



ESTRATTO

Collegio dei Docenti del Dottorato “ Tecnologie e Pianificazione Ambientale”

Oggi, 28/11/2006, alle ore 11,00, nella sala Seminari il Collegio dei Docenti del Dottorato, secondo quanto deliberato il giorno 22/11/06, si riprende la seduta del 22/11 per discutere i seguenti punti, quali ordine del giorno, punti sui quali si era deciso di discutere nella giornata odierna:

Punto 1: valutazione dell'attività dei dottorandi del XVII- XVIII- XIX ciclo e loro ammissione all'esame finale.

Punto 2: valutazione dell'attività dei dottorandi del XX e del XXI ciclo e loro ammissione all'anno successivo.

| | Presente | Assente giustificato | Assente |
|----------------------------|----------|----------------------|---------|
| Festa prof. Demetrio | X | | |
| Nastro prof. Alfonso | | X | |
| Del Giudice prof. Vincenzo | | | X |
| Ciccione prof. Filippo | | | X |
| D'Elia prof. Sergio | X | | |
| Principe prof. Ilario | | | X |
| Capiluppi prof. Gianfranco | | X | |
| Astarita ing. Vittorio | X | | |
| Artese Giuseppe | X | | |
| Celani arch. Gabrio | X | | |
| Francini arch. Mauro | X | | |
| Mazzulla ing. Gabriella | X | | |
| Parise arch. Federico | | | |
| X | | | |
| Pellegrini ing. Francesco | X | | |
| De Luca ing. Pierantonio | | X | |
| Vaiana ing. Rosolino | X | | |
| Salvo ing. Francesca | X | | |

Presiede il prof. Sergio d'Elia; verbalizza l' ing. Francesca Salvo.

Il Coordinatore, constatata la presenza del numero legale, dichiara aperta la seduta e passa alla discussione dei punti all'ordine del giorno.



Università degli Studi della Calabria
Dipartimento di Pianificazione Territoriale

Il coordinatore informa che gli è pervenuta da parte del prof. Capiluppi la delega a favore dell'ing. Rosolino Vaiana per relazionare in sua vece sul candidato Gallelli.

Il Coordinatore informa che alla data del 30 ottobre 2006, secondo le richieste del Collegio, erano pervenute le tesi finali e le relazioni intermedie dei dottorandi in modo da consentire ai membri del Collegio la lettura approfondita dei lavori di ricerca:

- **Veltri Maria** del XVII ciclo;
- **D'Alessandro Erminia** del XVIII ciclo;
- **Utech Marianna, Vitale Alessandro e Nastro Valentina** del XIX ciclo;

e le relazioni di fine anno dei dottorandi:

- **Filice Monica, Eboli Laura, Aragona Francesco, Guzzo Mirko, Gallelli Vincenzo e Mongelli Domenico W.**, del XX ciclo,
- **Palermo Annunziata, Sansosti Rosa, Cordasco Mario e Vescio Alessandro** del XXI ciclo.

Non è pervenuta alcuna relazione da parte dell'allieva **Paola Greco** nonostante i ripetuti solleciti del coordinatore e del tutor prof. Federico Parise.

(OMISSIS)

Il Collegio dei Docenti discute sulle attività e sulla produzione della candidata.

Il coordinatore illustra l'attività dell'allieva **Utech Marianna** che ha svolto una tesi su "Metodologie di sintesi e caratterizzazione di materiali di interesse bioingegneristico a base di idrossiapatite e non". Nell'ultimo anno di ciclo ha presentato due comunicazioni una accettata da una rivista internazionale e l'altra presentata ad un convegno internazionale ma non ancora pubblicato.

Il Collegio dei Docenti discute sulle attività e sulla produzione della candidata.

(OMISSIS)

Il Collegio dei Docenti vista la relazione sulle attività, vista la produzione scientifica degli allievi: **Marianna Utech**, dopo ampia e profonda discussione e sentite o lette le relazioni dei rispettivi Tutor, approva all'unanimità le attività dell'anno in corso ed ammette gli stessi a sostenere l'esame finale per il conseguimento del titolo di Dottore in tecnologie e pianificazione ambientale.



Università degli Studi della Calabria
Dipartimento di Pianificazione Territoriale

(OMISSIS)

Alle ore 14,40 non avendo altro da discutere, il Coordinatore dichiara la seduta sciolta.

Letto confermato e sottoscritto

Il segretario

Ing. Francesca Salvo

Il Coordinatore

Prof. Sergio d'Elia

Università Degli Studi Della Calabria

DOTTORATO DI RICERCA IN TECNOLOGIE
E PIANIFICAZIONE AMBIENTALE
XIX CICLO

*METODOLOGIE DI SINTESI E CARATTERIZZAZIONE DI
MATERIALI
DI INTERESSE BIOINGEGNERISTICO
A BASE DI IDROSSIAPATITE*

Dottoranda

Dott.ssa Marianna Utech

Tutor

Prof. Alfonso Nastro

Indice

Cenni storici sui biomateriali

Introduzione ai biomateriali

PARTE PRIMA

➤ **CAPITOLO 1**

Il tessuto osseo

- 1.1 Introduzione
- 1.2 Il tessuto osseo
- 1.3 Cellule ossee
- 1.4 Funzioni del tessuto osseo
- 1.5 La struttura delle ossa
- 1.6 L'analisi dell'osso

➤ **CAPITOLO 2**

- 2.1 Considerazioni generali sui biomateriali
- 2.2 Fenomeni superficiali
- 2.3 Biocompatibilità: norme, requisiti
- 2.4 Materiali sintetici
- 2.4. L' idrossiapatite
- 2.6 Calcificazione Ossea
- 2.7 Campi di applicazione dei biomateriali

➤ **CAPITOLO 3**

I denti e la carie

- 3.1 I denti
- 3.2 Sviluppo del dente
- 3.3 Tipologia
- 3.4 I denti posteriori
- 3.5 I denti anteriori
- 3.6 Struttura
- 3.7 Funzione masticatoria
- 3.8 La carie
- 3.9 Conseguenze della carie
- 3.10 Come si presenta la carie
- 3.11 Evoluzione della carie
- 3.12 Eziopatogenesi della carie
- 3.12 Cause della formazione della carie
- 3.13 Microrganismi coinvolti nella carie dentaria
- 3.14 Problemi associati alla formazione della carie
- 3.15 Tipi di carie
- 3.16 Come si previene la carie

➤ **CAPITOLO 4**

I Nanotubi in Carborionio: generalità e applicazioni

- 4.1 Definizione
- 4.2 Nanofibre, o nanofilamenti di carbonio
- 4.3 Nanotubi a parete singola – SWNT
- 4.4 Nanotubi a parete multipla – MWNT
- 4.5 Proprietà e possibili usi
- 4.6 Metodi di sintesi
- 4.7 Tecniche di purificazione

4.8 Eliminazione delle particelle di catalizzatore

4.9 Le Nanotecnologie

4.10 Applicazione dei nanotubi in biologia

PARTE SECONDA

Strumentazione adottata per le analisi

➤ **CAPITOLO 5**

5.1 Introduzione

5.1 Microscopia elettronica a scansione (SEM) e Microanalisi (EDS)

5.2 Diffrazione a raggi X (XRD)

5.3 Analisi termica

5.4 Resistenza meccanica a compressione

5.5 Pressa idraulica

5.6 Sinterizzazione e Porosità

5.7 Stadi di sviluppo della porosità

5.7 Spettrofotometria

5.8 Centrifugazione

PARTE TERZA

Risultati e Discussioni

Scopo della Ricerca

➤ **CAPITOLO 6**

- 6.1 Sintesi della polvere di idrossiapatite.
- 6.2 Campi di cristallizzazione
- 6.3 Caratterizzazione cinetica dei prodotti di idrossiapatite in condizioni statiche e dinamiche
- 6.4 Microscopia elettronica a scansione e microanalisi (EDS)

➤ **CAPITOLO 7**

- 7.1 Formazione di scaffold a base di idrossiapatite poprosa
- 7.2 Formazione di compositi a base di idrossiapatite e collagene
- VI.3 Microscopia elettronica e Microanalisi (EDS)

➤ **CAPITOLO 8**

Applicazioni

Utilizzo dell'Idrossiapatite per formazione di scaffold come dispensatori di farmaci

- 8.1 Preparazione delle pasticche di ha
- 8.2 Imbibizione dei precursori spugnosi di cellulosa
- 8.3 Procedimento di impregnazione delle pasticche di ha con il farmaco
- 8.4 Preparazione delle pasticche di Idrossiapatite
- 8.5 Scaffold a base di nanotubi di carbonio e idrossiapatite
- 8.6 Preparazione delle pasticche di HA e Nanotubi in Carbonio.

Utilizzo dell'Idrossiapatite nella remineralizzazione del dente umano.

8.7 Materiali adoperati

8.8 Preparazione dell'HA

8.9 Preparazione dei campioni di denti

8.10 Trattamento della pasta e del gel dentifricio

8.11 Analisi diffrattometrica dei denti cariosi trattati con pasta dentifricia contenente idrossiapatite .

8.12 Analisi diffrattometrica dei denti cariosi trattati con gel dentifricia contenente idrossiapatite

8.13 Analisi termogravimetrica dei denti cariosi trattati con gel e pasta dentifricia contenente idrossiapatite

8.14 Analisi SEM dei campioni trattati con pasta e gel dentifricia.

CONCLUSIONI

➤ *APPENDICE*

➤ *BIOBLOGRAFIA*

Cenni storici sui biomateriali

Quando circa duemila anni a.C. ci si è impadroniti della tecnologia per la lavorazione dei metalli l'uomo è passato dalla lunga fase dell'età della pietra a quelle del rame e del bronzo prima e del ferro poi. Se queste sono le grandi ere che hanno cadenzato il passo della preistoria e delle prime fasi della storia dell'umanità, non da meno lo sono state le scoperte relative alla produzione di materiali come le ceramiche, le fibre tessili, la carta.

Spesso per passare da una tecnologia ad un'altra sono stati necessari secoli e a volte millenni, i progressi nell'uso di nuovi materiali sono stati spesso lenti e sporadici e nel secolo della rivoluzione industriale largamente legati all'uso di leghe e materiali metallici. Mai come nel xx secolo, però, l'evoluzione nel campo della produzione di nuovi materiali ha assunto ritmi e dimensioni mai visti in precedenza.

Lo sviluppo e la ricerca dei materiali continua a crescere e spinge sempre più i ricercatori a migliorare le caratteristiche di sistemi noti e a scoprire materiali nuovi e loro fasi, nonché nuove tecniche di preparazione e di caratterizzazione, in un approccio integrato in cui competenze diverse di tipo chimico, fisico e ingegneristico si completano e si arricchiscono a vicenda.

Si può dire che la storia dei biomateriali e quindi la loro utilizzazione per le protesi è antichissima. Nell'uomo è sempre stato tanto il desiderio e la necessità di sostituire parti del corpo umano ormai inutili e difettose in modo da poter migliorare la qualità della vita.

Il sogno di sostituire alcune parti del corpo umano danneggiate o perdute è assai antico, infatti fin dall'età dei fenici è possibile osservare delle rudimentali strutture artificiali: i fenici legavano insieme i denti artificiali ai denti naturali con fili d'oro in modo da creare dei ponti che gli facilitavano la masticazione.

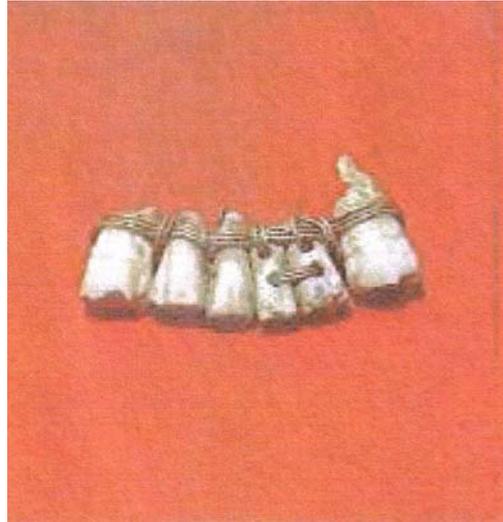


Figura 1.1: antico ponte fenicio

Anche i medici dell'antico popolo egizio tentavano arditi innesti utilizzando tecniche basate sull'utilizzo di strutture artificiali; sono state, infatti, scoperte in antiche tombe egizie mummie con protesi di vari metalli, ma il metallo maggiormente utilizzato nella creazione di tali strutture era il ferro.

Dati storici dimostrano che il ferro usato per la costruzione di strutture per la sostituzione di parti de corpo sia stato usato per la prima volta in Mesopotamia e che il ferro adoperato in Egitto era di origine meteorica.



Figura 2.1: protesi egizia

Ma per molti secoli i progressi furono lentissimi proprio per la mancanza dei materiali adatti, anche a partire dal diciassettesimo secolo, quando si cominciarono a costituire protesi sempre più complesse usando oro, argento e ferro i problemi di biocompatibilità furono un ostacolo insuperabile.

Qualche secolo fa nel “De eruto ed ammitto oculo” Fabrizio d’Acquapendente (Venezia 1619) parla di occhio artificiale: “per correggere la deformità che residua all’enucleazione o la perdita di un occhio, bisogna rimpiazzarlo con un occhio di vetro, di pietra, d’argento o di un’altra materia che sia il più possibile rassomigliante per colore, forma e grandezza a quello della persona interessata. Se l’occhio viene perso interamente bisogna adattarne uno che sia di forma sferica; se ne rimane una parte bisogna allora applicare un guscio concavo in vetro”.

Fu solo nel 1669 che l’alchimista H. Brandt scoprì il fosfato e fu secolo un secolo dopo, nel 1770, che lo stesso fosfato fu riconosciuto per essere uno dei componenti principali in ossa animali e nei denti e molto tempo dopo, nel 1880 ha cominciato ad esser prodotto.

Comunque lo sviluppo nella produzione dei biomateriali è stato notevolmente lento fino, approssimativamente, al 1940. Ed, infatti, ci fu un grande utilizzo in campo industriale dei fosfati, tanto che negli anni quaranta si svilupparono nuove tecniche per la produzione di sempre nuovi materiali ceramici.

Sfortunatamente, l’uso dei fosfati inquinò vari fiumi e laghi e questo portò i fosfati a divenire il fuoco della critica.

La svolta è cominciata solo negli ultimi tempi da un lato con i progressi della chirurgia e dalla lotta alle setticemie e dall’altro con la chimica dei biomateriali che hanno reso possibile cominciare a costruire ossa e articolazioni con le materie plastiche.

Con il passare degli anni sono state, però, le materie plastiche ad apportare un notevole miglioramento delle protesi, questo perchè tali materie plastiche hanno indubbiamente una maggiore leggerezza .Eppure nonostante tutto l'introduzione delle materie plastiche nel campo dei biomateriali è una storia abbastanza recente e casuale.

Sempre per rimanere nel campo oculistico, il PMMA (polimetilmetacrilato) era conosciuto fin dal 1800, ma il suo utilizzo come materiale per lenti intraoculari avvenne subito dopo la seconda guerra mondiale, quando il Sir John Charnley si accorse che i piloti feriti nell'occhio da schegge di PMMA provenienti dall'esplosione della finestra della cabina di pilotaggio del loro aereo non riportavano reazioni da corpo estraneo cosa che invece avveniva per le schegge di vetro.

Una veloce scorsa alla letteratura dei biomateriali mostra che negli ultimi anni c'è stata una transizione dal pragmatismo o casualità di alcuni ricercatori nell'utilizzare materiali polimerici per protesi ad una ricerca più controllata e posta su basi più scientifiche.

Materiali commerciali usati come materiali per protesi



**Materiali nuovi, specifici ed alternativi
espressamente sinterizzati**



**Progettazione e sviluppo di materiali
a base biologica**

Basti pensare che il PVC (polivinilcloruro), il materiale di cui è costituita la gomma per annaffiare, è stato per molti anni lo stesso materiale usato per protesi.

Tentativi più recenti hanno portato a selezionare i polimeri commercialmente disponibili purificandoli il più possibile e ad usarli come un punto di partenza

nella fabbricazione delle protesi. Tutto questo viene fatto per evitare sempre di più i problemi derivanti dall'uso non corretto dei materiali che devono entrare in contatto con il corpo umano.

Per studiare lo sviluppo della tecnologia dei materiali di fosfato inorganico esiste una classificazione. Fu Westman che classificò le referenze tecniche sui fosfati come materiale ceramico e tale classificazione apparve nel "Ceramic Abstract" compilata dalla "American Ceramic Society". La classificazione è mostrata nella tabella 1.1.

Tabella 1.1

| | | Materiali cristallini | materiali simili a vetro | totale |
|---------------------|---------------------------|--------------------------|-----------------------------|--------|
| Principi (48%) | | 103 | 315 | 418 |
| Materiali (52%) | Materie prime | 19 | 2 | 21 |
| | Sintesi e preparazione | 98 | 70 | 168 |
| | Prodotti strutturali | 30 | 5 | 35 |
| | Biomateriali | 24 | 4 | 28 |
| | Ceramica funzionale | 33 | 147 | 180 |
| | Altro | 13 | 11 | 24 |
| | Totale | 217 | 239 | 456 |
| Totale | | 320 (37%) | 554 (63%) | 874 |

Oggi, invece, la tendenza è quella di ricercare e sintetizzare biomateriali per specifiche applicazioni. Così sono stati sviluppati materiali sui quali non avviene il processo di coagulazione del sangue, protesi ossee con capacità osteointegrative, mentre i sistemi di rilascio controllato dei farmaci sono ormai

usati annualmente da decine di milioni di persone, stent orto coronarici sono stati ricoperti da materiali che impediscono il fenomeno della restenosi, combinando polimeri con cellule del paziente è possibile costruire una nuova pelle per le persone che hanno subito bruciature o presentano delle ulcere e tanti altri esempi.

Uno studio interdisciplinare ed una ricerca integrata nel campo dei polimeri per applicazioni biomediche nacque da un progetto promosso dall'NIH (Istituto Nazionale per la Salute, negli Stati Uniti) nel 1960. L'istituto finanziò una ricerca per nuovi materiali emocompatibili che dovevano essere utilizzati per il cuore artificiale. Questa data viene considerata da molti l'inizio e la nascita della scienza dei biomateriali, una disciplina giovane che necessita del supporto di molte discipline più classiche come la fisica, la chimica, la biologia, l'ingegneria e la medicina. La caratteristica di questa scienza è proprio l'interdisciplinarietà e l'umiltà. Ci deve essere cioè una perfetta integrazione tra tutte le discipline, come anche la consapevolezza che nessuna disciplina è più importante delle altre. Insieme e solo insieme si deve contribuire a capire il complesso mondo dei biomateriali.

E' difficile dire adesso quali potranno essere in futuro gli sviluppi di queste tecnologie. I "nuovi materiali" biomedicali si moltiplicano continuamente, basti ricordare i ceramici ed il loro enorme utilizzo.

Introduzione ai biomateriali

Rigenerare o ingegnerizzare, come ormai si dice comunemente, nuovi tessuti od organi potrà un giorno diventare un'operazione di routine per sostituire tessuti malati od organi mal funzionanti. Questi tessuti ingegnerizzati devono non solamente riempire un difetto ed integrarsi con il tessuto ospitante, ma spesso devono anche modificarsi con le necessità dell'organismo che, crescendo, cambiano con il tempo. Questo è possibile grazie all'utilizzo di alcuni tipi di materiali.

Le interazioni tra la scienza della vita e la scienza dei materiali sono state sfruttate con successo durante gli ultimi anni specialmente nei settori strettamente correlati ai biomateriali.

Un materiale, sia esso chimicamente organico od inorganico, viene comunemente chiamato "BIOMATERIALE" quando presenta alcune caratteristiche che gli permettono di reagire con il corpo che lo ospita in maniera non tossica controllata e prevedibile. Un biomateriale è dunque un qualsiasi oggetto estraneo inserito in un ambiente biologico.

Molti materiali organici possono derivare sia da sintesi chimica che da tessuti naturali, sia essi animali o vegetali, successivamente trattati sia chimicamente che fisicamente.

I biomateriali hanno risposto al bisogno dell'uomo di sostituire o integrare tessuti od organi che non sono più attivi da un punto di vista funzionale o metabolico, che sono danneggiati da eventi patologici o traumatici e hanno coronato con successo una lunga serie di tentativi che risalgono agli albori della medicina.

Molti biomateriali vengono adoperati come possibili materiali per la costruzione di molti organi artificiali d'ossa, rimpiazzi di dispositivi di giunzioni,

per impianti dentali e lenti intraoculari, per la costruzione di valvole cardiache e innesti vascolari, nell'ingegneria dei tessuti.

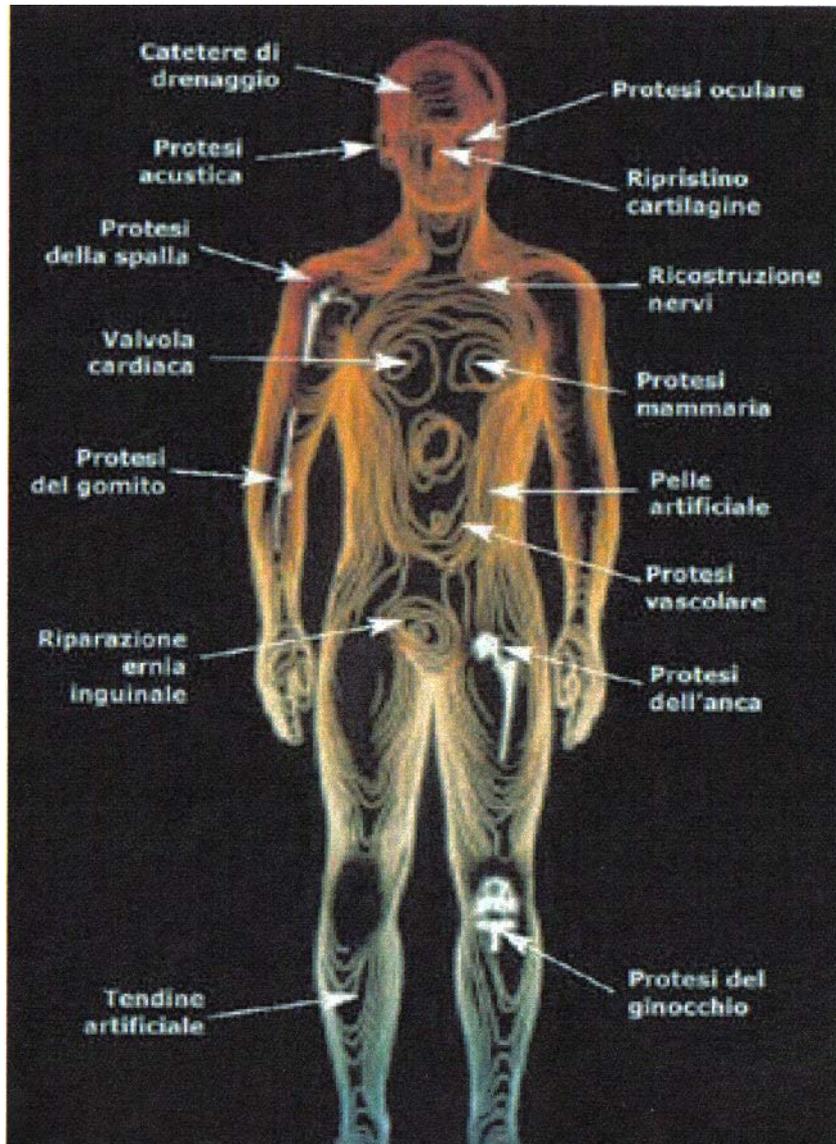


Figura 1: esempi di dispositivi medici

Grazie ai biomateriali oggi è possibile realizzare:

- lenti a contatto e intraoculari realizzate in materiale polimerico e altamente trasparente che permettono di ripristinare una corretta

- funzione visiva; le lenti intraoculari sono utilizzate per rimpiazzare il cristallino naturale quando questo diventa opaco;
- impianti dentali tramite una vite integrata nell'osso posizionata in modo stabile;
 - valvole cardiache costituite da struttura metallica e da foglietti mobili ricoperti da un particolare tipo di carbonio; queste strutture sostituiscono le valvole naturali quando queste non sono più in grado di aprirsi o chiudersi correttamente;
 - innesti vascolari utilizzati per sostituire o sostenere tratti di vasi sanguigni;
 - protesi articolari utilizzati per anche e ginocchi, ma anche per sostituire la funzione compromessa di spalle, polsi e caviglie;
 - in ortopedia vengono utilizzate viti, chiodi e placche per facilitare il corretto consolidamento delle ossa in seguito ad una frattura;
 - in ingegneria tissutale sono utilizzati come impalcatura su cui possono proliferare e organizzarsi nuove cellule che andranno a sostituire quelle danneggiate.

Le prestazioni di tali materiali adoperati in campo medico vengono valutate in base alla loro biofunzionalità e biocompatibilità. La biofunzionalità si riferisce alle proprietà che un dispositivo deve avere per riprodurre una determinata funzione dal punto di vista fisico e meccanico; la biocompatibilità si riferisce alla capacità del dispositivo di continuare a svolgere quella determinata funzione durante tutta la vita utile dell'impianto ed è quindi strettamente connessa alle interazioni tra i biomateriali ed i tessuti con cui vengono a contatto.

I biomateriali vengono divisi in classi:

- polimeri sintetici;
- polimeri naturali e tessuti;
- materiali metallici;
- carbonio;

- vetri e ceramici.

I polimeri sintetici comprendono le fibre, le gomme, le plastiche duttili, i semicristalli.

I polimeri naturali e tessuti derivano da fonti animali e vegetali.

I materiali metallici comprendono metalli puri, leghe, amalgame.

Il carbonio comprende il carbonio pirolitico ed il carbonio pirolizzato.

I materiali ceramici si classificano usualmente secondo due categorie: inerti e attivi. Tale classificazione tiene conto dell'interazione che ci può essere tra ceramico e ambiente fisiologico. I primi non inducono né subiscono alterazioni chimiche o biologiche dovute al contatto, mentre i secondi inducono nei tessuti biologici una risposta con l'instaurazione di processi chimici e biologici all'interfaccia.

Un problema nell'utilizzo dei biomateriali è rappresentato dall'attaccatura del biomateriale stesso all'interfaccia. Un approccio per risolvere i problemi di attaccatura interfacciale è rappresentato dall'uso di materiali bioattivi. Il materiale bioattivo suscita una risposta specifica all'interfaccia, che è rappresentata dalla formazione di un osso tra il tessuto ed il materiale. Il concetto di materiale bioattivo è intermedio tra biodegradabile e bioinerte. Esempi di materiali bioattivi sono:

- vetro bioattivo come il Bioglass;
- vetro-ceramica bioattivo,
- ceramiche calcio-fosfato.

I vetri bioattivi ed i vetro-ceramici bioattivi possono legarsi a tessuti leggeri ed anche ad ossa ed una loro caratteristica è la dipendenza dal tempo e la cinetica di modificazione della superficie che avviene durante l'installazione. I biovetri sono una classe di materiali biologici recentemente introdotta in commercio.

I bioceramici basati sul calcio-fosfato sono in uso in medicina e in odontoiatria da quasi vent'anni. Le fasi stabili del calcio-fosfato dipendono

considerevolmente dalla temperatura e dalla presenza d'acqua durante il processo di fabbricazione o nell'ambiente usato.

I principali fosfati di calcio sono riportati in tabella 1.

Tabella 1

| COMPOSTO | ABBREVIAZIONE | FORMULA | Ca/P |
|---|---------------|---|------|
| Diidrogeno fosfato di calcio monoidrato | MCPM | $\text{Ca}(\text{H}_2\text{O})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ | 0,5 |
| Diidrogeno fosfato di calcio anidro | MCPA | $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ | 0,5 |
| Monoidrogeno fosfato di calcio diidrato | DCPD | $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 1,0 |
| Monoidrogeno fosfato di calcio anidro | DCP | CaHPO_4 | 1,0 |
| Ottacalcio fosfato | OCP | $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ | 1,33 |
| alfa-tricalcio fosfato | alfa-TCP | $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ | 1,5 |
| beta-tricalcio fosfato | beta-TCP | $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ | 1,5 |
| Idrossiapatite | HA | $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ | 1,67 |
| Tetracalcio fosfato | TTCP | $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$ | 2,0 |

I più utilizzati nel settore dei biomateriali sono l'idrossiapatite (HA), l'ottacalcio fosfato (OCP) che riveste un'importanza notevole poiché è il precursore di tutte le apatiti biologiche, ma anche il beta-tricalcio fosfato (beta-TCP) che viene utilizzato per modulare la solubilità dell'idrossiapatite.

Ma perché un biomateriale possa essere impiantato bisogna seguire alcuni criteri, vale a dire:

- possedere specifiche proprietà fisico-meccaniche e mantenerle nell'arco di tempo desiderato;
- non indurre risposta biologica indesiderata;
- poter essere purificato, fabbricato e sterilizzato facilmente ed in modo riproducibile;
- possedere accettabili rapporti rischio/beneficio e costo/ beneficio..

Le proprietà meccaniche forniscono un criterio decisivo oltre alla loro compatibilità di un materiale ceramico piuttosto che un altro. La conoscenza di tali proprietà è importante per valutare le interazioni tra impianto e tessuti che lo circondano, ad esempio, la distribuzione degli stress la quale sorge nelle ossa tramite il caricamento dell'intero sistema osso-impianto.

Impiantare un biomateriale ha i suoi vantaggi, ma ha anche i suoi svantaggi. I vantaggi dei biomateriali sono:

- sono forme complesse e facili da fabbricare;
- hanno un'ampia gamma di composizioni e proprietà fisiche;
- è possibile modificarne le superfici per via sia fisica che per via chimica;
- hanno diverse proprietà speciali.

Gli svantaggi dei biomateriali sono invece:

- contengono sostanze che subiscono rilascio;
- possono assorbire acqua e biomolecole dal bio-intorno;

- possono subire contaminazione superficiale;
- sono soggetti a usura meccanica e rottura;
- possono subire biodegradazione chimica e biochimica;
- sono soggetti a dissoluzione fisica;
- talvolta sono difficili da sterilizzare.

Le complicanze infettive dovute all'impianto dei biomateriali sono sostenute prevalentemente da ceppi batterici appartenenti a specie Gram-positivi, usualmente stafilococchi. Si tratta di infezioni che frequentemente originano dalla flora endogena del paziente, ma possono anche risultare da difettosa asepsi nella produzione del materiale.

L'idrossiapatite e l'ingegneria tissutale

La realizzazione di materiali intelligenti per applicazioni biomediche necessita di un paradigma filosofico. Domandarsi “come progetta la natura?”, ovvero come l'evoluzione naturale ha permesso la realizzazione di materiali biologici con prestazioni specifiche spesso straordinarie a cui i materiali sintetici devono tendere, è sicuramente la migliore strategia per stabilire questo approccio. Infatti seguendo questo paradigma si possono raggiungere traguardi significativi nell'ingegneria dei materiali. La natura procedendo in modo lento ma estremamente efficiente, secondo una procedura di successive approssimazioni implicita nell'evoluzione biologica, ha ottimizzato la microstruttura di ogni tessuto sulla base della specifica funzione fisiologica ottenendo, così, dei materiali con prestazioni straordinarie che costituiscono l'invidia della moderna ingegneria dei materiali. La realizzazione di materiali sintetici non può seguire direttamente le regole dell'evoluzione naturale dalla microstruttura alla funzione, ma occorre seguire un processo di decodifica a posteriori. Primo, occorre comprendere come le proprietà dei materiali biologici (principalmente meccaniche e fisiche) permettono la loro funzione fisiologica. Secondo, occorre comprendere la microstruttura necessaria per ottenere le proprietà desiderate. Solamente quando questi due passi fondamentali sono stati eseguiti si può iniziare la reale progettazione del materiale sintetico per una eventuale sostituzione, ovvero la ricerca delle tecnologie possibili per ottenere il materiale che, avendo la giusta microstruttura, ha le proprietà desiderate e idonee per l'applicazione specifica.

Qui entrano in campo settori fondamentali per la progettazione e realizzazione di materiali sostitutivi dell'osso, quello della biologia e della ingegneria.

L'ingegneria tissutale è un nuovo settore di ricerca multidisciplinare che ha lo scopo di riprodurre vari tessuti biologici basandosi su principi ingegneristici, biologici, chimici e medici.

Tra i biomateriali, al momento, quello che risulta essere il più compatibile per l'osso per le sue caratteristiche chimico - fisiche e per reazione biologica indotta è sicuramente l'IDROSSIAPATITE.

A causa della sua somiglianza cristallografica al vario tessuto calcificato dei vertebrati ha attirato su di sé molta attenzione come materiale di sostituzione per denti danneggiati e ossa. Infatti, prove sperimentali hanno dimostrato che la sua compatibilità con il tessuto circostante è nettamente superiore ad alcun altro materiale.

L'idrossiapatite rappresenta l'evoluzione tecnologica di un materiale riempitivo utilizzato clinicamente da oltre venti anni. È prodotta per sintesi in laboratorio e la sua geometria di superficie e il suo grado di porosità permettono di controllare il riassorbimento a breve e a lungo termine.

La vera sfida che l'idrossiapatite deve sostenere nel terzo millennio, giocandosi la sua credibilità come biomateriale per eccellenza, è rappresentata dalla valutazione della caratteristica di osteoinduzione: capacità di innescare una cascata cellulare programmata che termina nell'induzione ossea in situ extrascheletrico, ripetendo il processo impiegato nell'embriogenesi e nella osteogenesi post-fetale.

L'idrossiapatite è un materiale bioinerte, si lega chimicamente all'osso senza provocare reazioni flogistiche e/o reazioni tossiche e presenta capacità osteoconduttiva poiché funge da matrice per la migrazione al suo interno di cellule osteogenetiche.

L'idrossiapatite (HA) mostra la stessa formula chimica $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ dei microcristalli ossei e di conseguenza lo stesso rapporto Ca/P presente nei tessuti ossei. Essa cede ioni fosfato all'ambiente agevolando la neo-osteogenesi.

L'idrossiapatite è un materiale che, posta invece a contatto con i tessuti molli, non induce neoformazione ossea (non è osteoinduttivo) e risulta essere completamente atossica. Di conseguenza per le sue proprietà risulta essere particolarmente adatta per la realizzazione di materiali impiegabili nella ricostruzione ossea.

Il tessuto osseo è un organismo vivente composto da sostanze minerali ed organiche. La parte organica rappresenta il 22 %, quella minerale il 70 %, mentre la restante parte è costituita da acqua. La parte organica è rappresentata da collagene, sostanza cementante e cellule. La fase minerale è composta da idrossiapatite in cui il rapporto tra Ca/P è compreso tra 1,5 e 1,67; sono inoltre presenti altri minerali quali Na, K, Mg, gruppi di solfati e di carbonati che nell'insieme possono raggiungere il 5 %.

Qualora si impiegassero apatiti con rapporto differente da 1,5 e 1,67, la reazione dell'ospite non è più predicibile e si arriva ad uno stato di tossicità locale dell'impianto, cosa che pregiudicherebbe la sua permanenza nella compagine ossea, ad uno stato di interazione superficiale con il siero con fasi di transizioni apatiche che modificano completamente il suo comportamento nell'osso.

L'idrossiapatite è costituita da una struttura di tetraedri di PO_4^{3-} ; due atomi di ossigeno sono sul piano orizzontale, gli altri due sono sugli assi paralleli all'asse c . I tetraedri PO_4^{3-} sono distribuiti in modo che esistano due tipi di canali, perpendicolari al piano basale, al cui interno prende piede la distribuzione tra esagonale e monoclino. La principale differenza tra le due idrossiapatite è la sistemazione degli ioni OH^- :

- nella forma esagonale gli ioni OH^- sono disposti disordinatamente ed il sito riservato agli OH^- è statisticamente occupato al 50 % attorno al piano speculare;
- nella forma monolitica, invece, c'è un ordine nella sistemazione degli ioni ossidrili

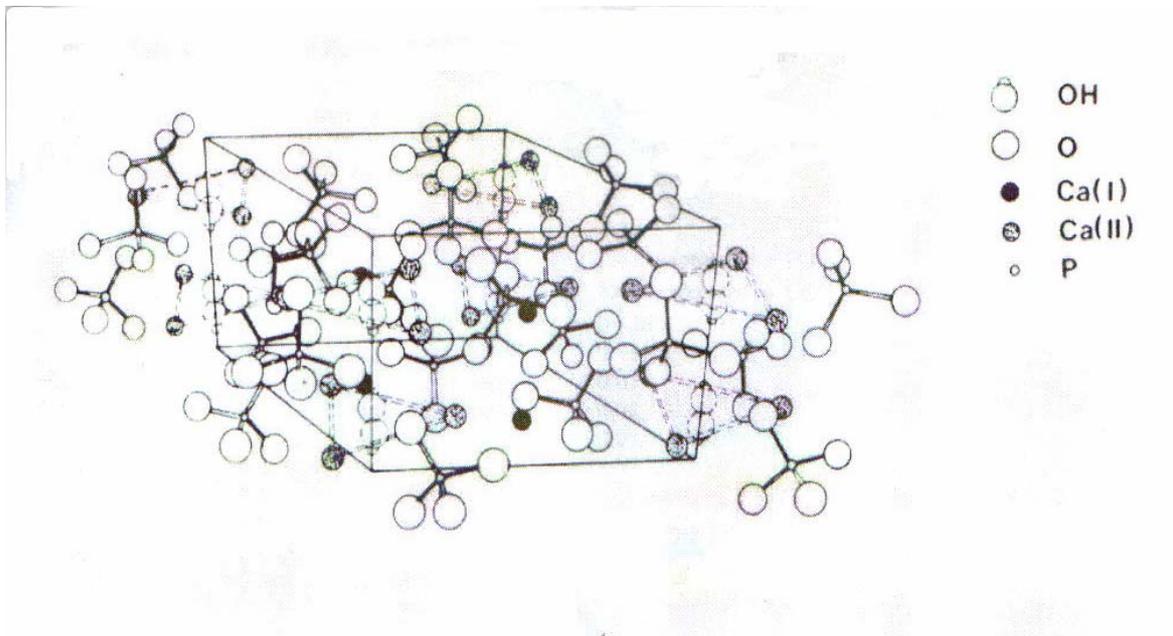


Figura 1.1: struttura esagonale di idrossiapatite

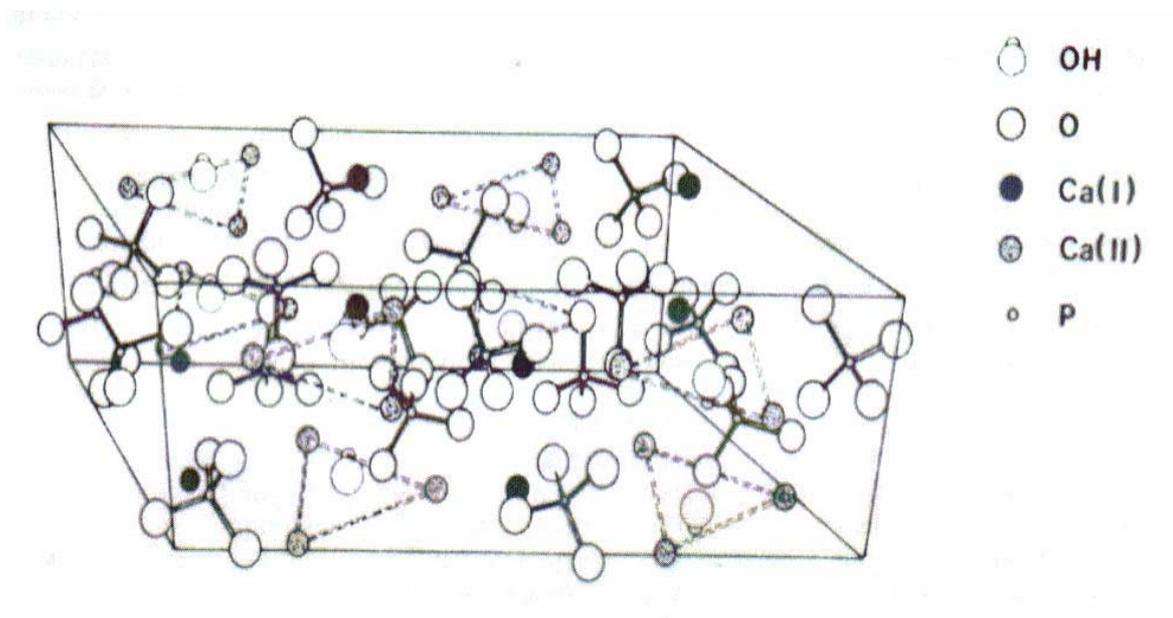


Figura 1.2: struttura monolitica di idrossiapatite

L'idrossiapatite si presenta sottoforma di granuli arrotondati e con margini smussi ed è caratterizzata da un'elevata densità con granulometria variabile tra i 450 e i 600 micron con pori di diametro tra i 10 e i 60 micron.

