halpin-Tsai za ispitivanje mehaničkih karakteristika kompozita je: (a) poluempirijska; (b) analitička; (c) numerička metoda?
- 15.2 Metoda konačnih elemenata za ispitivanje mehaničkih karakteristika kompozita je: (a) poluempirijska; (b) analitička; (c) numerička metoda?
- 15.3 U mikromehanici kompozitnih materijala primenjuju se: (a) analitičke; (b) analitičke i numeričke; (c) analitičke, numeričke i poluempirijske metode?
- 15.4 Najbolji numerički model čestičnog kompozita HAp/PLLA je sa: (a) SC; (b) FCC; (c) SCF rasporedom sferičnih HAp čestica?
- 15.5 Modeliranja mikrostrukture čestičnih kompozita primenom reprezentativnog zapremskog elementa (RZE) čestica usvajaju: (a) uređeni; (b) poluuređeni; (c) neuređeni raspored čestica u matrici?

## **16. NANOMEHANIČKA KARAKTERIZACIJA**

- 16.1 Nanoindentacija je metoda visoke rezolucije koja se poslednjih godina intenzivno primenjuje kod određivanja mehaničkih karakteristika biomaterijala

- kao što su: (a) biokeramike i bioaktivne kompozitne prevlake; (b) polietileni visoke molarne mase; (c) polietileni visoke molarne mase, biokeramike i bioaktivne kompozitne prevlake?
- 16.2 Jednaku geometrijsku konstantu imaju indenteri: (a) tipa Berkovich i oblika kupe; (b) tipa Berkovich i oblika piramide; (c) tipa Berkovich i oblika lopte?
- 16.3 Na kom minimalnom rastojanju od mesta indentacije može da se nalazi keramička faza, a da njen uticaj na mereni elastični odgovor matrice bude neznatan: (a) 10; (b) 15; (c) 25 puta većem od veličine maksimalne dubine utiskivanja?
- 16.4 Zavisnost sile od dubine utiskivanja nanoindentera, moguće je opisati: (a) Kikovim; (b) proširenim Kikovim; (c) Hukovim zakonom?
- 16.5 Određivanja elasto-plastičnog ponašanja materijala samo na osnovu eksperimentalnih podataka dobijenih njihovom indentacijom verifikovana su za: (a) metale; (b) polimere; (c) biokompozite?

## 17. METALNI BIOMATERIJALI

- 17.1 Ojačavanje metala umrežavanjem dislokacija postiže se: (a) hladnom deformacijom, (b) termičkom obradom, (c) legiranjem.
- 17.2 Ojačavanje metala granicom polikristalnih zrna postiže se: (a) hladnom deformacijom, (b) termičkom obradom, (c) legiranjem.
- 17.3 Ojačavanje metala tačkastim defektima postiže se: (a) hladnom deformacijom, (b) termičkom obradom, (c) legiranjem.
- 17.4 Ojačavanje metala granicom faza postiže se: (a) hladnom deformacijom, (b) termičkom obradom, (c) legiranjem.
- 17.5 Delimično ili potpuno eliminisanje efekata deformacije na hladno, uz zadrzavanje male hrapavosti i odlične dimenzione tolerancije metala postiže se: (a) žarenjem, (b) kaljenjem, (c) starenjem.
- 17.6 Bakarne i aluminijumske žice ojačavaju se: (a) hladnom deformacijom, (b) termičkom obradom, (c) legiranjem.
- 17.7 Pravilo Čvorinova određuje: (a) vreme livenja, (b) vreme žarenja, (c) vreme kaljenja.
- 17.8 Relativna količina faza prisutnih u leguri određuje se: (a) pravilom poluge, (b) Gibsovim pravilom, (c) pravilom Čvorinova.
- 17.9 Eutektoidna transformacija u čvrstom stanju sreće se kod: (a) livova, (b) lemove, (c) čelika.
- 17.10 Odnos matrice i precipitata neophodan za ojačavanje legure granicama prisutnih faza je: (a) matrica meka i plastična, precipitat tvrd i krt, (b) precipitat mek i plastičan, matrica tvrda i krta, (c) matrica meka i krta, precipitat tvrd i plastičan.
- 17.11 Mikrokonstituent kod čelika je: (a) perlit, (b) beinit, (c) martenzit.

- 17.12 Intermetalno jedinjenje kod čelika je: (a) perlit, (b) beinit, (c) cementit.
- 17.13 Najtvrdja faza u čelicima je: (a) perlit, (b) beinit, (c) martenzit.
- 17.14 Najbolju strukturu za konstrukcione materijale imaju: (a) nadeutektoidni, (b) podeutektoidni, (c) martenzitni čelici.
- 17.15 Među metalnim biomaterijalima najbolje karakteristike imaju: (a) Ti i Ti-legure, (b) CoCr-legure, (c) nerđajući čelici.
- 17.16 Ti i Ti-legure, radi sprečavanja razvoja korozije, pasiviziraju se: (a) formiranjem tankog čvrstog neporoznog oksidnog sloja, (b) formiranjem tankog čvrstog neporoznog hloridnog sloja, (c) formiranjem tankog čvrstog neporoznog nitridnog sloja.
- 17.17 CoCr-legure, radi sprečavanja razvoja korozije, pasiviziraju se: (a) formiranjem tankog čvrstog neporoznog oksidnog sloja, (b) formiranjem tankog čvrstog neporoznog hloridnog sloja, (c) formiranjem tankog čvrstog neporoznog nitridnog sloja.
- 17.18 Nerđajući legirani čelici, radi sprečavanja razvoja korozije, pasiviziraju se: (a) formiranjem tankog čvrstog neporoznog oksidnog sloja, (b) formiranjem tankog čvrstog neporoznog hloridnog sloja, (c) formiranjem tankog čvrstog neporoznog nitridnog sloja.
- 17.19 Grafik oblasti korozije, pasivnosti i imuniteta u zavisnosti od potencijala elektrode i pH sredine naziva se: (a) Puarbaov dijagram, (b) Nernstov dijagram, (c) polarizacioni dijagram.
- 17.20 Stomatološki amalgam ima pasivne faze samo u: (a) neutralnoj pH sredini, (b) kiseloj pH sredini, (c) baznoj pH sredini.
- 17.21 Ti i Ti-legure se termički obrađuju u: (a) vazduhu, (b) atmosferi inertnog gasa, (c) atmosferi azota.
- 17.22 CoCr-legure se obrađuju: (a) livenjem, (b) mašinski, (c) termički.
- 17.23 Nerđajući čelici se obrađuju: (a) livenjem i hladnom deformacijom, (b) mašinski i hladnom deformacijom, (c) termički i hladnom deformacijom.
- 17.24 Legirajući element iz nerđajućih čelika na koji je organizam hipersenzitivan jeste: (a) Ni, (b) Cr, (c) Mo.

