

## Međudjelovanje na međupovršini anorgansko/organsko - od biomineralizacije do implant materijala za čvrsta tkiva

Maja Dutour Sikirić<sup>1,\*</sup>, Vesna Babić-Ivančić<sup>1,2</sup>, Nada Filipović-Vinceković<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut "Ruđer Bošković", Zagreb, <sup>2</sup>Medicinski fakultet, Osijek

Autor za dopisivanje:

\*Maja Dutour Sikirić

Laboratorij za sintezu i procese samoorganizacije organskih molekula

Zavod za fizičku kemiju, Institut Ruđer Bošković

Bijenička c. 54 10 000 Zagreb

tel: 01 45 60 941 / fax: 01 46 80 245 / e-mail: sikiric@irb.hr

Izvorni znanstveni rad

UDK 612.06:616.71-089.843:57.089

Prispjelo: lipanj 2010.

Osnova većine prirodnih procesa taloženja jesu međudjelovanja na međupovršini organsko/anorgansko. Kost i bubrežni kamenci su dvije vrste tkiva koja privlače veliku pažnju zbog medicinskih problema vezanih uz njih. U ovom radu, kroz prikaz istraživanja međudjelovanja organskih molekula s kristalima kalcijevih fosfata u našoj grupi, pokazat ćemo kako se spoznaje dobivene i opisane u istraživanjima pojednostavljenih modelnih sustava mogu primijeniti na osmišljavanje i pripremu novih biomimetičkih presvlaka za metalne implante.

**Ključne riječi:** Aditivi; Biomimetske presvlake; Kalcijevi fosfati; Kemijsko taloženje; Mineralizacija kostiju; Urolitijaza

### 1. Uvod

Međudjelovanja anorganskih kristala i organskih molekula osnova su procesa kristalizacije u različitim područjima (geologija, biološka i patološka mineralizacija, nastajanje kamenaca u sustavima za grijanje itd.) i zato privlače veliku pažnju istraživača dugi niz godina (1,2). Pa ipak, složena struktura organske matrice i uloga koju imaju njezine pojedine komponente u biomineralizaciji nije do kraja razjašnjena.

Kosti i mokraćni kamenci (Slika 1.) dvije su vrste mineraliziranih tkiva u ljudskom organizmu koja privlače posebnu pažnju zbog patoloških promjena. Na prvi pogled se čini da kosti i mokraćni kamenci imaju malo toga zajedničkog. Mokraćni kamenci jesu patološki mineralizirana tkiva, nastaju u mokraći, otopini složenoga i promjenjivoga sastava, što se odražava na sastav i strukturu kamenaca. Najčešći sastojci kamenaca su kalcijevi oksalati i fosfati, urati i/ili njihove smjese. Mokraćni kamenci sadrže i nekristalni sastojak nalik proteinima, koji se naziva matrica (5). Anorganski kamenci najčešće sadrže oko 3% matrice (6), dok organski kamenci mogu sadržavati i do 65% matrice (7,8). Najčešći sastojci matrice su heksozamin i voda (9), a izolirani su i mnogi drugi spojevi (matrična tvar A (10) nefrokalcin (11), Tamm-Horsfall glikoprotein (12), glikozaminoglikani (13) itd.

S druge strane kosti imaju izuzetno složenu strukturu, koja se može opisati sa 7 hijerarhijskih razina. Pojam kosti obuhvaća skupinu materijala kojima su osnovni građevni elementi mineralizirana kolagenska vlakna. Glavna anorganska komponenta kostiju jesu nanokristali karbonat apatita koji su precizno ori-

jentirani u matrici kolagenskih vlakana. Toj skupini pripadaju dentin i mineralizirani tendon, koji su zbog povijesnih razloga dobili drugo nazivlje. Svaki od tih materijala ima nešto drugačiji strukturni motiv, što je posljedica prilagodbe funkciji koju imaju u organizmu (14).

Procesi kojima nastaju ta dva funkcionalno različita tkiva mogu se pojednostavljeno smatrati taloženjem teško topljivih soli iz otopina kompleksnoga sastava u prisutnosti organske matrice.

U ovom radu prikazat ćemo dio rezultata naših temeljnih istraživanja utjecaja malih organskih molekula, makromolekula i površinski aktivnih tvari na nukleaciju, rast kristala i faznu transformaciju kalcijevih fosfata, vezanih uz istraživanja patoloških promjena kosti, nastajanje kamenaca te osmišljavanja i priprema novih kompozitnih organsko-anorganskih presvlaka za inertne koštane implant materijale.

### 2. Talozenje anorganskih kristala

Pokretačka sila taloženja anorganskih kristala jest prezasićenje, koje se definira kao omjer produkta aktiviteta konstitutivnih iona i termodinamičkoga produkta topljivosti odgovarajuće soli. Prvi korak u nastajanju taloga jest nukleacija, nastajanje centara (nukleusa) na kojima može doći do spontanoga rasta. Prema klasičnoj teoriji nukleacije (15-18) postoji kritično prezasićenje iznad kojega nukleusi nove faze nastaju spontano homogenom nukleacijom. Do taloženja može doći i u slučajevima kada je prezasićenje otopine niže od kritičnoga,

SLIKA 1.

a) karbonatno apatitni mokraćni kamenac (prema ref. 3) i  
 b) kosti (prema ref. 4) čija je glavna komponenta karbonat apatit. Slike ilustriraju važnost uloge koju organska matrica i organske molekule prisutne u tjelesnim tekućinama imaju u nastajanju čvrstih tkiva u ljudskom organizmu

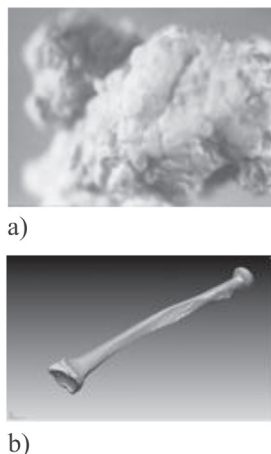


FIGURE 1.

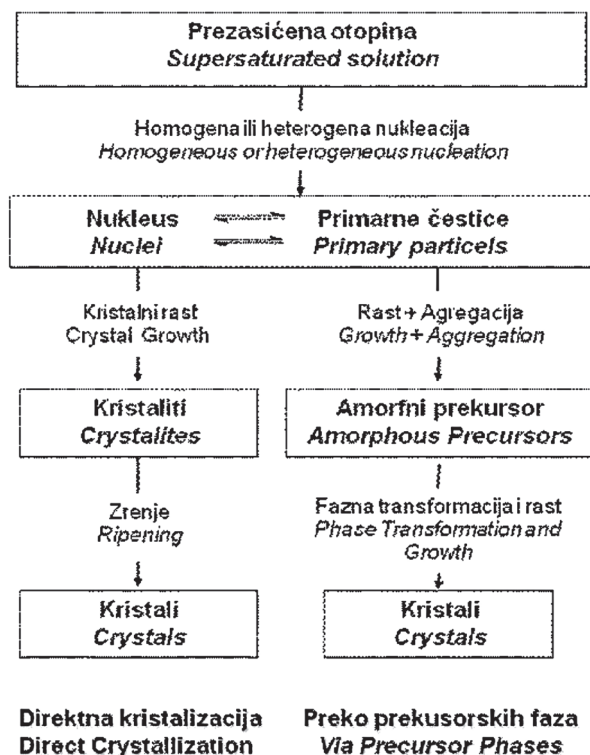
a) carbonate apatite urinary stone (after ref. 3) and  
 b) bone (after ref. 4) whose principle component is carbonate apatite. Figures illustrate importance of organic matrix and organic molecules present in bodily fluids in formation of hard tissue in human organism

SLIKA 2.

Taložni procesi koji se odvijaju pri taloženju slabo topljivih soli iz prezasićenih otopina. Konstruirano prema ref. (19)

FIGURE 2.

Precipitation processes underlying crystallization of slightly soluble salts from supersaturated solutions, after ref. (19).



ako u otopini postoje nečistoće koje imaju ulogu centara heterogene nukleacije.

Brzina i mehanizmi procesa koji slijede nukleaciju ovise o tim početnim procesima (slika 2.). Pri niskim i srednjim prezasićenjima nastaju kompaktni ili dendritični kristali koji se procesima rasta i faznih transformacija dalje mijenjaju. Pri visokim prezasićenjima najprije nastaje metastabilna prijelazna faza, bilo u obliku amornoga prekursora, bilo mikrokrystalnih agregata. Metastabilne faze se nakon vremena indukcije transformiraju u stabilnije kristalne faze.

### 3. Utjecaj aditiva na taloženje

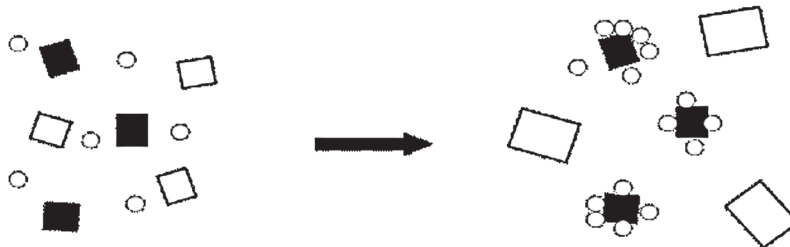
Aditivi mogu utjecati na bilo koji stupanj taložnoga procesa. Brojna su istraživanja pokazala da ovisno o vrsti i koncentraciji aditiva, jedna te ista molekula može ovisno o koncentraciji, ubrzati ili usporiti taloženje. Osnova svih istraživanja utjecaja organskih molekula na procese taloženja anorganskih spojeva jest detaljno poznavanje kinetike nastajanja istraživanoga taloga ili strogo ponovljiva procedura taloženja. Kada su faktori kao što su prezasićenje, omjer koncentracija reaktanata, temperatura te način miješanja konstantni, taložni proces kontroliraju aditivi (19, 20).