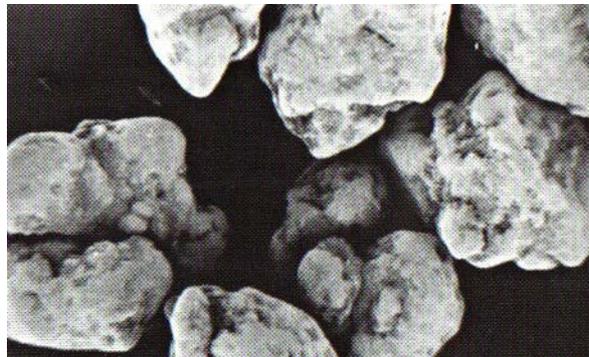


Figura 1.3: HA sottoforma di granuli arrotondati a margini smussi.



Figura 1.4: ogni granulo di HA presenta in superficie delle porosità (concavità) da cui dipartono dei canalicoli.



Figura 1.5: *poro a maggior ingrandimento*

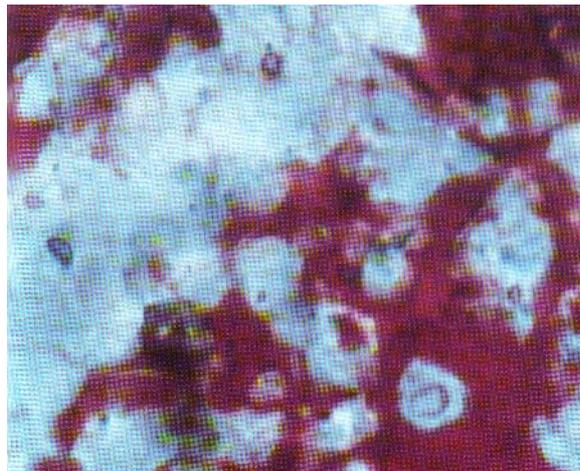
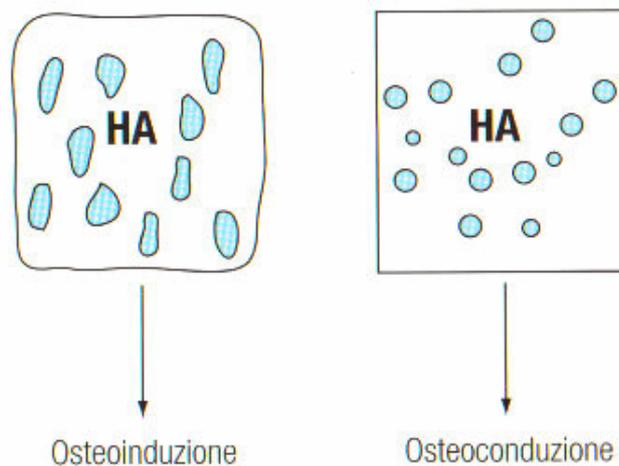


Figura 1.6: *attività osteogenetica di un poro: le concavità dei pori consentono l'inserimento del travaso ematico e la successiva proliferazione di gemme vascolari all'interno dei canalicoli che collegano i nanopori.*

La geometria del substrato gioca un ruolo chiave nell'osteoiduzione. Sono le concavità dei granuli di HA che promuovono la formazione ossea, tant'è che l'angiogenesi e l'invasione vascolare sono massive nel tessuto rigenerato a livello delle concavità.

Che la geometria sia fondamentale per l'osteoiduzione è stato ampiamente dimostrato dagli studi di Ripamonti e riconfermato da altri autori. Infatti HA con stessa composizione stechiometrica ma con geometria e soprattutto con porosità diversa dopo l'impianto possono essere osteoinduttive o non esserlo affatto.



***Figura 1.7: HA con medesima composizione chimica ma con
differente geometria e con porosità diverse.***

Capitolo 1

Il Tessuto Osseo

Introduzione

Nel corpo umano, tra i numerosi tipi di cellule che lavorano insieme in modo complesso, ossa, muscoli, e pelle assolvono tre funzioni principali: forma, sostegno e protezione. Rendono inoltre possibili movimenti coordinati ed efficienti, da quelli più semplici e naturali della deambulazione a quelli più complessi. L'endoscheletro di tutti i vertebrati ha numerose funzioni oltre a quella di consentire, insieme ai muscoli, i movimenti e di far parte perciò dell'apparato locomotore; sorregge il corpo e protegge gli organi interni.

Il tessuto osseo

Lo scheletro dell'uomo è costituito in gran parte da tessuto osseo, che, è una varietà di tessuto connettivo con funzione meccanica altamente specializzato e quindi dotato di particolare consistenza. Ha una elevata durezza, è resistente alla pressione ed alla trazione, ma nello stesso tempo è flessibile ed elastico. Con l'avanzare dell'età, aumenta il processo di mineralizzazione e le ossa divengono meno elastiche e più fragili. Esso, infatti, presenta un'abbondante sostanza extracellulare, o matrice ossea, nella quale le fibre collagene sono cementate da una sostanza organica calcificata, detta osseina. All'interno della matrice sono scavate delle cavità che contengono le cellule con i loro prolungamenti, i vasi, i nervi ed il midollo osseo.

I sali inorganici (soprattutto fosfato di calcio), presenti sotto forma di cristalli di idrossiapatite, rappresentano il 50% in peso circa della matrice ossea. Dall'interazione dei cristalli di idrossiapatite con le fibre collagene dipende la resistenza e la durezza dell'osso. I cristalli di idrossiapatite, oltre a contribuire alla durezza del tessuto, rappresentano la principale forma di deposito di sali di calcio (e di fosforo) cui l'organismo può attingere in casi di necessità. La matrice ossea è organizzata, nei vertebrati, in lamelle, per cui l'osso è detto lamellare. A seconda delle disposizione delle lamelle, distinguiamo: ossa spugnose e ossa compatte.

Nel tessuto osseo compatto le lamelle si dispongono in sistemi concentrici intorno a piccoli canali, detti canali di Havers, attraverso i quali passano vasi e fibre nervose (ed in quelli di maggiori dimensioni anche midollo osseo); osteociti, lamelle e canale di Havers formano l'osteone, che è l'unità fondamentale della struttura del tessuto osseo e quindi delle ossa e può venire rimaneggiata, accrescendosi o riassorbendosi, in risposta alle diverse richieste funzionali. Nel tessuto osso spugnoso le lamelle delimitano ampie lacune contenenti midollo osseo, che gli danno appunto l'aspetto di una spugna.

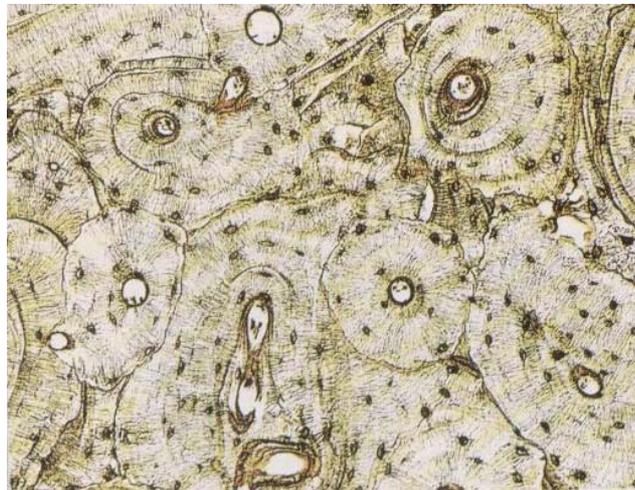


Figura.1.1 Tessuto osseo compatto con evidenti gli osteoni

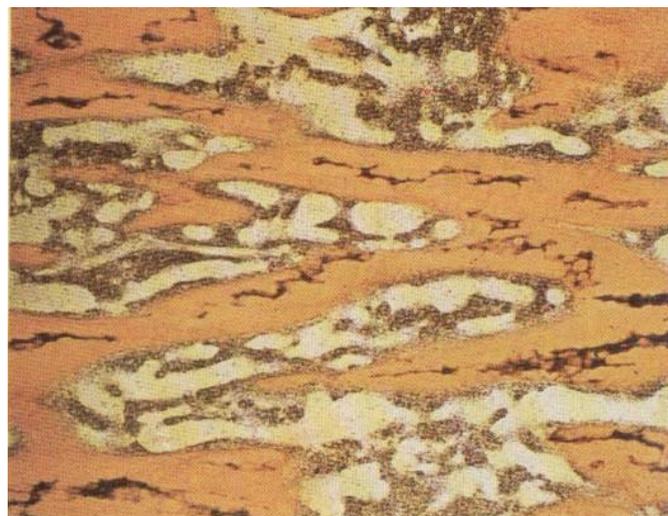


Figura .1.2 Tessuto osseo spugnoso

Cellule ossee

Nel tessuto osseo ritroviamo 3 tipi di cellule: osteociti, osteoblasti ed osteoclasti. Gli osteociti sono contenuti in cavità o lacune ossee, scavate nella matrice, tra una lamella e l'altra o anche nello spessore delle stesse lamelle. Sono cellule appiattite, con un corpo a forma di mandorla, da cui si dipartono degli esili prolungamenti citoplasmatici, che percorrono sottili canalicoli che originano dalle lacune ossee. Tali prolungamenti permettono scambi di sostanze tra sangue ed osteociti, che, altrimenti, non potrebbero avvenire, poiché la matrice calcificata ne impedisce la libera diffusione. Essi sono contenute in cavità scavate nella sostanza fondamentale o matrice, che esse stesse secernano, costituita da un substrato ricco di fibre di collagene, detto osseina, compenetrato e indurito da cristalli di fosfato e carbonato di calcio. E' per mezzo degli ioni di questi sali che le ossa, accumulandoli o rilasciandoli, ne garantiscono un costante apporto a tutte le cellule dell'organismo ai quali sono indispensabili. Gli osteociti non sono attivi produttori della matrice ossea; tuttavia essi intervengono nel regolare i fenomeni di deposizione e riassorbimento dei sali di calcio nell'osso. Poiché una sostanza fondamentale cementante qual è questa del tessuto osseo non consente la diffusione delle sostanze tra le cellule, gli osteociti assumono una forma ramificata per i numerosi prolungamenti citoplasmatici, per mezzo dei quali riescono, infilandosi in una rete di canalicoli, a tenersi in connessione. Gli osteoblasti sintetizzano la matrice organica dell'osso che, successivamente, subisce il processo di calcificazione. Essi si dispongono alla superficie del tessuto osseo, strettamente accollati tra loro, così da dare l'impressione di un epitelio semplice. Di forma cubica, anch'essi dotati di sottili prolungamenti, vengono progressivamente circondati dalla matrice ossea da loro stessi prodotta, vi rimangono intrappolati dentro e si trasformano in osteociti.

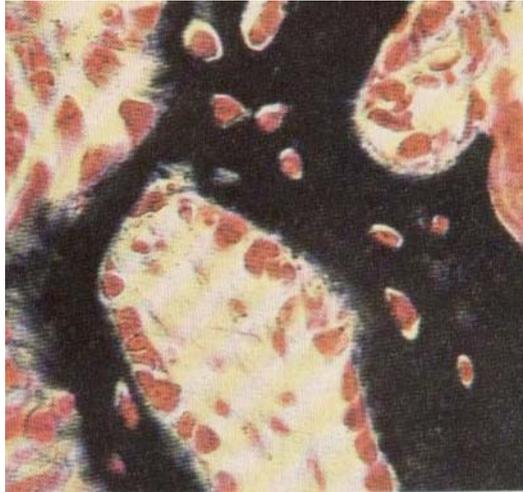


Figura.1.3 Osteoblasti

Gli osteoclasti sono cellule giganti multinucleate, mobili. Esse intervengono nel processo di riassorbimento osseo: dobbiamo sottolineare, infatti, che l'osso modifica continuamente la sua struttura, rispondendo alle sollecitazioni meccaniche cui è sottoposto; demolisce alcune lamelle per ricostruirne altre, orientate diversamente, per poter sopportare più agilmente il carico cui è sottoposto. Gli osteoclasti sono incaricati dell'opera demolitiva mentre sarà compito degli osteoblasti la ricostruzione del tessuto osseo.



Figura 1.4 Osteociti dal caratteristico aspetto ramificato.

Funzioni del tessuto osseo

Il tessuto osseo svolge funzioni preminentemente di tipo meccanico: le ossa, infatti, sostengono e proteggono le parti molli (l'encefalo nella scatola cranica; i polmoni e il cuore nella gabbia toracica etc.); agendo come leve, permettono la trasformazione delle forze meccaniche generate dalla contrazione dei muscoli (che si inseriscono sulle ossa mediante i tendini) in movimento. Inoltre nelle ossa è contenuto il midollo osseo, che produce le cellule del sangue, ha cioè funzione ematopoietica; infine, il tessuto osseo partecipa al metabolismo del calcio e del fosforo, dei quali rappresenta la principale forma di deposito per il nostro organismo.

La struttura delle ossa

Le ossa dello scheletro vengono distinte in base alla loro forma in tre tipi: ossa lunghe, ossa corte, ossa piatte. Nelle ossa lunghe, per esempio femore ed omero, si distinguono una parte intermedia, detta diafisi, composta da tessuto osseo compatto e due estremità, dette epifisi, composte da tessuto spugnoso. Le ossa corte, per esempio le vertebre e le ossa del tarso e del carpo, sono formate da tessuto spugnoso circondato da tessuto compatto. Le ossa piatte, per esempio le scapole e le ossa del cranio, sono formate da uno strato di tessuto spugnoso tra due lamine di tessuto compatto. Il tipico osso lungo di un adulto è avvolto da una membrana resistente di tessuto connettivo, detta periostio, sotto il quale si trova tessuto osseo compatto a livello della diafisi, e spugnoso a livello delle epifisi. Il periostio protegge le ossa e su di esso si inseriscono i muscoli scheletrici, inoltre contiene cellule responsabili dell'accrescimento del tessuto osseo. Nella parte più interna dell'osso si trova una componente molle, chiamata midollo osseo, ricca di vasi sanguigni e nervi. Il midollo che si trova nelle lacune del tessuto spugnoso di ossa piatte come costole, sterno e vertebre e nell'epifisi delle ossa lunghe, o midollo rosso, è sede della formazione dei nuovi globuli rossi e di parte anche dei globuli bianchi;

perciò viene chiamato anche tessuto emopoietico. Il midollo che ritrova abbondante nelle diafisi delle ossa lunghe, o midollo giallo è invece ricco di cellule adipose e svolge in genere funzione di riserva; solo in alcuni casi di estrema necessità svolge funzione emopoietica.

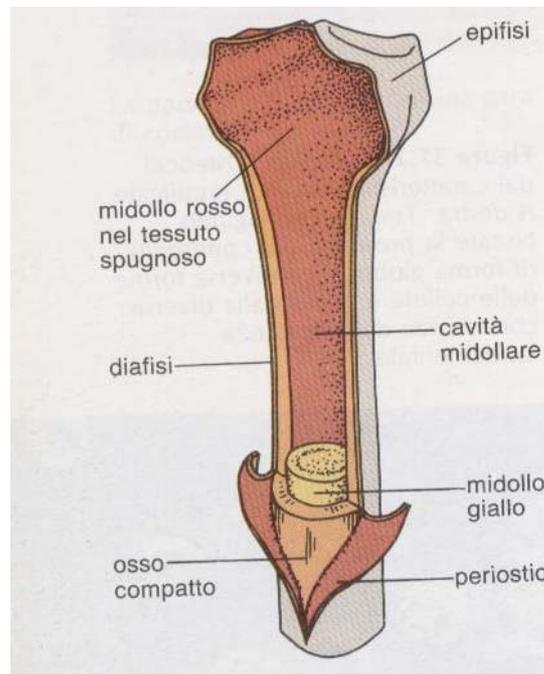
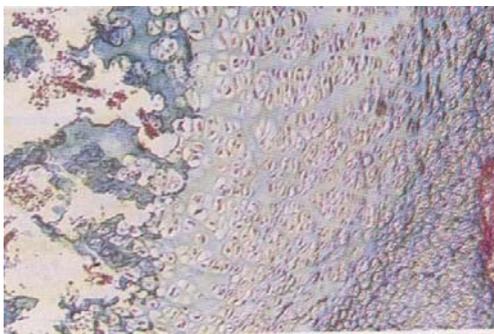


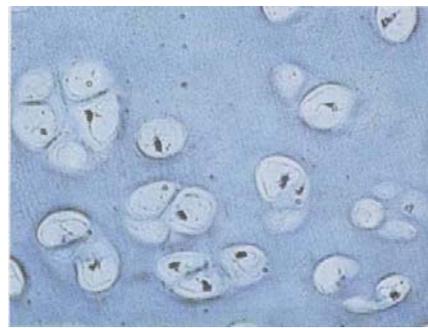
Figura.1.5 Caratteristiche strutturali interne di un osso lungo

Nei primi stadi dello sviluppo embrionale le ossa dello scheletro di tutti i vertebrati sono costituiti da tessuti cartilagineo, ma già a partire dal secondo mese inizia un processo, detto di ossificazione, che comporta la sostituzione del tessuto cartilagineo o con tessuto osseo e che si protrarrà per tutta l'infanzia, completandosi per la maggior parte all'età di vent'anni circa. Alcune cartilagini si conservano per l'intera vita dell'individuo mentre la maggior parte si trasforma gradualmente in osso per sostituzione delle cellule cartilaginee con osteoblasti, grosse cellule embrionali che successivamente si differenziano nelle cellule adulte del tessuto osseo, gli osteociti. Come altri tessuti a cellule labili, l'osso è in grado di crescere per autoriproduzione; così accade che, quando un osso si frattura, le

cellule ossee più vicini alla zona lesa, producendo nuova matrice, riparano il danno. Il tessuto osseo inoltre ha un' elevata capacità di rimodellarsi grazie all' azione combinata e continua di cellule demolitrici, osteoclasti, e cellule costruttrici, osteoblasti, in un processo che dura per tutta la vita, così che lo scheletro è sempre adeguato nella sua struttura alle varie situazioni che lo sollecitano. Per questa attività è indispensabile un continuo apporto alimentare di Sali minerali e complessi vitaminici, soprattutto di vitamina D che è indispensabile per la fissazione del calcio del sangue.



Processo di ossificazione

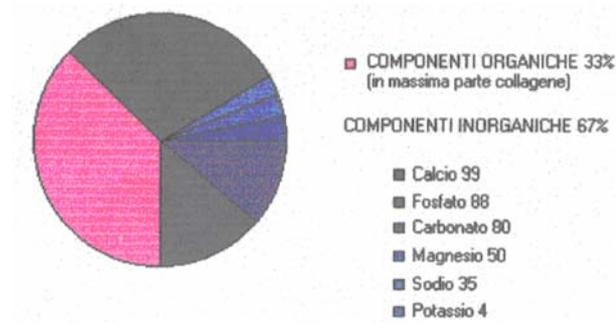


Tessuto cartilagineo

In questa figura si vede che gli osteoblasti che invadono la cartilagine e gli spazi lasciati dalla morte dei condrociti che al centro degenerano cartilagine è un altro tipo di tessuto connettivo che fa parte dello scheletro e troviamo nell' adulto, per esempio, nella punta del naso oltre che a livello delle zone di articolazione. Si differenzia dal tessuto osseo per la sostanza fondamentale, che è priva di Sali di calcio e contiene caratteristiche polisaccaridici oltre a differenti tipi di fibre collagene; risulta perciò più flessibile ed elastica del tessuto osseo. Le diverse forme delle cellule è dovuta alla diversa consistenza della sostanza fondamentale.

L'ANALISI DELL'OSSO

Quantità percentuale del contenuto corporeo totale di elementi:



Nel soggetto adulto, gli osteociti nelle lacune, mantengono l'omeostasi della matrice

circostante, poiché rimuovono e sostituiscono continuamente i sali di calcio che la compongono. Il ricambio minerale permette all'osso di adattarsi più facilmente a nuovi stress. E' stato ipotizzato che la sensibilità degli osteoplasti per i campi elettrici rappresenti il meccanismo che controlla l'organizzazione interna e la struttura dell'osso, dal momento che il tessuto osseo presenta proprietà piezoelettriche, probabilmente dovute all'asimmetria molecolare del collagene nell'osso secco. Infatti, ogni volta che un osso è sottoposto ad uno stress, i cristalli minerali generano piccoli campi elettrici; è probabile che gli osteoblasti siano attratti da tali campi e che, una volta nella loro area, comincino a produrre osso. Fattori analoghi interessano la forma delle superfici ossee.

In generale le ossa sottoposte a stress notevoli diventano più spesse e forti, mentre quelle sottoposte a scarsi stimoli meccanici divengono sottili e fragili.

Dall'osservazione della funzione di osteoclasti per il mantenimento della struttura ossea, sono stati studiati cementi che permettono un'interazione con tali cellule, in modo da favorire la crescita dell'osso sulla protesi stessa. In questo modo si riuscirebbe ad eliminare il problema dell'avere superfici semplicemente aderenti, che si deteriorano per attrito e che, a causa di sollecitazioni tangenziali, si possono separare.

Capítulo 2

Considerazioni Generali Sui Biomateriali

La nascita e l'evoluzione del concetto di biomateriale sono legate alla concezione del corpo umano come "macchina" e allo sviluppo della conoscenza del funzionamento dei suoi diversi organi, che sono così assimilati ai componenti di un qualsiasi apparato costruito dall'uomo. Ne consegue che è applicabile anche al corpo umano quanto avviene per le macchine la cui riparazione è possibile attraverso la sostituzione o il ripristino delle parti non più funzionanti per usura o rottura.

Tenuto conto del fatto che, in termini del tutto generali, si definisce materiale una sostanza fisica, generalmente solida; manipolata e/o usata dall'uomo per la realizzazione di specifici manufatti, non soggetti a significative trasformazioni durante l'uso, in prima istanza è possibile definire come biomateriale una sostanza utilizzata per costruire oggetti in grado di sostituire una parte vivente originaria del corpo umano.

Una prima definizione ufficiale di biomateriale è stata proposta, nel 1974, dal Annual International Biomaterials Symposium nei seguenti termini: "biomateriale è una sostanza inerte, sia nei confronti dell'organismo che dal punto di vista farmacologico, progettata per l'impianto o l'incorporazione in un sistema vivente".

Nel 1982 la Consensus Development Conference on the Clinical Application of Biomaterials, ridefinì biomateriale "ogni sostanza o combinazione di sostanze, diversa da un farmaco, di origine sintetica o naturale, che può essere impiegata per qualsiasi periodo di tempo, da sola o come parte di un sistema che tratta, aumenta o sostituisce un qualsiasi tessuto, organo o funzione del corpo.

La definizione più recente di biomateriale è quella proposta da Black nel 1992: "un materiale non vivente usato in un dispositivo medico progettato per interagire con i sistemi biologici.

Un importante aspetto che caratterizza lo studio dei biomateriali è quello di garantire che i prodotti commerciali siano compatibili con le funzioni e le prestazioni attese dal punto di vista biologica, fisica, chimica, meccanica, tecnologica e, se il materiale è destinato ad essere impiegato nel cavo orale, anche di natura estetica. In generale, le indagini sui biomateriali possono essere distinti in tre diversi tipi di prove da affrontare in successione. Ad una prima serie di prove, di tipo fisico e chimico sulla base degli standard rilevanti per il prodotto, chiamati standard verticali, segue una successiva serie di test per la determinazione della tossicità e della sicurezza biologica dei materiali usati, in base agli standard orizzontali. L'ultima fase d'indagine prevede invece i test clinici finali sul dispositivo.

Proprietà fisiche. Riguardano i caratteri generali dei biomateriali. Tali proprietà sono alquanto numerose e tra di esse si ricordano le seguenti:

1. Massa volumica: definita come la massa di un volume unitario della sostanza stessa: $\text{massa volumica (D)} = \text{massa (Kg)} / \text{volume (m}^3\text{)}$
2. Densità relativa: definita come il rapporto tra la massa volumica del corpo stesso e la massa volumica di un corpo di riferimento di uguale volume

Essa per i biomateriali varia in funzione di vari fattori, quali: a) la loro composizione (in generale i polimeri possiedono densità più bassa; i materiali ceramici densità intermedia e i materiali metallici densità più elevate), b) lo stato fisico (i materiali presentano in genere un volume maggiore allo stato liquido rispetto allo stato solido e pertanto possiedono una densità minore quando sono liquidi), c) la temperatura (un materiale aumenta di volume con l'aumentare della temperatura, pertanto la densità diminuisce con l'aumentare della temperatura), d) processi di lavorazione (essi vengono eseguiti sui materiali ne possono modificare la compattezza e quindi anche la massa volumica).

3. Peso specifico: definito come il peso di un volume unitario della sostanza stessa

$$\text{peso specifico (ps)} = \text{peso (N)} / \text{volume (m}^3\text{)}.$$

4. Volume specifico: definito come il volume di una massa unitaria della sostanza
stessa $\text{Volume specifico (V)} = \text{volume (m}^3) / \text{massa (Kg)}$.
5. Calore specifico: definito come la quantità di calore che bisogna cedere all'unità di massa di una sostanza per aumentare la sua temperatura di un valore unitario. L'unità di misura è il Joule.
6. Calore di fusione: definito come la quantità di calore necessaria per far passare dallo stato solido allo stato liquido una massa unitaria di una sostanza, dopo che questa ha raggiunto la temperatura di fusione. L'unità di misura è Joule/Kg.
7. Conduttività termica e diffusività termica: l'attitudine di un materiale a trasmettere al suo interno il calore dipende dalla sua conduttività termica che è una costante caratteristica del materiale stesso. Essa viene misurata determinando la quantità di calore che, nell'unità di tempo, passa attraverso una parete materiale avente spessore unitario e superficie unitaria, quando la differenza di temperatura tra i due lati della parete è unitaria. L'unità di misura è $\text{W}/(\text{m } ^\circ\text{K})$.

La diffusività termica, si definisce come il rapporto tra la conduttività termica per il prodotto della capacità termica massica per la densità del materiale, ed indica la velocità con la quale un corpo che non presenta uniformità di temperatura tende a raggiungere l'equilibrio. La sua unità di misura è m^2/s .

Dilatazione termica, i materiali quando vengono riscaldati, subiscono in genere un aumento di volume che viene chiamato dilatazione termica. La dilatazione termica dei materiali varia in funzione dei legami chimici più forti sono tali legami, tanto minore è la dilatazione termica. L'entità della dilatazione termica di

un materiale viene generalmente espressa tramite una grandezza che prende il nome di coefficiente di dilatazione termica lineare. Esso dipende principalmente dalla natura di ogni singolo materiale, non è costante, ma aumenta in genere leggermente con l'aumentare della temperatura. Si può definire inoltre un coefficiente di dilatazione termica cubica, il quale è circa pari a tre volte quello lineare. I materiali che presentano i coefficienti di dilatazione termica più bassi sono i ceramici, seguiti dai materiali metallici ed infine dai polimeri e dai materiali organici in genere, che sono quelli che si dilatano di più. L'unità di misura è $1/k$.

Proprietà chimiche. Riguardano il complesso dei fenomeni chimici che avvengono tra un materiale e l'ambiente in cui esso viene posto. Tali fenomeni possono essere di entità molto modesta oppure di entità rilevante ed essi, inoltre, possono essere utili oppure dannosi. Tra i fenomeni utili si ricordano, per esempio, le reazioni tra il materiale e l'ambiente che tendono a ricoprire il materiale stesso con una pellicola protettiva nei confronti degli agenti esterni, o che ne migliorano la resistenza meccanica superficiale. Tra i fenomeni dannosi si ricordano le interazioni che tendono a generare una progressiva distruzione del materiale, interazione che vengono genericamente indicate col termine di corrosione. Per quanto riguarda questi ultimi fenomeni, può essere pertanto introdotto il concetto di resistenza alla corrosione, inteso come la capacità di un materiale di resistere all'azione aggressiva dell'ambiente in cui viene ad operare, senza che esso subisca nel tempo una degradazione che ne comprometta la funzionalità o che, comunque, risulti di entità inaccettabile per qualsivoglia altro motivo. Nella cavità orale, per esempio, i materiali ivi inseriti non dovrebbero subire corrosione tali da compromettere la proprietà e la funzionalità dei restauri con essi realizzati. Inoltre la corrosione non dovrebbe neppure comportare la liberazione o la formazione di sostanze che, per natura e quantità, possono essere dannose per i tessuti orali o per l'intero organismo a seguito del loro assorbimento o della loro ingestione. Le proprietà chimiche dei materiali devono essere sempre prese in considerazione in relazione ai particolari ambienti nei

quali i materiali stessi dovranno operare, ed a volte in relazione agli ambienti in cui essi vengono lavorati.

2.1- FENOMENI SUPERFICIALI

Numerosi fenomeni superficiali, che avvengono cioè in corrispondenza delle superfici dei corpi, rivestono notevole importanza in odontoiatria ed in odontotecnica. Le condizioni superficiali dipendono infatti non solamente dalla composizione complessiva del materiale e dalla sua struttura interna ma anche dal procedimento di costruzione, dagli strumenti impiegati per eseguire la lavorazione della superficie suddetta, dalla manipolazione, dai trattamenti ai quali il solido viene sottoposto ed in generale dalle interazioni con l'ambiente esterno. Per esempio, numerosi materiali metallici impiegati in odontoiatria presentano un'elevata resistenza alla corrosione grazie al fatto che le loro superfici risultano coperte da una sottilissima pellicola di ossidi che protegge il materiale sottostante. Nelle superfici dei solidi sono inoltre presenti in genere varie impurezze la cui natura e la cui quantità variano in funzione di diversi fattori.

2.1.1 Bagnabilità: definita come la capacità che presenta una superficie solida di essere bagnata dal liquido. Questo fenomeno dipende, dalle forze di coesione che esistono tra le particelle del liquido e che le tengono unite, e le forze di adesione che sono le forze che la superficie solida esercita su tali particelle. La prevalenza delle une o delle altre determina il grado di bagnabilità. Essa è tanto più elevata quanto maggiori sono le forze di adesione rispetto a quelle di coesione. La tendenza di un liquido a bagnare una superficie solida viene misurata tramite l'angolo di contatto che una goccia del liquido forma con la superficie solida. Si misura cioè l'angolo che si forma tra la superficie bagnata del solido e la tangente alla superficie esterna della goccia del liquido.

2.1.2 Capillarità: definita come il fenomeno grazie al quale i liquidi possono penetrare entro i capillari, cioè entro tubi o spazi sottili.

2.1.3 Assorbimento ed adsorbimento: si tratta di due fenomeni sostanzialmente diversi:

a) con il termine assorbimento si indicano i due fenomeni seguenti: assorbimento di materia in altra materia, cioè la proprietà presentata da alcune sostanze di consentire la penetrazione in esse, e di trattenere al loro interno, atomi o molecole di altre sostanze.

b) assorbimento di energia da parte della materia, cioè la capacità che presentano le sostanze di assorbire parte dell' energia posseduta da radiazioni o da vibrazioni meccaniche che le attraversano. Cioè una parte di energia che incide su di un corpo viene trattenuta da quest'ultimo.

Adsorbimento è il fenomeno per il quale, ponendo a contatto due fasi, si può verificare l'addensamento di una sostanza, presente in una delle due fasi, lungo la superficie dell'altra fase.

2.1.4 Adesione: si intende la mutua attrazione che si manifesta tra due sostanze diverse messe in intimo contatto tra loro. quando una sostanza aderisce ad un'altra, si instaurano tra due sostanze dei legami che si oppongono al loro distacco.

2.1.5 Sinterizzazione: si indica un processo mediante il quale polveri ceramiche o metalliche vengono agglomerate assieme mediante opportuni riscaldamenti a temperature inferiori di quelle di fusione. Una polvere, può essere per esempio compattata in uno stampo, che essa si adatti intimamente alla forma dello stampo stesso e lo riempia in ogni sua parte. In questo modo le particelle della polvere vengono portate il più possibile a contatto tra loro, ma naturalmente rimane presente un gran numero di porosità tra le particelle stesse.

Successivamente, tramite un opportuno riscaldamento le particelle iniziano ad unirsi nei punti dove si toccano, formando in tali zone delle superfici comuni grazie a fenomeni di diffusione degli atomi. La forma delle particelle si modifica gradualmente, così come si modifica la forma delle porosità presenti tra di esse che tendono ad assumere la forma sferica. Poiché si ha un graduale aumento

della superficie di contatto tra le particelle, le porosità diminuiscono di dimensioni ed il materiale subisce una contrazione. Avviene in questo modo la sinterizzazione della polvere, con la formazione di un corpo unico e con la presenza di porosità che può essere più o meno ridotta a seconda delle esigenze.

2.1.6 Solubilità: si intende la tendenza o meno a sciogliersi nei liquidi orali o in altri liquidi con i quali possono venire a contatto.

2.1.7 Proprietà d'uso: a volte, alcune proprietà dei materiali vengono raccolte assieme in un gruppo denominato proprietà d' uso. In tale gruppo sono comprese varie proprietà, legate alla convenienza o meno di scegliere un determinato materiale per un certo impiego, una volta che siano state soddisfatte altre proprietà più importanti. Tra essi abbiano per esempio il prezzo la facilità di reperimento del materiale, le sfumature di colore, la facilità di lavorazione il peso ecc.

2.1.a Proprietà meccaniche: riguardano la resistenza dei materiali alle sollecitazioni meccaniche agenti su di essi. Queste proprietà, pertanto, consentono alle varie strutture di resistere in modo soddisfacente alle sollecitazioni a cui vengono sottoposti durante l' impiego. Essi vengono tradizionalmente classificati nei tipi seguenti:

a) elasticità: definita come la proprietà di un materiale sottoposto all'azione di una sollecitazione di deformarsi e di riprendere quindi la forma iniziale al cessare della sollecitazione stessa.

b) resistenza alle sollecitazioni statiche: si intende l'attitudine dei materiali a resistere all' azione di vari tipi di sollecitazioni che aumentano lentamente nel tempo.

c) durezza: è una proprietà convenzionale e, pertanto, la sua definizione non è unica ma diversa a seconda del metodo impiegato per rilevarla.

I concetti per definire la durezza sono i seguenti: 1) la durezza è la resistenza alla scalfinatura (lesione superficiale o incisione); 2) la durezza è la resistenza alla penetrazione; 3) la durezza è la reazione elastica alla percussione.

d) resilienza: resistenza all'urto.

e) resistenza all'usura: il concetto di usura è in genere associato al deterioramento superficiale dei corpi dovuti all'uso. Una definizione più accurata è la seguente: l'usura può essere definita come la rimozione progressiva più o meno irregolare di materiale dalla superficie di un solido causata da una azione meccanica. In base alle specifiche situazioni, si può definire resistenza all'usura la resistenza che un materiale presenta nei confronti dei fenomeni che tendono a determinare l'usura delle sue superficie. Tuttavia, il requisito fondamentale ed imprescindibile che condiziona le reali possibilità di utilizzo pratico dei biomateriali è quello relativo alle proprietà biologiche dei materiali che riguardano le interazioni che si verificano tra un biomateriale e i tessuti del corpo umano. In termini più precisi, il requisito fondamentale è la biocompatibilità definita come la capacità di un materiale di determinare, da parte di un sistema vivente, una favorevole reazione alla sua presenza in una specifica applicazione, pertanto si intende la mancanza di interazioni degne di nota tra un biomateriale e l'organismo che l'ospita. Ciò implica caratteristiche quali stabilità chimica, assenza di tossicità, non tendenza a provocare allergie, assenze di effetti cancerogeni ecc.. La considerazione, però, che praticamente nessun materiale è caratterizzato da un'assenza totale di interazioni con l'organismo che lo ospita, ed il fatto che il principio della stabilità chimica e della assenza di interazioni con l'organismo presupporrebbe la presenza di materiali ignorati passivamente dall'organismo stesso, hanno portato ad un graduale cambiamento concettuale nei confronti del significato di biocompatibilità. Si è così giunti ai concetti attuali seguenti:

1. Sicurezza biologica, definita come la caratteristica di un materiale o di un dispositivo di non presentare tossicità e di essere sicuro per l'impiego a cui è destinato. Naturalmente per tossicità si intende la capacità di indurre un danno o di causare una reazione avversa.

2. Biocompatibilità, si intende la capacità di un biomateriale di svolgere le sue funzioni grazie ad una appropriata risposta dell'organismo che lo ospita, nel contesto della specifica applicazione in cui tale biomateriale viene ad operare. In base alla definizione suddetta, la biocompatibilità presuppone la capacità di un biomateriale di svolgere delle funzioni specifiche nell'organismo, e non solamente di risiedere passivamente in esso. Inoltre, presuppone una appropriata risposta da parte dell'organismo che ospita il biomateriale. In alcuni casi la risposta più appropriata può essere molto attiva, mentre in alcuni casi la risposta più appropriata può essere la minima possibile.