## **18. KERAMIČKI BIOMATERIJALI**

- 18.1 Keramike su metalna i nemetalna polikristalna jedinjenja sa: (a) jonskim i/ili kovalentnim, (b) jonskim, (c) kovalentnim hemijskim vezama.
- 18.2 Keramike su: (a) tvrde, krte, teškotopljive, neprovodne, (b) žilave, savitljive, lakotopljive, provodne, (c) meke, plastične, teškotopljive, provodne.
- 18.3 Keramike su: (a) osetljive, (b) neosetljive, (c) slabo osetljive na pukotine, starenje i razgradnju.

- 18.4 U bioinertne keramike spadaju: (a) alumina, cirkonija, pirolitički ugljenik, (b) biostaklo, hidroksiapatit (niskotemp. sinter.), (c) trikalcijum fosfat, hidroksiapatit (visokotemp. sinter.).
- 18.5 U bioaktivne keramike spadaju: (a) alumina, cirkonija, pirolitički ugljenik, (b) biostaklo, hidroksiapatit (niskotemp. sinter.), (c) trikalcijum fosfat, hidroksiapatit (visokotemp. sinter.).
- 18.6 U biodegradabilne keramike spadaju: (a) alumina, cirkonija, pirolitički ugljenik, (b) biostaklo, hidroksiapatit (niskotemp. sinter.), (c) trikalcijum fosfat, hidroksiapatit (visokotemp. sinter.).
- 18.7 Pirolitički ugljenik je: (a) kristalni, (b) kvazikristalni, (c) staklasti materijal.
- 18.8 Od alumine i cirkonije izrađuje se: (a) glava/lopta femoralne komponente, (b) potpora femoralne komponente, (c) čašica acetabularne komponente veštačkog kuka.
- 18.9 Pirolitički ugljenik koristi se za: (a) srčane zaliske, (b) krvne sudove, (c) inkapsulaciju i isporuku lekova.
- 18.10 Hidroksiapatiti se koriste za: (a) koštane implantate, (b) mekotkvivne implantate, (c) potporu veštačkog kuka.
- 18.11 Kalcijum-fosfatne prevlake koriste se za: (a) oblaganje koštanih implantata, (b) oblaganje mekotkvivnih implantata, (c) potporu veštačkog kuka.

## 19. POLIMERNI MOLEKULI I BIOMATERIJALI

- 19.1 Polimer je: (a) jedan, (b) dva, (c) više makromolekula sa visokim stepenom polimerizacije.
- 19.2 Polimerni materijali po pravilu sadrže: (a) jedan, (b) dva, (c) više makromolekula sa visokim stepenom polimerizacije.
- 19.3 Polimerizacija malih molekula odigrava se u procesima: (a) kondenzacije ili adicije, (b) kondenzacije, (c) adicije.
- 19.4 Polimerni lanci mogu biti: (a) linearni, razgranati, (b) linearni, umreženi, (c) linearni, razgranati, umreženi.
- 19.5 Na osnovu rasporeda mera u lancu razlikuju se: (a) homopolimeri, heteropolimeri, (b) homopolimeri, kopolimeri, (c) heteropolimeri, kopolimeri.
- 19.6 Kopolimeri mogu biti: (a) pravilnog, slučajnog, blok-rasporeda, (b) pravilnog, blok-rasporeda, (c) slučajnog, blok-rasporeda.
- 19.7 Bočne grupe u polimeru raspoređuju se: (a) izotaktički, ataktički, (b) sindiotaktički, ataktički, (c) izotaktički, sindiotaktički, ataktički.
- 19.8 Nadmolekularna struktura polimera može biti: (a) kristalna, amorfna, tečnokristalna, gumasta, (b) kristalna, amorfna, gumasta, viskofluidna, (c) kristalna, amorfna, semikristalna, tečnokristalna, gumasta, viskofluidna.
- 19.9 Osnovna jedinica polimernog kristalnog stanja je: (a) lamela, (b) micela.

- 19.10 Osnovna jedinica polimernog semikristalnog stanja je: (a) lamela, (b) mice-la.
- 19.11 Temperatura staklastog prelaza je: (a) niskotemperaturska granica gumastog stanja, (b) visokotemperaturska granica gumastog stanja.
- 19.12 Temperatura tečenja je: (a) niskotemperaturska granica gumastog stanja, (b) visokotemperaturska granica gumastog stanja.
- 19.13 Polimerni materijali dele se na: (a) duroplaste, elastomere, (b) termoplaste, elastomere, (c) termoplaste, duroplaste, elastomere.
- 19.14 Duži polimerni lanci: (a) povećavaju, (b) smanjuju, (c) ne menjaju jačinu polimernog materijala.
- 19.15 Najviše korišćeni materijali za sintetičke vaskularne kaleme su: (a) polietilentereftalat (dakron) i politetrafluoretlen (teflon), (b) najlon i poliester, (c) polipropilen i silikonska guma.
- 19.16 Za izradu neresorbibilnih šavova najviše se koriste: (a) najlon, polietilentereftalat, polipropilen, (b) ketgat, pamuk, svila, (c) poliglikolid, glikolid/laktid kopolimer.
- 19.17 Za ušne implantate kada se zahteva čvrsta fiksacija pomoću urastanja tkiva najčešće se koristi: (a) teflon, (b) porozni polietilen, (c) silikonska guma.
- 19.18 Intraokularna sočiva prave se od transparentnog: (a) polikarbonata, (b) poli(metil-metakrilata), (c) hidrogela.
- 19.19 Od UHMWPE-polietilena izrađuje se: (a) glava/lopta femoralne komponente, (b) potpora femoralne komponente, (c) čašica acetabularne komponente veštačkog kuka.