SLIKA 3.

Shematski prikaz selektivne adsorpcije aditiva na nukleuse jedne kristalne faze u otopini prezasićenoj s obzirom na dvije faze, prema ref. (24)

FIGURE 3.

Schematic presentation of selective adsorption of an additive at crystal of one crystal phase in a solution supersaturated to two phases, after ref. (24)

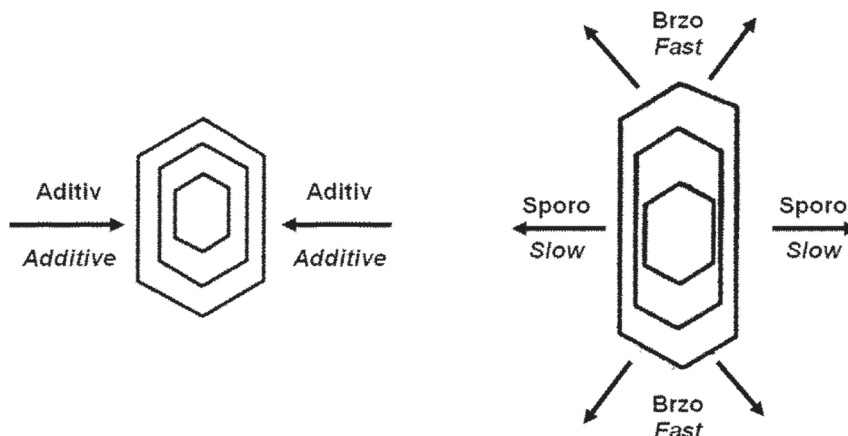


SLIKA 4.

Shematski prikaz selektivne adsorpcije aditiva na plohe rastućega kristala. Konstruirano prema ref. (24)

FIGURE 4.

Schematic presentation of selective adsorption of an additive at growing crystal faces, after ref. (24).



Tijekom nukleacije aditiv se adsorbira na površinu nukleusa, međupovršinska energija se smanjuje, a brzina nukleacije bi se trebala povećati. Međutim, aditiv zauzima i mjesta rasta na nukleusu. Kako je broj mjesta rasta ograničen, brzina rasta nukleusa se može značajno smanjiti u prisutnosti svega nekoliko iona ili molekula aditiva. Stoga će adsorpcija aditiva rezultirati smanjenjem brzine nukleacije (21). Zbog promjene brzine nukleacije mijenja se broj nukleusa, morfologija i/ili sastav čvrste faze. Pri istraživanju utjecaja adsorbiranih molekula i iona na nukleaciju treba voditi računa da samo nekoliko eksperimentalnih tehnika omogućuje razlučivanje procesa nukleacije od procesa kristalnoga rasta.

Rast kristala rezultat je niza uzastopnih procesa koji se odvijaju u otopini i na površini kristala. Aditivi mogu utjecati na bilo koji od tih procesa (22). Adsorpcijom iona ili molekula na površinu kristala smanjuje se međupovršinska energija kristal/otopina, ali i u tom slučaju zbog adsorpcije, površina postaje nedostupna ionima konstituentata. Ako se ioni ili molekule prvenstveno adsorbiraju na određene kristalne plohe, površinska nukleacija bit će na tim plohamu onemogućena, pa će rasti plohe kristala na kojima ioni ili molekule nisu adsorbirani ili na onima na kojima su djelomično adsorbirani. Rezul-

tat je promjena habitusa kristala (23). Pri visokim prezasićenjima, brzina kristalnoga rasta je velika, što ometa adsorpciju iona i molekula na kristalne plohe i time smanjuje njihovu učinkovitost. Smanjenje učinkovitosti može se kompenzirati samo povećanjem koncentracije aditiva (21).

Na tijek taložnoga procesa, tj. na to da li će se primarne čestice agregirati ili ostati stabilne u otopini znatno utječe naboj aditiva, kao što su npr. polielektroliti. Djelovanje polielektrolita na taložni proces ovisi o koncentraciji, konformaciji i naboju polielektrolita. Npr. pri niskim koncentracijama polielektroliti mogu inducirati agregaciju premošćivanjem dispergiranih čestica u suspenziji. Isti polielektrolit prisutan u većim koncentracijama djelovat će kao stabilizator, jer se njegovom adsorpcijom na površini čestice stvara visoki naboj (20).

Mehanizam od posebne važnosti jest selektivna adsorpcija aditiva na nukleuse i kristalne plohe. Ako u otopini može nastati više faza, rast faze na čije se nukleuse aditiv selektivno adsorbirao bit će usporen ili neće rasti, dok će rasti faza na čije se nukleuse aditiv nije adsorbirao (slika 3.).

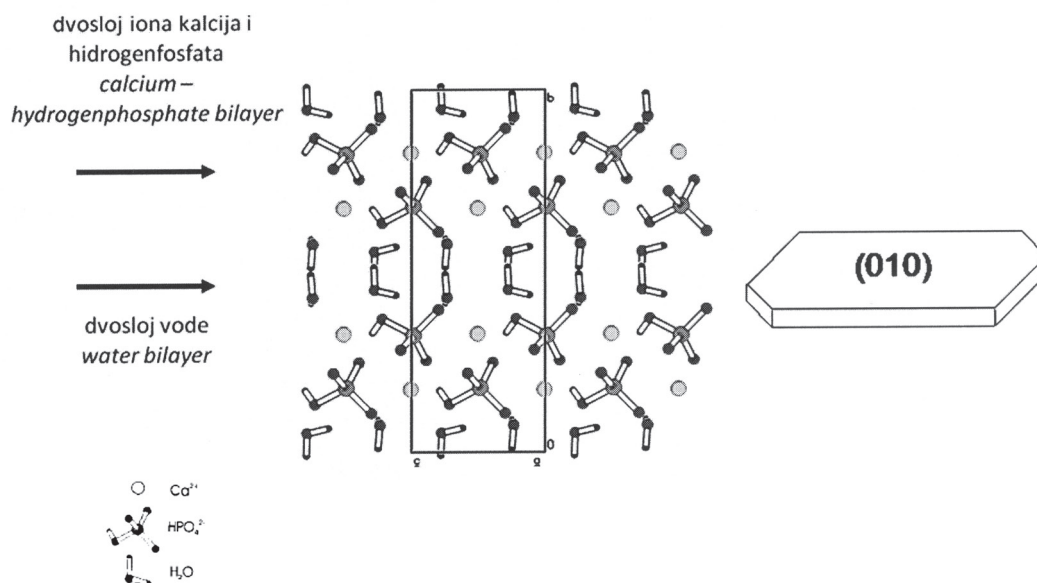
Ako postoji strukturna i stereokemijska kompatibilnost izme-

SLIKA 5.

Struktura i tipična morfologija DCPD (konstruirano prema ref. 28, izračunato prema kristalnoj strukturi danoj u ref. 29).

FIG. 5.

Structure and typical morphology of DCPD (adapted from ref. 28, calculated after crystal structure given in ref. 29).

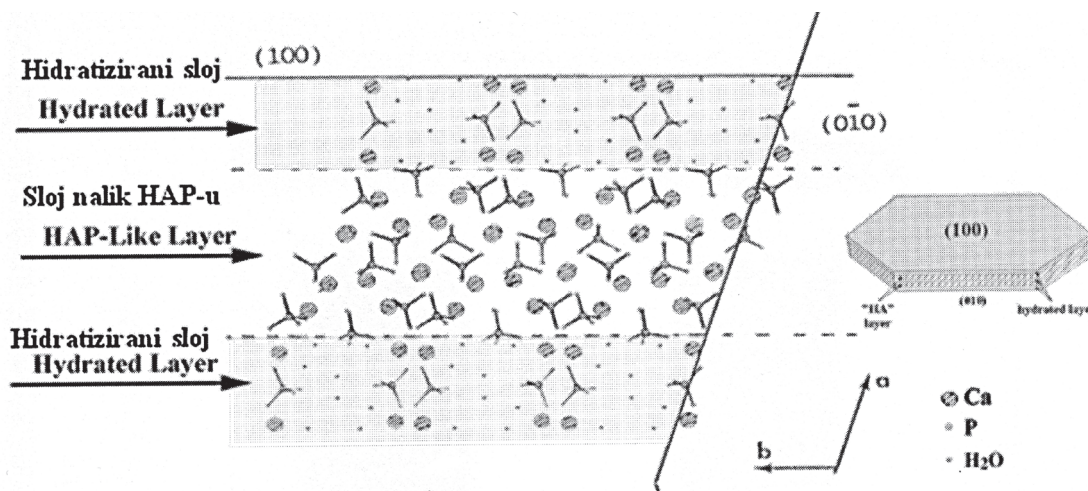


SLIKA 6.

Struktura i tipična morfologija OCP, prema ref. (40,41)

FIG. 6.