2.2 BIOCOMPATIBILITA': NORME, REQUISITI

La biocompatibilità è un requisito così importante da costituire una delle materie sulla quale gli organi legislativi di Comunità Europea, Stati Uniti e Giappone, e le organizzazioni internazionali e nazionali di definizione degli standard, hanno fondato la normativa sulla sicurezza dei dispositivi medici. La legislazione europea, relativa alle norme di base che i costruttori di congegni biomedici devono seguire è costituita da due direttive: la n°90/385/CEE, del 20/06/1990, che ha per oggetto "il ravvicinamento delle legislazioni degli Stati Membri relative ai dispositivi medici impiantabili attivi" (AIMDD), e la n° 93/42/CEE, del 14/06/1993, concernente i dispositivi medici più generali (MDD). Una terza direttiva, ancora in discussione, riguarderà i dispositivi diagnostici in vitro. Importanti sono le definizioni fornite da MDD e AIMDD per stabilire, il significato di dispositivo medico. Le più significative nel contesto dell'argomento trattato sono quelle di: dispositivo medico, dispositivo medico attivo e dispositivo medico impiantabile attivo. Secondo tali definizioni, dispositivo medico è "qualsiasi strumento, apparecchio, impianto, sostanza o altro prodotto, utilizzato da solo o in combinazione, compreso il software informativo impiegato per il corretto funzionamento, e destinato dal fabbricante ad essere impiegato nell'uomo a scopo di: diagnosi, prevenzione, controllo, terapia o

attenuazione di una malattia. Il dispositivo medico attivo è "qualsiasi dispositivo medico legato per il suo funzionamento a una fonte di energia elettrica o a qualsiasi altra fonte di energia diversa da quella prodotta direttamente dal corpo umano o dalla gravità"; dispositivo medico impiantabile attivo è "qualsiasi dispositivo medico attivo destinato ad essere impiantato interamente o parzialmente mediante intervento chirurgico o medico nel corpo umano o mediante intervento medico in un orifizio naturale e destinato a restarvi dopo l'intervento". La definizione data di dispositivo medico è dunque molto ampia e include prodotti sia impiantabili che non. Esempi di essi sono strumenti odontoiatrici, ferri chirurgici, occhiali ecc.. Tra queste direttive, la MDD è la più importante; si tratta di una normativa molto complessa, formata da 23 articoli, oltre a 12 allegati e 18 regole di classificazione. Tale classificazione serve a stabilire quali procedure devono essere seguite nella verifica di conformità. I requisiti essenziali contenuti nell'allegato 1 della direttiva, sono distinti in requisiti generali, che rispondono ai principi di base della sicurezza comune a tutta la legislazione comunitaria, e i requisiti di sicurezza più specifici, che stabiliscono ciò che il fabbricante deve verificare per minimizzare, durante la fase di progettazione e costruzione, i potenziali rischi connessi all'utilizzo di un dispositivo medico. I requisiti generali affermano che i dispositivi devono essere progettati e fabbricati in modo che la loro utilizzazione non comprometta lo stato clinico e la sicurezza dei pazienti, né la sicurezza e la salute degli utilizzatori e di eventuali terzi; che le soluzioni adottate dal fabbricante per la progettazione e la costruzione dei dispositivi devono attenersi a principi di rispetto della sicurezza; che i dispositivi devono fornire le prestazioni loro assegnate dal fabbricante; che qualsiasi effetto collaterale o comunque negativo deve costituire un rischio accettabile rispetto alle prestazioni previste. I requisiti relativi alla progettazione e costruzione riguardano lo specifico: le caratteristiche chimiche, fisiche e biologiche cui devono rispondere i materiali utilizzati, nonché la compatibilità tra materiali e tessuti, la difesa dai rischi d'infezione e

contaminazione microbica; le caratteristiche relative alla sicurezza sia nella fabbricazione che dell'ambiente. stabiliti i requisiti essenziali su sicurezza, prestazioni, progettazione, imballaggio dei dispositivi medici, la MDD, suddivide i dispositivi medici in quattro classi di rischio crescente per il paziente, che sono chiamate classi I, IIa , II b e III.

Classe I: dispositivi a basso rischio. Tutti i dispositivi non invasivi che: 1. non sono destinati alla canalizzazione e conservazione del sangue, liquidi o tessuti corporei. 2. non sono intesi a modificare la composizione biologica o chimica del sangue. 3. non sono in contatto con la pelle lesa.

Classe IIa : dispositivi a medio rischio. Tutti i dispositivi invasivi che interessano gli orifizi corporei naturali.

Classe IIb: dispositivi a medio rischio. I dispositivi parzialmente o totalmente impiantabili nell'organismo in grado di modificare la composizione chimica e biologica dei fluidi corporei.

Classe III: dispositivi ad alto rischio. I dispositivi che agiscono sul funzionamento degli organi vitali. L'attribuzione di una determinata classe di rischio a ciascun dispositivo medico è possibile tramite l'applicazione di 18 regole, che legano il rischio ai seguenti parametri: proprietà, durata dell'utilizzo, funzioni e scopi per cui è progettato il dispositivo medico. Le prime quattro regole permettono la classificazione dei dispositivi medici non impiantabili, le successive quattro quelle dei dispositivi impiantabili, le altre quattro riguardano invece i dispositivi attivi, le ultime quattro sono regole riguardanti dispositivi particolari quali ad esempio destinati alla contraccezione, alla disinfezione, pulizia ecc. Per ciascuna delle quattro classi di rischio è stabilita una particolare procedura di verifica a garanzia della conformità del prodotto. In pratica a seconda della classe di rischio, la direttiva impone l'applicazione di un sistema di qualità ISO 9000/EN 46000 o di altre procedure alternative più semplici (certificazione CE, verifica CE, dichiarazione di conformità CE). La ISO 9000 è una norma tecnica che prescrive al fabbricante l'elaborazione di un sistema di

qualità nelle attività dell'azienda, che garantisca la conformità dei prodotti posti in commercio ai requisiti richiesti. Il sistema di qualità deve quindi essere approvato e certificato da un organismo pubblico o privato preposto (organismo di certificazione), che controlla la permanenza delle caratteristiche di detto sistema. In alternativa alle procedure stabilite dalla ISO 9000, la MDD ammette in casi specifici l'applicazione di sistemi più semplici di garanzia:

- 1- La verifica CE impone l'intervento di un organismo notificato che deve svolgere gli esami e le prove necessarie per verificarne la conformità.
- 2- La certificazione CE è invece la procedura in base alla quale un organismo notificato constata e certifica che un esemplare rappresentativo di una determinata produzione soddisfa le disposizioni in materia direttiva. Essa, ad esempio, prevede la presentazione di una domanda a un organismo notificato con descrizione generale della produzione, gli schemi di progettazione, fabbricazione ecc..
- 3- Dichiarazione di conformità CE è la dichiarazione dove il fabbricante garantisce che i prodotti in questione soddisfano le disposizioni applicabili della direttiva. Essa prevede: la predisposizione di documentazione tecnica contenente la descrizione generale del prodotto, compresi le varianti previste, schemi di progettazione e metodi di fabbricazione. In base a ciò i biomateriali possono essere suddivisi in:

CLASSIFICAZIONE dei BIOMATERIALI

In base agli effetti prodotti sul materiale

In base all'interazione materiale/organismo

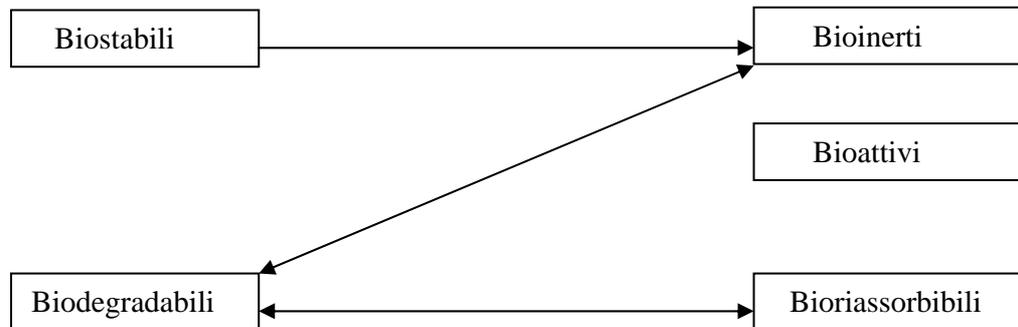


Fig.1.1. Classificazione dei biomateriali in base alle loro interazioni con l'organismo

**In base agli effetti
In base alla natura
prodotti sul materiale
chimica**

**In base all'interazione
materiale/organismo**

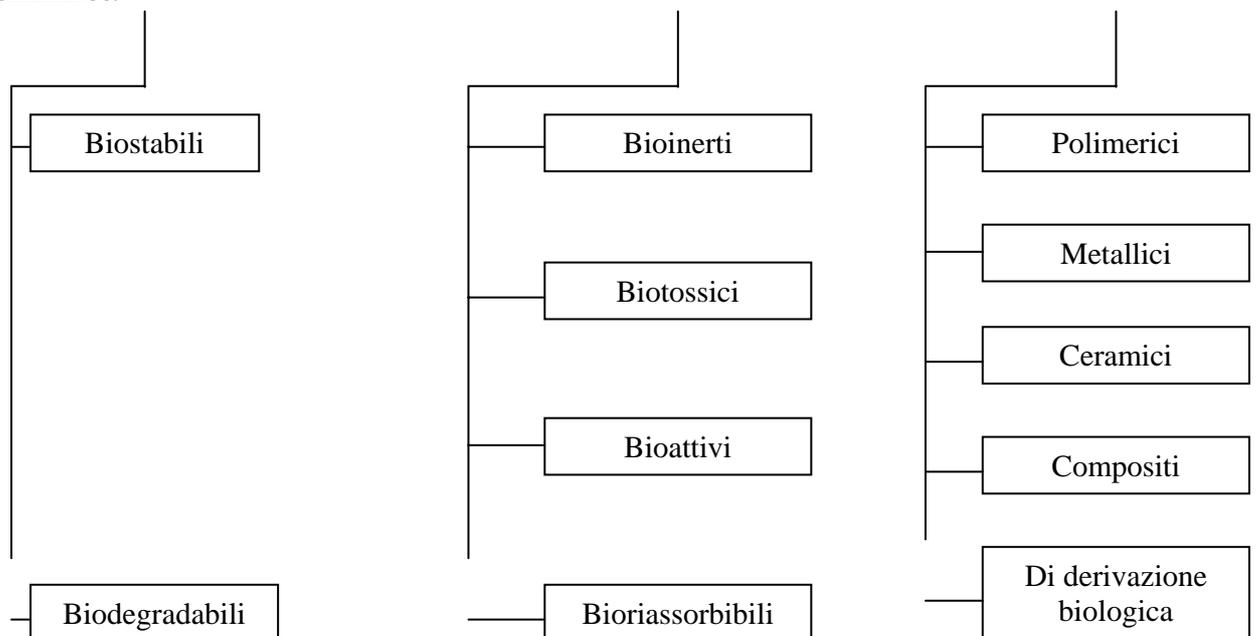


Fig.2.2. Classificazione dei biomateriali

2.3 MATERIALI SINTETICI

2. 3.1 Materiali polimerici

I materiali polimerici, o materie plastiche, sono costituiti da molecole di grandi dimensioni, dette macromolecole, formate dalla ripetizione di unità uguali o diverse dette monomeri. I polimeri sono generalmente di natura organica, ma esistono anche importanti polimeri inorganici. Alcuni polimeri sono caratterizzati dalla presenza di lunghe catene lineari, che possono anche presentare ramificazioni; altri formano complessi reticoli tridimensionali. In genere, la struttura di questo tipo di materiali è scarsamente cristallina; essi sono cattivi conduttori, se non addirittura isolanti, e sono caratterizzati da bassi valori di densità, basse temperature di rammollimento e di decomposizione chimica. I polimeri costituiscono circa il 45% dei biomateriali e risultano i più usati. Essi possono a loro volta essere suddivisi in polimeri solidi, polimeri liquidi e polimeri miscibili con l' acqua. I polimeri solidi sono materiali gommosi, amorfi o semi cristallini, con grado variabile di idrofilicità. Tipiche applicazioni dei polimeri solidi si hanno in ortopedia, per protesi e innesti vascolari e cardiovascolari utilizzati nella sostituzione o riparazione di arterie o valvole cardiache danneggiate od ostruite. I polimeri liquidi sono in forma di gel, di liquidi semi solidi, o anche di sostanze del tutto liquide. Le maggiori applicazioni di questi polimeri sono basate sulla caratteristica degli idrogel di rigonfiarsi quando entrano in contatto con intorni idrofilici. Sono, pertanto, utilizzati in oftalmologia, nella fabbricazione di lenti a contatto e per applicazioni oculistiche. Essi vengono utilizzati come polimeri biodegradabili per il rilascio graduale e localizzato di farmaci.

I polimeri miscibili con acqua possono trovare applicazione come diluenti e/o sostituenti del plasma sanguigno, allo scopo di regolare o ripristinare i parametri fisiologici del sangue.

2.3.2 Materiali metallici

Sono costituiti da uno o più elementi, quali ad esempio ferro, rame, cromo, nichel, titanio, tenuti insieme da una particolare forma di legame metallico. I materiali metallici hanno struttura cristallina e sono buoni conduttori di elettricità e di calore; molti di essi possiedono ottime caratteristiche meccaniche e buona resistenza alle alte temperature. Essi possono anche contenere elementi non metallici, come carbonio, azoto, ossigeno. I materiali metallici costituiscono il 30% dei biomateriali e vengono principalmente usati nella fabbricazione e impianti ortopedici, di pace-maker, di impianti dentali ecc.. I più usati sono l'acciaio inossidabile, le leghe di cobalto, il titanio. Generalmente, l'utilizzo dei metalli pone problemi di biocompatibilità legati alla corrosione e/o alla cessione di ioni.

2.3.3 Materiali ceramici

Sono di natura inorganica, sono infatti costituiti dalla combinazione chimica di elementi metallici e non metallici legati tra loro tramite legami chimici di tipo covalente e/o ionico. Possono avere struttura cristallina, parzialmente cristallina, o amorfa. Essi sono caratterizzati da elevata durezza, notevole resistenza alle alte temperature e all'usura, ma anche da fragilità che li rende sensibili agli urti. I materiali ceramici coprono il 5% delle applicazioni nel settore biomedico. A questa categoria appartengono materiali come vetro, ossido di alluminio, ossido di zirconio e diverse forme allotropiche di elementi non metallici; come ad esempio il carbonio che può presentarsi come diamante grafite.

Sono largamente usati nella fabbricazione di impianti otorino-laringoiatrici e ortopedici, come riempitivi delle ossa e per usi odontoiatrici.

2.3.4 Materiali compositi

Sono costituiti dalla combinazione di due o più materiali, tra lo non solubili. Pertanto, in un materiale composito deve essere sempre possibile individuare una interfaccia tra i diversi componenti. Tipicamente questi materiali sono costituiti da una matrice che contiene altri composti, ad essa compatibili, con funzione di rinforzo e di aumento della resistenza meccanica. Questa prerogativa permette di sfruttare al meglio le caratteristiche dei singoli componenti la cui combinazione consente di ottenere prestazioni non raggiungibili con i singoli materiali costituenti. Esistono molte combinazioni possibili tra materiali di rinforzo e matrici: in particolare, si possono avere compositi di tipo fibroso, nei quali delle fibre sono immerse in una matrice, o di tipo particolato, nei quali particelle di varia forma sono inglobate nella matrice. I materiali compositi rappresentano circa il 15% dei biomateriali. La loro caratteristica principale, consiste nel fatto che sono fabbricati utilizzando combinazioni opportune di altri biomateriali, quali polimeri, ceramiche e metalli. Come esempio di applicazione di materiali compositi in medicina si possono citare i cementi compositi per ossa e i tendini artificiali. I cementi compositi per ossa, rinforzati con fibre di vetro acrilico, migliorano notevolmente le proprietà meccaniche e la stabilità dimensionale dei biomateriali, sia a breve che a lungo termine. Materiali di derivazione biologica rappresentano il 5 % dei biomateriali; essi comprendono proteine naturali e polisaccaridi(collagene, gelatine, elastine, enzimi). I materiali di origine naturale vengono frequentemente usati in combinazione con materiali sintetici, specialmente in dermatologia.

Gli stadi della progettazione di organi artificiali, rappresenta il passaggio dai biomateriali ai dispositivi biomedici costruiti con essi. Un organo artificiale è un dispositivo capace di riprodurre le funzioni svolte da un organo o da un tessuto del corpo umano. Questi componenti artificiali del dispositivo devono riprodurre, in base alla scelta del materiale utilizzato, le caratteristiche funzionali del tessuto da sostituire. Ne consegue che il corretto funzionamento dell' organo

artificiale è il risultato di un efficace accoppiamento e di una adeguata integrazione tra le funzioni dei suoi componenti. Ciò rende possibile la distinzione in livelli differenti della progettazione di un dispositivo biomedico. Nella prima fase, definita d'identificazione dell'organo naturale, lo studio combinato di cellule, tessuti e organi serve a determinare le specifiche di progetto, che devono contenere anche informazioni su forma, ingombro, dimensioni, peso, funzioni e interfacce. L'organo artificiale deve infatti possedere determinati requisiti fisici perché possa sostituire l'organo naturale. Le informazioni sui requisiti fisici devono essere successivamente integrate dalle specifiche sulle modalità di utilizzo, cioè sulla durata prevista del dispositivo e sulla sua localizzazione (totalmente intracorporeo, parzialmente intracorporeo o extracorporeo). Nella successiva fase di progettazione vera e propria sono previste sia scelta dei materiali idonei alla costruzione, che la realizzazione dei disegni costruttivi e la definizione delle modalità di funzionamento. In questa fase vanno effettuate tutte le operazioni di calcolo strutturale, fluido dinamico, energetico, cinematico e dinamico ritenute necessarie alla completezza del progetto. Infine, nella fase di verifica il dispositivo viene collaudato verificando la rispondenza con le specifiche di progetto: superata positivamente questa fase, si passa alla fase finale di realizzazione ed utilizzo. Quando, però, un dispositivo biomedico viene impiantato, il tessuto vivente interessato reagisce alla presenza di questo corpo estraneo con una serie di fenomeni che vengono genericamente definiti come risposta dell'ospite. Sebbene complessa, la risposta dell'ospite può essere distinta in tre principali azioni: rimarginazione del tessuto leso, azione contro eventuali agenti infettivi, azione di riconoscimento del corpo estraneo. Le prime due azioni sono quelle che si osservano nel caso di traumi e lesioni, che non dipendono necessariamente dalla presenza di un materiale estraneo come ad esempio ferite e fratture. La terza risposta è invece il risultato specifico dell'interazione di un materiale estraneo con l'organismo. Tutte queste risposte sono mediate dal processo infiammatorio.

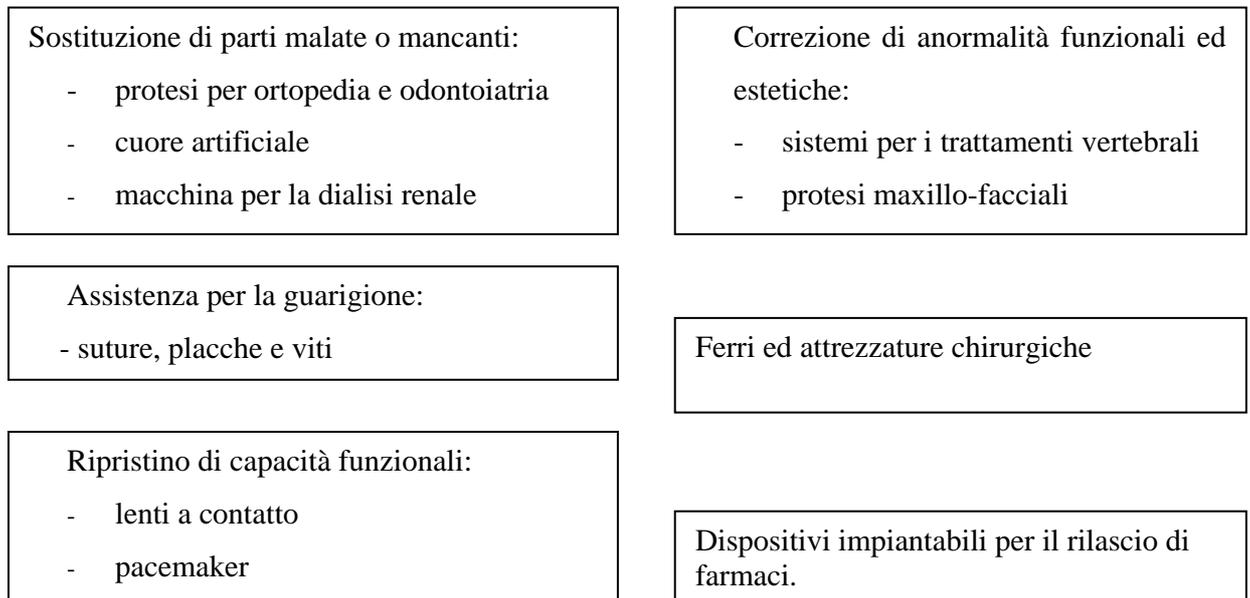


Fig.2.3 Aree di applicazione dei biomateriali

2.4. L' IDROSSIAPATITE

Il fosforo è essenziale per i processi biologici fondamentali si trova nella biosfera in quantità maggiori che negli ambienti abiotici. L' elemento sottoforma di fosfati solubili viene assorbito dagli organismi vegetali mentre quelli insolubili sono trasformati lentamente in derivati solubili dalla microflora del terreno. Una parte di quest' ultimi viene dilavato dalle acque e va ad arricchire l' idrosfera formando per la maggior parte sedimenti marine profondi e senza rientrare, per ciò nel ciclo, una piccola frazione, invece, viene riciclata per l' azione del vento, o delle correnti marine. Praticamente tutto il fosforo impiegato nell'industria dei concimi, o per la realizzazione dei dispositivi medici provengono da un' unica materia prima: il fosfato di calcio minerale.

2.4.1 Fosfati di Calcio

I fosfati di calcio costituiscono il più ampio gruppo di biomateriali presenti nei Vertebrati. Tra i più importanti vi sono le apatite principali fonti di fosfati e componenti essenziali di ossa e denti e inoltre sono largamente utilizzati come fertilizzanti. Il metabolismo animali del fosforo è strettamente legato a quello del calcio ed entrambi gli elementi sono fortemente richiesti da piante e animali. Di qui di seguito sono mostrati principali composti di Ca/P

Tab2.1 Principali composti di Ca/P

| Formula | Ca/P (molare) | Nome |
|--|---------------|---|
| $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ | 0.50 | Monocalcio fosfato |
| $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ | 0.50 | Monocalcio fosfato idrato |
| CaHPO_4 | 1.00 | Fosfato monoacido di calcio (Monetite) |
| $\text{CaHPO}_4 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ | 1.00 | Fosfato monoacido di calcio emiidrato |
| $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 1.00 | Fosfato monoacido di calcio diidrato (Brushite) |
| $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | 1.33 | Ottacalcio fosfato |
| $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ | 1.50 | α -tricalcio fosfato |
| $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ | 1.50 | β -tricalcio fosfato (Whitlockite) |
| $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ | 1.67 | Idrossiapatite |
| $\text{Ca}_2\text{PO}_4(\text{OH}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 2.00 | Idrossispodiosite |
| $\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$ | 2.00 | Tetracalcio fosfato |

2.4.2 Apatite

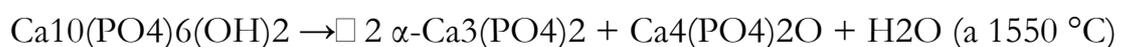
Con questo termine si indica un gruppo di solidi cristallini con formula chimica generale: $M_{10}(ZO_4)_6X_2$. Il simbolo M indica un catione con valenza da 1 a 3; Z è invece un qualsiasi anione con valenza da 3 a 7; X è un anione con valenza da 0 a 3. Le apatite solitamente si riscontrano in forma non stechiometrica e presentano un basso rapporto Ca/P, al contrario degli altri fosfati di calcio che, invece, ricorrono in forma stechiometrica.

2.4.3 Caratteristiche Generali Dell' Idrossiapatite

Tra i biomateriali, al momento quello che risulta essere il più compatibile per l'osso per le sue caratteristiche chimico-fisiche è l'idrossiapatite (HA). Esso viene utilizzato come materiale di sostituzione per denti danneggiati ed ossa a causa della sua somiglianza cristallografica al vario tessuto calcificato dei vertebrati. L'HA è un materiale bioinerte, si lega chimicamente all'osso senza provocare reazioni flogistiche e/o reazioni tossiche e presenta capacità osteoconduttiva poiché funge da matrice per la migrazione al suo interno di cellule osteogenetiche. Inoltre a contatto con i tessuti molli, non induce neoformazione ossea (non è osteoinduttivo) e risulta essere completamente atossica, per tanto, risulta essere particolarmente adatta per la realizzazione di materiali impiegabili nella ricostruzione ossea.

2.4.4 Trasformazioni Termiche Dell'ha

L'HA stechiometrica è un composto molto stabile fino a 1400 °C. La principale trasformazione termica è:



La formazione di ossiapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}$, che avviene per condensazione dell'HA, è un processo graduale che si ottiene dagli $800\text{ }^\circ\text{C}$ fino ai $1400\text{ }^\circ\text{C}$.

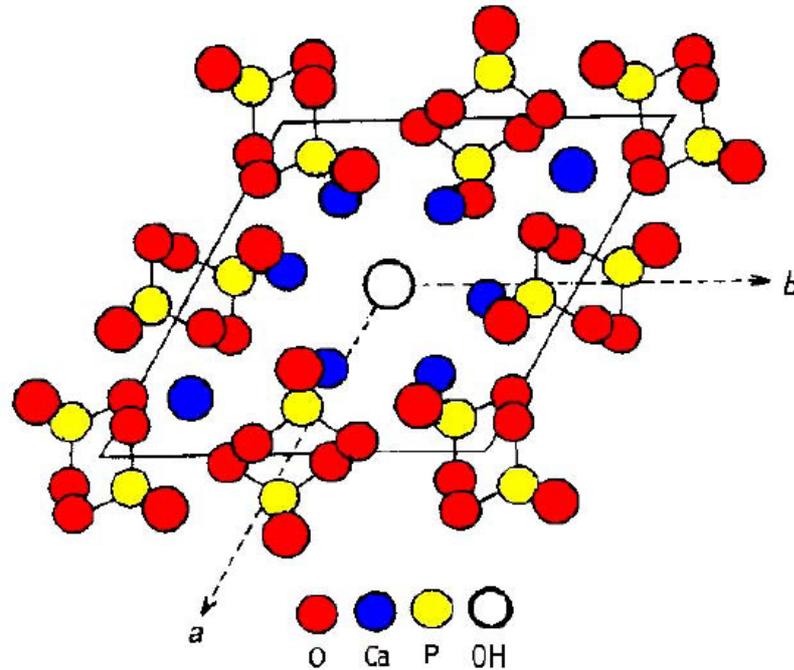


Fig 2.7 Disposizione degli atomi di HA in proiezione sul piano basale della cella cristallina.

Nel cristallo di HA (fig.2.8), le catene O-Ca-O sono disposte parallelamente all'asse c , legandosi agli ossidrili e costituendo una superficie interna che delimita una cavità in cui trovano posto gli ioni OH^- . La presenza di queste cavità determina una microporosità che alimenta l'attività superficiale delle apatiti. Esperimenti di scattering di raggi X a basso angolo hanno rivelato che le apatiti formano sottili

esagoni tubulari allungati nella direzione dell'asse c . In questo modo inoltre, si sono riuscite a determinare le distanze interioniche in maniera ancora più soddisfacente. Inoltre si è visto che gli atomi di Ca situati intorno all'asse esagonale sono coordinati con gli ioni OH^- e gli atomi di O dei gruppi

tetraedrici PO_4^{--} . Gli stessi atomi di Ca, inoltre, formano triangoli tra di loro disposti l'uno sull'altro in direzione dell'asse c .

I gruppi OH^- si dispongono in colonne parallele all'asse c e intersecanti i centri dei triangoli di Ca.

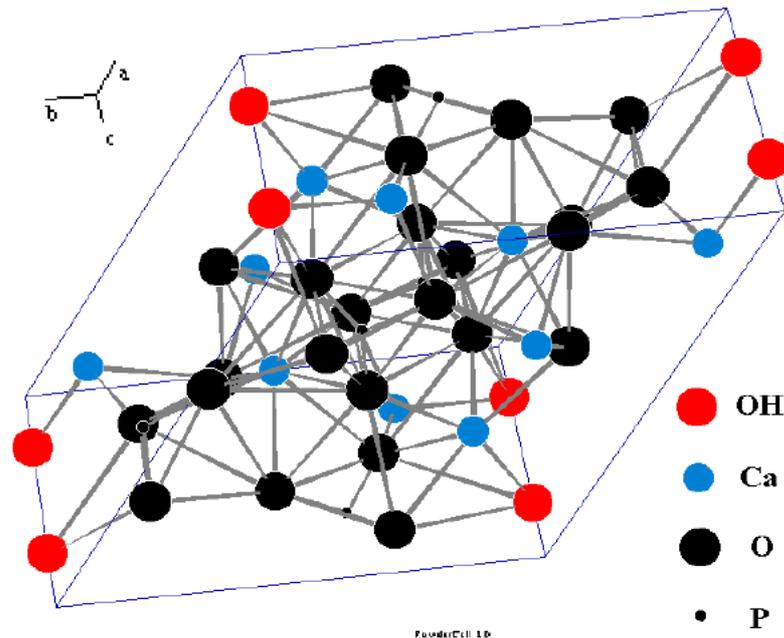


Fig2.8 Cella cristallina dell'HA, che evidenzia la disposizione degli atomi di Ca.

In ogni cristallino è possibile identificare la cella unitaria, ossia la più piccola unità che ripetuta nello spazio genera l'intero cristallo, che è caratterizzata da dimensioni e angoli specifici

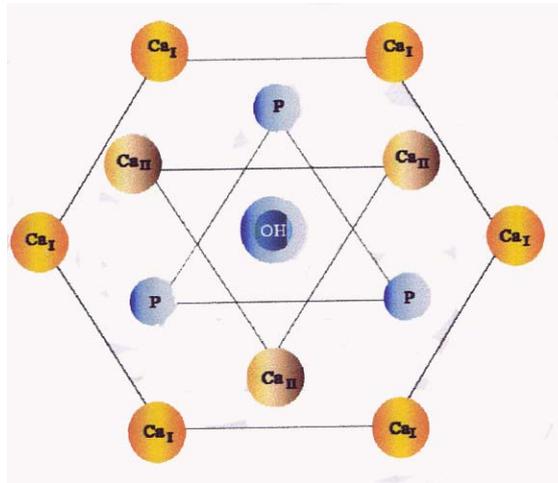


Fig.2.9 Cella unitaria dell'idrossiapatite vista al di sopra di uno dei piani di riflessione

2.4.5 Solubilità dell'idrossiapatite.

I fenomeni associati alla dissoluzione dell'HA rivestono un ruolo molto significativo, poiché gli studi su di essi permettono di comprendere la fisiologia dell'osso e dei denti in termini di calcificazione e riassorbimento; inoltre le principali considerazioni sull'insorgenza delle carie dentale e sull'azione di profilassi del fluoro si basano sulla solubilità dell'HA. La letteratura classifica i fenomeni di dissoluzione in stechiometriche e non-stechiometriche. Si è dimostrato che l'HA soddisfa le leggi

della solubilità, studiando gli equilibri di solubilità in un vasto campo di condizioni sperimentali con campioni di HA ottenuti mescolando soluzioni di idrossido di calcio e acido ortofosforico. È stata analizzata la soluzione satura da cui precipitava l'HA e inoltre il precipitato è stato sottoposto ad equilibri di solubilità convenienti. In entrambi gli esperimenti è emerso che l'HA esibisce dissoluzione stechiometrica, avente un $pK_{sp}=115.5$. Inoltre la velocità di

dissoluzione è controllata da una serie di reazioni parziali consecutive e dipende dal pH e dall'area superficiale del soluto, mentre è indipendente dalla temperatura nell'intervallo 15-35 °C. Con l'aumento della temperatura, in ogni modo, la solubilità diminuisce; l'HA esibisce dunque solubilità retrograda. Sulla base di un modello matematico basato sui dati relativi alla solubilità dello smalto dei denti si è trovato che essa è maggiore, con rischi dunque per l'insorgenza delle carie, se il pH è compreso tra 5.0 e 7.0. Divergenze dal rapporto Ca/P=1.67, tipico dell'HA, sono la causa delle dissoluzioni non stechiometriche. Queste divergenze sembra siano causate dalla presenza di un complesso, $\text{Ca}_2(\text{HPO}_4)(\text{OH})_2$, o di una delle fasi, di calcio pirofosfato o ottacalcio fosfato, a creare uno strato che circonda le molecole di soluto. A causa di questo, in molti esperimenti non si può ricavare il prodotto di solubilità dell'HA. Il complesso responsabile di questo fenomeno verrebbe generato dall'idrolizzazione dell'HA stessa, in quanto essa è un sale di un acido debole. L'equilibrio verrebbe trovato in accordo con le seguenti equazioni:



Uno studio importante è stato condotto sulla solubilità dello smalto dentale con la saliva. Il dicalcio fosfato sembra avere una funzione di controllo sulla solubilità poiché fornisce un K_{ps} costante in un intervallo di pH che va da 4.5 a 7.5. Nell'intervallo 3.5-6.0 si è osservato che il dicalcio fosfato si deposita sulla superficie dei campioni, provocando un cambiamento della composizione della soluzione durante la dissoluzione. Anche l'ottacalcio fosfato sembra avere queste proprietà di controllo sul pH. Alcune tra le cause delle divergenze fra i risultati sperimentali sulla solubilità dell'HA possono essere:

- Le dissoluzioni non-stechiometriche sono dovute spesso ad un'alta percentuale di impurità disposte sulla superficie del soluto e disciolte con esso.
- La bassa solubilità e la grana fine dell'HA la rende stabile come componente colloidale nella sua stessa soluzione acquosa.
- Esiste una grande quantità di sostanze che possono coesistere con l'HA come soluti
- Data l'alta area superficiale dell'HA è facile che ioni estranei possano essere adsorbiti dalla superficie del campione e falsare i risultati delle analisi.
- L'HA, essendo un sale di un acido debole, tende ad idrolizzare in acqua e a fornire fasi insolubili che falsano le misure.

2.6 Calcificazione Ossea

La precipitazione dei fosfati di calcio è di considerevole significato biologico poiché essi sono presenti nei tessuti duri dei vertebrati. La presenza di uno specifico fosfato di calcio in un determinato tessuto dipende da fattori quali la temperatura, il pH e la reattività chimica del fosfato in oggetto. La conoscenza dei processi di solubilità permette di comprendere i meccanismi della calcificazione, che è un'ordinata precipitazione di HA verso la matrice organica dell'osso. È noto che i processi di calcificazione avvengono solo in certe regioni note come siti di calcificazione. In questi siti si accumulano calcio e fosforo, trasportati dai fluidi biologici. La concentrazione di fosfato aumenta localmente e viene idrolizzata da un enzima chiamato fosfatasi, per cui precipita e si deposita HA. Studi hanno dimostrato che il sangue è sovrassaturo di HA che quindi tende spontaneamente a precipitare. Tuttavia il calcio e i fosfati si legano di nuovo chimicamente, tranne che nei siti di calcificazione. Il calcio presente nel sangue è per circa un terzo legato a proteine mediante chelazione, mentre il resto è in forma ionizzata o come complessi solubili in cui compaiono ioni come citrato e fosfato. Il fosforo nel sangue esiste principalmente come HPO_4^{2-} in minor

misura come H_2PO_4 e PO_4^{--} . La composizione del sangue tale da rendere difficile l'applicazione dei principi di solubilità per comprendere la deposizione dell'HA. Le concentrazioni del fosfato e del calcio nel sangue sono maggiori di quelle corrispondenti ai prodotti di solubilità dell'HA e pressoché pari a quelle di una soluzione satura di dicalcio fosfato, cosa che suggerisce un'iniziale precipitazione di dicalcio e una seguente formazione di HA, che è il più stabile dei fosfati di calcio, a seguito di un'idrolizzazione.

Si visto che la deposizione di HA è favorita da un aumento di pH, secondo la seguente equazione:



Talvolta, nell'HA preparata per sintesi si riscontra una variazione del rapporto Ca/P, dell'ordine di 1.33-1.65. Questi composti prendono il nome di apatiti calcio-deficienti. Tali composti hanno una grande importanza a livello biologico, poiché il rapporto Ca/P nell'osso è più basso di quello dell'HA di sintesi. Inoltre essi fungono da catalizzatori in molte reazioni come la deidratazione la deidrogenazione degli alcoli primari, che porta alla formazione di aldeidi e chetoni. Infatti l'attività dell'HA è maggiore quanto più basso è il rapporto Ca/P

2.7 CAMPI DI APPLICAZIONE DEI BIOMATERIALI

5.1 Endoprotesi Ortopediche

Nel settore ortopedico in genere si parla di protesi con riferimento a due tipi di dispositivi artificiali: le protesi d'arto e le endoprotesi o protesi articolari. Le prime sono dei dispositivi che sostituiscono completamente un arto (superiore o inferiore) o una sua parte mancante dalla nascita o a seguito di amputazione. Le protesi d'arto hanno ruoli funzionali, ma anche finalità estetiche e la loro interfaccia con l'organismo è con la superficie cutanea. In tal senso non si considerano propriamente biomateriali i materiali con cui sono realizzati. Inoltre tali protesi vengono indossate e tolte, possono essere sostituite e riparate. Le endoprotesi ortopediche sono invece dei sistemi impiantabili permanentemente all'interno della superficie corporea dove svolgono il loro ruolo in diretto contatto con i tessuti nell'organismo ospite. Sotto questo nome si raggruppano le protesi articolari, cioè quei sistemi artificiali che sostituiscono in parte o totalmente una articolazione che, a causa di patologie degenerative o traumatiche, non funziona più in modo adeguato.

Le articolazioni degli arti superiori sono la spalla, il gomito, la radiocarpica e le articolazioni delle dita della mano. Quelle degli arti inferiori sono l'anca, il ginocchio, la tibiotarsica e quelle delle dita dei piedi. Ogni articolazione è caratterizzata da propri gradi di libertà, ciò dipende dalla forma delle superfici articolari e dal numero e tipo dei legamenti. Questi ultimi sono dei tessuti connettivi fibrosi che determinano l'unione delle superfici articolari durante il movimento, che è dovuto alla contrazione dei muscoli scheletrici della regione articolare.

5.2 L'articolazione Dell'anca

In generale, le richieste funzionali alle articolazioni dell'arto inferiore sono molto diverse rispetto a quelle dell'arto superiore, perché devono trasferire il peso del corpo al terreno ed i muscoli che le sollecitano sviluppano forze molto maggiori.

Quindi le articolazioni dell'anca, della caviglia e del piede sono più robuste delle corrispondenti dell'arto superiore ed il loro range di movimento è minore, in particolare, l'anca è l'articolazione che deve sopportare i carichi maggiori e quindi va incontro a cedimenti meccanici più facilmente di altre: questo è uno dei motivi per cui la protesi d'anca è l'endoprotesi articolare più utilizzata in chirurgia ortopedica.

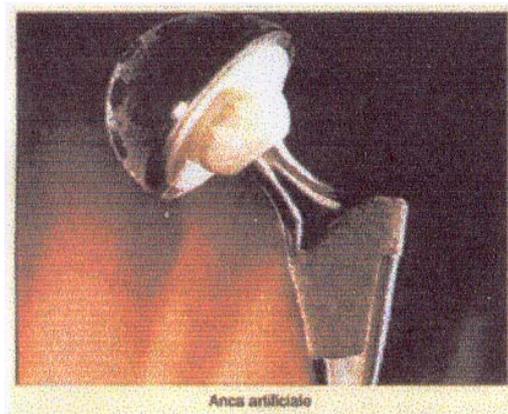


Fig.5.1 ANCA ARTIFICIALE

La protesi dell'anca è l'endoprotesi articolare più utilizzata in chirurgia ortopedica. Ciò dipende da diversi motivi i cui principali sono: l'anca è fra le articolazioni quella che deve sopportare i carichi maggiori e che quindi più facilmente va incontro a cedimenti meccanici; le patologie che limitano il funzionamento dell'anca sono molto invalidanti; la sostituzione dell'anca è chirurgicamente facile; la cinematica dell'anca è facilmente riproducibile con un giunto sferico artificiale. Nel valutare il funzionamento di un'articolazione

occorre, oltre ai tipi e all' entità dei movimenti resi possibili, anche le sollecitazioni meccaniche trasmesse. Nel progettare realizzare e impiantare una protesi d' anca occorre tenere in considerazione le specifiche anatomiche, funzionali e di biocompatibilità di un tale dispositivo, specifiche che derivano sia dallo studio del normale funzionamento dell' articolazione sana, sia dall' esperienza clinica derivante dall' uso delle protesi impiegate fino ad oggi. Una protesi d' anca deve quindi:

- 1- consentire i gradi di libertà rotazionali consentiti dall' articolazione naturale fra la coscia e il bacino.
- 2- sopportare i carichi applicati durante il passo.
- 3- resistere alla fatica meccanica derivante dall' applicazione ciclica del carico durante il passo.
- 4- avere delle superfici articolari resistenti all' usura.
- 5- essere fabbricata con materiali biocompatibili.
- 6- garantire la stabilità meccanica delle interfacce.
- 7- essere facilmente impiantabile.
- 8- essere facilmente sostituibile se si danneggia.
- 9- garantire nei tessuti ossei uno stato di sollecitazione tale per cui il fenomeno del rimodellamento osseo non venga spostato verso il riassorbimento o la crescita anomala.