## **20. KOMPOZITNI BIOMATERIJALI**

- 20.1 Najvažniji kompozitni biomaterijali su: (a) HAp-polimer, (b) CP-metal, (c) HAp-TCP.
- 20.2 Glavna prednost keramika/polimer kompozitnih biomaterijala je da su naj-približniji prirodnom koštanom tkivu po: (a) mehaničkim, (b) fizičkim, (c) hemijskim osobinama.
- 20.3 Glavna mana keramika-polimer kompozitnih biomaterijala je: (a) toksičnost polimera i njegova postojanost tokom starenja, (b) toksičnost polimera i njegova nepostojanost tokom starenja, (c) mehanička nekompatibilnost prirodnom koštanom tkivu.
- 20.4 Keramika-polimer kompozitni biomaterijali dele se na: (a) bioneresorbibilne i bioresorbibilne, (b) biotoksične i bionetoksične, (c) biokompatibilne i biome-kompatibilne.
- 20.5 Na strukturu-svojstva-primenu kompozitnih biomaterijala moguće je uticati od: (a) submolekulskog do makro, (b) submolekulskog do intermolekulskog, (c) submolekulskog do supermolekulskog nivoa strukturne organizacije.

- 20.6 Najadekvatnija provera svojstava kompozitnih biomaterijala je: (a) *in vitro*, (b) *in vivo*, (c) laboratorijska.
- 20.7 Injektabilni kompozitni biomaterijali značajni su za: (a) rekonstrukciju tvrdog i mekog tkiva, (b) rekonstrukciju tvrdog tkiva, (c) rekonstrukciju mekog tkiva.
- 20.8 Nano-kompozitni biomaterijali karakteristični su po: (a) minimalnoj iritaciji imunskog sistema, (b) prolaznoj iritaciji imunskog sistema, (c) maksimalnoj iritaciji imunskog sistema.
- 20.9 U cilju povećanja efikasnosti kompozitnih biomaterijala mogu se primeniti: (a) fizikalne, (b) hemijske, (c) biološke procedure.

## 21. BIODEGRADABILNI POLIMERI

- 21.1 Tokom biodegradacije dolazi do razgradnje polimera najpre u: (a) kristalnim, (b) amorfnim, (c) tečnokristalnim oblastima.
- 21.2 Najvažnije grupe biodegradabilnih polimera su: (a) polilaktidi i poliglikoli, (b) alifatični i aromatični polikarbonati, (c) poli(alkalni oksalati) i kopolimeri.
- 21.3 Za sterilizaciju bioresorbibilnih polimera nećešće se koristi: (a) UV-zračenje, (b)  $\gamma$ -zračenje, (c) toplota.
- 21.4 Najznačajnije primene biodegradabilnih polimera u nanobiotehnologiji su: (a) konci za ušivanje organa i rana, (b) nosači u inženjerstvu tkiva, (c) sistemi sa kontrolisanim otpuštanjem lekova.

## 22. BIODERIVATIVNI POLIMERI I HIDROGELOVI

- 22.1 Biderivativni polimeri izvedeni su iz prirodnih materijala: (a) biljnog ili životinjskog, (b) životinjskog, (c) biljnog porekla.
- 22.2 Biderivativni materijali najčešće korišćeni kao implantati u živom organizmu su: (a) poliolefini, (b) polistireni, (c) hidrogelovi.
- 22.3 Najčešće korišćeni biderivativni hidrogeli životinjskog porekla su: (a) kolageni, (b) hitozani, (c) alginati.
- 22.4 Najčešće korišćeni biderivativni hidrogeli biljnog porekla su: (a) kolageni, (b) hitozani, (c) alginati.
- 22.5 Najrašireniji i najčešće korišćeni tip kolagena za primene u biomedicini je: (a) tip I, (b) tip II, (c) tip III.
- 22.6 Molekularna struktura tipa I kolagena sadrži: (a) jedan, (b) dva, (c) tri spiralna polipeptidna lanca.
- 22.7 Nadmolekularna struktura tipa I kolagena sadrži: (a) snopove, (b) globule, (c) klupka trospiralnih polipeptidna lanca

- 22.8 Poboljšanje mehaničkih svojstava alginatnih hidrogelova za primenu u biomedicini postiže se: (a) jonski umreženim alginatnim hidrogelovima, (b) kovalentno umreženim alginatnim hidrogelovima, (c) kristalizacijom alginatnih hidrogelova.
- 22.9 Na strukturu-svojstva-primenu hidrogelova moguće je uticati od: (a) submolekulskog do makro, (b) submolekulskog do intermolekulskog, (c) submolekulskog do supermolekulskog nivoa strukturne organizacije.
- 22.10 Na imunološku reakciju organizma najviše utiče: (a) submolekulska, (b) intermolekulska, (c) supermolekulska struktura polimera.
- 22.11 Za meka optička sočiva koriste se sintetski: (a) lipidni, (b) PNIPAAm, (c) PHEMA hidrogelovi.
- 22.12 Kao inteligentni hidrogelovi za prenos aktivnih supstanci, kontrolisano otpuštanje lekova i enkapsulaciju živih ćelija koriste se sintetski: (a) lipidni, (b) PNIPAAm, (c) PHEMA hidrogelovi.
- 22.13 U farmaceutskom inženjerstvu i biomedicini kao nosači aktivne supstance ili biomase koriste se sintetski: (a) lipidni, (b) PNIPAAm, (c) PHEMA hidrogelovi.
- 22.14 Rezultanta dejstva osmotskog pritiska molekula rastvarača koji teži da ekspanduje mrežu, s jedne strane, i elastičnog otpora lanaca mreže istezanju, s druge strane, predstavlja osnovu modela: (a) prerade, (b) degradacije, (c) bubrenja gelova.
- 22.15 Biderivativni materijali su pogodni za izradu: (a) trajnih, (b) resorbabilnih, (c) trajnih i resorbabilnih implantata.
- 22.16 Da bi se ćelije infiltrirale u prostor gde tkivo treba da se regeneriše, pore u materijalima biderivativnih implantata treba da budu veličine: (a) 100 – 400 µm, (b) 10 – 40 µm, (c) 1 – 4 µm.