Structure and typical morphology of OCP, after ref. (40, 41)



đu nekih ploha kristala i molekule aditiva, aditiv će se selektivno adsorbirati na te kristalne plohe, ali ne i na ostale. Time će rast u smjeru okomitom na tu plohu biti usporen, pa će ta ploha biti veća nego u originalnom kristalu (slika 4.). Također je moguće da se u prisutnosti aditiva pojave nove kristalne plohe. To nam daje mogućnost da jednostavnim usporedbom morfologije kristala nastaloga u sustavima s i bez aditiva spoznamo mehanizme međudjelovanja kristal-aditiv (24, 25).

#### 4. Kalcijevi fosfati

Istraživanja kalcijevih fosfata (teško topljivih soli fosfatne kiseline) zanimljiva su zbog važnosti tih spojeva ne samo u biološkoj (kosti, zubi) i patološkoj (mokraćni kamenci,

karijes) mineralizaciji, već i u procesima taloženja u prirodnim vodama, otpadnim vodama (26) proizvodnji gnojiva, keramike, bioimplantanata, te nastanku kamenca u industrijskim hladilima.

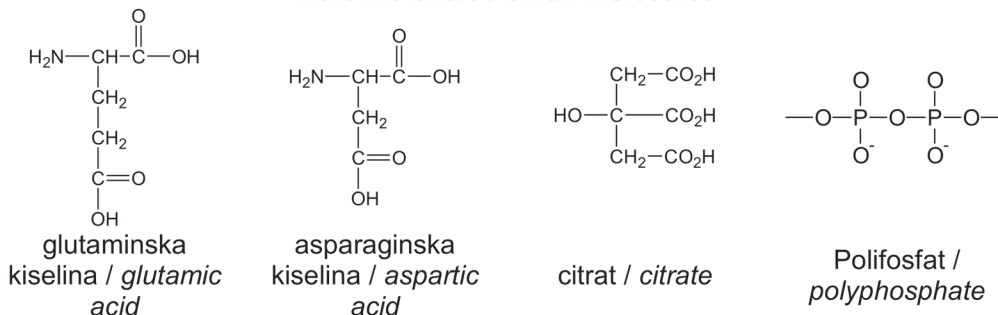
Kalcijevi fosfati, ovisno o eksperimentalnim uvjetima, mogu nastati ili direktnom kristalizacijom ili preko amorfni faza (slika 2).

Kalcijev hidrogenfosfat dihidrat ( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , DCPD) nastaje pri nižim pH (< 5,5) direktnim taloženjem (27). DCPD kristalizira u monoklinskom sustavu (28). Jedinična ćelija se sastoji od naizmjeničnih dvosloja kristalne vode i dvosloja iona kalcija i hidrogenfosfata. Dvosloj molekula vode oko-

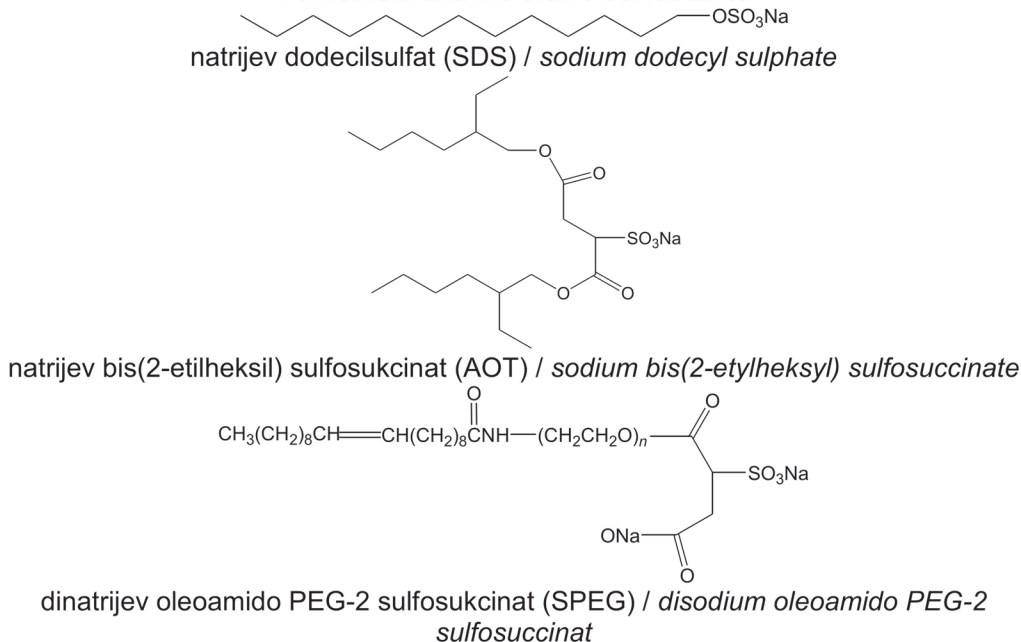
SLIKA 7  
 Strukture ispitanih aditiva.

FIGURE 7.  
 Structures of investigated additives

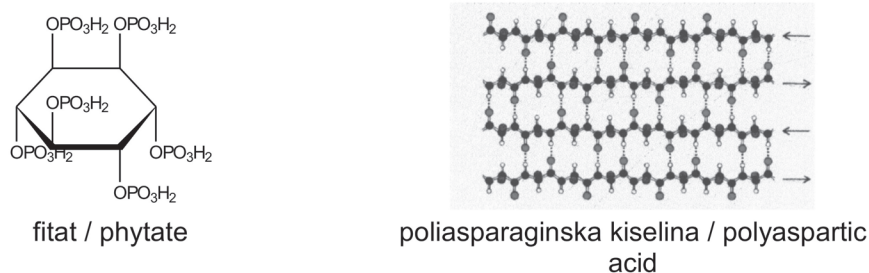
**Male molekule / Small molecules**



**Površinski aktivne tvari / Surfactants**



**Makromolekule / Macromolecules**



mit je na os b. Tipična morfologija kristala DCPD odraz je njegove kristalne strukture, tako da je dominantna kristalna ploha (010), a najčešće bočne plohe (h0l) (29-31), (slika 5.). Razumna je pretpostavka da se u vodenim otopinama na površini (010) plohe nalaze molekule vode, dok bočne plohe imaju miješani ionski karakter s uklopljenim molekulama vode.

U neutralnim i bazičnim otopinama kalcijevi fosfati obično nastaju u dva koraka. Prvi korak je nastajanje amorfnoga kal-

cijevog fosfata čiji sastav ovisi o eksperimentalnim uvjetima (32-36). Betts i sur. (37-39) su pokazali da je osnovna strukturna jedinica ACP sferični klaster  $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6$  promjera oko 9,5 Å. Veliki broj tih klastera nasumično su poslagani u sferu promjera 30 - 100 nm. U dodiru s matičnicom, ovisno o pH i koncentraciji reaktanata, ACP se može transformirati u oktakalcijev fosfat (OCP), kalcij deficijenti apatit (DA) ili hidroksiapatit (HA), (32-36).

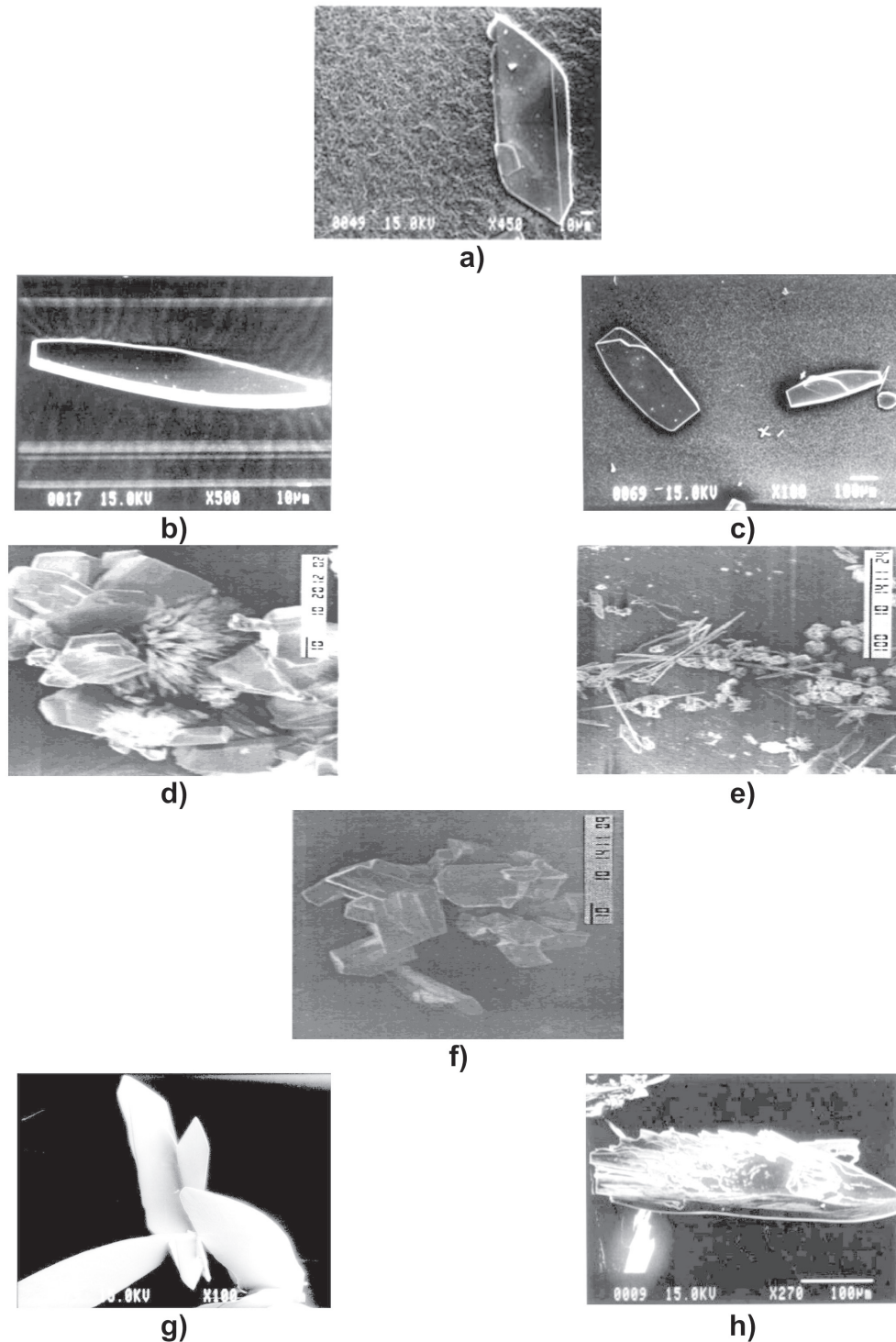


SLIKA 8.