Le protesi possono essere sia cementate che non cementate. Le prime protesi totali d' anca erano del tipo non cementato e il loro ancoraggio all' osso era dovuto al semplice incastro meccanico fra lo stelo femorale ed il canale di dimensioni inferiori creato nel femore. Successivamente sono state sviluppate protesi cementate per le quali l' ancoraggio all' osso dipende da una resina acrilica, interposta tra la protesi e l' osso, che polimerizzando e indurendo determina la stabilità all' interfaccia. Attualmente sono in uso entrambi i tipi che presentano diversi vantaggi e svantaggi.

Il principale obiettivo delle protesi non cementate è l'osteointegrazione. Con osteointegrazione si intende il contatto diretto fra la protesi e l' osso senza tessuto connettivo interposto. Esso dipende dalla forma e dalle dimensioni della protesi, dalle modalità e dai materiali con cui è fabbricata la protesi, dalle caratteristiche della sua superficie e dalle modalità chirurgiche di impianto. Avviene frequentemente che una protesi non cementata scarichi le forze provenienti dal bacini nella sua zona distale e in tal modo il segmento prossimale del femore risulta poco sollecitato andando incontro a riassorbimento. Questo fenomeno, oltre a demineralizzare l' osso, induce la perdita della stabilità meccanica dell' interfaccia nella zona prossimale. Per evitare questi fenomeni occorre garantire la massima stabilità primaria possibile e ciò dipende dalla precompressione che si riesce ad ottenere durante la fase di impianto. Un altro importante aspetto che occorre considerare è la rigidità dello stelo femorale. Tale problema è stato affrontato cercando di realizzare delle protesi chiamate isoelastiche, protesi cioè che presentano la stessa deformità dell' osso. Tali protesi non hanno però fornito risultati clinici interessanti perché non adatte a sopportare i carichi a cui le protesi d' anca sono normalmente sollecitate.

Protesi cementati. L'uso del cemento consente uno stabile ancoraggio della protesi riempiendo del tutto lo spazio fra lo stelo e il canale femorale. La categoria di materiali che vanno normalmente sotto il nome di cementi per ossa deriva da quella classe di materiali a base di polimetilmetacrilato (PMMA). L' impiego originale del cemento per ossa è quello di materiale di riempimento degli spazi compresi fra la protesi e l' osso con lo scopo di migliorare la distribuzione degli sforzi trasmessi dalla protesi all' osso durante il carico. Un secondo scopo dell' uso del cemento per ossa è di ridurre il dolore dovuto ai micro movimenti relativi fra stelo e osso. Ciò è possibile grazie all' effetto di bloccaggio del cemento. Di fatto il cemento non è un materiale adesivo e il nome cemento appare improprio. Pertanto è necessario

prepararne solo la quantità desiderata perché dopo il tempo di indurimento non si riesce ad aumentarne la quantità aggiungendone di nuovo in quanto non si ottiene l'adesione con il vecchio. Il cemento non aderisce al metallo anche se quest'ultimo è perfettamente pulito e asciutto. Quando è necessaria l'adesione fra cemento e metallo quest'ultimo viene fornito già prerivestito con un sottile strato di cemento fatto aderire industrialmente utilizzando un agente chimico, in genere un composto contenente silicio. In commercio esistono diversi cementi per ossa, tutti a base di PMMA, che si differenziano per composizione e proprietà. Si tratta di un materiale rigido e opaco la cui opacità è dovuta a eventuali inclusioni, anche gassose, e ad una relativamente bassa cristallinità. Utilizzando il cemento per ossa si possono ottenere dei significativi benefici in confronto a quanto avviene con l'uso di protesi non cementate. Infatti si ottiene la massimizzazione della superficie di contatto e vengono pertanto ridotti tutti i possibili inconvenienti. Un problema non trascurabile delle protesi cementate è la presenza di due interfacce (metallo-cemento e cemento-osso), entrambe infatti possono cedere causando la mobilitazione della protesi. La rimozione di una protesi cementata è complicata dalla necessità e difficoltà di rimuovere completamente il cemento ed i suoi frammenti dall'osso e inoltre l'impianto di una nuova protesi avviene in un osso fortemente traumatizzato e di spessore ridotto.

Il giunto articolare ha il doppio obiettivo di trasmettere i carichi attraverso l'articolazione e di permettere i movimenti articolari.

5.4 Protesi Odontoiatriche

I materiali dentali vengono prodotti da industrie specializzate e, dopo che sono stati posti in commercio, vengono acquistati dagli odontoiatri e dagli odontotecnici, i quali li utilizzano per gli impieghi più appropriati. La messa punto di un nuovo materiale è in genere alquanto complessa. Un' importante requisito in campo dentale è il peso dei restauri quando, soprattutto, devono essere costruiti protesi ampie, e particolarmente quando queste interessano l'arcata superiore, come per esempio le protesi totali e le protesi parziali rimovibili. Un materiale dotato ad esempio, di una densità più bassa, permette di realizzare una protesi che, a parità di dimensioni, presenta un peso minore di una analoga protesi costruita con un materiale avente una densità maggiore. Vi sono delle proprietà particolari, in campo dentale, che rivestono una notevole importanza per quanto riguarda la scelta dei materiali, sia per il loro impiego nella cavità orale dei pazienti, sia per vari usi di laboratorio. Tali proprietà sono:

1-Durata di utilizzo: si intende il periodo di tempo durante il quale i materiali dentali possono essere conservati, dopo la loro produzione industriale, senza che essi subiscano deterioramenti o cambiamenti delle loro proprietà. Vari metalli presentano una durata pressoché illimitata (come per esempio le leghe e le ceramiche dentali), altri materiali, invece, sono soggetti a scadenza. Per questi ultimi materiali, le modalità di conservazione possono svolgere un ruolo importante sulla loro durata.

2-Assorbimento d'acqua: alcuni materiali dentali tendono ad assorbire acqua durante la loro lavorazione o durante il loro impiego. Questo fenomeno è particolarmente evidente in alcuni materiali da impronta e nelle resine sintetiche, ed esso può essere causa di cambiamenti dimensionali e deformazioni più o meno accentuate a seconda della quantità d'acqua assorbita. Tali cambiamenti dimensionali, se sono eccessivi, possono compromettere i risultati di un procedimento restaurativo. Pertanto, su alcuni

materiali dentali si eseguono delle opportune prove da assorbimento d'acqua , le quali sono governati da delle convenzioni che stabiliscono la forma, le dimensioni, il tempo, la temperatura di immersione, le modalità di pesata ed il calcolo dei risultati.

3-Solubilità: si intende la loro tendenza o meno di sciogliere nei liquidi orali o in altri liquidi con i quali possono venire a contatto. Molti materiali compositi vengono utilizzati come riempitivi per protesi odontoiatriche. I metalli come l'oro e l'amalgama d'argento vengono usati esclusivamente per la riparazione dei denti posteriori, dato che ragioni estetiche ne impediscono l'utilizzo per i denti anteriori; tuttavia, le scarse qualità meccaniche di questi materiali rendono molto brevi i tempi di vita delle protesi che li contengono e possono inoltre generare seri problemi clinici. Per questi motivi, i compositi a base di resine acriliche e di cementi al silicato hanno virtualmente rimpiazzato tali materiali e vengono correntemente usati per il restauro dei denti anteriori che di quelli posteriori. Le resine composite di uso odontoiatrico consistono di una matrice polimerica con inclusioni inorganiche rigide, sotto forma di particelle con spigoli molto pronunciati, generalmente costituite da vetri a base di bario, che conferiscono grande durezza e resistenza al materiale; esso, inoltre, risulta molto accettabile dal punto di vista estetico essendo traslucido e con indice di rifrazione simile a quelli dello smalto naturale. la matrice è costituita da un prodotto di addizione tra bis-quattro idrossifenolo, dimetilmetano e glicilmetacrilato. Tutti i materiali compositi per uso odontoiatrico sono soggetti a deformazione per scorrimento che può provocare crepe nel manufatto. Il problema principale di questi materiali resta quello dell'usura; tuttavia, nonostante questa limitazione, essi trovano utilizzo sempre più diffuso, anche per ovviare agli inconvenienti dovuti alla tossicità a lungo termine dei riempitivi a base di amalgame contenenti argento e mercurio.

Modulo di Young Per deformazione si intende la variazione relativa di una dimensione causata da uno sforzo; si tratta di una grandezza priva di unità di misura, essendo il rapporto di due lunghezze. Definendo in modo opportuno la deformazione per i vari tipi di sforzo, si riesce a descrivere con un'unica legge tutti i fenomeni dovuti a trazione, scorrimento, ecc.; è la formulazione della legge di Hooke che afferma che gli sforzi sono direttamente proporzionali alle corrispondenti deformazioni. Nel caso di un campione sottoposto a trazione, cioè la sollecitazione agisce lungo la direzione longitudinale, esso subisce rispetto alla posizione originaria una deformazione $L-L_0$, positiva o negativa, a seconda che si abbia trazione o compressione data da :

$$L-L_0 = 1/E * L_0 * F/S.$$

Se si pone $F/S = T$ (tensione) avremo

$$(L-L_0)/L_0 = T/E$$

l'allungamento relativo è proporzionale alla tensione. Il coefficiente $1/E$ si chiama coefficiente di elasticità di trazione ed E prende il nome di modulo di Young. Rappresenta quindi la forza per unità di superficie necessaria a produrre un allungamento uguale alla lunghezza iniziale di un filo e si misura in N/m^2 .

Modulo di Poisson Un filo cilindrico sottoposto a trazione, si allunga e, contemporaneamente, si assottiglia, cioè la sua sezione si contrae. Se a è il suo diametro, si chiama contrazione relativa il rapporto tra la variazione $(a-a_0)/a$ del diametro e il diametro stesso, mentre si registra una variazione relativa della lunghezza $(L-L_0)/L$. Vale la relazione:

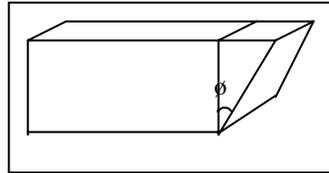
$$(a-a_0)/a = -\mu (L-L_0)/L$$

Il coefficiente μ , rapporto tra la contrazione e l'allungamento relativi, si chiama di modulo di Poisson.

Resistenza al taglio Un taglio si verifica quando su una superficie del corpo agiscono forze ad essa parallela che tendono a farla scorrere rispetto alla

posizione originaria. La deformazione viene definita come il rapporto tra la variazione di lunghezza $L-L_0$ del lato parallelo alla forza e la lunghezza L del lato perpendicolare alla superficie sottoposta a scorrimento

$$\tan \phi = (L-L_0)/L_0$$



dove ϕ è l'angolo di scorrimento. Per piccoli angoli vale ancora la legge di Hooke che assume la forma $F/A = G * \phi$. G è detto modulo di scorrimento e rappresenta la forza che occorre applicare parallelamente alla sezione unitaria per ottenere un angolo di scorrimento di 45° ($\tan 45^\circ = 1$).

Resistenza alla compressione Se ad un solido, ad esempio un cubo, applichiamo alle sue facce la pressione T uguale per tutte e diretta verso l'interno, il solido per effetto di questa sollecitazione subirà un cambiamento di volume $V-V_0$. Vale la relazione :

$$(V-V_0)/ V_0 = K * T$$

e il coefficiente K prende il nome di coefficiente di compressibilità e rappresenta la variazione relativa di volume per pressione unitaria. Diamo alcuni valori di E , μ e G per diversi materiali:

| E | μ | G | |
|--------|-------|------|----|
| Piombo | 16 | 0,44 | 6 |
| Rame | 130 | 0,34 | 48 |
| Oro | 78 | 0,44 | 27 |

Porosità Proprietà dei corpi che presentano, nella loro struttura, piccoli spazi vuoti. Rappresenta, quindi, il rapporto tra il volume dei vuoti presenti nel materiale e il volume totale.

Contrazione nella polimerizzazione (%)

Coefficiente di espansione termica

Coefficiente di conducibilità termica

Coefficiente di assorbimento d'acqua

5.5 Utilizzo Del Cemento Nelle Protesi

Nei soggetti giovani il metallo è direttamente a contatto con l'osso, ciò può comportare problemi, invece, per i pazienti anziani: l'alta incidenza dell'osteoporosi rende le ossa fragili e quindi difficili da bucare senza essere sbriciolate, per inserire la protesi.

In tali casi, dunque, si rende necessario l'utilizzo del cemento, possibilmente osteoconduttivo: si è pensato di creare un composito con matrice porosa con all'interno un materiale in organico, in grado di comunicare con le cellule e indurne l'attività, attraverso un processo biomimetico.

La matrice viene creata con il polimetilmetacrilato, materiale biocompatibile e bioinerte; se la polimerizzazione non viene controllata, questo ricopre completamente il materiale inorganico e gli osteoblasti limitano la loro funzione alla produzione di collagene, per cui la superficie aderisce all'osso ma è attaccata ed è quindi sensibile a sollecitazioni.

Il materiale inorganico che stimola gli osteoblasti è l'idrossiapatite: fosfato di calcio idrato; in realtà le sue polveri bloccano la riproduzione delle cellule virulente, a meno di non essere poste nelle cavità di una matrice a nido d'ape. In particolare, viene utilizzato il fosfato tricalcico in fase α , che è bioassorbibile, cioè entra nel metabolismo e viene sostituito dall'osso naturale. Bisogna dunque, oltre a scegliere la giusta natura chimica, realizzare un solido cellulare con geometria opportuna: una struttura percolativa.

Per creare i pori si sono sfruttate l'idrofobicità del PMMA e l'idrofilicità del fosforo: le polveri di fosfato tricalcico vengono disperse in acqua, quando il monomero viene aggiunto si tiene lontano dall'acqua e si creano "isole" di sostanza inorganica, attorno alle quali polimerizza il PMMA.

In seguito ad evaporazione rimangono “buchi” di PMMA riempiti dal TCP, ottenendo una struttura con 35% di porosità.

In questo modo si arriva alla formazione dell'osso naturale e si creano ponti d'osso, che permettono di eliminare lo scorrimento tra osso e protesi, aumentando notevolmente la stabilità meccanica.

5.6 Idrossiapatite E Rilascio Dei Farmaci Antinfiammatori Utilizzati In Campo Ortopedico

La sostituzione e rigenerazione dei tessuti ossei è da tempo discussa e studiata e riguarda la chirurgia ortopedica, chirurgia dentistica ecc. Molto spesso l'impiantazione di materiali nel tessuto vivo causa ferite e reazioni al corpo estraneo. Per la progettazione di un congegno capace di adsorbire e poi rilasciare un farmaco è indispensabile conoscere le caratteristiche chimiche, chimico-fisiche e strutturali di:

- tessuto su cui si andrà ad applicare il dispensatore
- impianto della sostanza che verrà rilasciata
- farmaco opportuno per quel problema
- legami chimici tra carrier e farmaco, carrier e tessuto
- meccanismo e cinetica di rilascio del farmaco.

La classe farmacologica che a tutt'oggi sembra offrire le maggiori garanzie di efficacia è rappresentata dai bisfosfonati. Il loro razionale d'impiego ha fatto inizialmente riferimento all'efficacia analgesica nel trattamento di alcune patologie scheletriche quali il morbo di Paget e la malattia metastatica scheletrica e, più edema midollare osseo e la sintomatologia dolorosa in alcune patologie flogistiche articolari. I bisfosfonati vengono assorbiti su cristalli di idrossiapatite nelle ossa, rallentando così sia la velocità di crescita sia il dissolvimento, e riducendo il maggior tasso di ricambio osseo associato. Hanno un ruolo importante nella profilassi e nel trattamento dell'osteoporosi e i farmaci di scelta

sono l'acido alendronico e risedronico. Tuttavia, in caso di non patologie specifiche, vengono utilizzati, per infiammazioni articolari, i comuni farmaci antinfiammatori non steroidei o FANS.

5.7 Come agiscono gli analgesici

Sono farmaci che oltre a ridurre l'infiammazione alleviano anche il dolore. Quando un tessuto viene leso ad esempio a causa di un trauma o di un'infiammazione, l'organismo produce prostaglandine che si combinano con i recettori presenti sulla superficie delle cellule del cervello e del midollo spinale. Di conseguenza, attraverso una serie di cellule nervose, un segnale viene trasmesso al cervello, dove viene interpretato come dolore. Gli analgesici quindi, agiscono prevenendo la produzione di prostaglandine o bloccando la trasmissione degli impulsi dolorifici nel cervello e nel midollo spinale. Il farmaco utilizzato in questo lavoro di tesi è la Mesulid che appartiene, appunto, alla categoria farmacoterapeutica degli antinfiammatori e antireumatici non steroidei.

5.8 Caratteristiche ed utilizzazione della mesulid

Indicazioni terapeutiche : trattamento del dolore acuto, trattamento sintomatico dell'osteoartrite dolorosa e dismenorrea primaria. Per il mio lavoro sono state utilizzate bustine granulate per sospensione orale da 100mg. Ogni bustina contiene come principio attivo la nimesulide 100mg e come eccipienti cetomacrogol 1000, acido citrico, aroma arancio e saccarosio. La Nimesulide è tra i farmaci più utilizzati al mondo ed è il costituente dei principali farmaci antinfiammatori quali l'Aulin e la Dimesul. L'utilizzo di questi farmaci non richiede speciali avvertenze e precauzioni per l'uso; comunque è bene leggere il foglietto illustrativo presente in ciascuna confezione contenente il farmaco. Ad esempio l'uso di Mesulid è controindicato nell'ultimo trimestre di gravidanza o comunque non è consigliato nelle donne che cercano una gravidanza. Come per gli altri FANS, di cui è nota l'inibizione della sintesi delle prostaglandine,

nimesulide può provocare chiusura prematura del dotto arterioso, ipertensione polmonare, oliguria, maggior rischio di emorragie ecc. Il rischio di effetti indesiderati può essere ridotto usando Mesulid per il minor tempo possibile o sospendere il trattamento se non si osservano benefici. In rari casi è stata riportata un' associazione tra Mesulid e reazioni epatiche compatibili con lesioni epatiche.

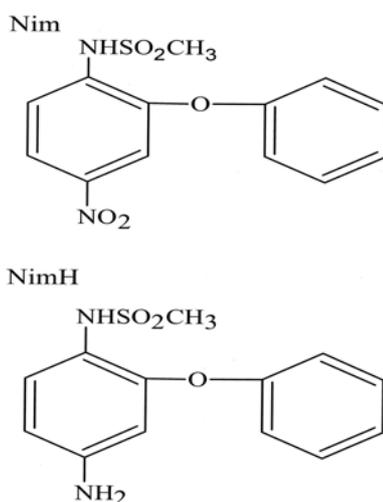


Fig. 2.10 Struttura chimica della Nimesulide

Capitolo 3

I denti e la carie

3.1 I denti

I denti sono organi della bocca degli animali vertebrati che si incuneano in appositi alveoli del mascellare superiore e della mandibola. Sono biancastri, duri e servono a stringere, sminuzzare e maciullare il cibo per renderlo adatto a essere deglutito e digerito.

I denti sono di fondamentale importanza per:

- masticare;
- parlare;
- connotare l'aspetto di una persona mediante un sorriso.

Alla nascita la bocca è priva di denti perché i bambini non hanno bisogno di masticare, crescendo, però, i bambini cominciano a gustare i cibi solidi e necessitano perciò della presenza della dentatura.

Il dente è un'unità organica, fisiologica e anatomica costituita da un complesso di tessuti, con consistenza e struttura diversa. Il loro insieme (dentatura) svolge la funzione della masticazione.

Questa unità è composta da:

- il dente in senso stretto;
- l'alveolo che lo ospita;
- i vasi che lo nutrono;
- i nervi che lo innervano;
- il periodonto, che ne regola la statica e la dinamica, tenendolo connesso all'osso.

Lo sviluppo e la crescita dei denti è detta dentizione.

La dentatura umana è di due tipi:

- dentizione decidua, presente nei bambini e composta da venti denti;
- dentizione permanente, presente negli adulti e composta da trentadue denti.

I denti sono elementi duri, che hanno volume e forme diverse. In ogni dente, come mostra la figura 3.1, possono essere distinte:

- la corona, che emerge dalla gengiva;
- la radice, immersa nell'alveolo osseo e dotata di un foro attraversato da un vaso sanguigno e dal nervo;
- il colletto o regione cervicale, zona limite tra radice e corona
- la cavità interna.

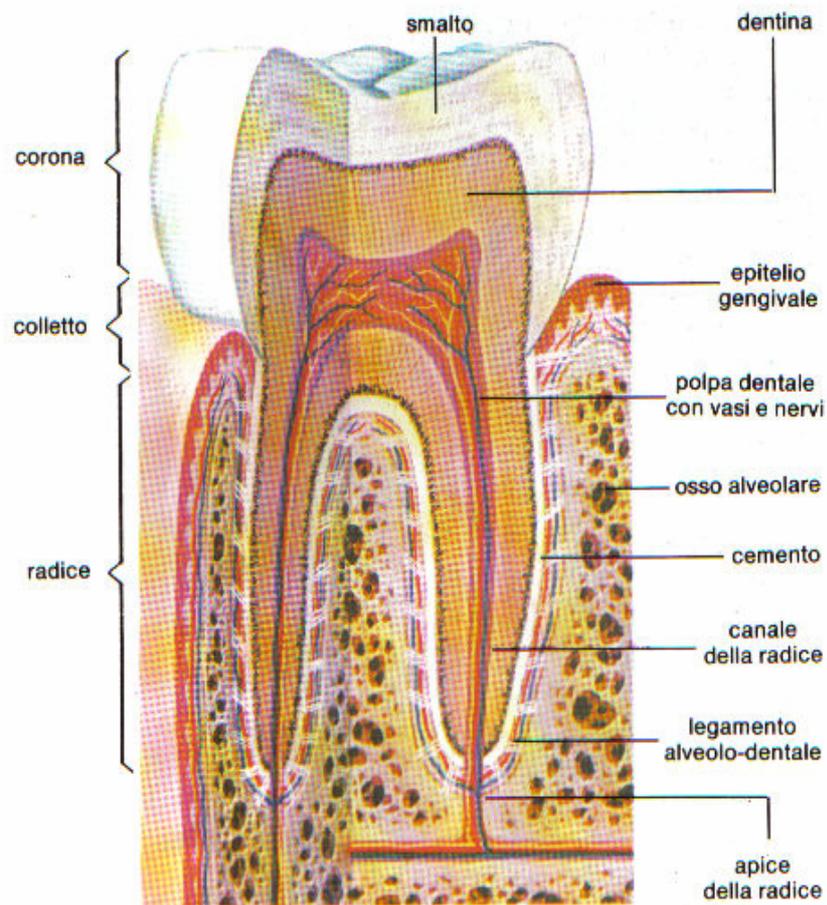


Figura 3.1: struttura del dente

I denti possiedono una sensibilità tattile, termica e dolorifica. La sensibilità tattile è assai spiccata, in quanto viene utilizzata per verificare la perfetta triturazione dei cibi. La sensibilità termica è sviluppata soprattutto nella dentina e nella polpa.

I denti non sono da considerare delle unità staccate dal resto del corpo. Sono, invece, uno dei punti cruciali dell'organismo essendo collegati da altri organi e apparati del corpo tramite i meridiani dell'agopuntura cinese. Ogni dente in questo modo fa parte di un sistema organico come l'escrezione renale o la digestione e può incidere sulla loro funzionalità. Ad esempio, il dente del giudizio è connesso con l'orecchio, il cuore, l'apparato renale, il digiuno, le ghiandole ad escrezione ormonale, parti dello scheletro, il cervello, la presa di coscienza e certe emozioni.

3.2 Sviluppo del dente

Nel feto umano lo sviluppo della gemma dentale ha inizio nel secondo mese di sviluppo. La gemma è formata da un tessuto esterno, chiamato ectoderma, e da uno interno, detto mesoderma. L'ectoderma si calcifica formando i prismi dello smalto, che sviluppandosi vanno a ricoprire la corona. Dopo la deposizione dello smalto, il mesoderma si differenzia nella porzione di dentina della corona e nella cavità della polpa. A mano a mano che l'embrione si sviluppa, la continua calcificazione provoca la formazione della radice e di un ampio canale radicale, attraverso cui i vasi sanguigni, i nervi e gli elementi del tessuto connettivo si estendono nella cavità della polpa. Quando la corona spunta dalle gengive e la radice si allunga, la cavità della polpa e il canale dentale si riducono a causa della continua produzione di dentina da parte di particolari cellule della polpa. Via via che lo sviluppo del dente continua, la corona viene spinta in superficie, passando attraverso i tessuti della gengiva.

Nell'uomo viene inizialmente prodotta una serie di venti denti, i denti decidui, che vengono utilizzati nelle prime fasi di sviluppo della mascella. A mano a mano che la mascella si matura, essi vengono sostituiti da una seconda serie di trentadue denti, i denti permanenti, di dimensioni maggiori che crescono negli spazi presenti tra le radici dei denti decidui. Queste, a causa della pressione dei denti permanenti che si stanno sviluppando, vengono riassorbite dai tessuti della

mascella, lasciando solo le corone. Spuntando, il dente permanente fa cadere la corona del corrispondente dente deciduo.

| ERUZIONE DEI DENTI DECIDUI | | |
|----------------------------|---------|------|
| incisivo centrale | 5 - 8 | mesi |
| incisivo laterale | 7 - 10 | mesi |
| primo molare | 10 - 16 | mesi |
| canino | 15 - 20 | mesi |
| secondo molare | 15 - 30 | mesi |

| ERUZIONE DEI DENTI PERMANENTI | | |
|-------------------------------|---------|------|
| incisivo centrale | 6 - 8 | anni |
| incisivo laterale | 7 - 9 | anni |
| primo molare | 6 - 7 | anni |
| primo premolare* | 10 - 11 | anni |
| canino | 9 - 12 | anni |
| secondo molare | 11 - 13 | anni |
| terzo molare** | 17 - 21 | anni |

* prendono il posto dei molari decidui
 ** il cosiddetto "dente del giudizio"

Figura 3.2: evoluzione dei denti decidui e permanenti

3.3 Tipologia

La corona e la radice hanno forme diverse in relazione alla diversa tipologia del dente. Le diverse forme sono:

- incisivo, a piccola pala o a scalpello, con radice unica;
- canino, corona robusta e conica, con radice unica conica;
- premolare, corona bicuspidata (una vestibolare e una boccale), con radici di aspetto vario;
- molare, corona grossolanamente cubica (nei decidui) o cuboide con un vario numero di cuspidi e solchi (nei permanenti), con radici di aspetto vario.

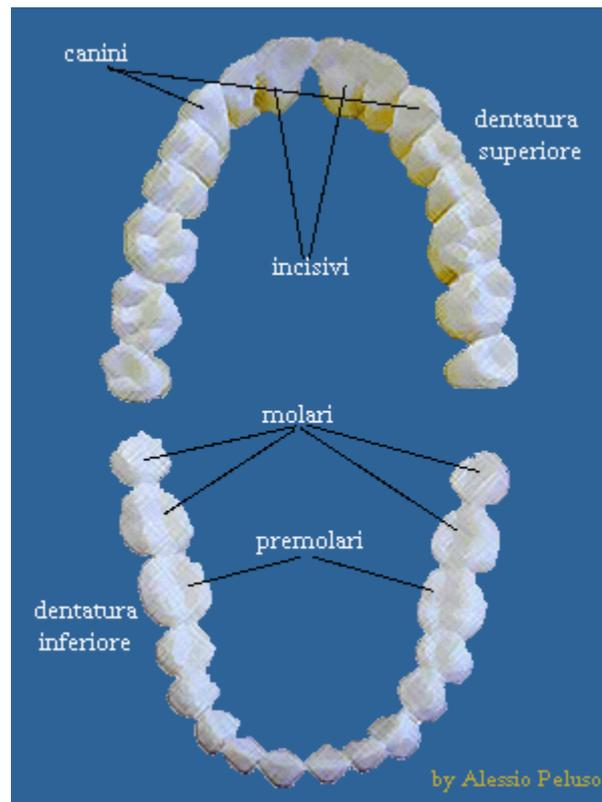


Figura 3.3: dentatura superiore e inferiore

3.4 I denti posteriori

I denti posteriori si chiamano MOLARI (nella dentatura permanente sono 12, sei superiori e sei inferiori); servono per poter ben tritare il cibo in modo che si impasti ben bene con la saliva: hanno radici solide, di solito tre, proprio per sopportare carichi masticatori elevati. I denti posteriori non hanno una superficie piatta ma presentano un aspetto montagnoso come mostrato in figura 3.4: montagne (cuspidi) e valli (solchi) si alternano con apparente casualità; invece il progetto è preciso e prevede delle corrispondenze reciproche tra denti superiori e inferiori, tra cuspidi e solchi in modo tale che durante la masticazione il cibo solido venga schiacciato, tritato e possa scivolare via e non rimanga imprigionato tra dente e dente come chiuso in una scatola.

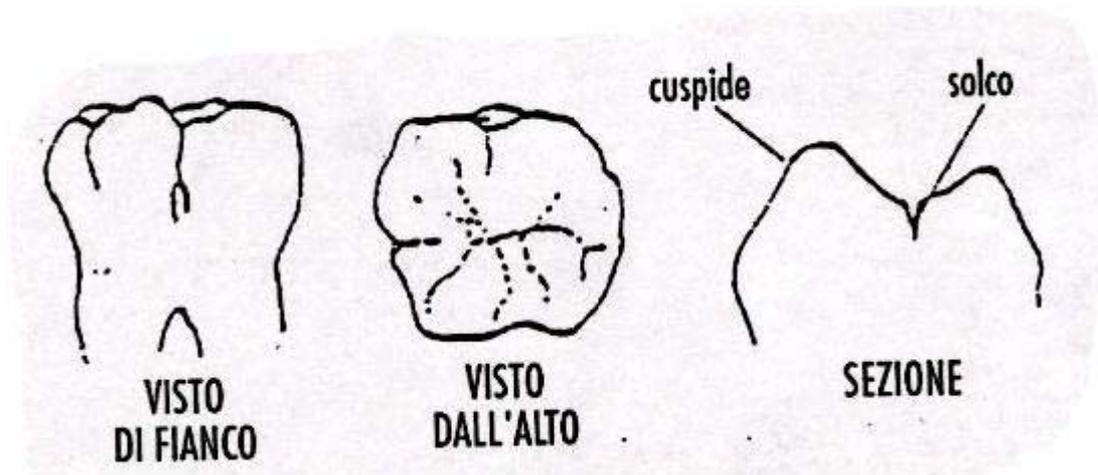


Figura 3.4: denti posteriori

3.5 I denti anteriori

Hanno ben altra forma rispetto a quelli posteriori: hanno un margine sottile e tagliente. La loro forma prevede che possano tagliare, bucare e lacerare. Sono otto INCISIVI (4 sopra e 4 sotto) con forma a paletta e quattro CANINI (2 sopra e 2 sotto) che hanno una corona aguzza adatta a strappare e lacerare con forza come mostrato in figura 3.5. Sono denti molto resistenti.



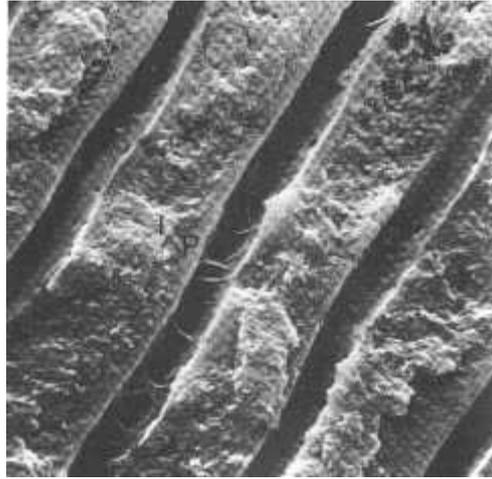
Figura 3.5: denti anteriori

3.6 Struttura

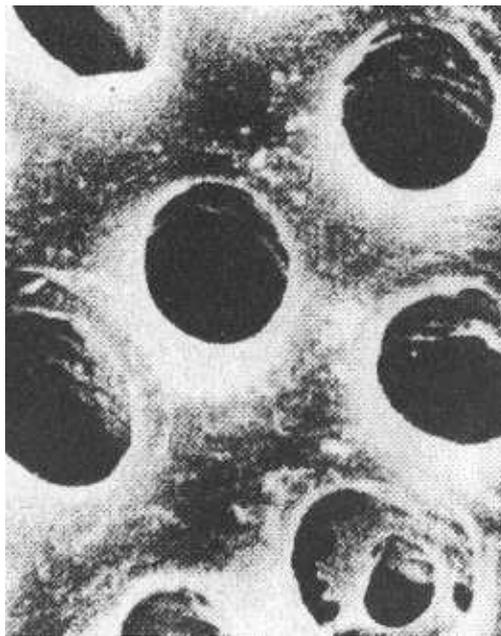
Il dente è composto principalmente da 11 elementi, che sono:

- lo smalto, sostanza bianca compatta e molto resistente che ricopre e protegge la dentina posta sulle corone dei denti; lo smalto, è il tessuto più duro del corpo umano (96 % di minerali calcarei e 4 % di materiali organici);
- la dentina, rappresenta la parte più importante del dente. Si tratta di una sostanza calcificata che circonda la polpa ed è ricoperta dallo smalto nella zona della corona e dal cemento all'altezza della radice. La sua consistenza potrebbe apparire simile all'osso, ma è più densa e forte; inoltre è permeata da tubuli che canalizzano gli stimoli dolorosi. E' interessante sapere che la dentina non è rigida ma è elastica; la dentina, è un tessuto calcificato (7 % di materiali minerali e 26 % di materiali organici);

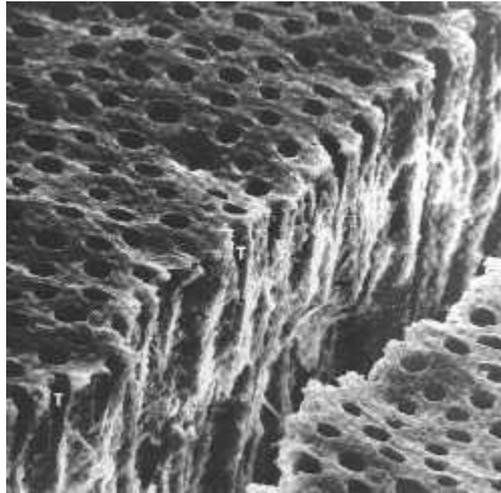
- la corona, è ricoperta dallo smalto ed è separata dalla radice per mezzo di un colletto ristretto;
- la gengiva, è una membrana di mucosa che circonda e aderisce sia ai denti sia all'osso alveolare;
- l'osso alveolare, rappresenta lo strato sottile dell'osso che rende possibile tutti i processi ossei della mandibola e della mascella ; l'osso alveolare circonda e contiene il dente. E' formato da piccoli fori attraverso i quali passano le vene, le fibre linfatiche e le fibre nervose;
- la polpa, è un tessuto molle posto all'interno della corona del dente e serve a formare la dentina e dà sensibilità al dente ed è formata da tessuto connettivo, arterie, nervi e vene che servono alla nutrizione del dente;
- la radice, è la parte ricoperta dal cemento ed è posta all'interno della gengiva. E' priva di smalto ed è separata dalla corona dal colletto;
- il canale radicolare, è il canale che si sviluppa all'interno della polpa e conduce al nervo posto sotto il dente;
- la membrana periodontale, è uno strato di tessuto ben vascolarizzato posto tra la radice e l'osso;
- il cemento, strato calcificato di tessuto che ricopre la dentina della radice del dente;
- il nervo, è posto immediatamente sotto il dente e riceve gli impulsi da parte dei canali che attraversano la polpa.



***Figura 3.6:** sezione longitudinale della dentina osservata al microscopio elettronico.*



***Figura 3.7:** sezione trasversa della dentina osservata al microscopio elettronico; la dentina è costituita da trabecole e canalicoli simili a quelli dell'osso.*



***Figura 3.8:** struttura tridimensionale della dentina vista al microscopio elettronico.*

3.7 Funzione masticatoria

La dentatura ha una funzione masticatoria e ogni dente compie una specifica funzione.

Gli incisivi strappano il cibo e iniziano una triturazione grossolana insieme ai canini.

I premolari e i molari compiono, invece, una triturazione minuta.

Anche la lingua collabora nella masticazione, rivoltando il cibo e riportandolo continuamente sotto i molari.

La potenza masticatoria dei molari è di 85 Kg, inferiore a quella di incisivi e canini.

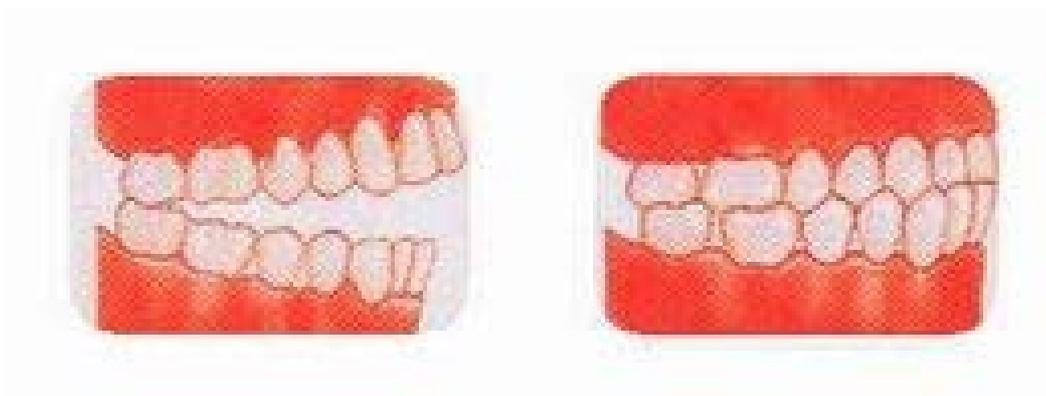


Figura 3.9: funzione masticatoria

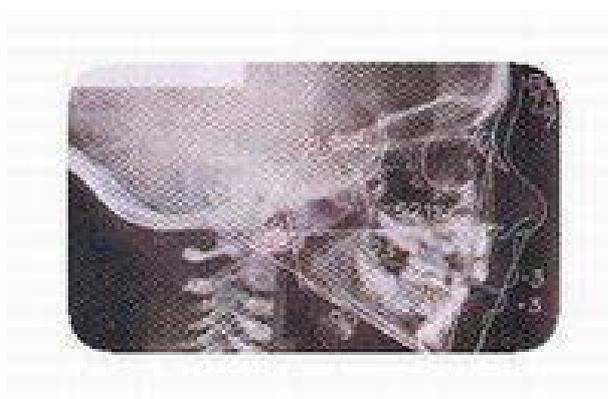


Figura 3.10: radiografia di mascella e mandibola impiegate nella funzione masticatoria

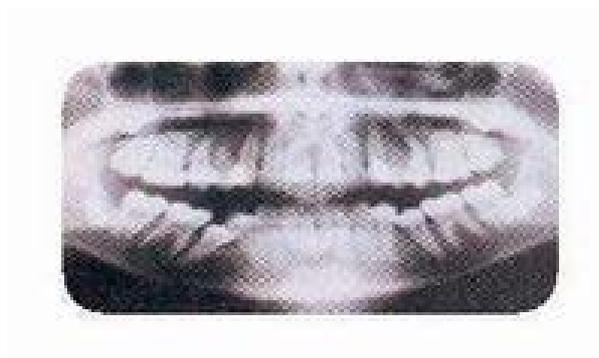


Figura 3.11: radiografia in dettaglio di mascella e mandibola

La masticazione è un complesso, armonico e delicato meccanismo che, per compiersi efficacemente, necessita del movimento della mandibola. I movimenti della mandibola sono tutti bicondilari, in quanto vengono impegnate contemporaneamente le articolazioni dei due lati.