## 23. MEKOTKIVNI IMPLANTATI

- 23.1 Mekotkivni implantati se klasifikuju na: (a) interagujuće i neinteragujuće sa krvlju, (b) sintetičke i biološke, (c) biokompatibilne i nebiokompatibilne.
- 23.2 Bileaflet-zalisci spadaju u: (a) mehaničke, (b) bioprotetske, (c) sintetičke srčane zaliske?
- 23.3 Za izradu listića i kućišta bileaflet-zalizaka koristi se: (a) pirolitički ugljenik, (b) CoCr-legura, (c) Ti-legura.
- 23.4 Perikardijalne proteze spadaju u: (a) mehaničke, (b) bioprotetske, (c) sintetičke srčane zaliske?
- 23.5 Osnovni problemi mehaničkih srčanih zalizaka jesu: (a) tromboembolija, strukturalno propadanje, destrukcija crvenih krvnih zrnaca i krvnih pločica, (b) kalcifikacija tkiva, raskidanje listića, paravalvularno/perivalvularno cuarenje, (c) tromboembolija, kalcifikacija tkiva, infekcija.

- 23.6 Osnovni problemi bioprotetskih srčanih zalizaka jesu: (a) tromboembolija, strukturalno propadanje, destrukcija crvenih krvnih zrnaca i krvnih pločica, (b) kalcifikacija tkiva, raskidanje listića, paravalvularno/perivalvularno cu- renje, (c) tromboembolija, kalcifikacija tkiva, infekcija.
- 23.7 Venski vaskularni kalemi imaju nivo propadanja do: (a) 10%, (b) 20%, (c) 30% nakon 5 godina od implantacije.
- 23.8 Najviše korišćeni materijali za sintetičke vaskularne kaleme jesu: (a) dakron i teflon, (b) najlon i poliester, (c) polipropilen i silikonska guma.
- 23.9 Sintetički vaskularni kalemi srednjeg i malog prečnika imaju gubitak otvo- renosti kroz: (a) nekoliko dana, (b) nekoliko meseci, (c) nekoliko godina na- kon implantacije.
- 23.10 Šavovi najboljih mehaničkih svojstava su: (a) prirodni, (b) sintetički apsor- babilni, (c) sintetički neapsorbabilni.
- 23.11 Za izradu neapsorbabilnih šavova najviše se koriste: (a) najlon, dakron, poli- propilen, (b) ketgat, pamuk, svila, (c) poliglikolid, glikolid-laktid kopolimer.
- 23.12 Za izradu apsorbabilnih šavova najviše se koriste: (a) najlon, dakron, poli- propilen, (b) ketgat, pamuk, svila, (c) poliglikolid, glikolid-laktid kopolimer.
- 23.13 Metalne neapsorbabilne spojnice spadaju u: (a) vezne naprave, (b) vezne okvire, (c) kožne implantate.
- 23.14 Alkil- $\alpha$ -cianokrilati i fibrin koriste se kao: (a) tkivni adhezivi, (b) antikoagu- lanti, (c) antimikrobanti.
- 23.15 Maksilofacialni implantati dele se na: (a) ekstraoralne i intraoralne, (b) osi- kularne i kohlearne, (c) kornealne i intraokularne.
- 23.16 Za ušne implantate kada se zahteva čvrsta fiksacija pomoću urastanja tkiva najčešće se koristi: (a) teflon, (b) porozni polietilen, (c) silikonska guma.
- 23.17 Intraokularna sočiva prave se od transparentnog: (a) polikarbonata, (b) po- limetil-metakrilata, (c) hidrogela.

## 24. ČVRSTOTKIVNI IMPLANTATI

- 24.1 Obnova dugih kostiju odigrava se kroz: (a) primarno, (b) sekundarno, (c) primarno ili sekundarno zarastanje.
- 24.2 Fiksacija preloma kostiju može biti: (a) unutrašnja ili spoljna, (b) unutraš- nja, (c) spoljna.
- 24.3 Spoljna fiksacija preloma kostiju može biti pomoću: (a) igala sa prečagom, (b) žica, zavrtnja, pločica i/ili intramedularnih sredstava, (c) bandažnog za- voja.
- 24.4 Unutrašnja fiksacija preloma kostiju može biti pomoću: (a) igala sa preča- gom, (b) žica, zavrtnja, pločica i/ili intramedularnih sredstava, (c) bandaž- nog zavoja.