Morfologije kristala DCPD dobivenih u a) kontrolnom sistemu i u prisustvu b) citrata, c) heksaamonijevoga tetrapolifosfata, d) SDS, e) AOT, f) SPEG, g) fitata i h) poliaspartata

FIGURE 8.

Morphology of DCPD crystals obtained in a) control system, presence of: b) citrate, c) hexammonium tetrapolyphosphate, d) SDS, e) AOT, f) SPEG, g) phytate and h) polyaspartate

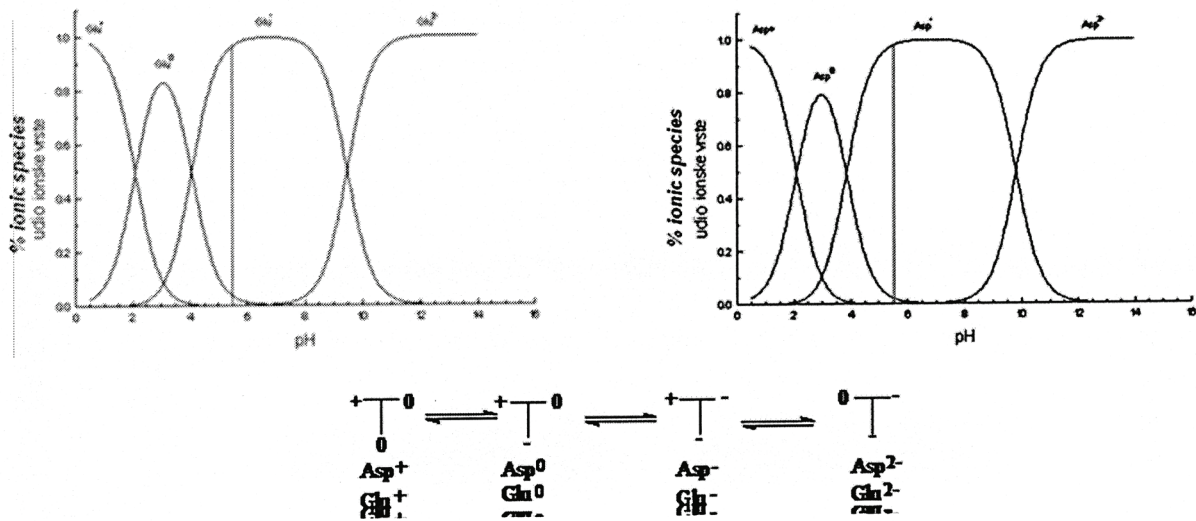


OCP kristalizira u triklinskom sustavu, a jedinična ćelija mu se sastoji od naizmjeničnih slojeva koji su gotovo identični hidroksiapatitu, te slojeva koji sadrže molekule vode, ione kalcija i fosfata (hidratizirani slojevi, slika 6.). Stoga nije čudno da se OCP često javlja kao međuprodukt iz kojeg hidrolizom

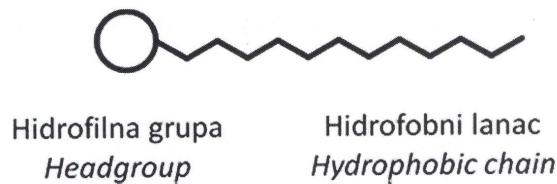
prilikom taloženja iz vodenih otopina nastaje termodinamički stabilniji HA. Također je za pretpostaviti da se u vodenim otopinama na površini kristala nalazi hidratizirani sloj, što se odražava na morfologiju kristala, tj. nastaju pločice s dominantnom (100) plohom.

SLIKA 9.  
 Raspodjela ionskih vrsta glutaminske i asparaginske kiseline u ovisnosti o pH  
 FIGURE 9.

Distribution curves of glutamic acid (Glu) and aspartic acid (Asp) species in the dependence of pH



SLIKA 10.  
 Shematski prikaz molekule površinski aktivnih tvari  
 FIGURE 10.  
 Schematic representation of surfactant molecule



Hidroksiapatit je termodinamički stabilna faza (41,42). Njegova kristalna struktura omogućava jednostavnu zamjenu iona kalcija s ionima barija, stroncija ili olova, a fosfatnih iona s arsenatnim ionima. U vodenim otopinama nastaju apatitni talozi čiji omjer Ca/P varira od 1,5-1,66, pa je posebna pažnja usmjerena na dobivanje stehiometrijskih hidroksiapatita. Zbog biokompatibilnosti i neotrovnosti HA, istraživanja su usmjerena na pronalaženje novih apatitnih biokeramika koje bi se mogle koristiti kao koštani nadomjesci (42).

### 5. Utjecaj aditiva na taloženje DCPD

DCPD je zbog svoje kristalne strukture pogodan modelni sustav jer omogućava studiranje nekoliko aspekata međudjelovanja aditiva i kristala:

- utjecaj veličine i strukture molekula aditiva (npr. ioni, male molekule ili makromolekule, broj funkcionalnih skupina u molekuli, ukupni naboj)
- utjecaj strukturogla slaganja između organske molekule i ionske strukture neke kristalne plohe
- utjecaj hidratacijskoga sloja izloženog na površini kristala.

U tu svrhu ispitan je utjecaj različitih koncentracija nekoliko strukturogla različitih aditiva (slika 7.), i to malih molekula (glutaminska i asparaginska kiselina, citrat i heksaamonijev tetrapolifosfat), površinski aktivnih tvari (natrijev dodecil sulfat (SDS), natrijev bis(2-etilheksil) sulfosukcinat (AOT) te dinatrijev oleoamido PEG-2 sulfosukcinat (SPEG)), kao i makromolekula (poliasparaginska kiselina i fitat), na morfologiju DCPD (slika 8.).

Osnova istraživanja utjecaja aditiva na proces taloženja je strogo ponovljiva procedura taloženja, kako se promjene uzrokovane nereproducibilnošću ne bi pripisale djelovanju aditiva. U takvom kontrolnom sustavu nakon sat vremena nastaju relativno veliki pločasti kristali (oko 200x100 μm i debljine 5μm, slika 8.a). Nastali kristali imaju izražene (010) i bočne (h0l) plohe.

#### 5.1. Male molekule

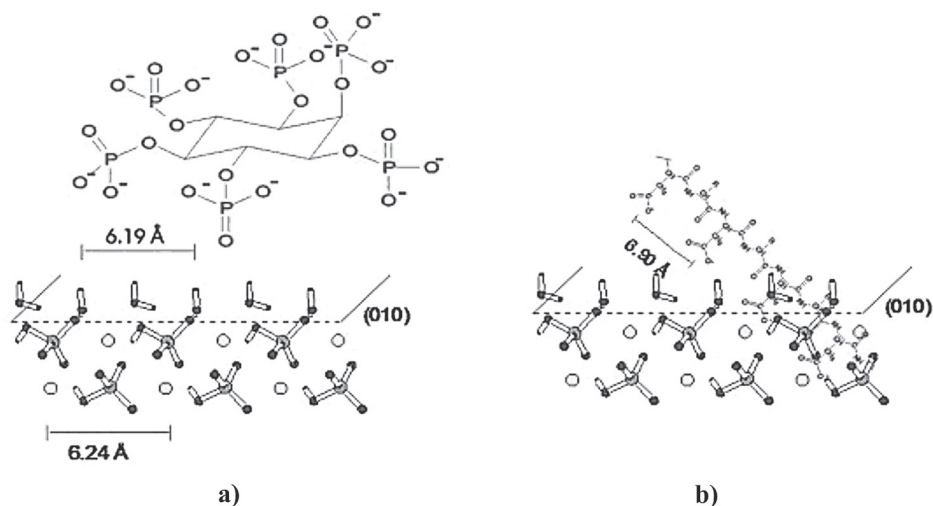
Od malih molekula izabrane su glutaminska i asparaginska kiselina, citrat i heksaamonijev tetrapolifosfat. Glutaminska i asparaginska kiselina su najčešće aminokiseline u muko-

SLIKA 11.

Shematski prikaz međudjelovanja a) fitata i b) poliaspartata s (010) plohom kristala DCPD, prema ref (31)

FIGURE 11.