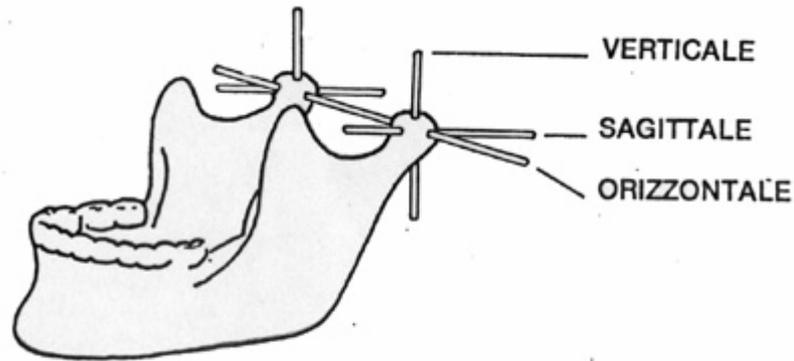


Figura 3.12: articolazioni mandibolari impiegate nella masticazione

3.8 Patologie

Le patologie dei denti sono diverse e tutte più o meno gravi.

Le più diffuse sono:

- la carie;
- la piorrea che porta alla perdita definitiva del dente.

La carie

Si dice sempre che il fatto di avere denti sani e forti sia frutto del destino, ma in realtà è anche frutto delle cure offerte, nel corso del tempo, alla dentatura.

Lo stress, il fumo, l'uso di tranquillanti, gli zuccheri riducono le normali quantità di saliva e, come tale, la bocca risulta meno difesa nei confronti dei batteri orali che causano l'insorgenza della carie.

Tale processo si estende in profondità partendo dalla superficie con progressiva demineralizzazione e successiva dissoluzione del dente.

Le varie statistiche riferiscono un'incidenza intorno al 90 % della popolazione. L'età giovanile è decisamente quella più colpita.

La carie può interessare sia i denti permanenti che i denti decidui (o comunemente detti "da latte"); inoltre può interessare la zona masticatoria del dente oppure le zone interprossimali, vestibolari o linguali.

La patologia cariosa, poiché di origine batterica, si colloca tra le malattie infettive più diffuse nella popolazione mondiale ed in particolare come l'infezione cronica più comune in età pediatrica, con prevalenza di oltre il 40 % all'età di 6 anni in dentizione decidua e di oltre l'85 % all'età di 17 anni in dentizione permanente

I dati epidemiologici indicano che negli ultimi trent'anni il fenomeno della carie è in diminuzione: il 50 % dei bambini tra i 5 e 17 anni sono, infatti, esenti da carie contro il 25 % degli anni '70. La prevalenza della carie, di contro, va aumentando rapidamente nei Paesi in via di sviluppo, dove vivono l'80 % dei bambini del mondo ed in cui i fattori determinanti l'incremento derivano dall'associazione tra un possibile stato di mal nutrizione con la recente diffusione di cibi e bevande zuccherate e con la mancanza di un'adeguata igiene orale.

Contrariamente a quello che è avvenuto per la dentizione permanente, la diffusione della carie è rimasta invariata nella dentizione decidua, soprattutto nelle classi sociali più povere. In questa tipologia di carie gli elementi decidui più colpiti sono, in sequenza, gli incisivi superiori, i primi ed i secondi molari di entrambi le arcate.

I microrganismi che vivono nella bocca provocano la dissoluzione dei tessuti duri del dente (lo smalto) producendo cavità sempre più ampie fino alla completa distruzione del dente stesso. I fattori che influenzano la comparsa della carie sono da ricercarsi soprattutto nelle abitudini alimentari e nella presenza di batteri nella bocca; un'alimentazione ricca di carboidrati (pane, pasta, prodotti di

pasticcERIA) e soprattutto di zuccheri semplici (zucchero da tavola, caramelle, gomme, bevande zuccherate, marmellate, miele e dolci in genere) favoriscono la formazione della carie, ma bisogna anche prendere in considerazione le modalità e la frequenza di assunzione di tali sostanze.

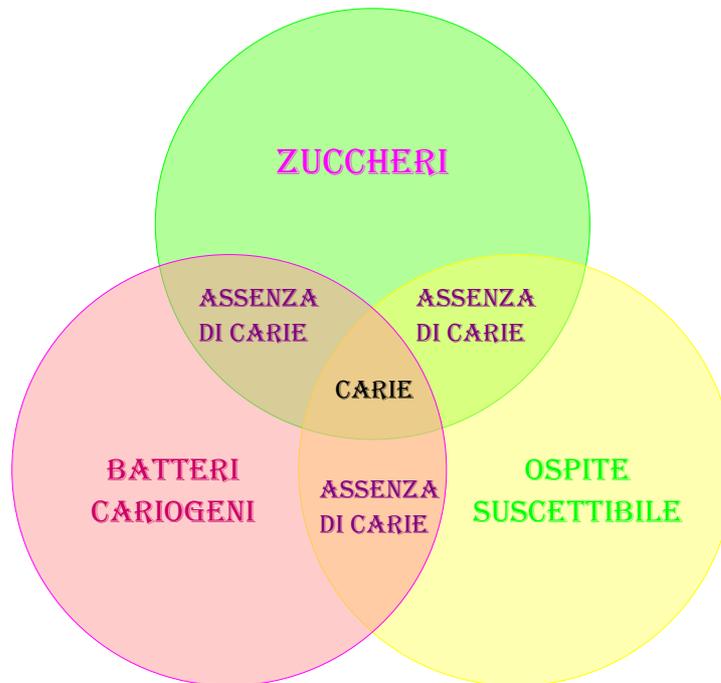


Figura 3.13: agenti che causano l'insorgere della carie

Le caratteristiche strutturali dei denti incidono notevolmente sulla possibilità di formazione della carie, ad esempio se il dente presenta solchi molto accentuati si avrà un maggiore ristagno di residui alimentari e di batteri.

Un'altra condizione in cui si determina un accumulo di placca difficilmente rimovibile si ha nel caso di affollamento dentario, in quanto si formano delle nicchie che difficilmente le setole dello spazzolino riescono a raggiungere.

Ci sono, inoltre, delle condizioni fisiologiche che determinano una maggiore predisposizione alla carie, ad esempio durante la gravidanza e l'allattamento si hanno delle modificazioni ormonali che alterano la qualità della saliva, rendendola più viscosa, aumentando così l'adesività dei batteri al dente.

In certe famiglie vi è tendenza naturale alla carie, mentre in altre si arriva alla tarda età con una dentatura perfetta o quasi. Sembra pertanto, che lo sviluppo della carie sia determinato anche da fattori ereditari.

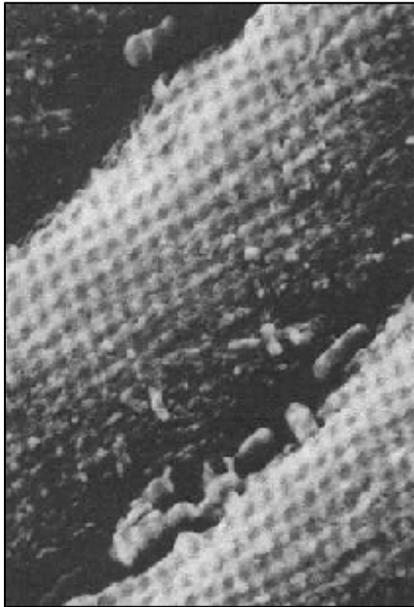


Figura 3.14

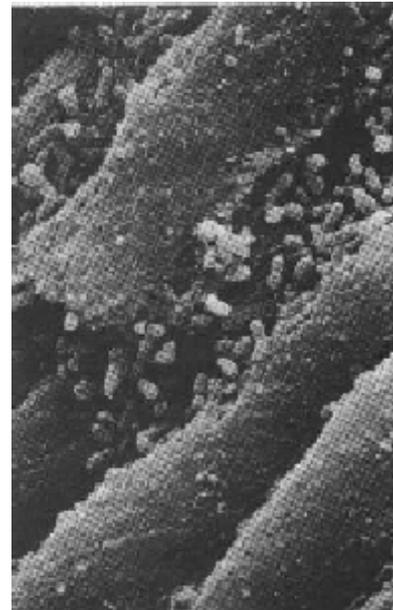


Figura 3.15

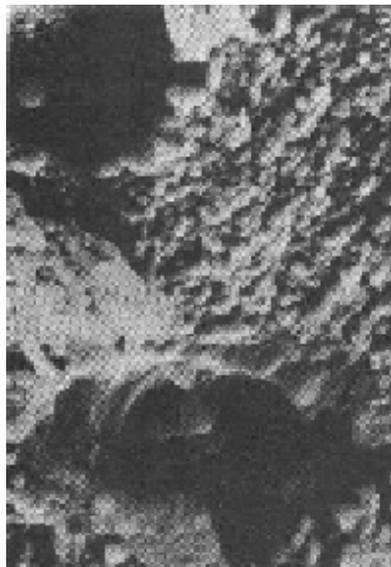


Figura 3.16

Le figure **3.14, 3.15, 3.16**, mostrano microfotografie dello sviluppo del dente carioso

3.9 Conseguenze della carie

La carie, se non curata per tempo, porta alla distruzione del dente con conseguenze sia locali che generali. Molti pensano, erroneamente, che i denti da latte non richiedano né cure né controlli e che i denti permanenti possano nascere sani e belli, anche se i primi dentini sono cariati o sono caduti prematuramente. Al contrario i denti da latte hanno da compire importanti funzioni:

- servono per la masticazione nel primo periodo dello sviluppo corporeo;
- se i denti da latte masticano con energia viene garantito un sano sviluppo delle ossa mascellari e perciò anche una seconda dentizione (quella permanente);
- i denti decidui tengono il posto a quelli permanenti. Se un dente da latte si caria e non è curato in tempo, facilmente accadrà che diventi necessario estrarlo: verrà così a mancare un elemento della masticazione. Se il posto non viene tenuto, rimarrà per un lungo periodo di tempo uno spazio vuoto che verrà ben presto occupato dal dente che gli sta davanti o dietro; quando il dente permanente troverà chiuso sopra di sé lo spazio dove avrebbe dovuto collocarsi e si porrà fuori dall'allineamento.

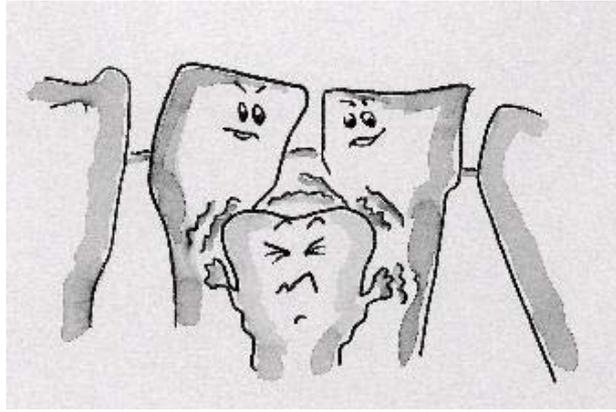


Figura 3.17

3.10 Come si presenta la carie

La carie inizia con maggiore frequenza sulle zone più vulnerabili dei denti: superficie oclusale (faccia masticante dei denti), margine gengivale, superficie interprossimale (tra i denti).

Nelle fasi iniziali, la carie, a seguito del processo di demineralizzazione, determinerà un'alterazione del colore dello smalto dal nero al marrone. A seguito della distruzione e della dissoluzione del tessuto dentale si osserverà un vero e proprio cratere circondato da tessuto dentale dall'aspetto rosa madreperla.

Nelle fasi più avanzate di distruzione si assisterà alla frattura di porzioni della corona del dente che perderà sempre di più l'aspetto anatomico tipico del dente stesso. Si può anche assistere ad una reazione ipertrofica della polpa del dente che cresce in maniera abnorme riempiendo parte della cavità cariosa.

3.11 Evoluzione della carie

Inizialmente la carie inizia sulla superficie esterna del dente (smalto). I batteri presenti nella placca dentale iniziano il processo di demineralizzazione dello smalto attraverso gli acidi prodotti dal loro metabolismo. In questa fase, la carie è asintomatica in quanto lo smalto è un tessuto privo di afferente nervose. Il processo carioso invade successivamente la dentina sottostante e generalmente residuano solo delle pareti di smalto non sostenute e quindi molto fragili. Spesso

queste pareti si fratturano facilmente sotto il carico masticatorio. La carie si propaga sempre più vicino alla polpa del dente che inizia ad infiammarsi (pulpite) e ciò determina la comparsa della sintomatologia dolorosa. L'intensità del dolore è direttamente proporzionale alla profondità della carie.

Se non si interviene terapeuticamente, la carie della dentina avanza e si avvicina alla camera pulpare, determinando la pulpite. La pulpite è quindi un tipico fenomeno infiammatorio determinato dalla liberazione da parte dei batteri di tossine in profondità della polpa. Al momento della comunicazione diretta tra cavità cariosa e camera pulpare si verificherà un processo di necrosi. Le sostanze tossiche derivate dal tessuto pulpare necrotico, unitamente alla tossine batteriche, possono fuoriuscire dal forame apicale della radice del dente e venire a contatto con il tessuto osseo. L'organismo reagisce costituendo una barriera all'avanzamento delle tossine formando un granuloma apicale, che inizialmente è asintomatico, rilevabile solo radiograficamente.

Se la carica batterica aumenta ancora o diminuiscono le barriere difensiva dell'organismo si determinerà l'ascesso periapicale, che invece è molto doloroso e determinerà il tipico gonfiore della faccia.

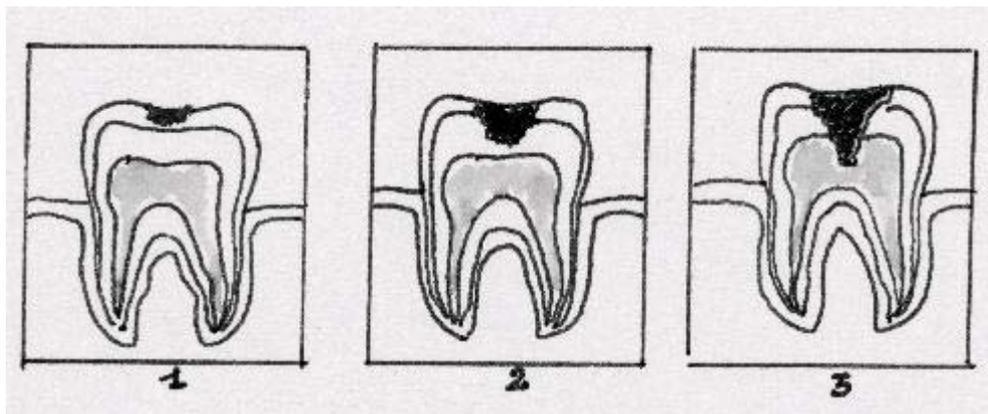


Figura 3.18: evoluzione della carie. Si inizia da un'intaccatura dello smalto, detta " macchia bianca ", e prosegue attraverso i canalicoli dentinali in direzione della polpa.

3.12 Eziopatogenesi della carie

La carie dentaria è un processo degenerativo dello smalto dei denti e della dentina, in cui la componente microbica del cavo orale svolge un ruolo determinante.

L'eziopatogenesi della carie è stata in buona parte chiarita: durante il metabolismo dei carboidrati presenti nella dieta i microrganismi della placca producono un acido (l'acido lattico) che abbassa il pH a livello delle superfici dei denti. L'acido lattico che si origina dal metabolismo ad opera di microrganismi orali svolge un'azione disgregatrice sulla struttura cristallina dell'idrossiapatite, che forma lo smalto dei denti, determinandone prima una diminuzione della compattezza, poi uno sfaldamento vero e proprio con formazione di fessure, cavità o erosioni, a seconda delle zone e dei denti colpiti. Poiché l'acido lattico possa svolgere la sua azione "solubilizzante" sullo smalto occorrono alcune condizioni favorevoli:

- l'acido deve essere prodotto in discreta quantità, come avviene in seguito ad ingestione di un pasto ricco di glucidi;
- deve concentrarsi nella sede della lesione; questo è favorito dalla formazione di una placca dentale adesa al dente formata da glicoproteine salivari che fanno da matrice per l'adesione di varie specie di microrganismi orali.

Se, invece, il pH aumenta (tende cioè verso la neutralità o l'alcalinità) si ha una parziale rimineralizzazione del dente.

Questi processi sono molto dinamici: se nel tempo predomina la distruzione si verifica una disgregazione macroscopica con formazione di una cavità.

Un ruolo importante in questi processi è rivestito dalla saliva, che ha un'azione antibatterica, diminuisce l'accumulo di placca, favorisce la rimozione dei residui di cibo ed ha una fondamentale azione anti-acido, per le sue proprietà tampone (l'insieme placca-saliva costituisce cioè una vera e propria soluzione chimica che può essere acida, alcalina o neutra; in presenza di zuccheri la

soluzione diventa acida e quindi “pericolosa” per la formazione di carie; la saliva avendo un pH alcalino contrasta l’acidità riportando la soluzione verso la neutralità).

3.12 Cause della formazione della carie

La carie riconosce una serie di cause che devono essere tutte presenti per innescare il processo:

- l’organismo ospite, con i suoi denti;
- i batteri;
- il substrato per i microrganismi (ad esempio lo zucchero);

L’adesione dannosa dei batteri sui denti non avviene se prima lo smalto non ha acquisito un rivestimento organico (“pellicola acquisita”), sul quale i batteri, grazie alla precipitazione delle proteine salivari, formano la placca dentale o “placca batterica”. A seconda della collocazione della placca batterica (sopra o sottogengivale) si avrà l’evoluzione verso la carie o verso la gengivite: E’ bene ricordare che la placca può anche mineralizzare e trasformarsi in tartaro.

I fattori che favoriscono lo sviluppo della placca batterica sono l’inadeguata igiene orale e le mal posizioni dei denti, in quanto risulta più disagiata lo spazzolamento.

Altre condizioni che favoriscono l’attacco dei batteri sono una minore calcificazione dello smalto o una saliva particolarmente densa, fattori, questi, che hanno anche una componente ereditaria.

3.13 Microrganismi coinvolti nella carie dentaria

Di volta in volta sono stati considerati diversi microrganismi come responsabili dell’induzione della carie dentaria. Nella tabella 3.1 sono indicati i microrganismi più spesso presi in considerazione.

Tabella 2.1:**microrganismi chiamati in causa nell'eziopatologia della carie**

| | |
|-----------------------------|--|
| <u>STREPTOCOCCHI</u> | - S. MUTANS - S. SANGUIS - S. LACTIS |
| ENTEROCOCCHI | |
| LATTOBACILLI | -L. CASEI -L. ACIDOPHILUS |
| <u>ACTINOMICETI</u> | |

Gli streptococchi orali e i lattobacilli sono tipici microrganismi acidogeni e alcune specie sono state coinvolte nella cariogenesi, specialmente S. sanguis, S. mutans e S. lactis. I lattobacilli, pur essendo acidogeni, si è visto che in genere si insediano nelle lesioni cariose già formate, contribuendo forse alla loro evoluzione e cronicizzazione, ma non alla loro insorgenza.

Lo S. lactis non è un tipico organismo del cavo orale, ma può essere introdotto con i cibi e può produrre acido lattico a livello di placca dentale. Comunque la sua presenza nel cavo orale è solo occasionale. Actinomyces viscosus e simili sono molto spesso presenti nella placca dentale e possono essere presenti anche nelle lesioni cariose, ma sono ceppi poco acidogeni e la loro relazione con la carie è dubbia. E' comunque importante notare che tutti

questi microrganismi sono in grado di causare lesioni cariose in animali gnotobiotici

3.14 Problemi associati alla formazione della carie

Denti necrotici e lesioni periapicali costituiscono un'infezione focale, a causa della possibilità da parte dei batteri o delle loro tossine di entrare in circolo verso un distretto dell'organismo lontano dall'infezione iniziale. Fra le malattie per la quali il meccanismo dell'infezione focale (malattia focale) è spesso chiamato in causa per chiarire l'insorgenza del quadro morboso, le più importanti sono:

- malattie reumatiche (artriti, poliartriti croniche);
- malattie dell'apparato urogenitale (nefriti);
- malattie dell'apparato cardiovascolare (endocarditi);
- malattie emetiche;
- malattie oculari (retiniti).

3.15 Tipi di carie

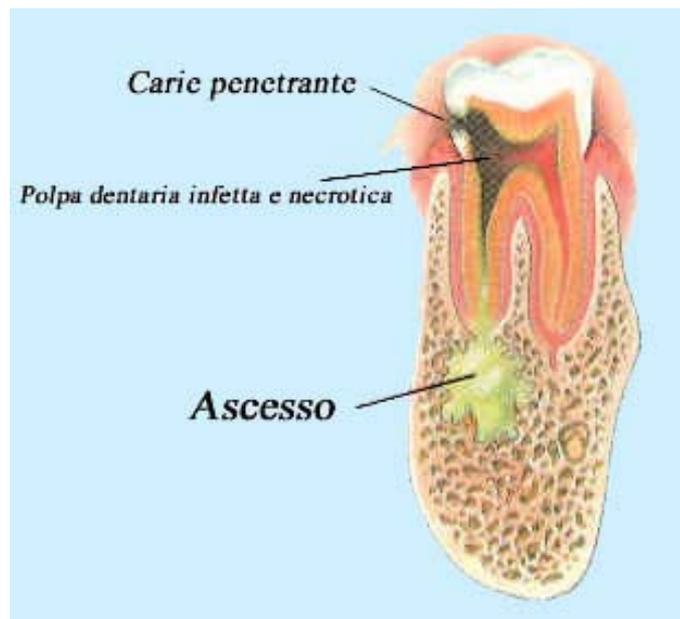
La carie, a seconda di come si manifesta, si può distinguere in:

- carie dello smalto: si manifesta inizialmente come una macchia bianca liscia (corrisponde alla demineralizzazione dei prismi dello smalto); se l'attacco dell'acido continua la superficie da liscia diventa rugosa e si macchia. Se trascurata, la lesione progredisce e si può formare una vera e propria cavità;



porzione superiore di un molare permanente; si vede come i suoi profondi solchi
appaiono infiltrati

- carie della dentina: c'è demineralizzazione con invasione batterica; si può verificare un'espansione laterale, che mina lo smalto sovrastante.



carie penetrante causata dalla formazione di un ascesso;
è ben visibile la corrosione dello smalto

3.16 Sintomi

Fino a quando la lesione interessa solamente lo smalto i sintomi sono impercettibili; allorché viene interessata la dentina gli stimoli chimici e fisici danno una sensazione dolorosa (dolore provocato). In seguito si ha una vera e propria infiammazione della polpa del dente (pulpite), ossia della zona posta all'interno del dente ricca di vasi sanguigni e di terminazioni nervose; a questo punto si avverte dolore che può essere provocato (dal caldo, dal freddo, da cibi o bevande dolci) oppure spontaneo.

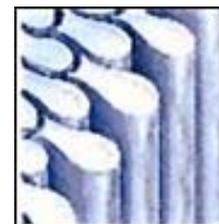
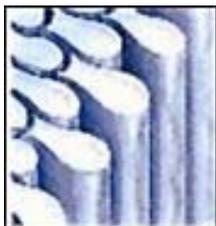
3.17 Come si previene la carie

Il metodo migliore per prevenire la formazione della carie è rinforzare lo smalto dei denti attraverso il fluoro, un minerale presente in natura in numerosi alimenti e nell'acqua.

Oggi si apre una nuova era per quel che riguarda la prevenzione della carie: è uno speciale gel a base di idrossiapatite, un fosfato basico di calcio.

Fino ad ora, il fluoro ha fatto molto a livello di prevenzione; oggi, però, è sempre più difficile trattare la carie a livello del colletto del dente, quella zona vicina alla gengiva molto delicata a causa del fatto che, dopo i vent'anni, inizia un processo di retrazione della gengiva che, lentamente, scopre tale zona esponendola all'attacco dei batteri.

Il fluoro, dunque, che ha fatto molto per lo smalto, poco può fare ora per la dentina che, invece, può essere aiutata dall'idrossiapatite, un composto che entra nella costituzione della dentina. La sostanza risulta in grado di stimolare la dentina a riformarsi quando si trova in ambiente umido e leggermente acido.



procedo di demineralizzazione e remineralizzazione della dentina.

Capitolo 4

I nanotubi in carbonio: generalità e applicazioni

4.1 Definizione

Il carbonio esiste in natura sia allo stato libero che combinato. Le sue fonti più abbondanti sono i carboni fossili e gli idrocarburi, ambedue formatesi per lenta trasformazione di organismi viventi vegetali e animali. Sotto forma di composto ossigenato è presente nei carbonati, che sono i minerali più abbondanti dopo i silicati, e come biossido CO₂, che costituisce lo 0,03% dell' atmosfera. Il carbonio dà luogo a due forme allotropiche naturali: il diamante e la grafite. Entrambi sono formati da carbonio puro, ma hanno caratteristiche completamente diverse: la grafite è nera e molliccia, mentre il diamante è durissimo e trasparente. Le principali differenze riguardano la natura del carbonio e cioè un atomo di carbonio ha quattro elettroni liberi, che, in quanto tali, si accoppiano con altri elettroni. Nel caso del diamante tutti e quattro gli elettroni sono regolarmente accoppiati con gli elettroni di altri atomi di carbonio, formando così una struttura tetraedrica, con un carbonio al centro e altri quattro agli spigoli, con gli elettroni in mezzo.



Figura. 1 Struttura del diamante

La grafite, invece, essendo più libertina, riesce ad accoppiare stabilmente solo tre elettroni su quattro, e lascia il quarto elettrone libero di non far nulla. In questo modo ogni atomo è legato ad altri tre. Tanti atomi tutti insieme danno una struttura planare riempita da esagoni i cui vertici sono, appunto, gli atomi di carbonio.

Nella figura vediamo uno strato di grafite, con tutti gli atomi (rossi) accoppiati tra loro. Essa è formata da un'infinità di questi strati sovrapposti. Il problema è che tutti gli elettroni che non si sono accoppiati se ne stanno a non far nulla tra uno strato e l'altro, facendo una specie di gigantesco insieme molecolare. I vari strati di grafite scivolano perciò molto facilmente l'uno sull'altro, rendendo la grafite morbida e friabile.

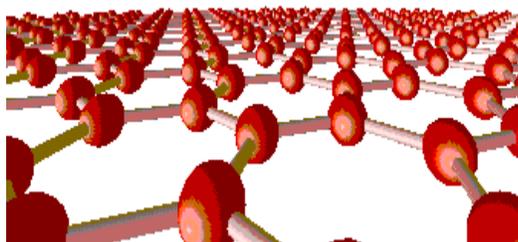


Figura.4.2 Struttura della grafite

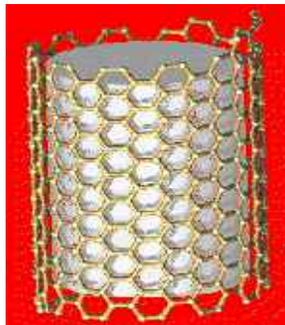
Nel 1991 il ricercatore giapponese Sumio Iijima, scoprì che la grafite per rilassarsi si arrotola su se stessa per formare delle specie di piccolissime canne di carbonio, che prendono il nome di nanotubi. E' estremamente difficile dare una definizione precisa dei nanotubi di carbonio, soprattutto a causa dell'enorme varietà di taglie e conformazioni che essi possono avere.

In generale è possibile dividere i nanotubi in due grandi famiglie:

1. nanotubi a parete singola (single-walled nanotubes, o SWNT);
2. nanotubi a parete multipla (multi-walled nanotubi, o MWNT).

I SWNT possono essere considerati, per conformazione e struttura, come degli appartenenti alla famiglia dei fullereni, mentre i MWNT sono più prossimi alla famiglia dei nanofilamenti, di cui rappresentano un caso particolare. Per meglio comprendere la natura e le caratteristiche dei nanotubi è quindi necessario chiarire cosa si intenda per "fullereni" e "nanofilamenti".

Struttura del nanotubo



Fullereni

Fino al 1985 erano note solamente due forme di carbonio cristallino : quella tridimensionale del diamante (sp^3) e quella planare della grafite (sp^2).

Gli studi dello scienziato americano Richard E. Smalley hanno portato alla scoperta (grazie alla quale egli ha ottenuto il premio Nobel) di una terza forma di arrangiamento regolare degli atomi di carbonio : quella dei fullereni. I fullereni sono delle "gabbie" approssimativamente sferiche formate da un arrangiamento ordinato di strutture esagonali e pentagonali di atomi di carbonio. La quantità di poligoni

presenti e la loro relativa proporzione determinano la forma e le dimensioni del fullerene¹. Il primo fullerene scoperto è il C60 (*figura 4.1*), che ha la stessa forma di un pallone da calcio, ed è per questo conosciuto anche col nome di "buckyball". Questa famiglia di composti ha preso il nome di "fullereni" in onore dell'architetto Richard Buckminster-Fuller, le cui creazioni chiamate "cupole geodesiche" ricordano la struttura dei fullereni (*figura 4.2*).

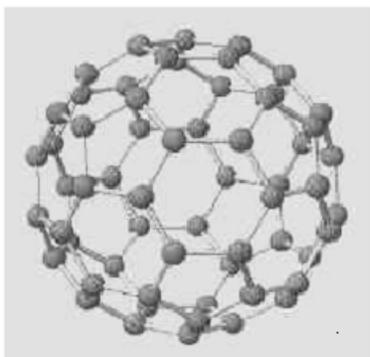


Figura 3.1 - Fullerene C60

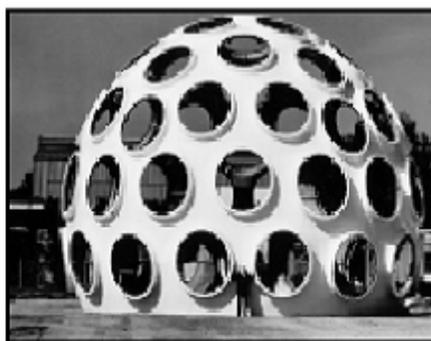


Figura 3.2 – Cupola geodesica di Richard Buckminster –Fuller

I fullereni vengono prodotti artificialmente con un sistema di vaporizzazione del carbonio ad alta temperatura ma sono stati ritrovati in minime percentuali anche in nella miniera di carbone di Yinpinglang, in Cina.

¹ Recenti studi hanno dimostrato che la reale struttura dei fullereni risuona tra una struttura pentagonale – ettagonale e una esagonale

4.2 Nanofibre, o nanofilamenti di carbonio

Le nanofibre, o nanofilamenti, sono delle strutture fibrose il cui diametro è compreso tra qualche decina e qualche centinaio di nanometri.

Queste fibre possono avere strutture molto differenti, spaziando dai "graphite whiskers", costituiti da uno strato di grafite arrotolato più volte su se stesso, fino alle fibre "platelet", costituite da strati di grafite perpendicolari all'asse della fibra. In generale è possibile dividere i nanofilamenti in tre grandi famiglie, a seconda dell'angolo esistente tra l'asse del filamento e il piano degli strati di grafite. Si possono quindi distinguere le fibre "platelet" (angolo = 0° , grafite perpendicolare all'asse), "herringbone", o a "spina di pesce" ($0^\circ < \text{angolo} < 90^\circ$) oppure tubolari (angolo = 90°) (*figura 3.3*);

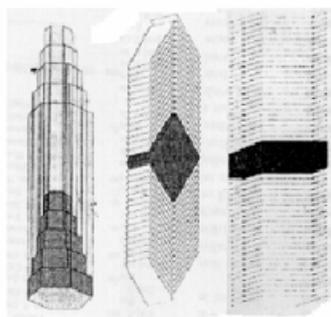


Figura 3.3 - Fibre in carbone di tipo tubolare, a spina di pesce e platelet. [2]

bisogna comunque segnalare il fatto che non esiste una denominazione "standard" dei nanofilamenti.

Nanotubi a parete singola – SWNT

I primi SWNT sono stati prodotti nel 1993 per mezzo di un sistema ad arco elettrico con elettrodi composti da una miscela carbone-cobalto.

Un SWNT ideale può essere descritto come un tubo in carbonio formato da uno strato di grafite arrotolato su se stesso a formare un cilindro, chiuso alle due estremità da due calotte emisferiche (*figura 3.4*). Il corpo del nanotubo è formato da soli esagoni, mentre le strutture di chiusura (le sue semisfere) sono formate da esagoni e pentagoni, come i normali fullereni. Per questa ragione i SWNT possono essere considerati come una sorta di "fullereni giganti", e sono per questo motivo chiamati anche "buckytubes".

Nella realtà i nanotubi presentano spesso dei difetti strutturali o delle imperfezioni nella struttura geometrica (ad esempio la presenza di strutture pentagonali o ottagonali nel corpo del tubo) che deformano il cilindro.

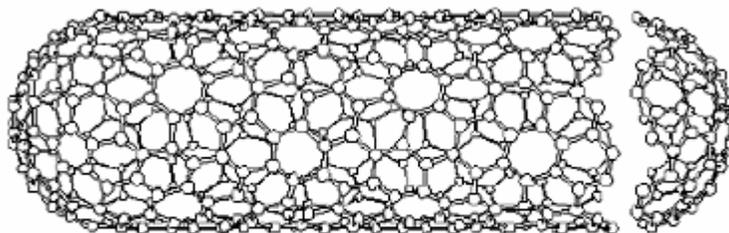


Figura 3.4 - SWNT ideale, chiuso alle estremità da due semi-fullereni.

Il diametro di un SWNT è compreso tra un minimo di 0,7 nm (corrispondente al doppio della distanza interplanare della grafite) e un massimo di 10 nm, ma nella stragrande maggioranza dei casi il diametro è inferiore ai 2 nm.

L'elevatissimo rapporto (10^4 – 10^5) tra lunghezza e diametro dei SWNT consente di considerarli come delle nanostrutture virtualmente monodimensionali, e conferisce a queste molecole delle proprietà peculiari, che vedremo in seguito.

Ogni SWNT è caratterizzato dal suo diametro e dal suo "vettore chirale" (n,n) o "elicità", cioè dalla direzione di arrotolamento della grafite in rapporto all'asse del tubo (*figura 3.5*)

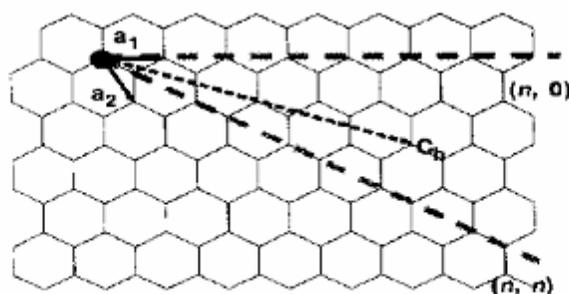


Figura 3.5 - Strato di grafite con le possibili direzioni di arrotolamento

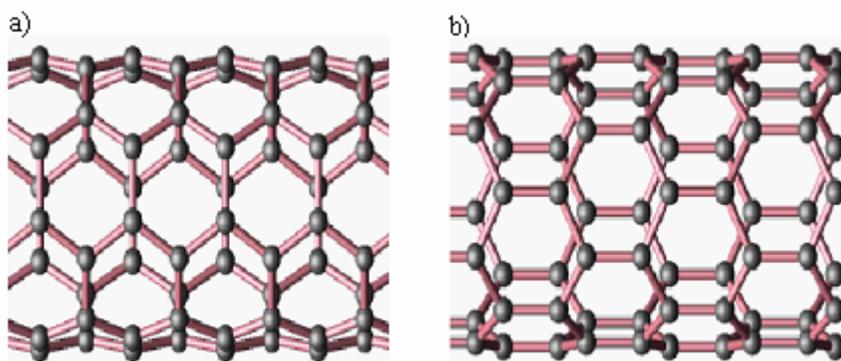


Figura 3.6 - Nanotubo (10,10) "armchair" (a), Nanotubo (9,0) "zig-zag" (b)

4.4 Nanotubi a parete multipla – MWNT

I MWNT sono nanotubi formati da più SWNT concentrici, e vengono perciò chiamati nanotubi "a parete multipla". Possono essere presenti dei legami tra le varie pareti (lip-lip interactions) che pare stabilizzino la crescita di questi nanotubi (*figura 3.7*). Il diametro dei MWNT è di norma maggiore di quello dei SWNT, e cresce con il numero di pareti, potendo arrivare fino a qualche decina di nanometri. Il confine tra i nanotubi a pareti multiple e i nanofilamenti non è molto ben definito, e un MWNT di grandi dimensioni può essere considerato come un caso particolare di fibra tubolare. L'eventuale presenza di un grande numero di difetti strutturali o di interazioni tra pareti all'interno del tubo rende ancora più labile questa separazione.

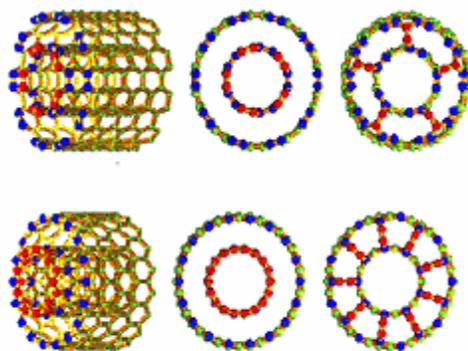


Figura 3.7- Immagini generate al computer di DWNT (double wall nanotube) con e senza interazioni tra pareti

I MWNT hanno spesso un grande numero di imperfezioni nella loro struttura,, e mostrano un'estrema varietà di forme nella loro zona terminale.

4.5 Proprietà e possibili usi

A partire dalla scoperta dei nanotubi da parte di Iijima , numerosi studi sono stati effettuati per determinare le loro proprietà fisiche e chimiche, sia per sperimentazione diretta sui campioni, sia utilizzando delle simulazioni al computer. Allo stesso tempo i ricercatori stanno sviluppando dei sistemi efficaci per poter sfruttare queste proprietà in vista di un'applicazione pratica.