- 24.5 Za fiksaciju fragmenata kosti najviše se koriste: (a) krute, (b) fleksibilne, (c) plastične pločice.
- 24.6 Bioresorbibilne pločice za fiksaciju fragmenata kosti izrađuju se od: (a) polilaktida i poliglikola, (b) alifatičnih i aromatičnih polikarbonata, (c) poli(alkalnih oksalata) i kopolimera.
- 24.7 Najuspešnija totalna zamena zglobova ostvarena je kod veštačkog: (a) kuka, (b) kolena, (c) skočnog zglobova.
- 24.8 Glava/lopta femoralne komponente veštačkog kuka izrađuje se od: (a) CoCr-legure, alumine, cirkonije, (b) Ti-legure, alumine, cirkonije, (c) UHMWPE-polietilena, alumine, cirkonije.
- 24.9 Potpora femoralne komponente veštačkog kuka izrađuje se od: (a) CoCr-legure, Ti-legure, (b) CoCr-legure, alumine, (c) Ti-legure, alumine.
- 24.10 Čašica acetabularne komponente veštačkog kuka izrađuje se od: (a) Co-Cr-legure, alumine, (b) CoCr-legure, UHMWPE-polietilena, (c) Ti-legure, UHMWPE-polietilena.
- 24.11 Fiksacija femoralne i acetabularne komponente veštačkog kuka ostvaruje se: (a) PMMA-cementom ili urastanjem kosti, (b) PMMA-cementom, (c) urastanjem kosti.
- 24.12 U rekonstrukcijama kostiju lobanje koriste se: (a) porozni, (b) neporozni implantati.
- 24.13 Najbolji materijali za zubne implantate su: (a) CoCr-legure, (b) Ti i Ti-legure, (c) nerđajući čelici.
- 24.14 Vreme srašćivanja metalnog zubnog implantata može se smanjiti njihovim oblaganjem: (a) kalcijum-fosfatnim, (b) kolagenskim, (c) polilaktidnim prevlakama.
- 24.15 Kako bi se obezbedilo dovoljno urastanje kosti za mehaničku stabilizaciju i prevenciju štetnih mikropokreta, sadašnji oblici zubnih implantata imaju: (a) glatke, (b) makrotopografski ogrubljene, (c) mikrotopografski ogrubljene površine.

## **25. TEHNOLOGIJA IMOBILIZACIJE ĆELIJA**

- 25.1 Imobilizacija ćelija predstavlja postupak kojim ćelije mikroorganizama bivaju pričvršćene za površinu ili smeštene unutar strukture određenog nosača: (a) fizičkim putem; (b) hemijskim putem; (c) fizičkim ili hemijskim putem?
- 25.2 Prednost imobilisanih ćelijskih sistema u odnosu na tradicionalne suspendovane sisteme jeste: (a) izvođenje kontinualnih procesa bez rizika od ispiranja ćelija, kao i efikasna zaštita ćelija od mehaničkih i drugih uticaja; (b) izvođenje kontinualnih procesa bez rizika od ispiranja ćelija; (c) efikasna zaštita ćelija od mehaničkih i drugih uticaja?
- 25.3 Imobilisani ćelijski sistemi našli su primenu u: (a) proizvodnji hrane, hemijskih i farmaceutskih proizvoda; (b) proizvodnji hrane, hemijskih i farma-

- ceutskih proizvoda, medicini i zaštiti životne sredine; (c) medicini i zaštiti životne sredine?
- 25.4 Metode imobilizacije mogu se svrstati u sledeće osnovne grupe: (a) smeštanje ćelija unutar matrice polimernog nosača, adsorpcija ćelija, samoagregacija ćelija, smeštanje ćelija u ili iza barijere; (b) adsorpcija ćelija, samoagregacija ćelija; (c) smeštanje ćelija unutar matrice polimernog nosača, smeštanje ćelija u ili iza barijere?
- 25.5 Najveća koncentracija ćelija po jedinici mase nosača postiže se imobilizacijom: (a) adsorpcijom ćelija; (b) smeštanjem ćelija unutar matrice polimernog nosača; (c) samoagregacijom ćelija?
- 25.6 Najveća ekonomска isplativost postupka postiže se imobilizacijom: (a) adsorpcijom ćelija; (b) smeštanjem ćelija unutar matrice polimernog nosača; (c) samoagregacijom ćelija?
- 25.7 Kao nosači za adsorbovanje ćelija mogu se koristiti materijali: (a) organskog; (b) neorganskog; (c) organskog i neorganskog porekla?
- 25.8 Pri transportu hranljivih supstrata od medijuma do ćelije unutar čestice javljaju se otpori: (a) brzine priticanja nutrijenata; (b) brzine priticanja i asimilacije nutrijenata; (c) brzine asimilacije nutrijenata?
- 25.9 U česticama sa imobilisanim ćelijama podešavanjem veličine, teksture i poroznosti matrice nosača može se optimizovati: (a) spoljašnji; (b) unutrašnji; (c) spoljašnji i unutrašnji prenos mase medijum-ćelija?
- 25.10 Osnovne ekstruzione tehnike za dobijanje sfernih polimernih mikročestica sa imobilisanom biomasom jesu: (a) ukapavanje, ukapavanje uz dejstvo sekundarnog toka vazduha, presecanje mlaza; (b) atomizacija, vibraciona, elektrostatička; (c) ukapavanje, ukapavanje uz dejstvo sekundarnog toka vazduha, presecanje mlaza, atomizacija, vibraciona, elektrostatička?

## 26. BIOINŽENJERSTVO TKIVA

- 26.1 Koja od sledećih definicija bioinženjerstva tkiva je *najmanje odgovarajuća*: (a) dobijanje živih tkiva za terapeutsku primenu, (b) primena inženjerskih principa i saznanja iz oblasti medicine, biologije i hemije radi razvoja bioloških ekvivalenta za regeneraciju, povraćaj i poboljšanje funkcije tkiva, (c) ispitivanje i primena fundamentalnih principa razvoja tkiva radi dobijanja funkcionalnih tkivnih ekvivalenta za kliničku primenu.
- 26.2 Implantirano tkivo koje se genetski razlikuje od primaoca iako dobijeno od iste vrste naziva se: (a) autologno, (b) alogeno, (c) ksenogeno.
- 26.3 Ćelija koja može da diferencira u pravcu svih ćelijskih linija naziva se: (a) totipotentna, (b) multipotentna, (c) adultna matična ćelija, (d) pluripotentna.
- 26.4 Osnovna prednost korišćenja adultnih matičnih ćelija u odnosu na embrionalne matične ćelije je, u pogledu izbegavanja svih problema vezanih za