Schematic representation of a) phytate and b) interaction with the (010) face of DCPD crystals, after ref. (31)



proteinskom materijalu koji sačinjava organski dio kalcijevih kamenaca (43). Pokazano je da glutaminska kiselina inhibira taloženje kalcijevoga oksalat monohidrata (COM) jedne od najčešćih komponenata mokraćnih kamenaca (44). Ioni citrata jesu sastojci mokraće i imaju značajnu ulogu u sprječavanju nastajanja oksalatnih i fosfatnih kamenaca. Ustanovljeno je da ioni citrata inhibiraju rast i agregaciju kristala kalcijevih oksalata, DCPD i HA (45-47). Pacijenti s kalcij-oksalatnim kamencima izlučuju u mokraći znatno manje iona citrata od zdravih osoba (44, 48), pa se citrat preventivno daje u prehrani bolesnika (49-51). Polifosfati su poznati inhibitori i komercijalno se koriste za prevenciju nastanka kamenaca na površinama toplinskih izmjenjivača u industrijskim pogonima.

Aminokiseline, glutaminska i asparaginska, ne utječu na rast i morfologiju kristala DCPD (24, 31, 52, 53). Kristali s jednakom morfologijom kao i u kontrolnom sustavu nastaju jedan sat nakon miješanja komponenata. Iz krivulja raspodjele ionskih vrsta na 37°C vidi se da pri pH 5,5, glutaminska i asparaginska kiselina imaju disocirane obje karboksilne skupine, te ukupni naboj -1 (slika 9.). Ako uzmemo u obzir strukturu tih molekula, možemo pretpostaviti da je međudjelovanje u osnovi elektrostatsko, te da jedan negativan naboj nije dovoljan za značajniji utjecaj na rast kristalnih ploha DCPD.

Za razliku od asparaginske i glutaminske kiseline, ioni citrata i heksaamonij tetrapolifosfata, utječu na brzinu taloženja, te uzrokuju slične specifične promjene morfologije kristala DCPD, nastaju štapičasti kristali DCPD (slika 8. b i c). To znači da su se ti aditivi prvenstveno adsorbirali na bočne plohe DCPD. Međudjelovanja citrata i HATP s kristalima DCPD jesu elektrostatske prirode i učinkovitija su što je u molekuli aditiva prisutan veći broj funkcionalnih skupina, tj. do promjene morfologije kristala DCPD u prisustvu HATP dolazi pri nižim koncentracijama od onih u prisutnosti citrata.

## 5.2. Površinski aktivne tvari

Molekule PAT sadrže dijelove s različitim afinitetima prema otapalu (hidrofilan i hidrofoban dio, Slika 10.). Zbog takve strukture one pokazuju posebna svojstva u vodenim otopinama - adsorpciju na međupovršine i asocijaciju u supramolekule (micele, vezikule, dvosloji, tekući kristali). Upravo zbog sposobnosti adsorbiranja na međupovršine i samoasocijacije u različite supramolekule, PAT su dobre modelne tvari za istraživanje pojava na međupovršinama koje se pojavljuju između anorganskih kristala i organskih molekula. Osim toga velik broj organskih sastojaka ljudske mokraće, uključujući proteine, imaju svojstva PAT. Mokraća sadrži i žučne soli, biološke PAT odgovorne za snižavanje površinske napetosti mokraće, koje imaju potencijalnu inhibitorsku ulogu u nastajanju mokraćnih kamenaca (54).

Da bi odredili kako struktura molekula PAT utječe na taloženje DCPD korištene su tri strukturno različite PAT: jednolančani SDS, asimetrični AOT i SPEG s dvije hidrofilne skupine (24, 55).

Kombinacijom dinamičkoga raspršenja svjetlosti i optičke mikroskopije ustanovljeno je da dodatkom NaCl i CaCl<sub>2</sub> u otopinama SDS nastaju sferične micele i lamelarne kapljice, AOT stvara diskolike micele i lamelarne kapljice, a u otopinama SPEG nastaju sferične micele (55).

Sve tri PAT su usporile taloženje DCPD i utjecale na morfologiju i sastav taloga. Pri koncentracijama SDS manjim od kritične micelarne koncentracije, cmc, nastaju samo kristali DCPD, ali deblji nego u kontrolnom sustavu što ukazuje da se SDS adsorbirao na bočne plohe DCPD. U prisutnosti SDS u micelnim koncentracijama taloži smjesa DCPD i OCP.

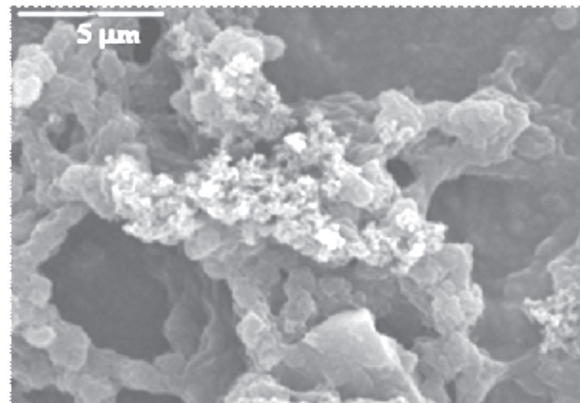


SLIKA 12.

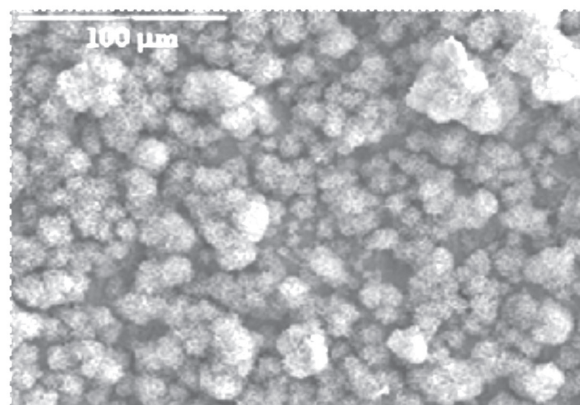
Različite nanokompozitne presvlake dobivene naizmjeničnom adsorpcijom višeslojeva PLL/PGA i amorfnoga kalcijevog fosfata te naknadnom transformacijom amorfnoga u kristalinični kalcijev fosfat, prema ref. (70)

FIGURE 12.

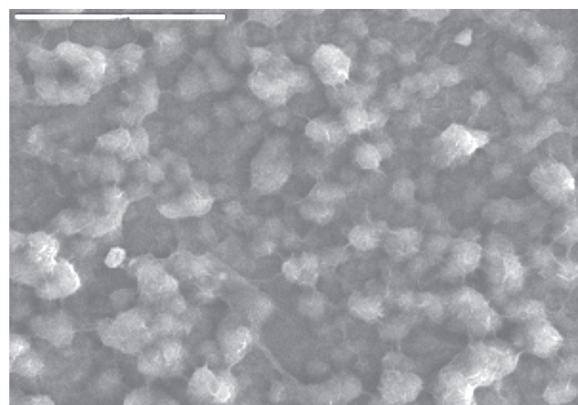
Different nanocomposite coatings obtained by sequential adsorption of poly-L-lisine (PLL) / poly-L-glutamic acid (PGA) multilayers and amorphous calcium phosphate and subsequent transformation of amorphous into crystalline calcium phosphate after ref. (70)



$(\text{PLL}/\text{PGA})_{10} - \text{ACP} - [(\text{PLL}/\text{PGA})_5 - \text{ACP}]_4$



$(\text{PLL}/\text{PGA})_{10} - \text{OCP} - [(\text{PLL}/\text{PGA})_5 - \text{OCP}]_4$



$(\text{PLL}/\text{PGA})_{10} - \text{apatit} - [(\text{PLL}/\text{PGA})_5 - \text{apatit}]_4 - (\text{PLL}/\text{PGA})_5$

DCPD je dominantna faza i taloži u obliku prizmatičnih kristala što ukazuje na prvenstvenu adsorpciju na lateralne plohe kristala (slika 8. d).

Pri koncentracijama AOT nižim od micelarne nastaje samo DCPD, a u prisutnosti AOT u micelarnim koncentracijama nastaje smjesa DCPD i OCP, DCPD taloži u obliku izduženih

pločica što ukazuje da se AOT vjerojatno adsorbira na samo jednu skupinu bočnih ploha (slika 8. e), (55).

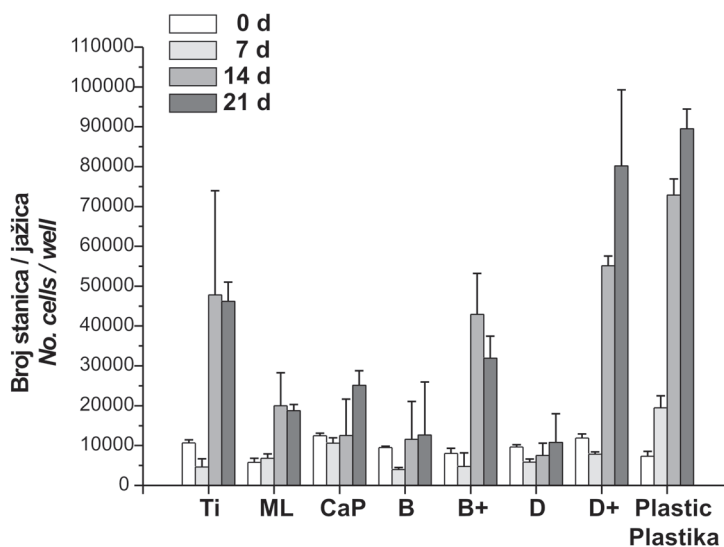
Nastajanje OCP u prisutnosti SDS i AOT može se objasniti ili selektivnom adsorpcijom na nukleuse DCPD ili specifičnom nukleacijom OCP na međupovršini micela/otopina (55).