Resistenza meccanica

La resistenza meccanica di un manufatto dipende da numerosi fattori, tra i quali i più importanti sono la forza dei legami atomo-atomo del materiale costruttivo e l'assenza di difetti strutturali nel reticolo cristallino. La presenza di difetti gioca un ruolo fondamentale nei processi di rottura per trazione, dato che per rompere un provino completamente privo di difetti sarebbe necessario vincere nello stesso istante le forze di coesione di tutta la superficie perpendicolare alla direzione di trazione. Nella realtà la presenza di difetti diminuisce enormemente la forza necessaria a rompere il provino. Per portare a rottura un nanotubo privo di difetti occorre quindi spezzare tutti i legami covalenti carbonio-carbonio che lo compongono. Dato che questi legami sono i più forti conosciuti in natura, ne consegue che i nanotubi dovrebbero avere una resistenza meccanica elevatissima. Una fibra costituita da nanotubi di carbonio sarebbe quindi non solamente la più resistente mai fatta, ma addirittura la più resistente che sia possibile fare . E' stato calcolato che il modulo di Young teorico di un nanotubo possa arrivare sino a 4 Tpa , e la sua resistenza a trazione (tensile strenght) dovrebbe essere di circa 220 GPa (100 volte più grande di quella dell'acciaio, ma a fronte di un peso 6 volte minore). In questo tipo di misurazione vi sono due principali difficoltà: la prima è

quella di isolare un nanotubo per poterlo sottoporre ai test, la seconda è l'enorme difficoltà di manipolare degli oggetti di taglia nanometrica. Per questa ragione è spesso necessario ricorrere a delle simulazioni a computer, che però risentono fortemente delle approssimazioni e dai modelli teorici utilizzati nella simulazione. I nanotubi non sono solo estremamente resistenti alla rottura per trazione, ma anche molto flessibili, e possono essere piegati ripetutamente fino a circa 90° senza rompersi o danneggiarsi. L'estrema resistenza dei nanotubi, unita alla loro flessibilità, li renderebbe ideali per l'uso come fibre di rinforzo nei materiali compositi ad alte prestazioni, in sostituzione delle normali fibre in carbonio, del kevlar o delle fibre di vetro. A queste enormi potenzialità fa però da contrasto il problema tecnologico della costruzione di tali fibre, dato che al momento non è possibile costruire delle fibre macroscopiche costituite da nanotubi. Grazie alle loro piccole dimensioni e alle loro proprietà di resistenza meccanica i nanotubi possono essere utilizzati anche per applicazioni speciali di alto livello, come per esempio quella di sonda per i microscopi a effetto tunnel (Scanning tunnelling).

Un'applicazione che per il momento potrebbe apparire fantascientifica è l'uso dei nanotubi per la costruzione di nanomacchine.

Un gruppo di fisici dell'università di Berkeley è riuscito ad utilizzare un MWNT come se fosse un tubo telescopico (*figure 3.8*), facendo uscire e rientrare più volte le pareti più interne in quelle esterne². Un nanotubo di questo tipo potrebbe essere usato come "nano-molla" o "nanoammortizzatore" in una macchina di dimensioni nanometriche.

² Secondo gli autori di tale esperimento il nanotubo è stato danneggiato o modificato dal movimento di entrata e uscita

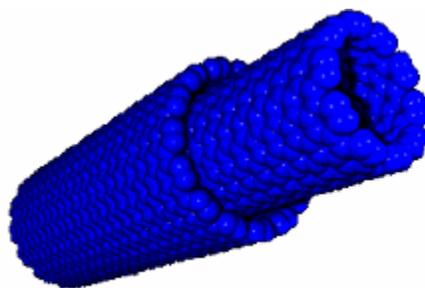


Figure 3.8 - Il nanotubo "telescopico" creato all'università

4.6 Metodi di sintesi

I nanotubi possono essere prodotti principalmente utilizzando quattro diverse tecniche, tre delle quali si basano sulla vaporizzazione di un blocco di grafite (e quindi lavorano ad altissima temperatura) e una invece sulla decomposizione di un precursore gassoso. Tra i metodi utilizzati, ma ancora in fase di sviluppo preliminare, vanno segnalati inoltre:

- Elettrolisi di elettrodi in carbone
- Sintesi a partire da polimeri

Tutti questi metodi richiedono la contemporanea presenza di una sorgente di carbonio e un catalizzatore metallico.

Arco elettrico

E' il primo metodo utilizzato per la produzione dei nanotubi, ed è molto simile a quello utilizzato per la sintesi dei fullereni. Nella camera di reazione vi sono due elettrodi in grafite, tra i quali si applica una differenza di potenziale di circa 20 Volt. Uno dei due elettrodi è parzialmente riempito con un metallo che ha la funzione di catalizzatore della formazione di nanotubi (cobalto, ferro, o nichel)

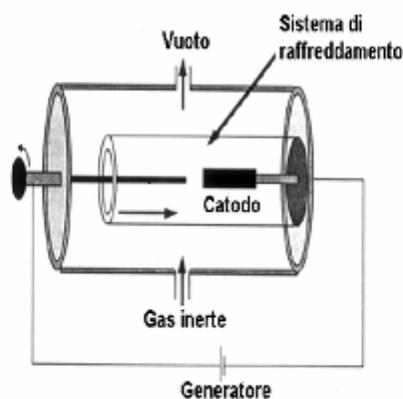


Figura 3.11- Schema di un arco elettrico per la produzione di nanotubi

La camera di reazione viene riempita di gas inerte e successivamente posta sotto vuoto controllato. In seguito si avvicinano tra loro i due elettrodi, fino ad avere una scarica elettrica di 50-200 Ampere. La temperatura tra i due elettrodi raggiunge i 4000°C, e questa temperatura elevata causa la sublimazione di una parte del carbonio dell' anodo. Il carbonio così sublimato si deposita sulle pareti del reattore e sull' elettrodo stesso, formando una sorta di “ragnatela”. Il carbonio ottenuto secondo questo metodo presenta una grande varietà di morfologie, tra cui appunto quella dei nanotubi. Cambiando le condizioni di reazione (quantità e tipo di catalizzatore, intensità di corrente, presenza di gas inerte ecc.) è possibile spingere la reazione verso le morfologie desiderate. I primi nanotubi prodotti secondo questo metodo erano dei MWNT, ma oggi si arriva a produrre abbastanza selettivamente dei SWNT (10,10) di piccola taglia (0.7 – 1.6 nm di diametro) e piuttosto omogenei in dimensione. Questi nanotubi non sono comunque mai puri, ma mescolati con svariate altre forme di carbonio, come la grafite, i fullereni e lo “sporco di carbonio “

Tecniche di purificazione

I nanotubi prodotti sono sempre contaminati da numerosi elementi indesiderati, tra i quali altre forme di carbonio (filamenti, fullereni, carbonio amorfo), particelle metalliche provenienti dal catalizzatore o, nel caso dei nanotubi prodotti col metodo CVD supportato, granuli di supporto.

I sistemi di purificazione dei nanotubi sono numerosi, ma presentano tutti il problema di non essere in grado di purificare i tubi senza danneggiarli.

Purificazioni molto spinte possono portare ad una perdita di più del 90% dei nanotubi prodotti e possono danneggiare seriamente la loro morfologia iniziale.

I risultati ottenuti sono comunque differenti a seconda della tipologia di deposito da purificare.

Eliminazione di forme di carbonio indesiderate

Per separare i nanotubi dalle altre forme di carbone presenti nel deposito è possibile utilizzare differenti metodi fisici o chimici :

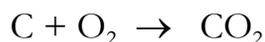
- filtrazione;
- centrifugazione o microfiltrazione di soluzioni trattate agli ultrasuoni;
- cromatografia, ossidazione o riduzione selettiva.

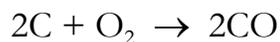
L'ossidazione può essere effettuata con soluzioni ossidanti (ad esempio una miscela acido solforico-permanganato di potassio) o per ossidazione in presenza di ossigeno ad alta temperatura secondo le reazioni seguenti :

Ossidazione con permanganato



Ossidazione all'aria





La riduzione è effettuata con idrogeno ad alta temperatura (900°C per 4,5h). Sia l'ossidazione che la riduzione sfruttano la maggiore reattività chimica del carbone amorfo e dei fullereni rispetto a quella dei nanotubi.

A causa della presenza di strutture pentagonali (meno stabili di quelle esagonali) le parti terminali dei tubi sono più reattive di quelle centrali e sono spesso distrutte dai trattamenti di purificazione per ossidazione e riduzione, dando così origine a dei nanotubi aperti. Essendo molto difficile ossidare (o ridurre) le forme di carbonio indesiderate senza distruggere allo stesso tempo una gran parte dei tubi, occorre trovare un compromesso tra quantità e purezza dei nanotubi prodotti.

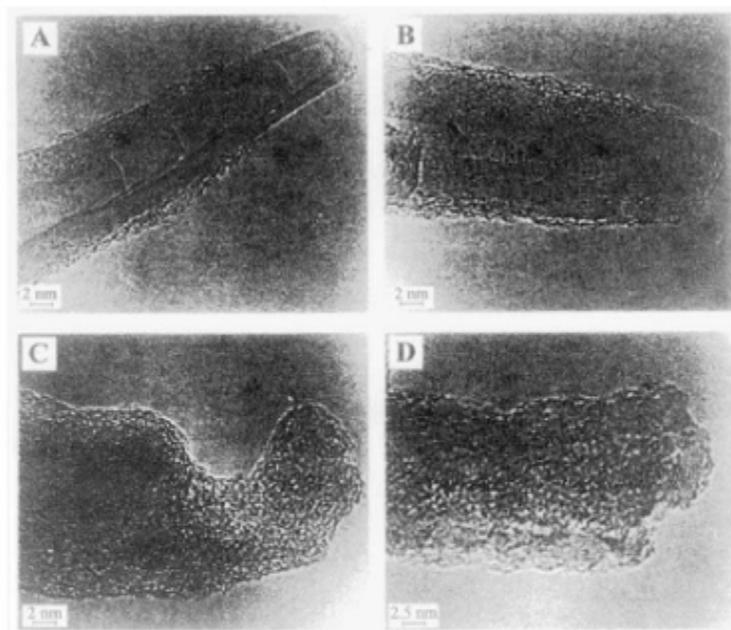


Figura 3.14 - Nanotubi prodotti mediante arco elettrico (A e B) o mediante CVD (C e D) dopo i trattamenti di purificazione. I nanotubi prodotti mediante CVD sono visibilmente più danneggiati. [32]

4.8 Eliminazione delle particelle di catalizzatore

A causa del loro stesso meccanismo di formazione, i nanotubi hanno molto spesso una particella di catalizzatore metallico ad una delle estremità.

Tale particella deve essere necessariamente eliminata per ottenere un prodotto finale puro.

Per ottenere questo risultato si possono utilizzare metodi chimici come l'ossidazione e il trattamento con acidi, oppure fisici come la sublimazione sotto vuoto a alta temperatura.

Tutte le tecniche utilizzate in letteratura presentano il grave difetto di non essere sufficientemente selettive nella loro azione: i procedimenti di ossidazione e di riduzione distruggono anche i nanotubi ed occorre distruggere fino al 99% del materiale presente all'inizio del procedimento per avere dei campioni finali sufficientemente puri.

Meccanismi di crescita

I veri meccanismi di crescita dei nanotubi sono per il momento sconosciuti e vi sono con tutta probabilità grandi differenze tra la formazione di SWNT o di MWNT, tra nanotubi prodotti mediante arco elettrico o via CVD, e addirittura tra nanotubi prodotti via CVD in condizioni operative differenti.

L'unico dato che pare essere sicuro è che la formazione dei nanotubi sia strettamente legato alla presenza di particelle metalliche di taglia nanometrica, avente la funzione di promotori del processo di crescita

SWNT

Alcune simulazioni al computer hanno dimostrato che, durante la crescita dei SWNT nei processi ad alta temperatura (laser o arco elettrico), l'estremità del tubo resta aperta, e che la sua chiusura comporta la terminazione del processo di crescita. Per i nanotubi prodotti mediante CVD la teoria più accreditata è quella conosciuta sotto il nome di "meccanismo yarmulke", proposta da Smalley.

Secondo questa teoria la prima tappa della crescita del tubo è la formazione di uno strato emisferico di carbone sulla superficie del catalizzatore³.

Il carbone adsorbito sulla superficie libera del catalizzatore diffonde nel volume della particella, la attraversa, e una volta arrivato dall'altro lato "spinge" la calotta ad allontanarsi dalla particella metallica, formando le pareti del nanotubo.

Se, al contrario, le condizioni operative sono sfavorevoli alla crescita del tubo, la particella viene coperta da una serie di strati concentrici di carbone che danno luogo alla tipica struttura "a cipolla" che viene spesso ritrovata mescolata ai nanotubi.

MWNT

Il meccanismo di crescita dei MWNT è, come quello dei SWNT, sconosciuto.

Il dibattito tra i ricercatori è ancora aperto, e differenti teorie sono state proposte per spiegare la formazione dei tubi concentrici.

Le possibili interpretazioni sono molte ed è probabile che tutti i meccanismi proposti possano avere luogo in condizioni diverse.

In generale tutte le teorie sono concordi sull'aspetto di base del meccanismo: il carbonio (proveniente dalla decomposizione dell'idrocarburo nel caso della CVD o dalla vaporizzazione della grafite nel caso dell'arco elettrico e del laser) è adsorbito sulla superficie libera del catalizzatore e diffonde all'interno della particella per alimentare la crescita del tubo.

A partire da questo schema vi sono innumerevoli possibili varianti: la particella può restare al suo posto avere la funzione di "base" per la crescita del tubo (meccanismo "base-growth") oppure allontanarsi dal supporto, al quale resta collegata tramite il tubo (meccanismo "tip-growth") (*figure 3.15 - 3.16*).

³ Il nome "yarmulke", fantasiosamente attribuito dallo stesso Smalley, proviene dal tipico copricapo ebreo che copre la testa nello stesso modo in cui lo strato di carbone ricopre la particella di catalizzatore

Nel primo caso il risultato finale sarà un tubo chiuso da una calotta in carbone, nel secondo caso sarà invece chiuso dalla particella di catalizzatore (lei stessa spesso ricoperta di carbone) (*figure 3.17*)

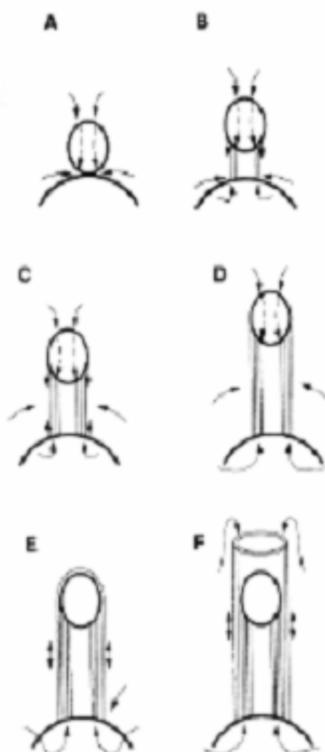


Figura 3.15 - Schema di uno dei possibili meccanismi di crescita di un MWNT a partire da una piccola particella di catalizzatore e una più grande, che svolge anche la funzione di supporto (immagini A,B,C e D).

Il carbonio che costituisce il tubo può giungere sia dalla particella più piccola (meccanismo "tip growth") sia da quella più grande ("base growth").

L'eventuale formazione di una calotta di carbone sulla superficie della particella più piccola (E) causa la sua disattivazione e la crescita può continuare solamente mediante il meccanismo "base growth" (F)

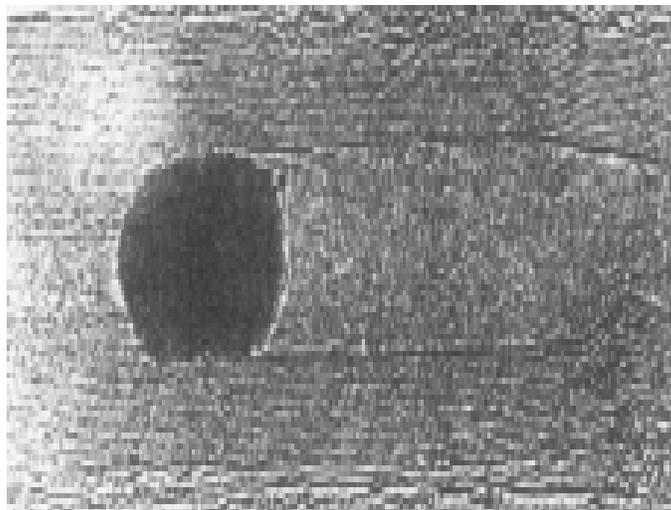


Figure 3.16 - MWNT con una particella all'interno, corrispondente alla fase "F" del meccanismo proposto

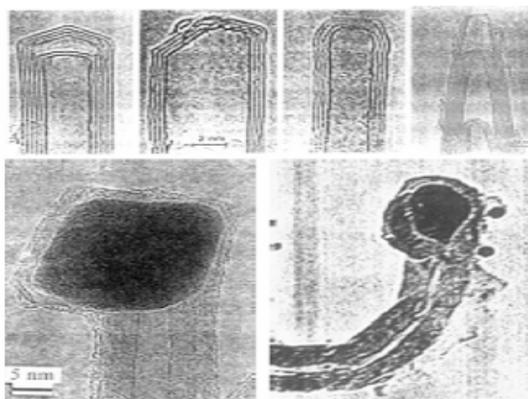


Figure 3.78 - Esempi delle differenti forme della parte terminale di un nanotubo MWNT, con o senza particella di catalizzatore all'estremità.

Nelle immagini la particella di catalizzatore è coperta da diversi strati concentrici di carbonio. Pare che la formazione di SWNT piuttosto che di MWNT dipenda dalla tappa cinematicamente determinante nel processo di crescita.

Se la tappa determinante (cioè la più lenta) è quella della diffusione del carbonio all'interno della particella si avrà crescita preferenziale di MWNT, mentre se la tappa più lenta è l'alimentazione di carbonio alla particella di catalizzatore si ha formazione preferenziale di SWNT .

4.9 Le Nanotecnologie

Il termine nanotecnologia fu coniato nel 1976 da Eric Drexler, il quale definisce così la sua “scienza”: una tecnologia a livello molecolare che ci potrà permettere di porre ogni atomo dove vogliamo che esso stia. Essa agisce sulla natura delle connessioni fra gli atomi, dalla quale risulta la proprietà della materia. Gli strumenti di questa tecnologia consistono in “macchine” microscopiche in grado di agire su singoli atomi e prevede quindi l’assemblaggio di atomi e molecole in maniera automatica come avviene in natura. E’ una tecnologia fatta su scala nanomillimetrica. Il prefisso nano- indica una grandezza matematica pari a 10^{-9} : si tratta dunque di una tecnologia livello atomico. I benefici che derivano da questa scienza sono notevoli; essi stanno contribuendo alla cura della persona e della salute. Gli strumenti di questa tecnologia consistono in "macchine" microscopiche in grado di agire su singoli atomi. Essi stanno acquistando un ruolo sempre più importante nel campo dei biomateriali. Nell’applicazione industriale della nanotecnologia vi sono due diverse fasi:1) il piano di costruzione finale dell’oggetto (sia esso un motore per astronave, una terapia per il cancro o una ricetta di cucina) che sarà registrato in una prima macchina, **il seme**.

Il seme conterrà un "nanocomputer", vale a dire un processore in possesso di un meccanismo logico su scala atomica, della capacità di 1 miliardo di bytes stivato in 1 micron cubico, pari a 1 millesimo del volume di una cellula umana. La prima generazione di assemblatori, delle dimensioni di 1 submicron, si moltiplicherà esponenzialmente duplicando se stessa.

La nanomacchina-seme sarà iniettata in un fluido viscoso contenente migliaia di miliardi di nanomacchine "**assemblatrici**" generate da quella prima, singola copia, ciascuna con il proprio nanocomputer, che agiranno seguendo le istruzioni del piano. Questa seconda generazione di macchine costruirà il prodotto finito vero e proprio, muovendosi agevolmente in un liquido che trasporterà anche le materie

prime e fungerà da raffreddamento. L'energia sarà fornita dal sole, come dimostra quella straordinaria forma di nanotecnologia che è la sintesi clorofilliana.

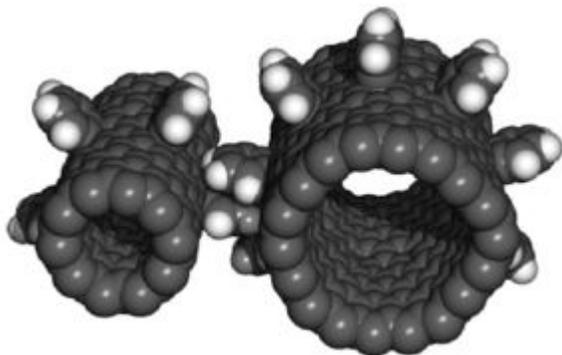


Figura. 3.19 Nanoparticelle

Sulle nanotecnologie si stanno concentrando gli interessi di molti ricercatori, anche nell'area medica: atomi di carbonio organizzati in strutture regolari ma delle dimensioni di un miliardesimo di metro potrebbero diventare mezzi di trasporto per farmaci o per molecole anticancro, oppure funzionare da impalcature nel tessuto muscolare o osseo. Ci sono, però, da parte degli stessi scienziati delle perplessità che in particolare riguardano la biocompatibilità di questi materiali.

4.10 Applicazione dei nanotubi in biologia

Le molecole organiche, i polimeri e le molecole biologiche possono essere covalentemente fissati ai nanotubi di carbonio a singola parete per mezzo di amidazione o esterificazione. Questi nanotubi chimicamente modificati sono utili candidati nell'applicazione biologica come la crescita dei neuroni, nel materiale delle ossa artificiali e per i biosensori.

Le articolazioni artificiali e altre protesi del futuro stanno nascendo fra Stati Uniti e Canada, costruite “spontaneamente” da nanotubi che si assemblano da soli, imitando il meccanismo biochimico con cui si replica il Dna. In collaborazione con le Università statunitensi Purdue e dell'Alberta, i ricercatori canadesi hanno scoperto che le cellule che formano le ossa (osteoblasti) aderiscono molto meglio

hai nanotubi rivestiti di titanio che al titanio tradizionalmente utilizzato per costruire articolazioni artificiali, come quelle dell'anca. Anche con altri materiali è possibile ottenere un'adesione migliore ma "i nanotubi sono particolarmente promettenti per le applicazioni in campo biomedico" perché sono più facilmente adattabili a specifiche parti del corpo. Il segreto dei nanotubi è nelle loro dimensioni: la loro struttura presenta irregolarità così piccole (nell'ordine del nanometro, ossia del milionesimo di metro) da non essere identificate dal sistema immunitario e le cui caratteristiche ricordano quelle di alcune proteine. Le strutture di titanio, la cui superficie presenta irregolarità più grandi (nell'ordine del milionesimo di metro) possono scatenare reazioni immunitarie che richiedono nuovi e dolorosi interventi chirurgici per sostituire la protesi. Inoltre si è visto che il tessuto osseo cicatrizza meglio se nella matrice extracellulare si posizionano dei nanotubi. Il motivo è semplice: i nanotubi, essendo sottilissimi e resistenti, finiscono per sostituire l'impalcatura delle fibre di collagene che sono danneggiate e favoriscono il ripristino delle maglie che costituiscono la rete interna all'osso, in particolare la distribuzione dei cristalli di idrossiapatite. I ricercatori hanno verificato che una singola catena di nanotubi non è sufficiente a fare da struttura di base dove sedimentano i cristalli di idrossiapatite: ma se ai nanotubi si sostituiscono alcuni gruppi chimici immediatamente si ha la proliferazione del tessuto in vitro.

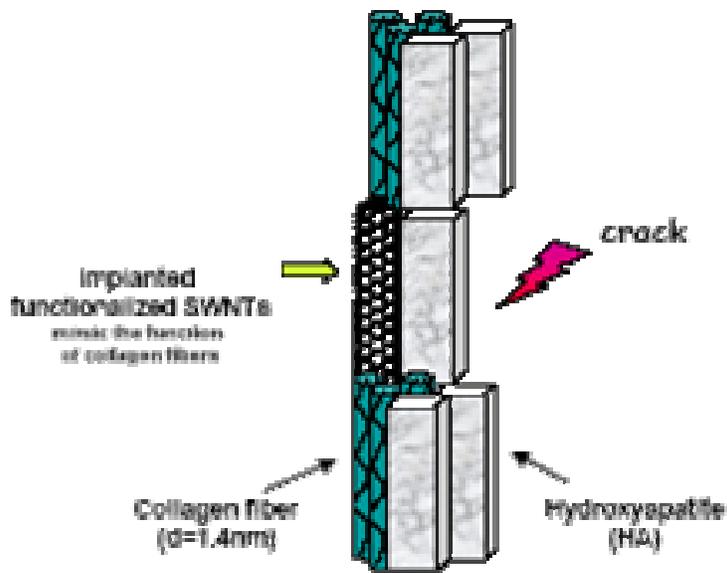
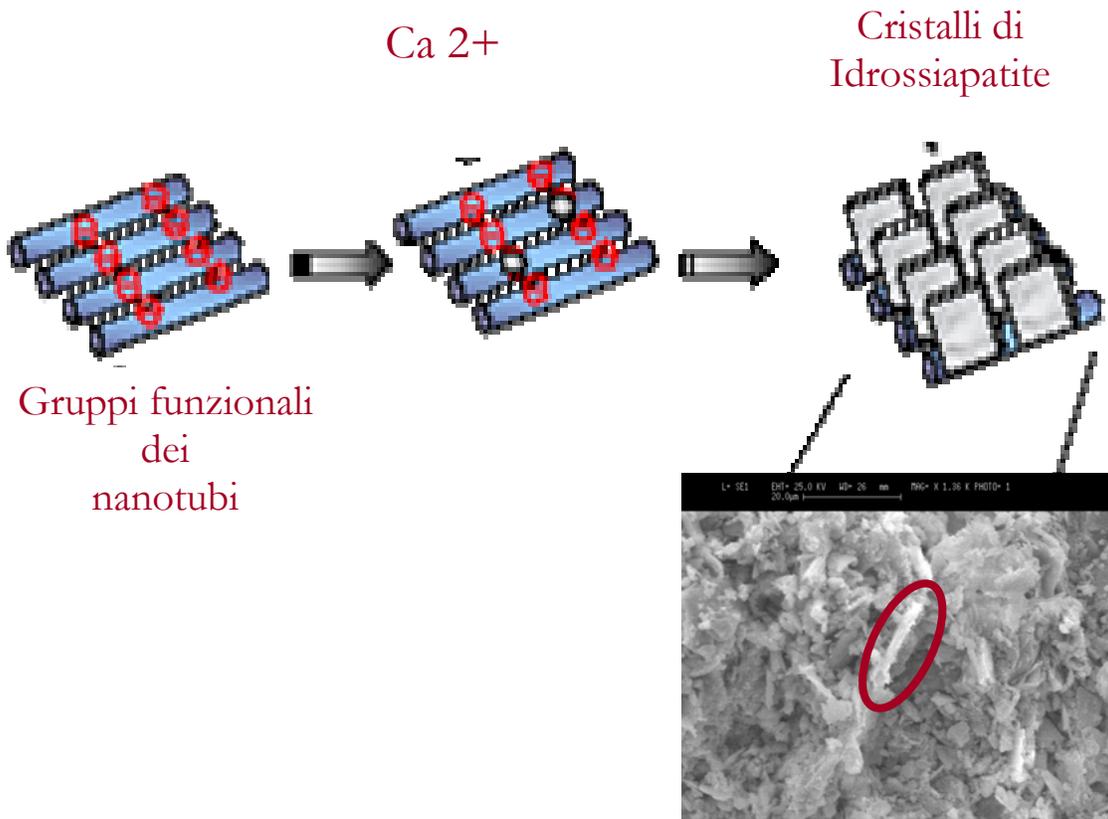


Fig 4.12 Interazione tra nanotubi e cristalli di idrossiapatite

CAPITOLO 5

Strumentazione adottata per le analisi

5 .Introduzione

Nello studio dei biomateriali, risulta estremamente importante la fase di caratterizzazione, in quanto conoscendo a fondo le proprietà del materiale in esame, si possono meglio definire il campo e le modalità d'impiego dello stesso. Attraverso le tecniche di caratterizzazione è possibile conoscere morfologia, composizione chimica, resistenza, stabilità termica, cristallinità e altre proprietà del materiale in oggetto. La preparazione di un campione, da sottoporre ad analisi, rappresenta un passo fondamentale e la cura da dedicare ad ogni operazione è dettata soprattutto dal tipo di informazione che si vuole ottenere.

I metodi di analisi vengono distinti in : morfologici, mineralogici, chimici e fisici.

✚ Morfologici ⇒

- Microscopia elettronica a scansione (SEM)

✚ Mineralogici ⇒

- Diffrattometria a raggi x (Analisi mineralogica)

✚ Fisici ⇒

- Analisi termogravimetriche (TG,DTG,DSC)
- Resistenza meccanica a compressione

✚ Chimici ⇒

- Microanalisi (EDS)

5.1 Microscopia elettronica a scansione (SEM) e Microanalisi (EDS)

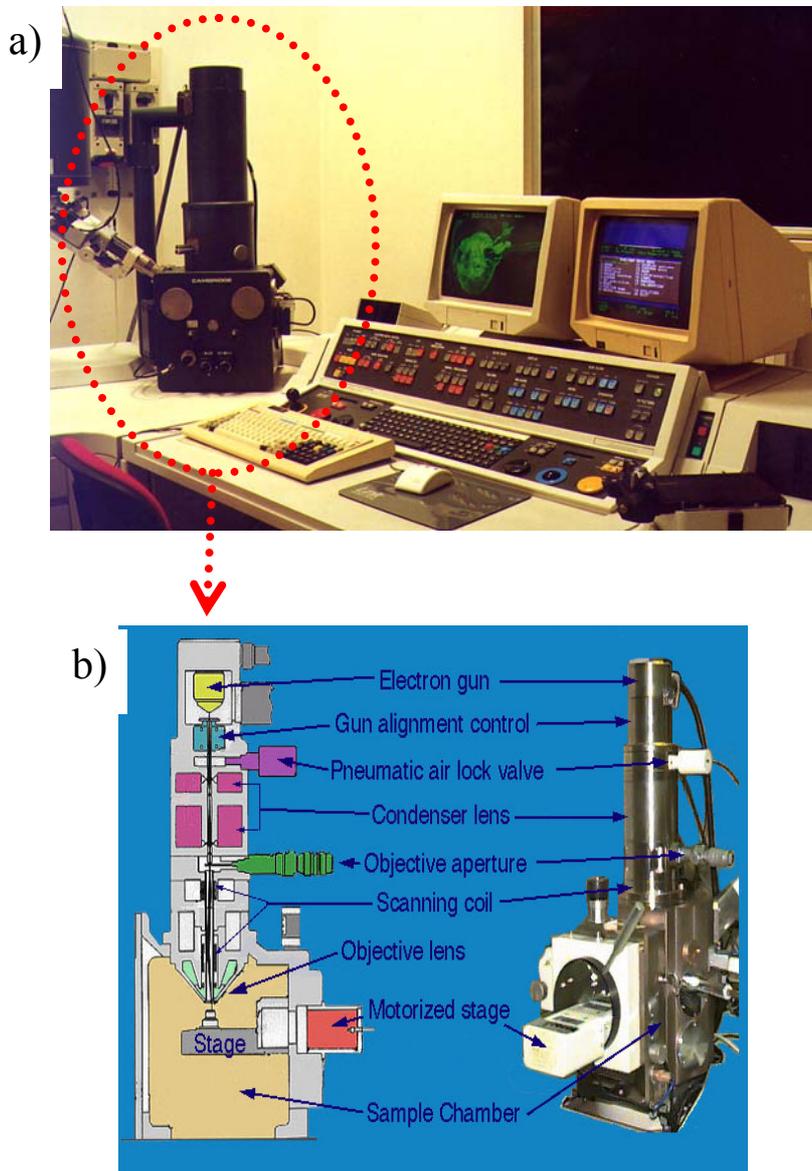


Figura 5.1 – *Microscopio elettronico a scansione (a) e cannone elettronico(b)*

La Microscopia Elettronica a Scansione è tra le più conosciute e più usate tecniche analitiche di superficie.

Le analisi SEM restituiscono immagini della topografia superficiale dei campioni in alta risoluzione, pertanto si ha un approccio immediato nella caratterizzazione della superficie dei materiali.

Le componenti principali che costituiscono un SEM sono:

- ✚ Sorgente di elettroni
- ✚ Lenti del condensatore
- ✚ Porta-campioni
- ✚ Obiettivi
- ✚ Lenti del proiettore

La funzione basilare di un microscopio elettronico è quella di produrre su un monitor un'immagine in tre dimensioni; immagine derivante dalla scansione, per mezzo di una sonda elettronica, della superficie del campione.

Ciò è possibile grazie alla presenza di un fascio di elettroni altamente focalizzato fornito da un cannone elettronico (*figura 5.1(b)*). In pratica il fascio di elettroni si ottiene da un filamento di tungsteno o di esaboruro di lantanio, che viene riscaldato con una corrente (filament current) variabile tra 2 e 3 A generata da una d.d.p. applicata ai due elettrodi, precisamente il catodo viene sottoposto ad una tensione di accelerazione (EHT), mentre l'anodo è sottoposto ad una tensione nominale di 0 V.

Per ottenere un'immagine al microscopio elettronico, la superficie di un campione solido è percorsa lungo un *tracciato a reticolo* con un fascio elettronico finemente focalizzato. Un tracciato a reticolo è una forma di scansione simile a quella usata nei tubi a raggi catodici, in cui un raggio elettronico è fatto scorrere sulla superficie lungo una linea retta orizzontale, riportato alla posizione precedente e traslata verticalmente di un incremento fisso: questo processo è ripetuto finché non è stata indagata tutta l'area prescelta della superficie.

Quando una superficie è "investita" da elettroni ad elevata energia sono prodotti diversi tipi di *segnali*, alla base della microscopia elettronica a scansione sono principalmente due i segnali che interessano: gli elettroni secondari e quelli retrodiffusi (backscattered).

Gli elettroni secondari, o segnale SE (Secondary Electron), sono definiti convenzionalmente come gli elettroni uscenti dal campione con energia minore o uguale a 50 eV. Essi provengono da una profondità di pochi nm (nanometri) e scaturiscono dal fascio primario e dall'interazione degli elettroni retrodiffusi con gli elettroni di valenza (del campione). Gli SE forniscono informazioni sulla topografia delle superfici e sulla presenza e distribuzione di campi magnetici o elettrici; per rilevarli si fa uso di uno scintillatore/fototubo preceduto da uno stadio acceleratore. L'immagine fornita da tali elettroni appare in rilievo, come se l'osservatore fosse allo stesso livello del diaframma interno e guardasse l'oggetto illuminato da un'ipotetica sorgente situata in corrispondenza del rivelatore.

Gli elettroni retrodiffusi, o segnale BSE (Back-Scattered Electron), sono elettroni di energia maggiore di 50 eV che derivano principalmente dalle interazioni (singole a grande angolo o multiple, elastiche e non) del fascio primario con i nuclei degli atomi del campione. Gli BSE forniscono informazioni riguardo al numero atomico medio della zona di provenienza (circa qualche μm), alla topografia e alla struttura cristallina del campione.

I prodotti dell'interazione vengono raccolti da opportuni rivelatori ed i segnali ottenuti, vengono inviati a modulare l'intensità del fascio del tubo a raggi catodici. Il movimento di scansione della sonda e del pennello elettronico del tubo è controllato unicamente da un generatore, che ad ogni posizione della sonda sul preparato ne fa corrispondere una definita del pennello sullo schermo del tubo, la cui luminosità dipende quindi dall'intensità del segnale raccolto.

Gli elementi costituenti l'immagine finale prendono il nome di *punti immagine* o *pixels* (0.01 mm^2). L'ingrandimento ottenuto con un tale sistema ottico, è dato dal rapporto fra la larghezza dello schermo del tubo a raggi catodici e la lunghezza del corrispondente tratto percorso dalla sonda sulla superficie del campione. Il limite alla risoluzione (minima distanza alla quale due punti rimangono distinti) del SEM è dovuto alle dimensioni del diametro geometrico della sonda.

Il sistema ottico dello strumento è costituito da due lenti magnetiche: lente condensatrice e lente obiettivo. Le prime (costituite da una o più lenti) servono per il controllo del fascio elettronico che raggiunge l'obiettivo; le seconde determinano il fascio di elettroni incidente sulla superficie del campione.

La scansione è eseguita per mezzo di due coppie di bobine elettromagnetiche poste internamente alle lenti dell'obiettivo, queste muovono il pennello elettronico sulle coordinate cartesiane X e Y della superficie del campione tramite il segnale elettrico inviatogli. Tali segnali possono essere sia analogici che digitali; questi ultimi hanno il vantaggio di consentire un migliore movimento ed un eccellente posizionamento del fascio elettronico.

La progettazione delle camere porta campioni è realizzata in modo da facilitare lo scambio dei campioni facendo variare di poco la pressione da quella ambientale a quella di esercizio. Il porta campioni inoltre può variare nelle direzioni X, Y e Z, ruotando intorno ad essi, per esaminare il campione in ogni punto.

Durante l'analisi, inoltre, vengono prodotti dei raggi-X che forniscono informazioni qualitative e quantitative degli elementi che compongono il campione.

Nell'analisi microscopica della spettrometria a raggi X si possono impiegare uno spettrometro a lunghezza d'onda (WDS), o uno spettrometro a dispersione di energia (EDS). Nell'analisi del SEM si usa comunemente lo spettrometro a dispersione di energia.

Quando un fascio di elettroni con energia sufficiente incide su un solido, gli elettroni interagiscono con gli elettroni degli atomi eccitandoli a livelli con energie più alte. La diseccitazione degli elettroni causa l'emissione dei raggi X. I raggi X possono essere emessi generando un background continuo di raggi X (Brehmstrahlung) e un salto di livello atomico che dà lo spettro caratteristico dei raggi X, tipico degli elementi presenti sul campione esaminato. La lunghezza d'onda dei raggi X caratteristici ha un'energia pari alla differenza tra lo stato

iniziale e finale dell'atomo: le lunghezze d'onda dei raggi X caratteristici di una certa specie chimica sono legate ad un livello di energia discreto (E).

La *figura 4.2* indica le fasi che portano all'emissione dei raggi X.

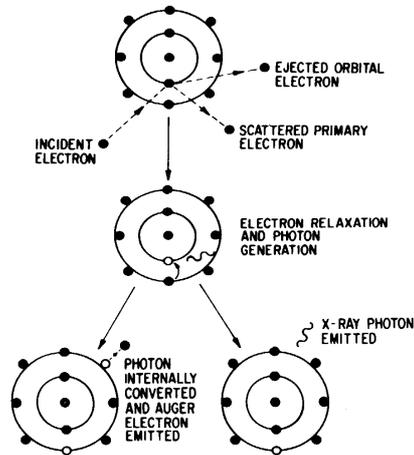


Figura 5.2 - *Eccitazione dell'elettrone che manifesta raggi X caratteristici o elettroni Auger.*

Esaminando quindi i raggi X caratteristici si può risalire agli elementi presenti ottenendo un'analisi chimica qualitativa.

Il rivelatore è costituito da un monocristallo di Si drogato con Litio al quale viene trasferita l'energia dei fotoni X (da cui la denominazione di spettroscopia X a dispersione di energia EDXS).