- imunološki odgovor organizma, jeste mogućnost korišćenja: (a) autolognih, (b) alogenih, (c) ksenogenih ćelija.
- 26.5 Osnovni problem korišćenja svih matičnih ćelija jeste: (a) nedovoljno poznavanje procesa diferencijacije ćelija i faktora koji utiču na njih, (b) nedovoljno poznavanje kultura diferenciranih ćelija, (c) nedovoljno poznavanje kultura matičnih ćelija.
- 26.6 Za bioinženjerstvo tkiva kože koriste se sledeći materijali (zaokružiti najpotpuniji odgovor): (a) acelularni matriks, vlaknasti ćelijski nosači, samoorganizujuće ćelijske kulture, (b) hidrogelovi, vlaknasti ćelijski nosači, (c) acelularni matriks, sunđerasti ćelijski nosači.
- 26.7 Koji od sledećih materijala je najmanje odgovarajući za bioinženjerstvo tika-hrskavice: (a) samoorganizujuće ćelijske kulture, (b) hidrogelovi, (c) acelularni matriks, (d) sunđerasti ćelijski nosači, (e) vlaknasti ćelijski nosači.
- 26.8 Koji od sledećih materijala je najmanje odgovarajući u pogledu mehaničkih karakteristika za bioinženjerstvo tkiva kosti: (a) kompoziti na bazi hidroksiapatita i polimera, (b) hidrogelovi, (c) sunđerasti ćelijski nosači.
- 26.9 Za bioinženjerstvo tkiva srčanog mišića koriste se sledeći materijali (zaokružiti najpotpuniji odgovor): (a) vlaknasti ćelijski nosači, sunđerasti ćelijski nosači, samoorganizujuće ćelijske kulture, (b) vlaknasti ćelijski nosači, samoorganizujuće ćelijske kulture, (c) acelularni matriks, sunđerasti ćelijski nosači.
- 26.10 Za bioinženjerstvo tkiva krvnih sudova bioreaktor koji podražava *in vivo* uslove je: (a) rotacioni bioreaktor, (b) bioreaktor sa dinamičkim radikalnim istezanjima, (c) bioreaktor sa dinamičkom mehaničkom stimulacijom tkiva u više pravaca.

## 27. NANOMEDICINA

- 27.1 Nanočestice se mogu koristiti za: (a) dijagnostiku, kontrolisani prenos i isporuku lekova, (b) samo za dijagnostiku, (c) samo za kontrolisani prenos i isporuku lekova.
- 27.2 Mikrouređaji koji sadrže mikropumpe, ventile i protočne kanale nazivaju se: (a) dendrimeri, (b) konzole sa funkcionalizovanim iglicama, (c) mikročipovi za isporuku leka.
- 27.3 Za kontrolisano usmeravanje nanočestica mogu se koristiti: (a) makrofagi, endotelne ćelije, tumorske ćelije, (b) fulereni, ugljenične nanotube, kvantne tačke, (c) nanopore, mikroigle, micele.
- 27.4 Osnovne metode za sintezu fulerena baziraju se na isparavanju ugljenika u: (a) atmosferi inertnog gasa, (b) atmosferi azota, (c) vakuumu.
- 27.5 Prečnik odnosno dužina višezidnih ugljeničnih nanotuba je: (a) 0,5-3 nm odnosno 20-1000 nm, (b) 1,5-100 nm odnosno 1-50 µm, (c) 4,5-500 nm odnosno 20-1000 µm.

- 27.6 Dimenzije nanokristala superparamagnetcnog gvožđe-oksida su oko: (a) 1 nm, (b) 5 nm, (c) 50 nm.
- 27.7 Prednost kvantnih tačaka u poređenju sa ostalim fluorescentnim materijalima jeste: (a) mala dimenzija, (b) velika fleksibilnost, (c) velika uređenost.

## 28. KVANTNA MEDICINA

- 28.1 U fokusu kvantno-holističkih psihosomatskih metoda lečenja su: (a) akupunkturni sistem i svest, (b) akupunkturni sistem, (c) svest.
- 28.2 Krajnji cilj biomedicine i nauke i tehnologije biomaterijala jesu: (a) nanomaterijali i nanomedicinske tehnologije, (b) bioinženjering ćelija i tkiva i kultivacija organa, (c) kontrola/očuvanje morfogeneze zdravog organizma.
- 28.3 Informaciona struktura svakog kvantnog sistema odgovara kvantno-holografskoj: (a) Hopfieldovoj, (b) Kohonenovoj, (c) Hakenovoj neuronskoj mreži.
- 28.4 Jedini makroskopski kvantni sistem u telu verovatno je: (a) akupunkturni, (b) nervni, (c) humorálni.
- 28.5 Biofizička osnova kvantno-holističke lokalne psihosomatike mogli bi biti: (a) memorijski atraktori telesne akupunkturne Hopfieldove neuronske mreže, (b) memorijski atraktori telesne Hopfieldove neuronske mreže, (c) izmenjeni humorálni faktori.
- 28.6 Biofizička osnova kvantno-holističke globalne psihosomatike mogli bi biti: (a) memorijski atraktori kvantno-holografske povezane-sa-poljem prostorno-vremenske mreže kolektivne svesti, (b) memorijski atraktori kvantno-holografske povezane-sa-česticama prostorno-vremenske mreže kolektivne svesti, (c) memorijski atraktori kvantno-holografske povezane-sa-čestica-ma-i-poljem prostorno-vremenske mreže kolektivne svesti.
- 28.7 Prema tibetanskoj tradicionalnoj medicini akupunkturna procedura: (a) ne mora se ponavljati, (b) mora se ponavljati svakih nekoliko meseci, (c) mora se ponavljati svakih godinu dana.
- 28.8 Prema meridijanskim (psihoenergetskim) terapijama simultani efekti vizualizacije i tapkanja / dodirivanja akupunkturnih tačaka mogli bi se teorijski interpretirati kao: (a) „rasplinjavanje“ memorijskih atraktora psihosomatskih poremećaja, (b) „brisanje“ memorijskih atraktora psihosomatskih poremećaja, (c) „produbljivanje“ memorijskih atraktora psihosomatskih poremećaja.
- 28.9 Potencijalne implikacije holističke slike da je čitava psihosomatika kvantni hologram bile bi: (a) jedna, (b) dve, (c) tri linije fronta integrativne psihosomatske medicine.
- 28.10 Potencijalna implikacija kvantno-holografskog povratnog uticaja EM polja akupunktturnog sistema na ćelijske konformacione enzimske promene i ek-