SLIKA 13.

Adhezija i proliferacija ljudskih stanica osteoblasta na titanskim pločicama (Ti), titanskim pločicama presvučenim višeslojem (ML), kalcijevim fosfatom (CaP), nanokompozitima (PLL/PGA)<sub>10</sub> - OCP (B), PLL/PGA<sub>10</sub> - OCP-(PLL/PGA)<sub>5</sub> (B+), (PLL/PGA)<sub>10</sub>-OCP-[(PLL/PGA)<sub>5</sub>-OCP]<sub>4</sub> (D) i (PLL/PGA)<sub>10</sub>-CaP-[(PLL/PGA)<sub>5</sub>-CaP]<sub>4</sub>(PLL/PGA)<sub>5</sub> (D+). Plastika je korištena kao zlatni standard. Test adhezije T<sub>0</sub> = 30 min, N<sub>0</sub> = 2x10<sup>4</sup>

FIGURE 13.

Adhesion and proliferation test performed on bare Ti plates and Ti coated with: PE ML (ML), calcium phosphate (CaP), and nanocomposites (PLL/PGA)<sub>10</sub> - OCP (B), PLL/PGA<sub>10</sub> - OCP-(PLL/PGA)<sub>5</sub> (B+), (PLL/PGA)<sub>10</sub>-OCP-[(PLL/PGA)<sub>5</sub>-OCP]<sub>4</sub> (D) i (PLL/PGA)<sub>10</sub>-CaP-[(PLL/PGA)<sub>5</sub>-CaP]<sub>4</sub>(PLL/PGA)<sub>5</sub> (D+). Plastic was used as the golden standard. Adhesion test, T<sub>0</sub> = 30 min, N<sub>0</sub> = 2x10<sup>4</sup>



SPEG za razliku od SDS i AOT nije poticao taloženje OCP i značajno je promijenio morfologiju kristala već pri koncentracijama nižim od cmc. Ova razlika može se pripisati prisustvu dvije nabijene skupine u molekuli SPEG. Pri cmc dobiveni su kristali DCPD s grubim i zaobljenim bočnim ploham, dok su iznad cmc nastali glatki, deblji prizmatični kristali. Ove promjene mogu se pripisati prvenstvenoj adsorpciji na sve bočne plohe kristala (slika 8. f), (55).

### 5.3. Makromolekule

U biološkoj mineralizaciji kontrola veličine, oblika i orijentacije kristala postiže se djelovanjem makromolekula. Veličina, oblik i orijentacija kristala jesu ključna svojstva za pripremu dobrih keramičkih materijala, umjetnih implant materijala itd. Fitat (mioinozitol heksafosfat) jest glavni sastojak fosfatnih estera koji se nalaze u zrelim sjemenkama, a pojavljuje se i kao pentafosfatni ester u krvi nekih životinja. Uključen je u metabolizam kalcija, a njegova prekomjerna upotreba u ishrani može dovesti do manjka kalcija. Može se i adsorbirati na površinu zuba i time spriječiti nastajanje karijesa. Ustanovljeno je da je fitat dobar inhibitor kristalnoga rasta kalcijevih oksalata (56).

Poliaspartat ima djelomičnu konformaciju β-nabranog lista i zato je pogodna modelna molekula za proučavanje međudjelovanja kristalne rešetke i polimera definirane strukture.

Fitat i pAsp inhibiraju taloženje DCPD. U oba slučaja nastaju veliki kristali bazične orijentacije jednake onoj u kontrolnom sustavu (slika 8. g i h). To znači da su se oba aditiva selektivno adsorbirala na (010) plohu kristala, koja je u vodenim otopinama prekrivena dvoslojem molekula strukturne vode. No morfološke slike ukazuju da međudjelovanja tih aditiva s (010) plohom nije jednaka. U slučaju fitata ta ploha je glatka, dok je u slučaju pAsp fragmentirana. Razmaci među fosfatnim skupinama u molekuli fitata odgovaraju višekratniku udaljenosti između iona kalcija koji sačinjavaju jedan sloj u strukturi DCPD. Za razliku od fitata, poliaspartat se uklapljuje u dvosloj Ca-HPO<sub>4</sub> jer udaljenosti karboksilnih skupina (6,9 Å) odgovaraju udaljenostima iona kalcija u dva susjedna sloja Ca-HPO<sub>4</sub> - dvosloja (6,95 Å), što objašnjava fragmentirani izgled (010) plohe i razliku u teksturama kristala dobivenih u prisutnosti ta dva aditiva (slika 11.), (24, 31, 52, 53).

## 6. Presvlake za metalne implante

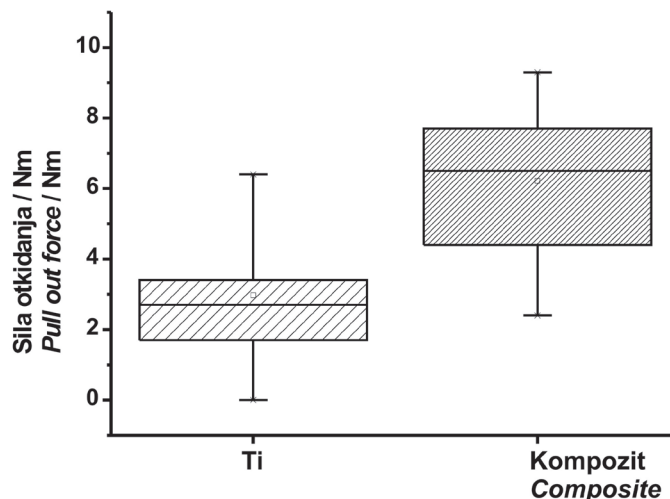
Kao što je vidljivo iz prethodnoga poglavlja međudjelovanja kristala i organskih molekula ovise o veličini i strukturi molekula aditiva, strukturnom slaganju između organske molekule i ionske strukture neke kristalne plohe, te prisutnosti hidratacijskoga sloja izloženoga na površini kristala. Djelovanje aditiva je uz to i ovisno o koncentraciji, te često aditivi mogu djelovati ili kao inhibitori ili kao promotori taloženja (19,20). Te spoznaje od velike su važnosti u osmišljavanju (dizajnu) i pripravi novih koštanih implant materijala, posebno biomimetičkih presvlaka za inertne implante.

SLIKA 14.

Dijagram pravokutnika za silu otkidanja za titanske pločice (Ti) i pločice presvučene nanokompozitom  $(\text{PLL}/\text{PGA})_{10}\text{-CaP-}[(\text{PLL}/\text{PGA})_5\text{-CaP}]_4(\text{PLL}/\text{PGA})_5$  (prema ref. 71)

FIG. 14.

Box and whisker plot of pullout forces for bare chemically etched titanium coins (Ti) and chemically etched titanium coated with organic-inorganic nanocomposite  $(\text{PLL}/\text{PGA})_{10}\text{-CaP-}[(\text{PLL}/\text{PGA})_5\text{-CaP}]_4(\text{PLL}/\text{PGA})_5$ , (after ref. 71)



Naime, većina materijala koji se koriste kao koštani implant (metali, slitine, polimeri) imaju zadovoljavajuća mehanička svojstva, ali su uglavnom bioinertni (57). Da bi se poboljšala bioaktivnost i osteointegracijska svojstva umjetnih koštanih implanta, njihova površina se često prekriva kalcijevim fosfatima. Od različitih metoda pripreme kalcij fosfatnih presvlaka biomimetička metoda danas dobiva sve više na značenju jer je to jedina metoda koja omogućuje ugradnju biološki aktivnih molekula u presvlake. Metoda se sastoji u uranjanju podloge na sobnoj ili fiziološkoj temperaturi u zasićenu vodenu otopinu sastava sličnog ljudskom serumu. Originalna metoda je dugotrajna, a dobiveni kalcijevi fosfati ne prijanjaju dobro uz podlogu (58,59). Da bi se ubrzalo taloženje minerala i poboljšalo prijanjanje, površine podloge se dodatno modificiraju različitim metodama:

- obrada koncentriranom kiselinom i/ili lužinom
- deponiranje samoasociranoga monosloja
- deponiranje amorfno kalcijevog fosfata.

Biološki aktivne molekule mogu se ugraditi u takve presvlake sutaloženjem. Međutim, te molekule uzrokuju koncentracijski ovisne promjene morfologije, sastava i kristalne strukture kalcijevih fosfata (60-62). To znači da bi za svaku specifičnu makromolekulu trebalo istražiti uvjete učinkovite ugradnje.

Privlačno rješenje toga problema moglo bi biti u tome da se najprije adsorbira organska matrica u koju se mogu ugraditi biološki aktivne molekule, a zatim na/u matrici istaložiti kalcijeve fosfate. Idealni kandidati za izgradnju organske matrice jesu višeslojevi polielektrolita (63). Takve se strukture pripremaju naizmjeničnom adsorpcijom pozitivnoga i negativnoga polielektrolita, pri čemu je glavna pokretačka sila elektrostatsko privlačenje. Kako se ta metoda temelji na adsorpciji iz otopine, može se primijeniti na bilo koju nabijenu površinu

neovisno o njezinoj veličini i topologiji (64). U višeslojeve je moguće ugraditi biološki aktivne molekule, koje u velikoj mjeri zadržavaju svoju aktivnost (63,65).