Il rivelatore EDX raccoglie i fotoni dei raggi-X emessi dalla superficie del campione, sempre in seguito a bombardamento elettronico. Un opportuno analizzatore di questi fotoni fornisce informazioni qualitative e quantitative sulla composizione della superficie bombardata (analisi EDS).

Nella microscopia ha particolare importanza la preparazione del campione da osservare, infatti per essere utilizzata questa tecnica il campione da valutare deve essere un buon conduttore, per evitare un accumulo di carica elettrica sul campione che rende l'immagine brillante e di difficile interpretazione. Pertanto, si deposita una sottile pellicola di materiale conduttore (oro o carbone) sulla

superficie del campione, questa operazione è conosciuta sotto il nome di “*metallizzazione*”.

Il potere risolutivo del microscopio elettronico, inteso come la minima distanza tra due punti riconoscibile nell’immagine è funzione della lunghezza d’onda degli elettroni. Nel 1878 E. Abbe dimostrò che la risoluzione di un microscopio è limitata alla lunghezza d’onda della luce (circa $0,2\mu$). Se gli elettroni vengono accelerati da un campo elettrico la lunghezza d’onda associata dipende dalla velocità e quindi dalla tensione V applicata ai capi degli elettrodi secondo la relazione:

$$\lambda = \frac{12,25}{\sqrt{V}}$$

In questo modo si riesce ad ottenere delle λ anche di 6 \AA per il microscopio elettronico. Questa tecnica presenta tra i vantaggi quello di non essere distruttiva: il campione, infatti, non viene modificato nel corso dell’analisi, ma viene in parte alterato solo durante la preparazione che richiede alcuni accorgimenti.

La prima richiesta è che il campione sia stabile quando è portato alla bassa pressione presente all’interno del microscopio. Per questo sostanze contenenti fasi volatili devono essere preventivamente essiccate o degassate.

Il secondo e più importante requisito è la conducibilità elettrica del campione: per renderlo conduttivo si può deporre uno strato sottile conduttivo sulla superficie nel modo più uniforme possibile.

In questo lavoro le analisi SEM ed EDS sono state effettuate utilizzando un microscopio elettronico Leica Cambridge Stereoscan 360 i cui dati tecnici, relativi alle analisi SEM sono :

- ✚ Range di tensioni d'accelerazione del fascio elettronico variabile da 200 V a 40 KV. In steps da 10V al di sopra dei 3 kV e in steps da 100V tra 3kV e 40kV
- ✚ Filamento di tungsteno quale sorgente di elettroni

- ✚ Ingrandimenti ottenibili che vanno da 10x a 300.000x con una risoluzione di 4 nm a 40kV
- ✚ I campioni possono avere un diametro massimo di 15-20 cm e un peso massimo di 2Kg. Più campioni di piccole dimensioni possono essere inseriti contemporaneamente nello speciale tavolo portacampioni
- ✚ Il tavolo portacampioni può essere mosso secondo gli assi X ed Y di 100 mm; secondo l'asse Z di 70 mm; inclinato da 0° a 90° e ruotato da 0° a 360° ad una distanza di lavoro di 25 mm
- ✚ Le immagini sono riproducibili su pellicole piane Polaroid (9x12 cm), su pellicola fotografica da 35 mm e su supporto magnetico in forma digitale
- ✚ Le pompe rotativa e turbomolecolare determinano un vuoto, all'interno della camera portacampioni, di circa 2×10^{-6} Torr
- ✚ I campioni non devono essere polverulenti e rilasciare acqua e sostanze gassose
- ✚ Sui campioni non-conduttori deve essere depositato un sottile film d'oro o carbone .

Mentre i dati tecnici relativi alle analisi EDS:

- ✚ Detector Si/Li con 133eV di risoluzione
- ✚ Il software di cui è dotato il sistema permette di effettuare analisi qualitative, semi-quantitative e quantitative con totale deconvoluzione dello spettro e correzione ZAF. E' presente inoltre il software per l'analisi d'immagine
- ✚ Si effettuano analisi quantitative su campioni voluminosi, particelle, campioni rugosi e materiale biologico
- ✚ Sono possibili mappature in tempo reale

5.2 Diffrazione a raggi X (XRD)



Figura 5.3 - Diffratometro Philips modello PW

Questa tipologia di analisi è finalizzata allo studio, tramite l'interazione di un fascio di raggi X con la struttura, delle caratteristiche cristallografiche naturali e sintetiche di materiali.

Questa tecnica d'indagine è fondata sul fatto che lo spettro diffrattometrico ai raggi X di ogni materiale è unico e facilmente riconoscibile, pertanto il risultato dell'analisi XRD fornisce un metodo di identificazione della struttura univoco e inequivocabile.

Si riduce il campione in polvere e lo si sottopone alla diffrazione di un fascio monocromatico di raggi X, il diffrattogramma viene confrontato con quello, riportato in letteratura, che più gli somiglia.

Questo paragone si può effettuare a vari livelli: si possono determinare le rese in cristallinità rifacendosi a strutture note ad altissima "purezza", o ancora, verificare la presenza di eventuali diverse fasi all'interno del setaccio molecolare.

Si può fare questo confronto analizzando la posizione e l'intensità dei picchi caratteristici scaturiti dal diffrattogramma [1].

Al fine di rendere l'analisi il più affidabile possibile si deve operare una polverizzazione spinta dei cristalli in modo da omogeneizzare lungo tutte le dimensioni spaziali la disposizione degli stessi.

La sorgente di raggi X usualmente utilizzata è costituita da un filamento riscaldato (catodo) e da una targhetta di metallo (anodo), in genere di rame, raffreddata ad acqua. Sia il catodo che l'anodo sono contenuti in un alloggiamento sottovuoto.

Gli elettroni vengono prodotti dal catodo e sono accelerati verso l'anodo, e colpendo quest'ultimo producono i raggi X, i quali hanno lunghezza d'onda paragonabile alle distanze interatomiche, pertanto penetrando nel cristallo possono subire dei fenomeni di diffrazione.

Il processo, in cui un raggio di fotoni X incidente su un campione (cristallo singolo, polvere cristallina o policristallo) viene diffratto dagli elettroni di quest'ultimo (tramite processi di scattering), è utilizzato per determinarne la struttura cristallina tramite l'analisi della distribuzione angolare della radiazione diffusa. Si può anche risalire ai componenti di una miscela (cristallina) e alle loro rispettive concentrazioni mediante considerazioni riguardanti la dipendenza dell'intensità del raggio diffratto [2].

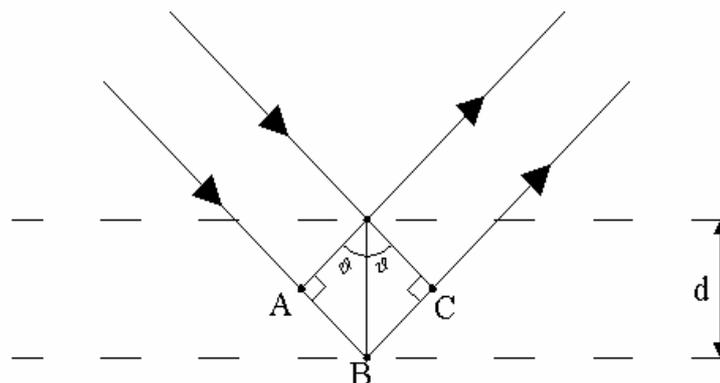


Figura 5.4 – Diffrazione dei raggi X sui piani

Nella *Figura 4.4* si illustra cosa accade quando un fascio di raggi X colpisce la superficie degli atomi del cristallo con un angolo di incidenza pari a θ . Come si nota i raggi X vengono diffratti sia dagli atomi che si trovano sul primo piano cristallino, mentre altri penetrano all'interno della struttura e vengono diffratti dai piani cristallini successivi.

I raggi riflessi danno luogo a delle interferenze, che sono di natura costruttiva o distruttiva, nel primo caso si ottiene il fenomeno della diffrazione, nel secondo caso le radiazioni si annullano perché sono in opposizione di fase, pertanto lo strumento rileverà il buio.

Facendo sempre riferimento alla *Figura 4.4* si valuta che in corrispondenza dei centri di dispersione B e Z l'interferenza è costruttiva se:

$$AB + BC = n\lambda$$

dove n è un numero intero che rappresenta il numero delle dispersioni.

Essendo d la distanza tra i due piani si può affermare che:

$$AB = BC = d \sin\theta$$

pertanto sostituendo nella precedente si ottiene:

$$2d\sin\theta = n\lambda$$

Quest' ultima equazione che rappresenta la condizione di diffrazione è nota come *legge di Bragg* in cui:

θ = metà dell'angolo formato dalla direzione del raggio incidente e da quella del raggio rifratto;

λ = lunghezza d'onda del raggio X incidente;

n = numero delle dispersioni;

d = distanza reticolare.

Risulta pertanto che, usando raggi X di una determinata λ , possono fuoriuscire dal reticolo cristallino solo quei raggi diffratti per i quali è valida la legge di Bragg, perciò si otterrà diffrazione solo per particolari valori di θ , mentre per gli altri valori dell'angolo l'interferenza è distruttiva.

A questo punto noti la lunghezza d'onda, e l'angolo d'incidenza si calcola la distanza tra i piani cristallini. Si caratterizza così il materiale in esame, in quanto non esistono due strutture differenti che formano cristalli nei quali la spaziatura dei piani cristallini è identica in tutte le direzioni.

Nei diffrattometri attualmente in uso, il braccio del detector ed il campione possono essere mossi in modo continuo oppure per passi successivi: l'operatore può scegliere sia il tipo di movimento, sia la velocità di scansione (per una scansione continua) o l'ampiezza del passo ed il tempo di conteggio tra due passi successivi (per una scansione per step). Per acquisizioni preliminari, volte a valutare la cristallinità del campione, una scansione continua consente di ottenere dati di qualità sufficiente in un tempo ragionevole. Negli stadi successivi di un'analisi, una scansione per step è più opportuna. Rispetto a quella continua, l'acquisizione per step consente prestazioni migliori: i vantaggi possono però essere apprezzati appieno solo con una scelta oculata dello step, soprattutto se si prevede un trattamento computazionale dei dati raccolti.

Lo strumento utilizzato è un diffrattometro Philips modello PW 1830 (*figura 4.3*), dotato di goniometro verticale PW 1050. Lo strumento è pilotato da un computer corredato di software applicativo per diffrattometria a raggi X su polveri.

Le analisi sono state condotte secondo i seguenti dati tecnici:

- ✚ Angolo di scansione: $5 \leq 2\theta \leq 45$;
- ✚ Generatore raggi X con anticatodo in Cu alimentato da una corrente di 30 mA (d.d.p. = 40 kV);
- ✚ Velocità di scansione: $0.02^\circ / \text{s}$;
- ✚ Tipo di radiazione: $\text{CuK}\alpha$.

Inoltre grazie alla presenza di un filtro al nichel si sono potute suddividere le radiazioni di tipo α_1 e di tipo α_2 , quest'ultime sono le radiazioni che provengono da sorgenti riflettenti diverse dalla polvere, in modo particolare dalle possibili riflessioni indotte dalla macchina. Per ovviare a tale problema si provvede a

“strappare” queste radiazioni, eliminandone il loro contributo sul diffrattogramma.

5.3 Analisi termica



Figura 4.5 - *Strumento per analisi termiche*

I metodi di analisi termica sono tecniche largamente utilizzate nel campo della scienza dei materiali, in quanto comprendono un insieme di metodiche che permettono di valutare alcune proprietà del sistema in funzione della temperatura. In particolare sono largamente utilizzate per ottenere informazioni sul contenuto d'acqua e di molecole organiche. Inoltre la misura del calore sprigionato o assorbito durante una reazione fornisce importanti informazioni analitiche.

I metodi di analisi termica utilizzati in questo lavoro di tesi sono indicati nella *tabella 4.1* seguente:

5.3.1- Termogravimetria (TG)

| Metodo | Proprietà misurata |
|---|----------------------------------|
| Analisi termogravimetrica (TG) | Variazione di peso |
| Analisi termogravimetrica differenziale (DTG) | Variazione di peso differenziale |
| Calorimetria differenziale a scansione (DSC) | Calore assorbito o ceduto |

La termogravimetria è una tecnica di analisi termica finalizzata alla misura, con continuità, delle variazioni di peso in funzione della temperatura quando una sostanza è sottoposta a riscaldamento o raffreddamento programmato.

Il risultato di questa analisi è una curva, dove in ascissa sono riportate le temperature, mentre in ordinata si riporta il peso, o il suo valore percentuale (riferito al peso iniziale), della sostanza studiata.

Un esempio di curva TG lo si riporta nella *Figura 4.6*

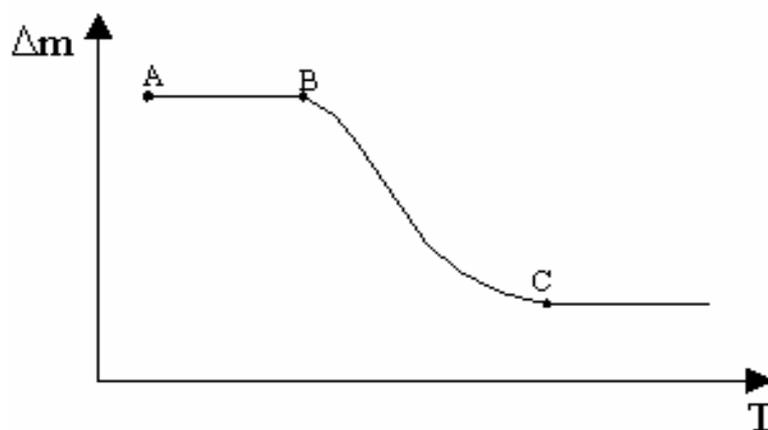


Figura 5.6 – Esempio di curva TG

Tra i punti A e B si trova un “plateau”, indice che in questa zona il provino mantiene inalterato il suo peso, quindi non vi sono sostanze che in quel range di temperatura subiscono reazione. Nel punto B si raggiunge la temperatura di inizio della reazione, pertanto si cominceranno a valutare le perdite in peso. La reazione procede sino al raggiungimento di un nuovo plateau, che nello specifico

ha inizio nel punto C, ottenendo il classico *gradino TG*, con il quale siamo in grado di affermare quale sia stata la perdita di peso in un determinato campo di temperatura.

Le curve TG si rilevano con apposite termo-bilance, cioè bilance idonee a misurare le perdite di peso in conseguenza del riscaldamento.

5.3.2 – Analisi termogravimetrica derivata (DTG)

La DTG altro non è che la derivata prima, in funzione del tempo, della curva termogravimetrica (TG). L'utilità di questa curva è strettamente riservata alla valutazione dei gradini TG di cui si è precedentemente fatto cenno.

In effetti, valutare i plateau non è semplice così come illustrato in *figura 4.6*, ma generalmente ci si trova a lavorare con curve TG del tipo in *figura 4.7*.

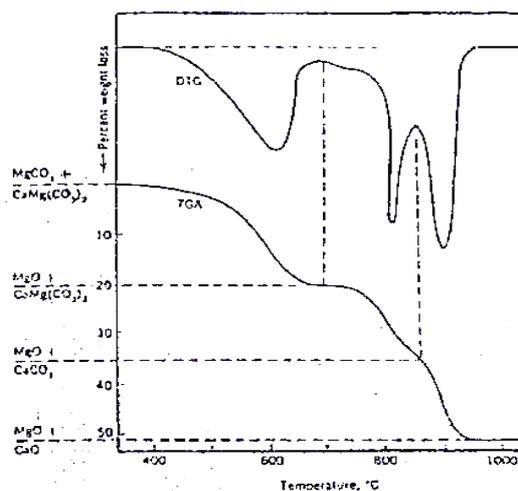


Figura 5.7 – Relazione tra la curva TG e la sua derivata (DTG) per la pirolisi di una miscela di carbonato di calcio e magnesio

In questo termogramma, il plateau a 700°C è ben definito, mentre per il successivo, a 870°C, occorre aiutarsi con la derivata, in particolare in presenza di un massimo della derivata la funzione è stazionaria.

Con l'analisi termogravimetrica differenziale, i punti di flesso eventualmente presenti nei grafici TG possono essere rappresentati dai picchi del termogramma DTG; esso ha per ascissa i valori della temperatura e per ordinata le derivate prime, rispetto al tempo, delle perdite di peso del campione. Le temperature dei picchi della curva DTG sono rappresentative degli intervalli di temperatura in cui avvengono le trasformazioni.

5.3.3– Colorimetria differenziale a scansione (DSC)

La DSC (*figura 4.8*) è un metodo attraverso il quale si può calcolare la differenza di energia fornita da un provino confrontato con uno standard inerte, quando sono entrambi sottoposti ad un campo variabile di temperature.

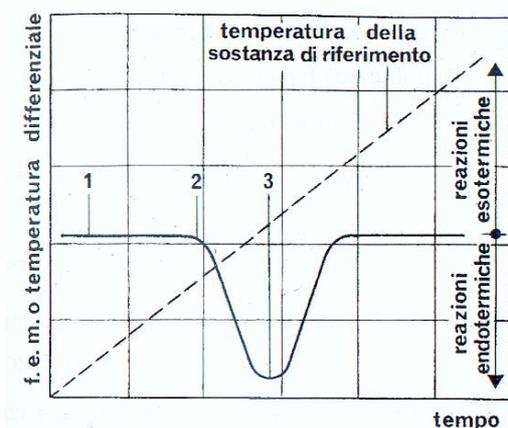


Figura 5.8 - DSC relativa ad una trasformazione

Il materiale di riferimento deve essere scelto in base alla sua stabilità termica, questo non deve mostrare cambiamenti di fase o decomposizione all'interno del range di temperature, un elemento che risponde a queste caratteristiche è il caolino calcinato.

Il meccanismo di misura è basato sulle termocoppie differenziali, una giunzione è a contatto con il materiale da misurare, un'altra con lo standard. Quando si generano delle differenze di temperature ai capi delle termocoppie si genera una f.e.m. dovuta alla d.d.p. ai capi della termocoppia. In corrispondenza di questo fenomeno la curva DSC presenta un picco, altrimenti ha un

andamento costante, in quanto essendo entrambi i materiali sottoposti alla stessa temperatura non si genera d.d.p.

La temperatura dell'inerte cresce nel tempo con regolarità, ed è uguale alla temperatura programmata esternamente, il campione invece procederà con lo stesso andamento fin quando non si verifica una reazione dovuta a qualsivoglia trasformazione della materia.

Nel caso di una reazione endotermica la temperatura del campione si arresta, mentre quella del caolino continua ad aumentare, creando così una d.d.p. di certo segno, mentre in una reazione esotermica il campione si troverà ad una temperatura superiore allo standard, grazie al calore sprigionato dalla reazione, pertanto la d.d.p. sarà di segno contrario.

La differenza tra i segni del potenziale è visibile sulla curva DSC dall'opposizione del segno dei picchi esotermici ed endotermici, per convenzione la prima ha picco positivo mentre la seconda negativo.

L'area inclusa tra il picco e la linea di base estrapolata rappresenta il calore utilizzato (endotermica) oppure ceduto (esotermica) del provino.

Una volta terminata la trasformazione la giunzione del provino ritorna alla temperatura della giunzione del caolino annullando la f.e.m. quindi riportando a zero la DSC. Tale rimane finché non sopraggiungono ulteriori trasformazioni.

La curva DSC e la DTG presentano delle similitudini nei picchi, anche se le informazioni contenute sono differenti. Un picco DTG è il punto in cui si ottiene la massima o la minima variazione di peso differenziale, mentre un picco DSC rivela cambiamenti di energia a cui fanno generalmente capo anche delle variazioni di peso, ma a volte ciò non è vero.

In effetti un picco DSC può anche avvenire con costanza di peso, quindi non sempre vi è corrispondenza, in quanto può esservi energia ceduta o assorbita relativa anche al solo riassetto strutturale della materia, o alla distruzione della stessa, cosa che non comporta perdita di peso.

Le analisi TG e DSC vengono effettuate simultaneamente. Per effettuare le suddette prove si è utilizzato un analizzatore termico NETZSCH STA 409 controllato da un calcolatore fornito del software idoneo.

L'apparato completo è schematicamente composto come in *Figura 4.9*:

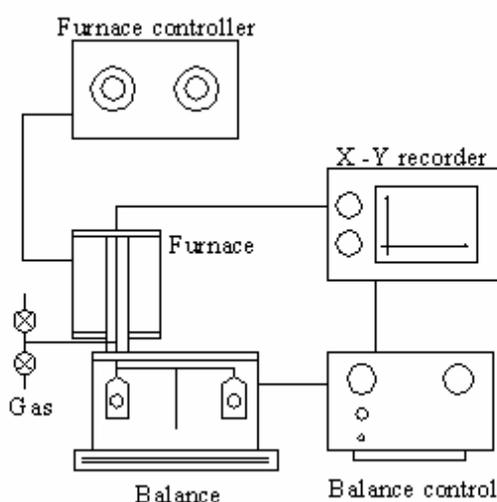


Figura 5.9 – Schema di una termobilancia a registrazione automatica

Il campione e lo standard sono posti in dei piccoli crogioli di allumina, e situati all'interno di una bilancia analitica registratore, a sua volta inserita in un forno. A completare lo strumento vi è un controllore (sia del forno che della bilancia) ed uno strumento di registrazione.

Il modello utilizzato è un Netzsch modello 429 (*figura 4.5*). Esso comprende:

- ✚ una bilancia analitica registratore;
- ✚ un forno;
- ✚ un controllore;
- ✚ uno strumento di registrazione.

Le condizioni sperimentali adottate sono le seguenti:

- ✚ Peso campione: $\sim 17 - 20$ mg;
- ✚ Ambiente di reazione: aria statica;
- ✚ Velocità di riscaldamento: $10^\circ\text{C}/\text{min}$;
- ✚ Tempo: 1 h e 17';

- ✚ Temperatura iniziale: 20°C;
- ✚ Temperatura finale: 810°C

5.4 Resistenza meccanica a compressione



Figura 5.10 – Vanderkamp hardness tester

La prova viene eseguita al fine di testare la resistenza meccanica dei biomateriali, in modo da verificare se la presenza o meno dei nanotubi in carbonio in essi, modifica in qualche modo il comportamento dei campioni quando vengono sottoposti a compressione. Lo strumento utilizzato per tale misura è un Vanderkamp hardness tester a 220 volt (figura 4.10).

L'analisi viene eseguita in due fasi:

- nella prima, il biomateriale viene sottoposto a compressione in condizioni secche;
- nella seconda, il biomateriale (di composizione chimica uguale al precedente) viene sottoposto a prove di compressione dopo essere stato immerso in acqua distillata per 3 giorni e essiccato a 100°C per 24 ore (condizioni umide).

5.5 Pressa idraulica



Figura 5.11 – *Strumento utilizzato per la formatura dei biomateriali*

Infine, tra la strumentazione utilizzata in questo lavoro di tesi, va menzionata la pressa idraulica con pompa a mano a due velocità (*figura 5.11*). Se pur questo apparecchio non viene usato per eseguire specifiche analisi, risulta essere importante perché, è proprio per mezzo di essa che avviene la formazione dei campioni in seguito esaminati e studiati.

La pressa è dotata di manometro e pompa a due velocità di discesa con il ritorno automatico del pistone. L'avanzamento rapido si ottiene mediante la chiusura dei due volantini e l'alta pressione mediante l'apertura del volantino superiore. Gli steli sono in acciaio speciale, trattato e cromato. La macchina è completa di piatto e prismi. Per la preparazione dei campioni si lavora ad una pressione di circa 100 bar, così da ottenere i campioni di forma cilindrica di diametro pari a 1,3 cm e altezza di circa 0,6 cm.

5.6 Sinterizzazione e Porosità

Con il termine sinterizzazione si indica un trattamento termico di un compatto di polveri ceramiche al di sotto del punto di fusione del componente principale. Consiste essenzialmente nella rimozione della porosità tra le particelle della polvere di partenza, combinata con la crescita delle particelle, la formazione di robusti collegamenti (colli) tra di esse, e ad un ritiro dei componenti. La sinterizzazione è un processo spontaneo che porta all'abbassamento dell'energia libera del sistema. Se il sistema non cambia composizione chimica e stato, l'energia libera sarà uguale all'energia delle superfici e quindi la sinterizzazione sarà uguale alla minimizzazione delle superfici. Deve essere presente un meccanismo di trasporto della materia e quindi deve esserci una sorgente di energia per attivare e sostenere questo trasporto di materia.

I requisiti necessari per una buona e completa sinterizzazione di un sistema ceramico sono: 1) alla T di sinterizzazione deve essere presente una quantità di liquido sufficiente per quelle condizioni di sinterizzazione; 2) il liquido deve essere in grado di bagnare il solido così uniformemente da rendere minimi i contatti tra i granuli; 3) il solido che costituisce il compatto di polvere deve essere parzialmente solubile nel liquido.



Figura 5.12 – *Sinterizzatore*

Meccanismi di sinterizzazione

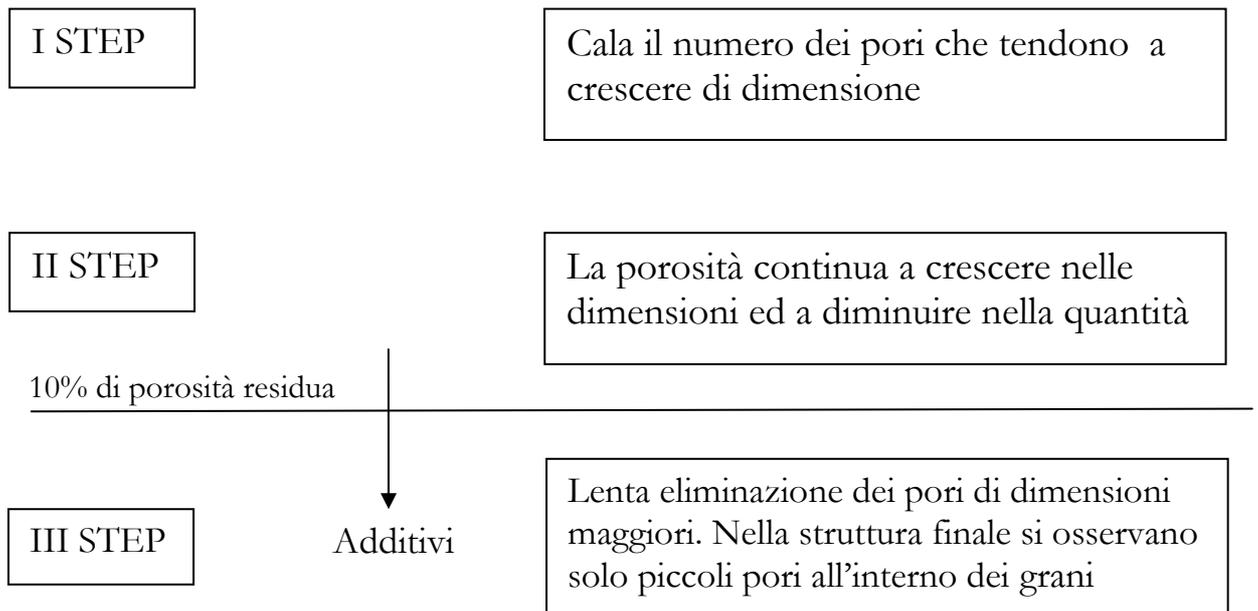
| Tipo di sinterizzazione | Meccanismo di trasporto | Forza motrice |
|--------------------------------|---|--|
| In presenza di fuso | Flusso viscoso,diffusione | Pressione capillare, tensione superficiale |
| Allo stato solido | Diffusione | Differente energia libera o potenziali chimici |
| In presenza di vapore | Evaporazione Condensazione | Differente pressione di vapore |
| Con formazione di nuove fasi | Flusso viscoso,soluzione-precipitazione | Pressione capillare, tensione superficiale |

La conoscenza della distribuzione porosimetrica per un campione destinato all'adsorbimento e al desorbimento di una certa sostanza è di estrema importanza. La porosità è una proprietà dei corpi che presentano, nella loro struttura, piccoli spazi vuoti, generalmente associata alla permeabilità. Quindi è definita come il rapporto tra il volume dei vuoti presenti nei materiali e il volume totale. La porosità di un campione influenza le sue proprietà fisiche e, di conseguenza, il comportamento nel proprio settore di applicazione. L'adsorbimento, la permeabilità, la resistenza meccanica, la densità e altri fattori legati alla porosità di sostanza ne determinano le modalità di impiego. La percentuale di porosità dei campioni e la distribuzione porosimetrica può essere conosciuta attraverso lo strumento porosimetro. Il termine "porosimetria" è spesso usato per circoscrivere la determinazione della dimensione dei pori e la loro distribuzione, il volume dei pori e altre caratteristiche di un materiale. Classi di materiali che per loro natura richiedono una indagine della porosità

comprendono i ceramici, le argille, i catalizzatori, alcuni prodotti farmaceutici e tanti altri.

5.7 Stadi di sviluppo della porosità

Sinterizzazione:



La necessità di eliminare la porosità è legata al fatto che: minore è la porosità maggiore è l'elasticità, la resistenza meccanica, la trasmissione ottica e la conducibilità elettrica. Per i componenti ceramici ai quali è richiesta alta resistenza meccanica e minima porosità, sono prodotti partendo da polveri aventi particelle di taglia inferiore a 1 micron e superfici maggiori di $5 \text{ m}^2/\text{gr}$. Anche la forma delle particelle ha una forte importanza in quanto influenza in modo determinante l'andamento delle forze capillari.

Porosimetro

Il porosimetro è lo strumento in grado di fornire molteplici informazioni sulla morfologia dei campioni analizzati: porosità percentuale, natura della porosità (chiusa, aperta, interconnessa), forma dei pori, nonché permette una valutazione della densità strutturale del costrutto poroso e del materiale che lo costituisce. Inoltre fornisce informazioni di natura statistica quali la distribuzione dimensionale percentuale dei pori ed il raggio medio.

5.7 Spettrofotometria

Tale termine indica ogni procedura che utilizza le radiazioni elettromagnetiche per misurare la concentrazione di una specie chimica attraverso lo strumento “spettrofotometro” che misura la luce che viene trasmessa attraverso una sostanza. Quando una radiazione luminosa incide su un mezzo trasparente, in parte viene riflessa, mentre in parte si rifrange nel mezzo venendo conseguenzialmente a diminuire il potere radiante del fascio. L'intensità di quest'ultima frazione diminuisce man mano che la radiazione si propaga, a causa dell'assorbimento molecolare, per cui all'uscita risulterà ancora inferiore.

Il rapporto I_x / I_0 è definito come Trasmittanza complessiva del mezzo X. Il logaritmo decimale del reciproco della trasmittanza prende il nome di Assorbenza. L'importanza dell'assorbenza è dovuta al fatto che essa è proporzionale alla concentrazione delle molecole del campione che assorbono la luce come è espressa dalle legge di Beer.

E' la legge fondamentale dell'analisi in assorbimento e stabilisce una relazione tra l'assorbanza e la concentrazione della sostanza disciolta:

$$A = \epsilon b c$$

L'assorbenza A è adimensionale. L'unità della concentrazione è moli/litro, b è il cammino ottico ed è espresso in centimetri. La quantità ϵ è una costante

chiamata coefficiente di assorbimento molare. Esso fornisce informazioni sulla quantità di luce assorbita a una certa lunghezza d'onda.

L'assorbanza, quindi, è una misura dell'intensità di colore. Quanto più intenso è il colore, tanto più alta è l'assorbanza.

Lo schema generale risulta composto dalle seguenti parti:

_Sorgenti di energia raggiante, la cui funzione è quella di fornire uno spettro continuo di radiazioni. Il campo abbracciato dalla maggior parte degli spettrofotometri per visibili ed ultravioletto si estende da circa 180-200 nm fino al rosso o vicino infrarosso 800-1000 nm. In genere si ha una lampada ad incandescenza per il visibile mentre ad idrogeno per l'ultravioletto.

_Monocromatori, che permettono di selezionare la lunghezza d'onda più opportuna per l'analisi e possono essere di vetro, quarzo o a reticolo.

_Celle contenenti le soluzioni in esame e quelle di riferimento.

_Dispositivi fotosensibili atti a fornire una misura oggettiva della luce ricevuta.

5.8 Centrifugazione

La centrifugazione è una tecnica che permette di separare le varie particelle. A seconda della forza centrifuga richiesta vengono impiegate centrifughe comuni o ultracentrifughe, cioè centrifughe capaci di raggiungere velocità fino a 70.000 giri al minuto con cui si possono determinare campi gravitazionali fino a 500.000 volte la forza di gravità.

Dall'omogenato contenente un miscuglio di particelle di dimensioni diverse distribuite più o meno omogeneamente mediante centrifugazioni successive a velocità crescenti possono essere separate le varie frazioni come mostrato in figura 4.6.

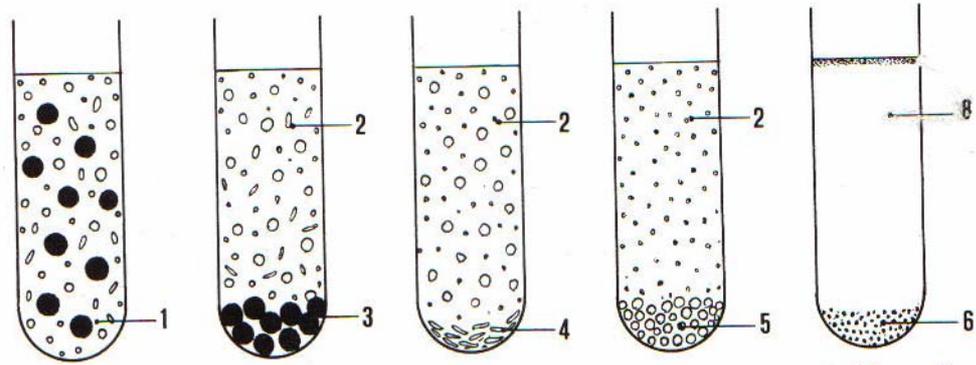


Figura 5.6: tappe del frazionamento mediante ultracentrifugazione; 1, omogenato; 3, 4, 5, 6, pellet dopo le varie centrifughe; 2,8, sopranatante.

Scopo della Ricerca

Questo lavoro di ricerca mira ad ottenere nuovi compositi con particolari caratteristiche tecnologiche e in grado di mimare il comportamento dei tessuti naturali. Inizialmente il presente lavoro è stato articolato nel seguente modo:

- Sintesi della polvere di idrossiapatite con differenti sistemi di reazione iniziale variando la natura e la quantità dei reagenti, con lo scopo di ottenere un materiale biocompatibile e biodegradabile, ma allo stesso tempo anche resistente, mostrando una certa affinità per il tessuto osseo. I metodi di sintesi sono la reazione idrotermale (effettuata in condizioni statiche e/o dinamiche) e la reazione di precipitazione.
- Caratterizzazione qualitativa e quantitativa del prodotto ottenuto al fine di migliorare le condizioni sperimentali, quali temperatura e tempi di reazione, per ottenere un composto che soddisfi le esigenze del campo in cui questo verrà utilizzato. La caratterizzazione verrà effettuata con gli strumenti presenti in laboratorio.
- Preparazione di provini (scaffold), con il materiale di sintesi ottenuto, con l'aggiunta di additivi (agenti porizzanti), affinché garantiscano un certo grado di porosità (micropori e macropori), indispensabile ai fini della biocompatibilità e degradabilità del prodotto, nonché per la crescita del tessuto osseo. Infatti questo si accresce all'interno dello scaffold, facendosi strada tra i pori che rappresentano vie di colonizzazione dello stesso.
- Sono stati realizzati provini con l'idrossiapatite sinterizzata in laboratorio e fibre di Nanotubi in Carbonio, al fine di migliorarne le caratteristiche meccaniche, quale è la resistenza. L'idea di utilizzare le fibre di nanotubi in carbonio, è stata presa in considerazione poiché hanno una certa "inerzia chimica" non interferendo con i normali processi fisiologici e biochimici dell'organismo, Il segreto dei nanotubi è nelle loro dimensioni: la loro struttura presenta irregolarità così piccole (nell'ordine del nanometro, ossia del milionesimo di metro) da non essere identificate dal sistema immunitari. Recenti studi condotti da ricercatori canadesi hanno

confermato che le cellule che formano le ossa (osteoblasti) aderiscono molto meglio ai nanotubi che ai materiali tradizionalmente utilizzati (come ad esempio il titanio) per costruire articolazioni artificiali. Anche con altri materiali è possibile ottenere un'adesione migliore ma "i nanotubi sono particolarmente promettenti per le applicazioni in campo biomedico" perché sono più facilmente adattabili a specifiche parti del corpo. Le strutture di titanio, (e degli altri materiali utilizzati in passato) la cui superficie presenta irregolarità più grandi (nell'ordine del milionesimo di metro) possono scatenare reazioni immunitarie che richiedono nuovi e dolorosi interventi chirurgici per sostituire la protesi.

I nanotubi di carbonio saranno sintetizzati col metodo CCVD (Catalytic Carbon Vapor depositino) utilizzando catalizzatori di metalli di transizione depositati su supporti di allumina e/o magnesia (il tutto realizzato nei Laboratori di NMR di Namur del Prof J.B Nagy.- Belgio). L'idrocarburo sarà l'etilene che può essere utilizzato nelle condizioni industriali. Il reattore, a letto fisso, opererà alla temperatura di 700°C. I parametri del flusso di gas (l'azoto e l'etilene) saranno ottimizzati insieme alla percentuale d'etilene nella miscela dei gas. I nanotubi così ottenuti saranno aggiunti all'idrossiapatite, sintetizzata attraverso il metodo di precipitazione nel nostro laboratorio, per produrre nanocompositi che verranno sottoposti a differenti prove fisico-meccaniche per testarne il grado di resistenza. Il tutto finalizzato a creare, grazie all'aiuto della Fin-ceramica Faenza, leader nella produzione di protesi ossee, caratterizzate da una notevole resistenza meccanica.

- Stabilite le condizioni per ottenere un prodotto in grado di mimare il tessuto osseo, sono stati prodotti dei provini con idrossiapatite e farmaci antinfiammatori, una sorta di dispensatori di farmaco, poiché la medicina insieme alla ingegneria sta provvedendo negli ultimi anni allo sviluppo di nuovi dispensatori per il rilascio controllato dei farmaci efficaci per diverse patologie, questo aspetto ha ricevuto una notevole attenzione per la possibilità di rispondere alle specifiche di una cinetica controllata di

rilascio del farmaco e dell'assenza di tossicità sistemica dello stesso, proprio per la selettiva azione locale consentita dal dispensatore.

- In fine si è pensati di utilizzare l'idrossiapatite come agente remineralizzante con applicazione in odontoiatria, infatti recenti studi hanno dimostrato il suo effetto benefico nella protezione del tessuto dentale.

Gli strumenti utilizzati per la caratterizzazione dei provini rivestono un ruolo fondamentale è possibile conoscere morfologia, composizione chimica, resistenza, stabilità termica, cristallinità e altre proprietà del materiale in oggetto. La preparazione di un campione, da sottoporre ad analisi, rappresenta un passo fondamentale e la cura da dedicare ad ogni operazione è dettata soprattutto dal tipo di informazione che si vuole ottenere.

I metodi di analisi vengono distinti in : morfologici, mineralogici, chimici e fisici.