- spresiju genoma bio bi: (a) „downward causation”, (b) „upward causation”, (c) „horizontal causation”.
- 28.11 Kvantna teorija dekoherenčije i kvantna neuronska holografija mogu potencijalna biti primjenjeni na: (a) zatvorene, (b) otvorene, (c) semi-klasične kvantne sisteme.
- 28.12 Dinamička kvantno-holografska asocijativna memorija otvorenih (bioloških) kvantnih sistema ima formu: (a) talasne funkcije, (b) operatora/matrice gustine, (c) kvantnog propagatora.
- 28.13 Fundamentalni razlozi za primenu kvantno-holografske slike biomolekularnog prepoznavanja na nivou ćelije kao celine mogli bi ležati u: (a) kvantnoj identičnosti bioloških makromolekula iste vrste unutar ćelije, (b) klasičnoj identičnosti bioloških makromolekula iste vrste unutar ćelije, (c) semi-klasičnoj identičnosti bioloških makromolekula iste vrste unutar ćelije.
- 28.14 Kvantnu prirodu biomolekularnog prepoznavanja podržava i visoka efikasnost: (a) modela rezonantnog prepoznavanja, (b) modela ključ-brava prepoznavanja, (c) modela nerezonantnog prepoznavanja.
- 28.15 U kontekstu fon Nojmanove kvantomehaničke entropije, kvantno-holografska slika psihosomatskog zdravlja/bolesti odgovarala bi stanju: (a) nulte/povećane, (b) nulte/smanjene, (c) minimalne/maksimalne entropije.
- 28.16 Kod (bioloških) kvantno-holografskih neuronskih mreža odnosno (veštackih) kubitnih kvantnih računara kvantna dekoherenčija bi imala ulogu: (a) procesiranja odnosno očitavanja, (b) očitavanja odnosno procesiranja, (c) procesiranja i očitavanja informacija.
- 28.17 Svest/kolektivna svest vezana-za-polje mogla bi igrati potencijalnu ulogu u: (a) nelokalnom, (b) lokalnom, (c) nelinearnom kanalisanju kvantnog kolapsa.
- 28.18 U kontekstu potrebnih uslova za ostvarenje dekoherenčije, definisanje otvorenog kvantnog sistema i njegovog okruženja je: (a) nesimultani, (b) simultani, (c) nepovezani proces.
- 28.19 U kontekstu univerzalnog važenja kvantne mehanike svest je: (a) relativni, (b) apsolutni, (c) fiktivni koncept?
- 28.20 Kvantna teorija dekoherenčije i univerzalno važenje kvantne mehanike ukazuju da je kompozitno kvantno stanje Kosmosa kao celine podvrgnuto (Šredingerovskoj) vremenskoj evoluciji bez kolapsa i da bi zato moglo predstavljati: (a) kvantni hologram, (b) klasično-redukovano stohastičko stanje kosmičke kolektivne svesti, (c) klasično-redukovano stohastičko stanje komplementarnog „čestičnog“ kosmičkog okruženja.
- 28.21 Potencijalna jaka-interakciona-sprega kosmičke kolektivne svesti i komplementarnog „čestičnog“ kosmičkog okruženja dovodila bi do dekoherenčije u: (a) stacionarno klasično-redukovano stohastičko stanje kosmičke kolektivne svesti i klasično-redukovano stohastičko stanje komplementarnog „čestičnog“ kosmičkog okruženja, (b) stacionarno klasično-redukovano stohastičko stanje kosmičke kolektivne svesti, (c) klasično-redukovano stohastičko stanje komplementarnog „čestičnog“ kosmičkog okruženja.

# 31

---

## ISPITNA TEORIJSKA PITANJA<sup>1</sup>

### 1. UVOD

1.1 Objasniti zašto je nauka o biomaterijalima visoko multidisciplinarna oblast?

### 2. ĆELIJE I TKIVA

2.1 Zbog čega nastaje smrt ćelije i tkiva, i uporediti apoptozu i nekrozu?

### 3. INTERAKCIJE SA BIOMATERIJALIMA

3.1 Kako se ostvaruje interakcija ćelija sa čvrstim substratom?

### 4. ZAPALJENJE I ZARASTANJE

4.1 Objasniti šta se prvo javlja sa ugradnjom bioimplantata.

### 5. IMUNOLOŠKE REAKCIJE

5.1 Objasniti koja je najčešća reakcija na biomaterijale.

### 6. KOAGULACIJA KRVI

6.1 Objasniti šta je tromboza, i šta je najmoćniji antikoagulacioni faktor.

### 7. SISTEMSKA TOKSIČNOST, HIPERSENZITIVNOST, TUMOROGENEZA, INFKECIJE

7.1 Objasniti šta određuje toksičnost biomaterijala.

7.2 Objasniti šta je hipersenzitivnost.

7.3 Objasniti da li pojava tumora zavisi od vrste i mesta ugradnje biomaterijala.

7.4 Koje infekcije najčešće prate implantaciju biomaterijala, i šta se pored terapije antibioticima i drugim baktericidnim sredstvima, koristi protiv infekcija implantata?