Nove nanokompozitne presvlake za koštane i zubne implante sastoje se od nanokristala kalcijevih fosfata istaloženih in situ u/na višesloju poli-L-lizina (PLL) i poli-L-glutaminske kiseline (PGA), (66-71). Priprava presvlaka uključuje naizmjeničnu adsorpciju višeslojeva PLL/PGA i amorfno kalcijevog fosfata na željenoj podlozi, te naknadni rast kristalnih kalcijevih fosfata na i unutar amorfno kompozita. Ovisno o eksperimentalnim uvjetima i broju adsorbiranih slojeva (sastavu kompozita), amorfni kalcijev fosfat se može transformirati u OCP ili apatit (slika 12.) (66,70).

Selotejp test je pokazao da je adhezija svih materijala koji sadrže ACP loša, jer se veći dio materijala ukloni s pločice. Međutim, svi materijali koji sadrže kristalni kalcijev fosfat dobro prijanjaju na supstrat i samo mali dio se uklanja selotejpom (70). In vitro biološki testovi pokazali su da presvlake čiji je završni sloj kristalni imaju oprečan utjecaj na adheziju i proliferaciju stanica, dok presvlake čiji je završni sloj višesloj PLL/PGA stimuliraju proliferaciju stanica (slika 13.), (68, 71). In vivo test na Novozelandskim bijelim zečevima pokazao je da nakon 8 tjedana kompozit  $(\text{PLL}/\text{PGA})_{10}\text{-CaP-}[(\text{PLL}/\text{PGA})_5\text{-CaP}]_4(\text{PLL}/\text{PGA})_5$  ima statistički značajno bolju integraciju u koštano tkivo od titanskih pločica (Slika 14.), (68, 71).

## Zaključci

Iz prikazanih primjera vidljivo je da organske molekule prisutne u taložnom sustavu svojim međudjelovanjem s nastajućom fazom kontroliraju brzine i mehanizme pojedinih stupnjeva taložnoga procesa, te time utječu i na veličinu,

morfologiju i sastav nastale čvrste faze. Dominantan mehanizam djelovanja organskih molekula s anorganskim kristalima, kako u modelnim sustavima, tako i u biomineralizaciji, jest adsorpcija. Pokretačke sile adsorpcije se kreću od čisto elektrostatskih do vrlo specifičnoga prepoznavanja kristalnih ploha uzrokovanog strukturnom i stereokemijskom kompatibilnošću.

Razumijevanje tih procesa od velike je važnosti za dizajn i pripremu dobrih anorgansko/organskih kompozitnih materijala za regeneraciju kostiju, naročito onih koji bi trebali služiti kao terapijski sustavi sa strogo kontroliranim otpuštanjem biološki aktivnih molekula.

#### Zahvala

Zahvaljujemo na potpori Ministarstvu znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske (projekti 098-0982915-2949 i 219-2192190-2069), te Komisiji Europske unije (projekti SIMI, GRDI -2000-26823 i INCOMAT, NMP3-CT-2007-032918).

#### Acknowledgements:

The support granted by Croatian Ministry of Science, education and sports (projects 098-0982915-2949 i 219-2192190-2069) and Commission of the European Union (SIMI project, GRDI -2000-26823 and INCOMAT project, NMP3-CT-2007-032918) is gratefully acknowledged.

#### LITERATURA

1. Addadi L, Weiner S. Control and design principles in biological mineralization. *Angew Chem Int Ed Engl.* 1996;31:153-69.
2. Addadi L, Berkovitz-Yellin Z, Weissbuch I, VanMil J, Shimon JLW, Lahav M, Leiserowitz L. Growth and dissolution of organic-crystals with tailor-made inhibitors - implications in stereochemistry and materials science. *Angew Chem Int Ed Engl.* 1985;24:466-85.
3. Louis C. Kidney Stone Photographs. Herring & Company (citirano 18.03.2010.). Dostupno na: URL: <http://www.herringlab.com/photos>
4. Photon Capture Technical Services. Scanning Human Bones (citirano 18.03.2010.) Dostupno na: URL: <http://www.photoncapture.com/2009/05/05/scanning-human-bones>
5. Chung H-J, Abrahams HA, Meng MV, Stoller ML. Theories of stone formation. U: Stoller ML, Meng MV, urednici. *Urinary stone disease.* New Jersey: Humana Press; 2007. str. 55-68.
6. Boyce WH, King JS. Crystal-matrix interrelations in calculi. *J Urol.* 1959;81:351-65.
7. Allen TD, Spence HM. Matrix stones. *J Urol.* 1966;95:284-90.
8. Mall JC, Collins PA, Lyon ES. Matrix calculi. *Br J Radiol.* 1975;48:807-10.
9. Boyce WH. Organic matrix of human urinary concretions. *Am J Med.* 1968;45:673-83.
10. Boyce WH, King JS, Jr, Fielden ML. Total nondialyzable solids (TNDS) in human urine. VIII. Immunological detection of a component peculiar to renal calculous matrix and to urine of calculous patients. *J Clin Invest.* 1962;41:1180-9.
11. Nakagawa Y, Ahmed M, Hall SL, Deganello S, Coe FL. Isolation from human calcium oxalate renal stones of nephrocalcin, a glycoprotein inhibitor of calcium oxalate crystal growth. Evidence that nephrocalcin from patients with calcium oxalate nephrolithiasis is deficient in gamma-carboxyglutamic acid. *J Clin Invest.* 1987;79:1782-7.
12. Grant AM, Baker LR, Neuberger A. Urinary Tamm-Horsfall glycoprotein in certain kidney diseases and its content in renal and bladder calculi. *Clin Sci.* 1973;44:377-84.
13. Roberts SD, Resnick MI. Glycosaminoglycans content of stone matrix. *J Urol.* 1986;135:1078-83.
14. Weiner S, Wagner HD. The material bone: structure-mechanical function relations. *Annu Rev Mater Sci.* 1998;28:271-98.
15. Füredi-Milhofer H, Walton AG. Principles of precipitation of fine particles. 3. izd. U: Parfitt GD, urednik. *Dispersion of powders in liquids.* New Jersey: Appl Sci Publ; 1981. str. 203-72.
16. Hirth JP, Pound GM. Condensation and evaporation. Oxford: Pergamon Press; 1963.
17. Walton AG. The formation and properties of precipitates. New York: Interscience Publishers; 1967.
18. Gibbs JW. Collected works. Thermodynamics, vol. 1. New York: Yale Univ Press; 1948.
19. Dutour Sikirić M, Füredi-Milhofer H. The influence of surface active molecules on the crystallization of biominerals in solution. *Adv Colloid Interface Sci.* 2006;128:135-58.
20. Füredi-Milhofer H, Sarig S. Interactions between polyelectrolytes and sparingly soluble salts. *Progress in Crystal Growth and Characterization of materials.* 1996;32:45-74.
21. Boistelle R. Fundamentals of nucleation and crystal growth. U: Garti N, Sato K, urednici. *Crystallization and polymorphism of fats and fatty acids.* New York: Marcel Dekker; 1988. str. 189-226.
22. Grases F, March JG. Adsorption processes during crystalline growth - an analytical tool. *Trends Analyt Chem.* 1991;10:190-5.
23. Tadros TF. Physical stability of suspension concentrates. *Adv Colloid Interface Sci.* 1980;12:141-261.
24. Füredi-Milhofer H, Sikirić M, Tunik L, Filipović-Vinceković N, Garti N. Interactions of organic additives with ionic crystal hydrates: the importance of the hydrated layer. *Inter J Modern Phys B.* 2002;16:359-66.
25. Addadi L, Weiner S. Interactions between acidic proteins and crystals - stereochemical requirements in biomineralization. *Proc Natl Sci (USA).* 1985;82:4110-14.
26. Angel R. Removal of phosphate from sewage as amorphous calcium phosphate. *Environ Technol.* 1999;20:709-20.
27. Kosar-Grašić B, Purgarić B, Füredi-Milhofer H. Precipitation of calcium phosphates from electrolyte-solutions. 6. Precipitation diagram of calcium hydrogen phosphate. *J Inorg Nucl Chem.* 1978;40:1877-80.
28. Curry NA, Jones DW. Crystal structure of brushite, calcium hydrogen orthophosphate dihydrate-neutron-diffraction investigation. *J Chem Soc A.* 1971:3725-9.
29. Abbona F, Christensson F, Franchini-Angela M, Lundager Madsen HE. Crystal habit and growth-conditions of brushite, CaHPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O. *J Cryst Growth.* 1993;131:331-46.
30. Hanein D, Geiger B, Addadi L. Fibronectin adsorption to surfaces of hydrated crystals - an analysis of the importance of bound water in protein substrate interactions. *Langmuir.* 1993;9:1058-65.
31. Sikirić M, Babić-Ivančić V, Milat O, Sarig S, Füredi-Milhofer H. Factors influencing additive interactions with calcium hydrogenphosphate dihydrate crystals. *Langmuir.* 2000;16:9261-6.
32. Brečević Lj, Füredi-Milhofer H. Precipitation of calcium phosphates from electrolyte solutions. 2. Formation and transformation of precipitates. *Calcif Tissue Res.* 1972;10:82-90.
33. Despotović R, Filipović-Vinceković N, Füredi-Milhofer H. Precipitation of calcium phosphates from electrolyte solutions. 3. Radiometric studies of kinetics of precipitation and aging of calcium phosphates. *Calcif Tissue Res.* 1975;18:13-26.
34. Bar Yosef Ofir P, Govrin-Lippman R, Garti N, Füredi-Milhofer H. The influence of polyelectrolytes on the formation and phase transformation of amorphous calcium phosphate. *Cryst Growth Des.* 2004;4:177-83.
35. Kay MI, Young RA, Posner AS. Crystal structure of hydroxyapatite. *Nature.* 1964;204:1050-2.