---

<sup>1</sup>Ovo poglavlje napisao je Dejan Raković.

## **8. BIOLOŠKA KARAKTERIZACIJA BIOMATERIJALA**

- 8.1 Objasniti koja vrsta testova je dovoljna za procenu bikompatibilnosti materijala?

## **9. BIOLOŠKA DEGRADACIJA BIOMATERIJALA**

- 9.1 Objasniti koje ćelije vrše degradaciju biomaterijala u organizmu.

## **10. STRUKTURA BIOMATERIJALA**

- 10.1 Kakva prostorna struktura metala poboljšava sposobnost njihove plastične deformacije i zašto?
- 10.2 Navesti tipove hibridizacije atomskeih orbitala i povezati ih sa strukturnim formama ugljenika.

## **11. FIZIČKA KARAKTERIZACIJA**

- 11.1 Koje metode mikroskopije pokazuju najveći stepen prostorne rezolucije?
- 11.2 Koja aproksimacija omogućava pojavu hijerarhije položaja elektronskih, vibracionih i rotacionih energetskih nivoa?

## **12. MEHANIČKA KARAKTERIZACIJA**

- 12.1 Da li dijagram napon-jedinično izduženje zavisi od dimenzija epruvete i zašto?
- 12.2 Objasniti koji biomaterijali imaju najbolji odnos  $\sigma_m/Q$ .

## **13. MODELIRANJE BIOMATERIJALA I TKIVA**

- 13.1 Objasniti u čemu se sastoje izoparametarska formulacija konačnih elemenata.
- 13.1 Objasniti kako se modeliraju implantati kostiju.

## **14. MODELIRANJE KRVOTOKA, DISAJNIH ORGANA I HRSKAVICE**

- 14.1 Objasniti osnovne jednačine balansa fluida.
- 14.2 Koje se vrste sprezanja koriste za solid-fluid interakciju i u čemu je razlika između njih?

## **15. MODELIRANJE MIKROMEHANIKE ČESTIČNO KOMPOZITNIH BIOMATERIJALA**

- 15.1 Koje metode proračuna se primenjuju u mikromehanici kompozitnih materijala?
- 15.2 Objasniti uticaj oblika, zapreminskog udela i rasporeda keramičkih čestica (HAp) u polimernoj matrici (PLLA), na modul elastičnosti kompozita.

## **16. NANOMEHANIČKA KARAKTERIZACIJA BIOMATERIJALA**

- 16.1 Objasniti metodu nanoindentacije.

- 16.2 Šta numerički model nanoindentacije zanemaruje u odnosu na realni eksperiment?

## **17. METALNI BIOMATERIJALI**

- 17.1 Razmotriti uporedne karakteristike i primene metalnih biomaterijala.
- 17.2 Razmotriti mehanizme i uporedne karakteristike korozije metalnih biomaterijala.

## **18. KERAMIČKI BIOMATERIJALI**

- 18.1 Razmotriti uporedne karakteristike i primene keramičkih biomaterijala.
- 18.2 Objasniti da li su keramike osetljive na pukotine, starenje i razgradnju

## **19. POLIMERNI MOLEKULI I BIOMATERIJALI**

- 19.1 Razmotriti uporedne karakteristike i primene polimernih biomaterijala.
- 19.2 Kakva može biti nadmolekularna struktura polimera? Šta je temperatura staklastog prelaza, a šta temperatura tečenja?

## **20. KOMPOZITNI BIOMATERIJALI**

- 20.1 Razmotriti uporedne karakteristike i primene kompozitnih biomaterijala.
- 20.2 U okviru kojih nivoa strukturne organizacije je moguće uticati na strukturu-svojstva-primenu kompozitnih biomaterijala?

## **21. BIODEGRADABILNI POLIMERI**

- 21.1 Razmotriti uporedne karakteristike i primene biodegradabilnih biomaterijala.
- 21.2 U kojim oblastima najpre dolazi do biodegradacije polimera?

## **22. BIODERIVATIVNI POLIMERI I HIDROGELOVI**

- 22.1 Razmotriti uporedne karakteristike i primene bioderivativnih polimera i hidrogelova.
- 22.2 Šta je to bubreњe i zašto je važno poznavanje termodinamičkih osnova procesa bubreњa?

## **23. MEKOTKIVNI IMPLANTATI**

- 23.1 Dati klasifikaciju mekotkivnih implantata.
- 23.2 Dati pregled važnijih primenjenih biomaterijala za mekotkivne implantate.

## **24. ČVRSTOTKIVNI IMPLANTATI**

- 24.1 Dati klasifikaciju čvrstotkivnih implantata.
- 24.2 Dati pregled važnijih primenjenih biomaterijala za čvrstotkivne implantate.

## **25. TEHNOLOGIJA IMOBLIZACIJE ĆELIJA**

- 25.1 Objasniti osnovne principe imobilizacije ćelija?
- 25.2 Dati pregled materijala koji se koriste kao nosači za adsorbovanje ćelija.

## **26. BIOINŽENJERSTVO TKIVA**

- 26.1 Navesti prednosti i nedostatke korišćenja matičnih ćelija u bioinženjerstvu tkiva.
- 26.2 Opisati primer primene samo-organizacije ćelija za bioinženjerstvo tkiva.

## **27. NANOMEDICINA**

- 27.1 Opisati princip funkcionisanja mikročipova za isporuku lekova.
- 27.2 Opisati principe usmeravanja nanočestica u nanomedicini.

## **28. KVANTNA MEDICINA**

- 28.1 Kakve su implikacije kvantno-informacione fraktalne sprege različitih hijerarhijskih nivoa na integrativnu psihosomatsku medicinu?
- 28.2 U kontekstu fon Nojmanove kvantnomehaničke entropije, razmotriti odnos entropija psihosomatskog zdravlja i bolesti, kao i ulogu psihosomatskih terapija.