36. Eanes ED, Gillesen IH, Posner AS. Intermediate states in the precipitation of hydroxyapatite. *Nature*. 1965;208:365-7.
37. Betts F, Posner AS. X-ray radial-distribution study of amorphous calcium-phosphate. *Mater Res Bull*. 1974;9:353-60.
38. Betts F, Posner AS. A structural model of amorphous calcium phosphate. *Trans Am Crystallogr Assoc*. 1974;10:73-84.
39. Posner AS, Betts F, Blumenthal NC. Formation and structure of synthetic and bone hydroxyapatites. *Prog Cryst Growth Charact Mater*. 1980;3:49-64.
40. Füredi-Milhofer H, Moradian-Oldak J, Weiner S, Veis A, Mintz KP, Addadi L. Interactions of matrix proteins from mineralized tissues with octacalcium phosphate. *Connect Tissue Res*. 1994;30:251-264.
41. Brown WE. Octacalcium phosphate and hydroxyapatite. *Nature*. 1962;196:1048-1050.
42. Elliott JC. Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates. Amsterdam: Elsevier; 1994.
43. Garcia-Ramos JV, Carmona P. The effect of some homopolymers on the crystallization of calcium phosphates. *J Cryst Growth*. 1982;57:336-42.
44. Komunjer Lj, Marković M, Füredi-Milhofer H. Influence of amino-acids on the precipitation kinetics of calcium-oxalate monohydrate. *J Cryst Growth*. 1993;132:122-8.
45. Tiselius HG, Berg C, Fornander AM, Nilsson MA. Effects of citrate on the different phases of calcium-oxalate crystallization. *Scann Microscopy*. 1993;7:381-90.
46. Tiselius HG, Fornander AM, Nilsson MA. The effects of citrate and urine on calcium-oxalate crystal aggregation. *Urol Res*. 1993;21:363-6.
47. Berg C, Tiselius HG. The effects of citrate on hydroxyapatite induced calcium-oxalate crystallization and on the formation of calcium-phosphate crystals. *Urol Res*. 1989;17:167-72.
48. Laminski NA, Meyers AM, Sonnekus MI, Smyth AE. Prevalence of hypocitraturia and hypopyrophosphaturia in recurrent calcium stone formers - as isolated defects or associated with other metabolic abnormalities. *Nephron*. 1990;56:379-86.
49. Berg C, Larsson L, Tiselius HG. Effects of different doses of alkaline citrate on urine composition and crystallization of calcium-oxalate. *Urol Res*. 1990;18:13-6.
50. Levine BS, Rodman JS, Weiner S, Bockman RS, Lane JM, Chapman DS. Effect of calcium citrate supplementation on urinary calcium-oxalate saturation in female stone formers - implications for prevention of osteoporosis. *Am J Clin Nutr*. 1994;60:592-6.
51. Tomson CRV. Prevention of recurrent calcium stones - a rational approach. *British J Urol*. 1995;76:419-24.
52. Sikirić M, Babić-Ivančić V, Milat O, Sarig S, Füredi-Milhofer H. Engineering crystal growth of calcium hydrogenphosphate dihydrate. *Key Eng Mat*. 2000;192-1:11-4.
53. Sikirić M, Sarig S, Füredi-Milhofer H. The interaction of small and macromolecules with growing calcium hydrogenphosphate dihydrate crystals. *Prog Colloid Polymer Sci*. 1998;110:300-4.
54. Škrtić D, Filipović-Vinceković N, Babić-Ivančić V, Tušek-Božić Lj. Influence of sodium cholate on the crystallization of calcium-oxalate. *J Cryst Growth*. 1993;133:189-95.
55. Bujan M, Sikirić M, Filipović-Vinceković N, Vdović N, Garti N, Füredi-Milhofer H. Effect of anionic surfactants on crystal growth of calcium hydrogenphosphate dihydrate crystals. *Langmuir*. 2001;17:6461-70.
56. Grases F, Costa-Bauzá A, March JG. Inhibition of growth of calcium-oxalate crystals at constant supersaturation - determination of phytate. *Analysis*. 1993;21:95-9.
57. Le Geros RZ, Craig RG. Strategies to affect bone remodeling: Osteointegration. *J Bone Mineral Res*. 1993;8(Suppl. 2):583-96.
58. Kokubo T. Apatite formation on surfaces of ceramics, metals and polymers in body environment. *Acta Mater*. 1998;46:2519-7.
59. Wen HB, de Wijn JR, Cui FZ, de Groot K. Preparation of calcium phosphate coatings on titanium implant materials by simple chemistry. *J Biomed Mater Res*. 1998;41:227-36.
60. Wen HB, de Wijn JR, van Bitterswijk CA, de Groot K. Incorporation of bovine serum albumin in calcium phosphate coating on titanium. *J Biomed Mater Res*. 1999;46:245-52.
61. Stigter M, de Groot K, Layrolle P. Incorporation of tobramycin into biomimetic hydroxyapatite coating on titanium. *Biomaterials*. 2002;23:4143-53.
62. Uchida M, Oyane A, Kim HM, Kokubo T, Ito A. Biomimetic coating of laminin-apatite composite on titanium metal and its excellent cell-adhesive properties. *Adv Mater*. 2004;16:1071-4.
63. Decher G. Fuzzy nanoassemblies: toward layered polymeric multicomposites. *Science*. 1997;277:1232-7.
64. Jessel N, Atalar F, Lavallo P, Mutterer J, Decher G, Schaaf P, Voegel JC, Ogier J. Bioactive coatings based on polyelectrolyte multilayer architecture functionalized by embedded proteins. *Adv Mater*. 2003;15:692-5.
65. Hammond PT. Recent explorations in electrostatic multilayer thin film assembly. *Curr Opin Coll Interf Sci*. 2000;4:430-42.
66. Füredi-Milhofer H, Dutour Sikirić M, Bar Yosef P, Cuisinier F, Gergely C. Organic-inorganic nanocomposite coatings for implant materials and methods of preparation thereof. PCT/ US 10,535,939; 2003.
67. Gergely C, Bar-Yosef P, Govrin-Lippman R, Cuisinier F, Füredi-Milhofer H. The deposition of calcium phosphates within polyelectrolyte multilayer films. *Key Eng Mater*. 2003;240-42:287-90.
68. Dutour Sikirić M, Gergely C, Cuisinier F, Füredi-Milhofer H. Biomimetic organic-inorganic nanocomposite coatings for titanium implants. I. Preparation, physicochemical and mechanical characterization. *Key Eng Mater*. 2007;330-32:389-92.
69. Dutour Sikirić M, Elkaim R, Lamolle S, Ronold HJ, Lyngstadass SP, Füredi-Milhofer H, Cuisinier F. Organic-inorganic nanocomposite coatings for titanium implants. II. Biological "in vitro" and "in vivo" characterization. *Key Eng Mater*. 2007;330-332:401-4.
70. Dutour Sikirić M, Gergely C, Elkaim R, Wachtel E, Cuisinier FJG, Füredi-Milhofer H. Biomimetic organic-inorganic nanocomposite coatings for titanium implants. *J Biomed Mater Res Part A*. 2009;89A:759-71.
71. Schade R, Dutour Sikirić M, Lamolle S, Ronold HJ, Lyngstadass SP, Liefeyth K, Cuisinier F, Füredi-Milhofer H. Biomimetic organic-inorganic nanocomposite coatings for titanium implants. In vitro and in vivo Biological Testing. *J Biomed Mater Res Part A*. 2010;95(3):691-700.

## INTERACTIONS AT INORGANIC/ORGANIC INTERFACES – FROM BIOMINERALIZATION TO HARD TISSUE IMPLANT MATERIALS

Maja Dutour Sikirić<sup>1,\*</sup>, Vesna Babić-Ivančić<sup>1,2</sup>, Nada Filipović-Vinceković<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Institut "Ruđer Bošković", Zagreb, <sup>2</sup>Medicinski fakultet, Osijek

Corresponding author:

\*Maja Dutour Sikirić

Laboratory for Synthesis and Processes of Selfassembling of Organic Molecules

Division of Physical Chemistry

Ruđer Bošković Institute

Bijenička c. 54 10 000 Zagreb

tel: 01 45 60 941 / fax: 01 46 80 245 / e-mail: sikiric@irb.hr

Original scientific paper

### ABSTRACT

Interactions at organic/inorganic interfaces underly many natural precipitation processes. Bones and urinary stones are two types of mineralized tissue in human organism that attract special attention due to the medical problems connected with them. In this paper, through the review of the investigations of interactions between organic additives and calcium phosphate crystals performed in our group, it is shown how results obtained in these model systems can be applied in design and preparation of novel biomimetic coatings for bone metal implants.

Keywords: Additives; Biomimetic coatings; Bone mineralization; Calcium phosphates; Chemical precipitation; Urolithiasis

### Acknowledgements:

The support granted by Croatian Ministry of Science, education and sports (projects 098-0982915-2949 i 219-2192190-2069) and Commission of the European Union (SIMI project, GRDI -2000-26823 and INCOMAT project, NMP3-CT-2007-032918) is gratefully acknowledged.