- Morfologici ⇒
 - Microscopia elettronica a scansione (SEM)
 - Porosimetro a Mercurio
- Mineralogici ⇒
 - Diffrattometria a raggi x (Analisi mineralogica)
- Fisici ⇒
 - Analisi termogravimetriche (TG,DTG,DSC)
 - Resistenza meccanica a compressione
- Chimici ⇒
 - 🚦 Microanalisi (EDS)
 - 🚦 Spettrofotometria

È stato utilizzato anche il porosimetro a mercurio, per valutare il grado di porosità del campione, la presenza di macropori e di micropori sono molto

importanti ai fini della crescita ossea, infatti una macroporosità di 300-500 nm consente alla cellula ossea di abitare il materiale, d'altro canto una microporosità con dimensioni microniche e submicroniche permette un elevato grado di interconnessione dei macropori consentendo l'interdiffusione dei fluidi attraverso tutto il materiale.

Successivamente sono state impiegate due diverse metodologie basate su processi di biomineralizzazione: una prima, in cui l'idrossiapatite precedentemente sintetizzata e caratterizzata è dispersa in una soluzione contenente molecole di collagene prive di telopeptidi ed una seconda in cui i nanocristalli d'idrossiapatite vengono nucleati direttamente sulle fibre di collagene.

I compositi sono stati caratterizzati e comparati, osservando che quelli ottenuti per

nucleazione diretta della fase inorganica su quella organica mostrano un'intima interazione tra le due fasi che porta ad una modificazione della fase apatitica risultando simile, per composizione, morfologia e struttura alla componente minerale dell'osso naturale. L'importanza che assumono tali materiali, costituiti da nanocristalli d'idrossiapatite assemblati su fibre di collagene, deriva da un loro possibile impiego come sostituti ossei. Per ottenere biomateriali il più possibile simili all'osso naturale, si è cercato di sfruttare le cariche negative presenti sulle fibre di collagene derivanti dalla presenza di funzioni carbossiliche, per legare gli ioni calcio dell'idrossiapatite¹ e quindi dare luogo ad una vera e propria interazione tra le due fasi.

Il tessuto osseo è un materiale composito, i cui costituenti principali sono fosfati di calcio (70% in peso), una matrice organica (20% in peso) costituita principalmente da fibre di collagene e acqua, in cui i nano-cristalli d'idrossiapatite crescono in stretto contatto con le fibre di collagene.

Le caratteristiche dei tessuti ossei artificiali sono notevolmente differenti da quelle del tessuto naturale e questo a causa dell'assenza di un'interazione vera e propria tra i cristalli apatitici e la componente proteica dei tessuti.

Verranno presentati metodi per la realizzazione di materiali deputati alla protesizzazione nel settore ortopedico e oftalmologico, odontoiatrico. Inoltre verranno mostrati gli studi condotti al fine di codificare il legame tra struttura-proprietà-funzione nei tessuti biologici

Capítulo 6

Risultati e discussione

Procedura di sintesi dell'idrossiapatite da reazioni idrotermali

6.1 Sintesi della polvere di idrossiapatite.

Il materiale oggetto della nostra indagine sono polveri di Idrossiapatite prodotto attraverso reazioni idrotermali. Il procedimento di sintesi si basa su un meccanismo messo appunto da Atsuo et al. [138]. Questi utilizzano una miscela di sintesi di partenza, costituita da CaHPO_4 e H_2O messa in autoclave al cui interno viene posto un filo di platino con “semi” HA commerciale per innescare il processo di sintesi. La reazione che ha luogo è la seguente:



La procedura di sintesi utilizzata in questo studio è la seguente. I reagenti di partenza sono CaHPO_4 e H_2O , posti in autoclave, ma per innescare la reazione è stata utilizzata una minima quantità di idrossiapatite commerciale pura (Aldrich).

La procedura di sintesi è la seguente:

CaHPO_4 , con HA commerciale, sono stati miscelati in H_2O distillata e messi sotto agitazione per 15 min a temperatura ambiente. In seguito la miscela di partenza è stata versata in autoclave di tipo Morey in teflon a camicia di acciaio INOX (Volume 300 cm^3), e sottoposta a trattamento idrotermale alla temperatura di 100°C in forni termoventilati.

Alcune autoclavi sono state sottoposte ad agitazione (condizioni dinamiche) per evidenziare differenze con i prodotti di sintesi senza agitazione (condizioni statiche). La velocità di agitazione è di 15 giri al min. I tempi di estrazione sono variabili. Dopo l'estrazione dal forno le autoclavi sono state raffreddate

sotto getto d'acqua. La polvere ottenuta è stata filtrata ed essiccata in forno 100°C per circa 24 ore. Il prodotto così ottenuto è pronto per essere sottoposto alla caratterizzazione. I risultati sono stati messi a confronto con quelli forniti dalla Fin-ceramica Faenza (leader nel settore della bioceramica), al fine di garantire la validità dei dati sperimentali ottenuti in questo studio.

Caratterizzazione chimico-fisica di idrossiapatite sintetica

6.2 Campi di cristallizzazione

E' stato effettuato uno studio per ottimizzare le quantità dei reagenti necessari per produrre HA in polvere. Il sistema (esplicitato in quantità molari) da cui si è partiti è il seguente:



Dove: $1.0 \cdot 10^{-2} \leq x \leq 2.6 \cdot 10^{-2}$ e $11.7 \leq y \leq 21.7$. La quantità di HAP_{com} è stata considerata già come un parametro ottimale per l'innesco della reazione e quindi non è stato variato nello studio. La ricerca è stata condotta utilizzando due condizioni di sintesi: Sintesi di HA con agitazione (condizioni dinamiche) e senza agitazione (condizioni statiche). La figura 1 rappresenta il campo di cristallizzazione dell' HA prodotta in condizioni statiche in funzione della quantità di CaHPO_4 e H_2O . Come si può osservare, la zona di interesse per la cristallizzazione dell'idrossiapatite è ristretta rispetto a quella in cui non c'è alcuna reazione. La miscela di sintesi rimane, in questo caso, inalterata anche dopo 15 giorni di trattamento idrotermale in autoclave.

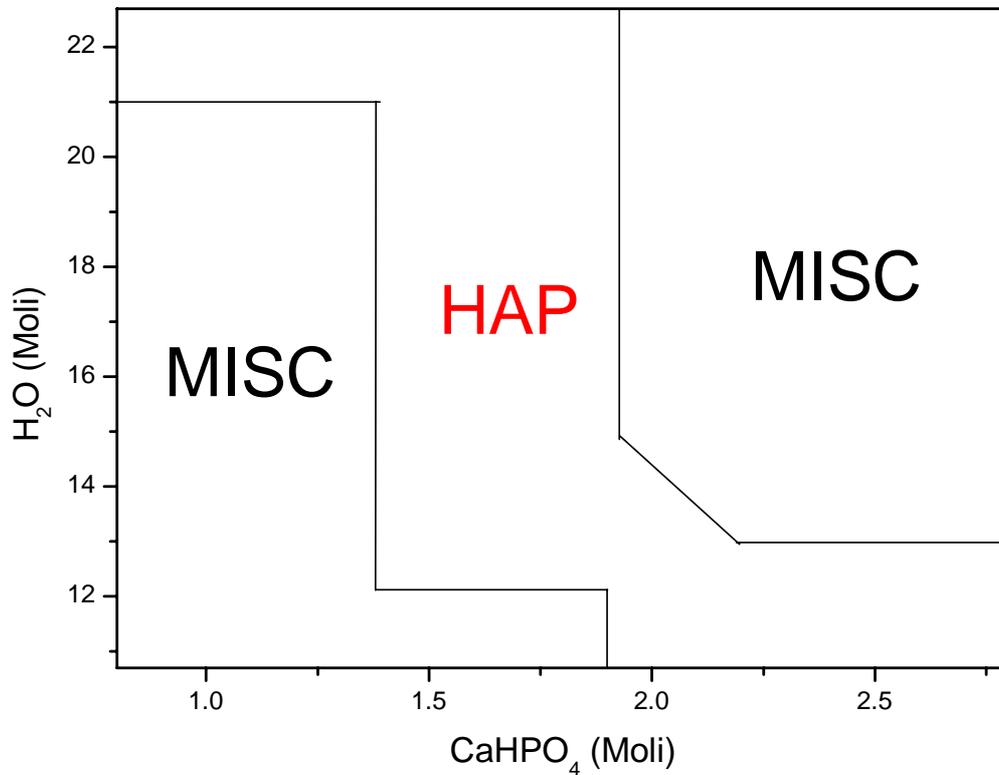


Fig.1: campo di cristallizzazione dell'HA in condizioni statiche.

La figura.2 riporta lo spettro a raggi X della miscela di sintesi essiccata. Lo stesso spettro si ottiene analizzando i punti non reagiti ed essiccati, evidenziati in figura 8.1 come MISC (miscela).

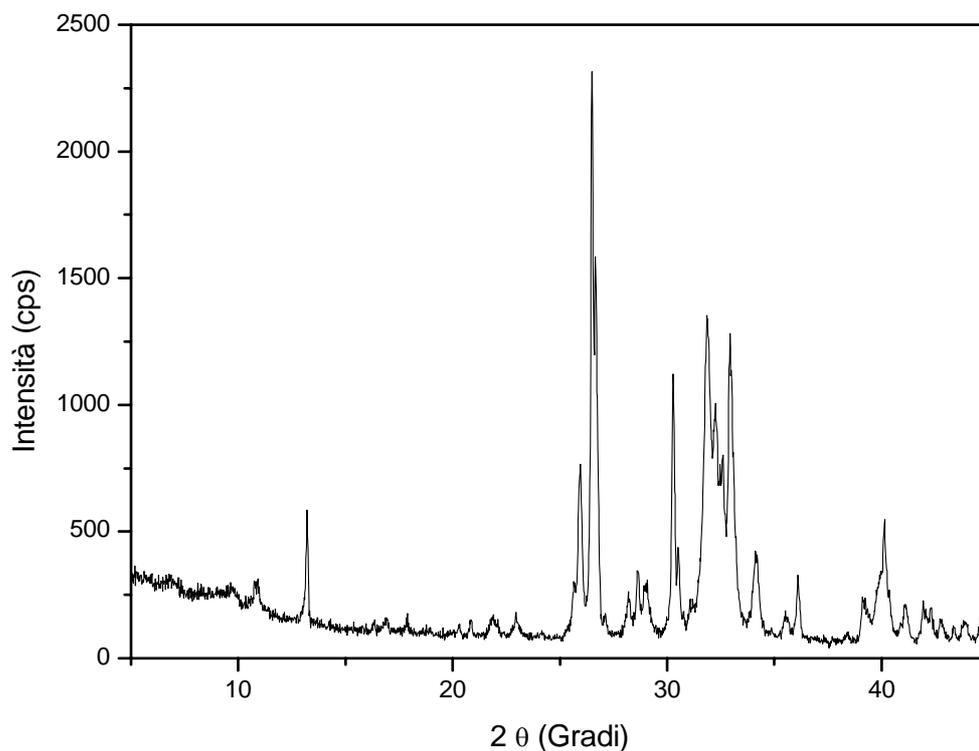


Fig.2: spettro RX della miscela di sintesi.

Lo spettro riportato in figura 2 rappresenta due fasi cristalline: HA_{com} e CaHPO_4 non reagiti. Il campo di cristallizzazione presenta la produzione di HAP a $1.8 \cdot 10^{-2}$ moli di CaHPO_4 e nel range 21.7-16.7 moli di H_2O , mentre per quantità più basse di acqua non si ottiene HA pura. A circa $2.2 \cdot 10^{-2}$ moli di CaHPO_4 si ottiene nuovamente HA pura, ma solo per bassi valori di H_2O . Questo è vero anche per il punto a circa $2.6 \cdot 10^{-2}$ moli di CAHPO_4 .

La figura.3, invece, riporta gli spettri di idrossiapatite commerciale (HA_{com}), idrossiapatite prodotta dalla Fin-ceramica Faenza (HA_{Fin}) e quella prodotta in questo studio (HA_S). La cristallinità delle due fasi HAP sintetiche (HA_{Fin} e HA) sono paragonabili, mentre quella commerciale (HA_{com}), utilizzata per innescare la reazione di cristallizzazione, risulta essere poco cristallina, con intensità minori e picchi molto meno sviluppati di quelli degli altri due campioni. Il pH iniziale si aggira intorno a 7, mentre l'acqua madre dopo la reazione è circa è intorno a 5-6 per valori più bassi di $CaHO_4$ e alti di H_2O , mentre è intorno a 3-4 per valori più bassi di acqua e alti per $CaHPO_4$ (Tab. 7.1). Insieme con i valori dei pH sono riportati quelli di cristallinità, il cui valore massimo è individuabile a $1.8 \cdot 10^{-2}$ moli di $CaHPO_4$ e 16.7 moli di H_2O .

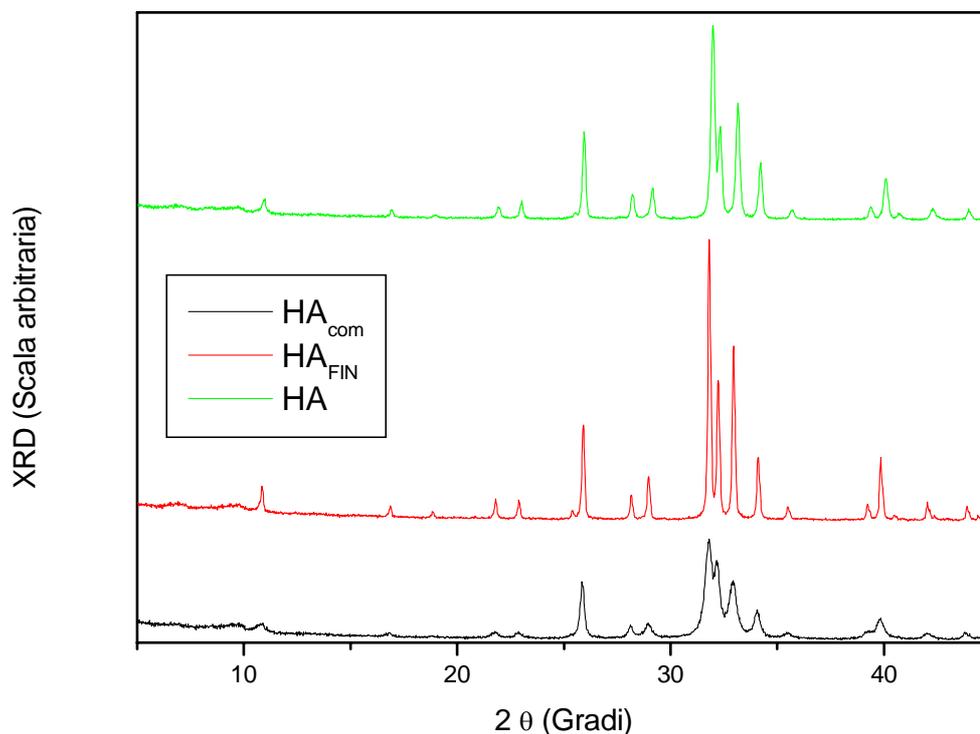


Fig.3: spettri di HA_{COM} , HA_{FIN} , HA messi a confronto.

Tab .1

| <i>CaHPO₄ (Moli)</i> | <i>H₂O (Moli)</i> | <i>pH_i</i> | <i>pH_f</i> | <i>Cristallinità (%)</i> |
|---------------------------------|------------------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------------|
| 1,4*10 ⁻² | 21,70 | 7,00 | 4,00 | 28,96 |
| 1,8*10 ⁻² | 16,70 | 7,00 | 5,00 | 74,41 |
| 1,8*10 ⁻² | 21,70 | 7,00 | 6,00 | 23,88 |
| 2,2*10 ⁻² | 11,70 | 7,00 | 3,00 | 26,79 |
| 2,6*10 ⁻² | 11,70 | 7,00 | 4,00 | 71,14 |

La figura .4 rappresenta, invece, il campo di cristallizzazione dell'HA in condizioni dinamiche. Le diverse condizioni di sintesi, modificano il campo di cristallinità. Infatti la zona d'interesse della idrossiapatite è più ampia, in funzione della quantità in moli di CaHPO₄ e di quella dell'acqua distillata. L'HA si ottiene nel range 1.4*10⁻² -1.8*10⁻² moli di CaHPO₄ e intorno a 16.7 e 21.7 moli di H₂O. Mentre si ottiene HA pura anche utilizzando 2.2*10⁻² moli di CaHPO₄ e 21.7 moli di H₂O. A 2.6*10⁻² moli di CaHPO₄ e 11.7 moli di H₂O si ottiene HA, come si era notato nella sintesi in condizioni statiche.

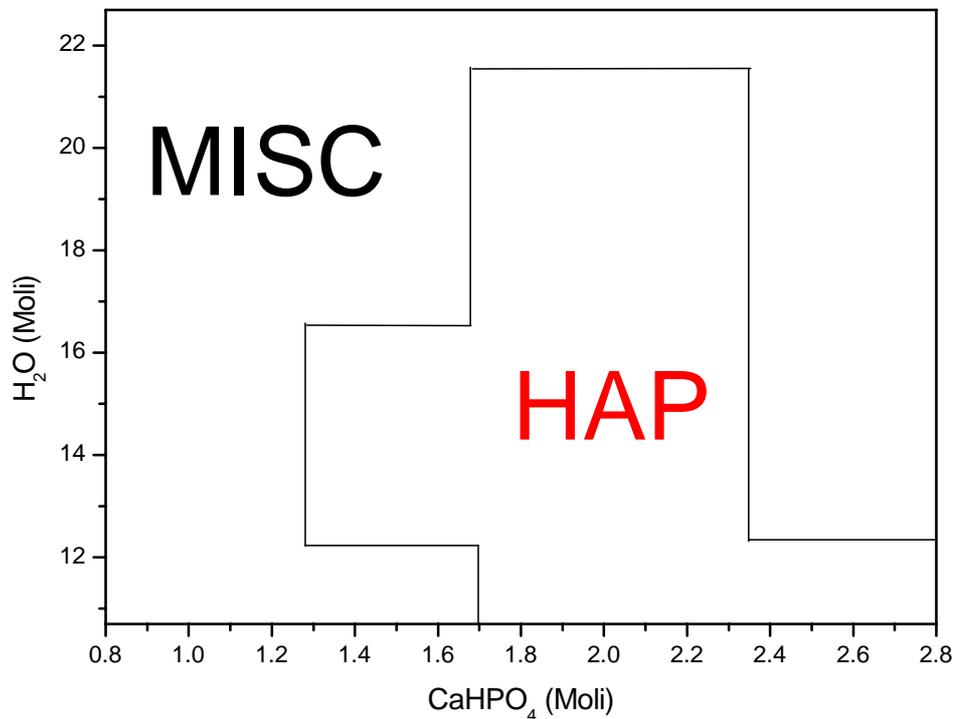


Fig..4: campo di cristallizzazione di HA in condizioni dinamiche.

La figura.5, infine riporta gli spettri a raggi X del campione di idrossiapatite ottenuto in condizioni dinamiche (HAP_D), sempre paragonato con quello della Fin-ceramica e quello dell'idrossiapatite commerciale. La tabella 2 riporta , invece, i valori di pH iniziali e finali dei prodotti più significativi di HAP in condizioni dinamiche.

Tab..2

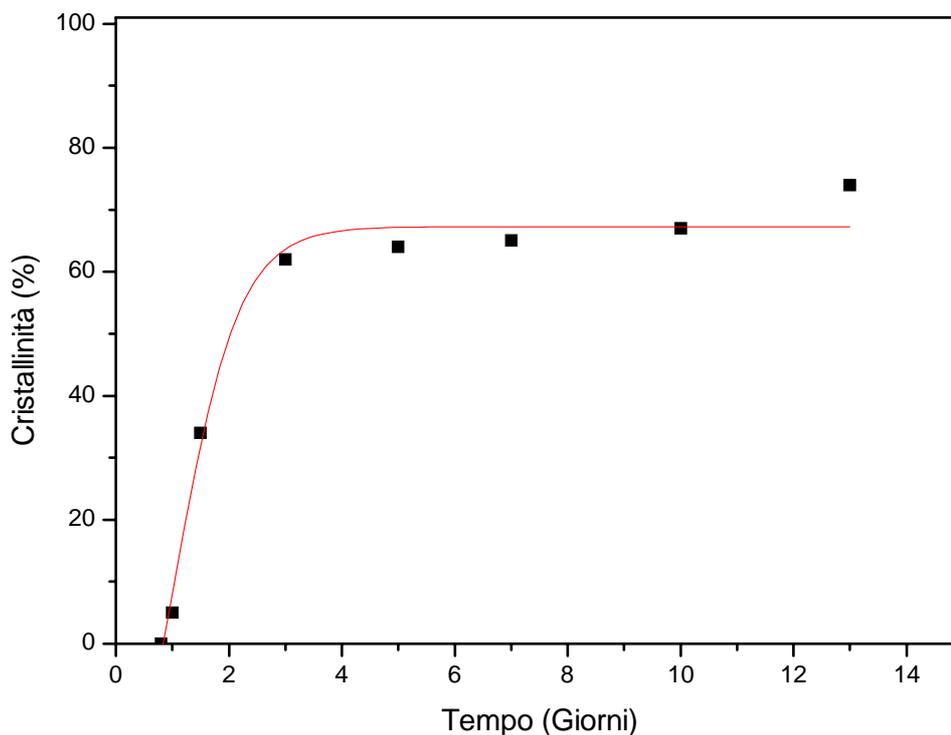
| $CaHPO_4$ (Moli) | H_2O (Moli) | pH_i | pH_f | Cristallinità (%) |
|------------------------------------|---------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 1,4*10 ⁻² | 16,70 | 7,00 | 4,00 | 49,07 |
| 1,8*10 ⁻² | 16,70 | 7,00 | 5,00 | 65,32 |
| 1,8*10 ⁻² | 21,70 | 7,00 | 4,00 | 43,30 |
| 2,2*10 ⁻² | 11,70 | 7,00 | 5,00 | 24,52 |
| 2,2*10 ⁻² | 21,70 | 7,00 | 5,00 | 29,14 |
| 2,6*10 ⁻² | 11,70 | 7,00 | 4,00 | 58,20 |

Le cose cambiano se si calcola il valore delle rese per ogni prodotto di HA ottenuto (in condizioni statiche e dinamiche). I valori di resa si mantengono costanti a parità di condizioni (statiche o dinamiche), ma sono comunque bassi. I prodotti ottenuti col metodo statico hanno una resa che si aggira intorno al 15% e intorno al 25% per quello dinamico.

6.3 Caratterizzazione cinetica dei prodotti di idrossiapatite in condizioni statiche e dinamiche

E' stato condotto uno studio cinetico sui campioni più rappresentativi. Questo studio è stato condotto sia per le fasi cristalline a condizioni statiche sia per quelle dinamiche. Le curve di crescita cristallina ottenute si presentano tutte di forma vagamente sigmoideale. I tempi di cristallizzazione variano in funzione delle quantità utilizzate nella miscela di sintesi iniziale. In **fig 1** è rappresentata la curva di cristallizzazione in funzione del tempo di sintesi del campione sintetizzato usando 1.8 moli di CaHPO_4 e 16.7 moli di H_2O .

Fig.6: curva di cristallizzazione per 1.8 moli di CaHPO_4 e



16.7 moli di H_2O

Come si può osservare dalla figura, la sintesi parte a circa 1 giorno e si stabilizza a circa il 65% di cristallinità, a 3 giorni circa. La reazione appena partita determina un aumento di cristallinità repentino, che poi si mantiene pressoché costante. Aumentando la quantità di H₂O, si osserva una drastica diminuzione di cristallinità, come si può osservare in **fig.2** in cui è rappresentata l'andamento della cristallinità in funzione del tempo di sintesi per la reazione con 1.8 moli di CaHPO₄ e 21.7 moli di H₂O.

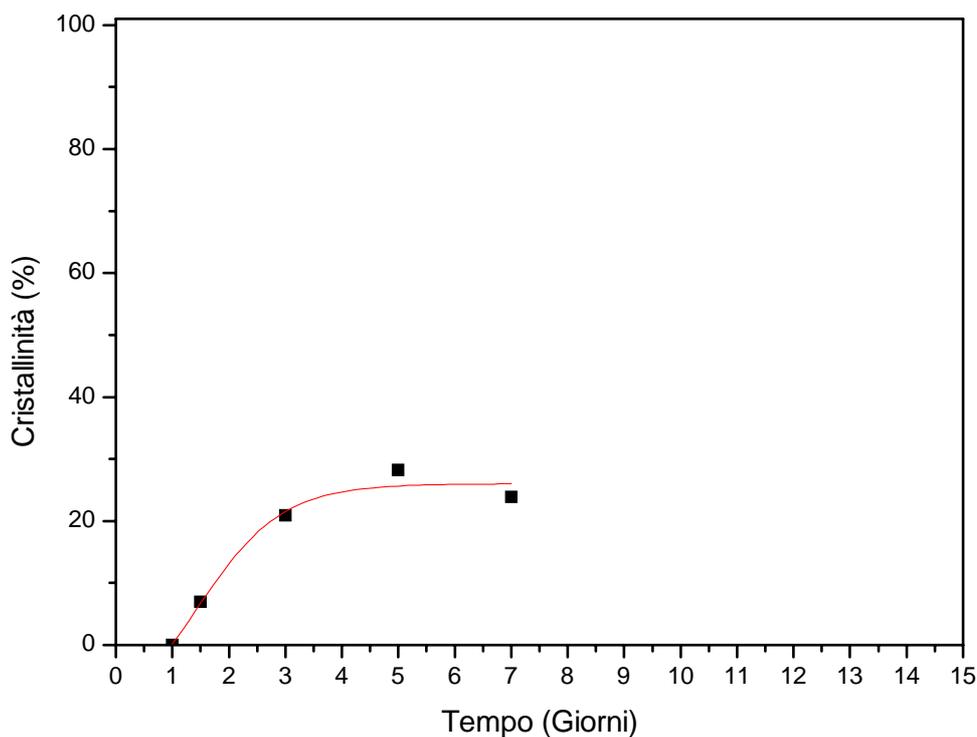


Fig.7: curva di cristallizzazione per $1.8 \cdot 10^2$ moli di CaHPO₄ e 21.7 moli di H₂O

La sintesi parte anche in questo caso intorno ad un giorno e si stabilizza a 3 giorni intorno al 25%. Variando la quantità di CaHPO_4 ($1.4 \cdot 10^{-2}$ moli) si ha un andamento analogo a quello precedente (**Fig 8**). Questo conferma che la reazione di cristallizzazione è funzione della quantità di H_2O utilizzata nella miscela iniziale.

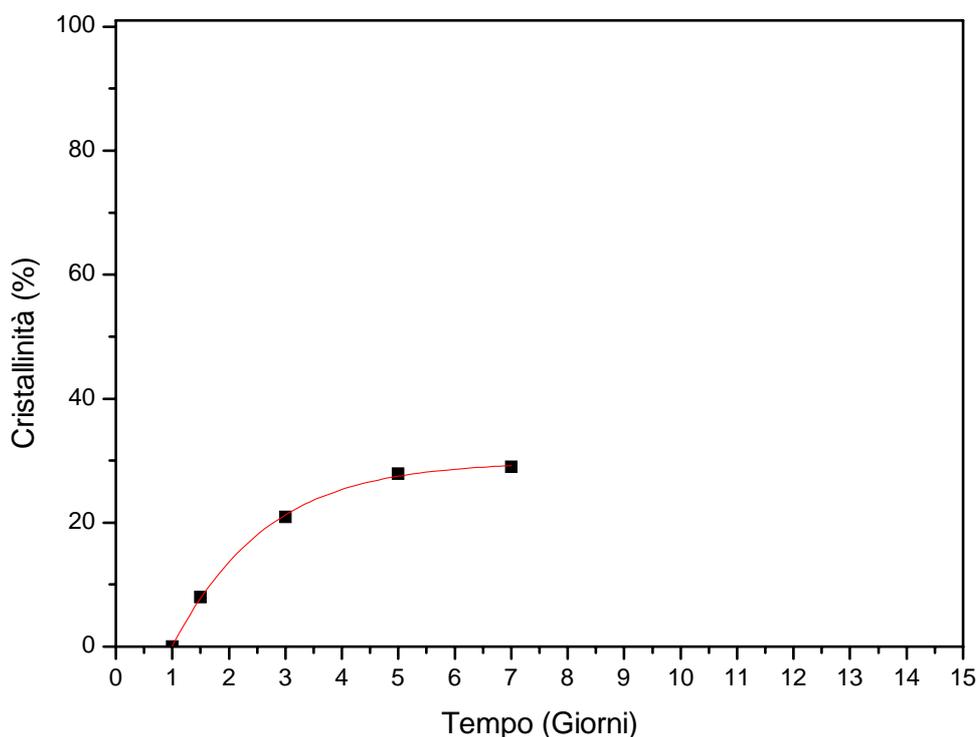


Fig.8 curva di cristallizzazione per $1.4 \cdot 10^{-2}$ moli di CaHPO_4 e 21.7 moli di H_2O

Ripetendo lo studio cinetico sulle sintesi condotte in condizioni dinamiche, si è arrivati a diverse considerazioni. La **fig.4** rappresenta l'andamento cinetico della sintesi condotta utilizzando $1.8 \cdot 10^{-2}$ moli di CaHPO_4 e 16.7 moli di

H₂O. La sintesi parte, come nei casi a condizioni statiche, intorno ad un giorno e si stabilizza a circa 5 giorni intorno al 65% di cristallinità.

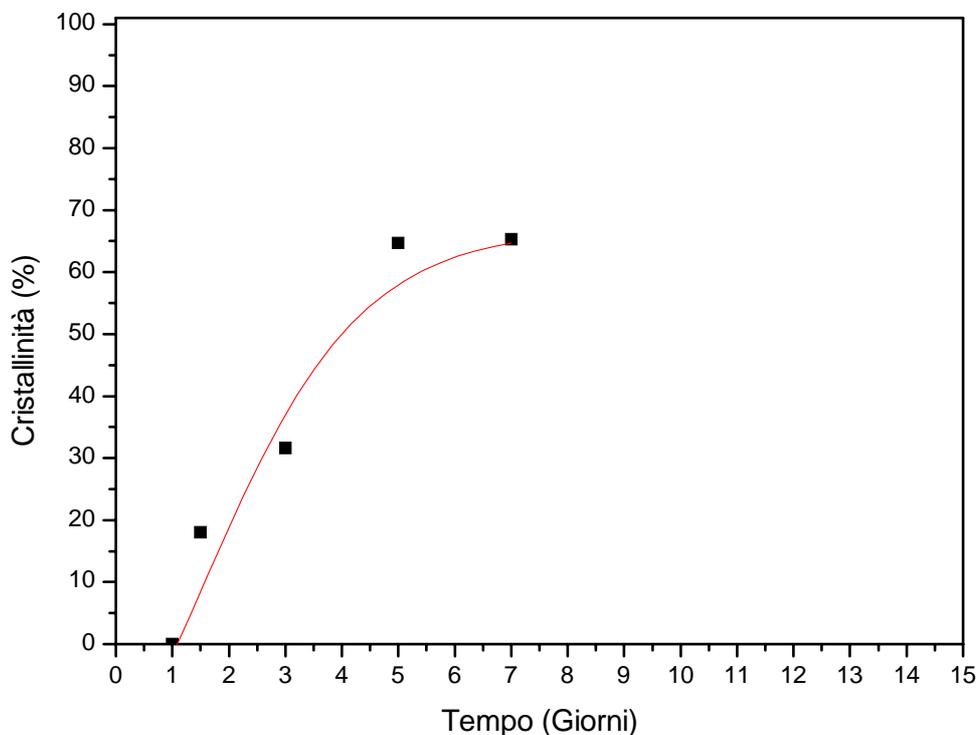


Fig.9: curva di cristallizzazione per $1.8 \cdot 10^{-2}$ moli di CaHPO_4 e 16.7 moli di H_2O

Variando la quantità dell'acqua (21.7 moli di H₂O) si ottiene, invece, una curva cinetica che raggiunge una cristallinità di circa il 50% a tempi un po' più ritardati (6 giorni circa). A $1.4 \cdot 10^{-2}$ moli di CaHPO₄ si ha un andamento analogo a quello precedente (**Fig..5**). In questo caso la dipendenza della cinetica dalla quantità dell'acqua non è evidente.

Le condizioni dinamiche tendono, quindi, a stabilizzare la percentuale cristallina intorno al 50 %.

Diventa, allora, più importante la quantità in moli del CaHPO_4 . Aumentandone le quantità si osserva un aumento della percentuale cristallina

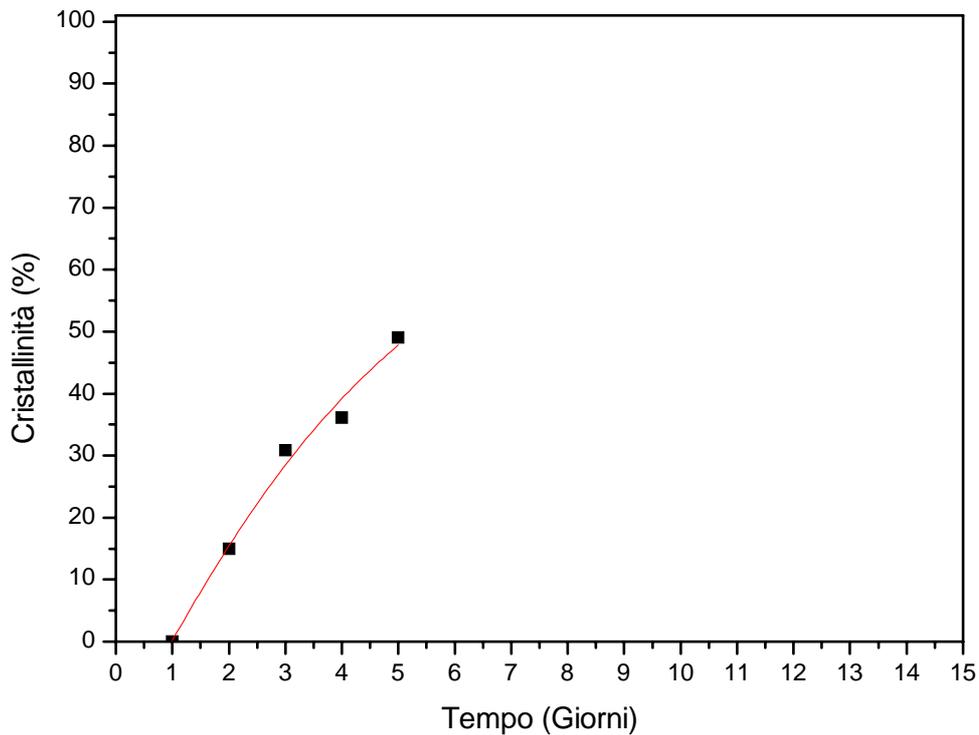


Fig.10: curva di cristallizzazione per $1.4 \cdot 10^{-2}$ moli di CaHPO_4 e 16.7 moli di H_2O

6.4 Microscopia elettronica a scansione e microanalisi (EDS)

Le polveri di HA, la pasticca, il campione fornito dalla Fin-Ceramica Faenza e la polvere di HA commerciale della Aldrich, sono state caratterizzate attraverso l'analisi al microscopio elettronico a scansione, e sottoposti a microanalisi al fine di mettere in evidenza le caratteristiche morfologiche, dei diversi campioni, e comparare il rapporto Ca/P.

In *fig.11* viene mostrata il campione di HA della Fin-ceramica Faenza.

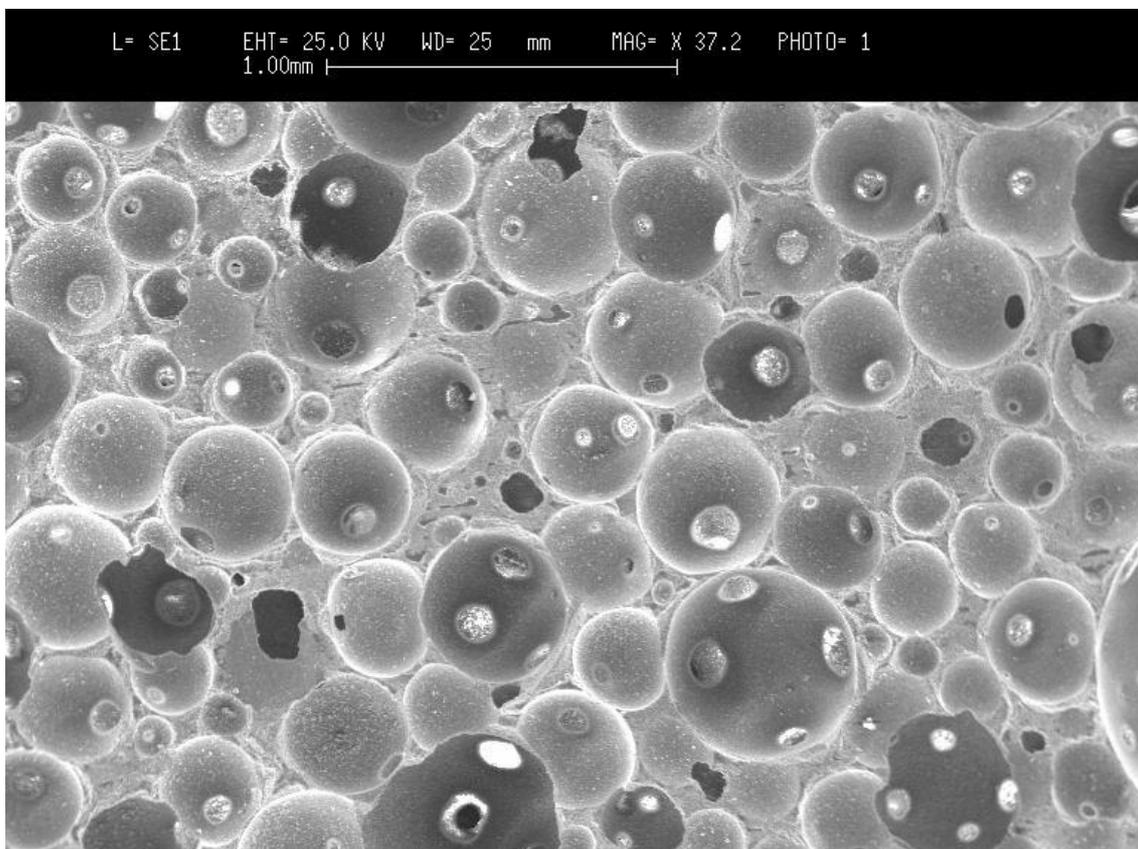


Fig.11: microfotografia di un provino di HA della Fin-ceramica.

In questa immagine sono ben evidenti i macropori, presenti sotto forma di bolle. L'interconnessione dei macropori facilitano l'accrescimento del nuovo

tessuto osseo, in quanto viene mimata la struttura dell'osso, ingannando gli osteoblasti, i quali colonizzano i pori [101].

Nella **fig.12** viene mostrata la parte interna della pasticca HA prodotta in questo studio. Il prodotto di sintesi che è stato utilizzato per creare la pasticca è quello ottenuto da $1.8 \cdot 10^{-2}$ moli di CaHPO_4 e 16.7 moli di acqua a condizioni dinamiche. Solo questo campione ha fornito simultaneamente alti valori di resa e di percentuale cristallina. In figura 5, quindi, si possono notare la presenza di aggregati di forma sferica in presenza di interconnessioni, probabilmente l'inizio della formazione dei pori. Molto probabilmente la differenza morfologica con la pasticca della Fin-ceramica è funzione della diversa procedura di sintesi a cui vengono sottoposti i campioni.

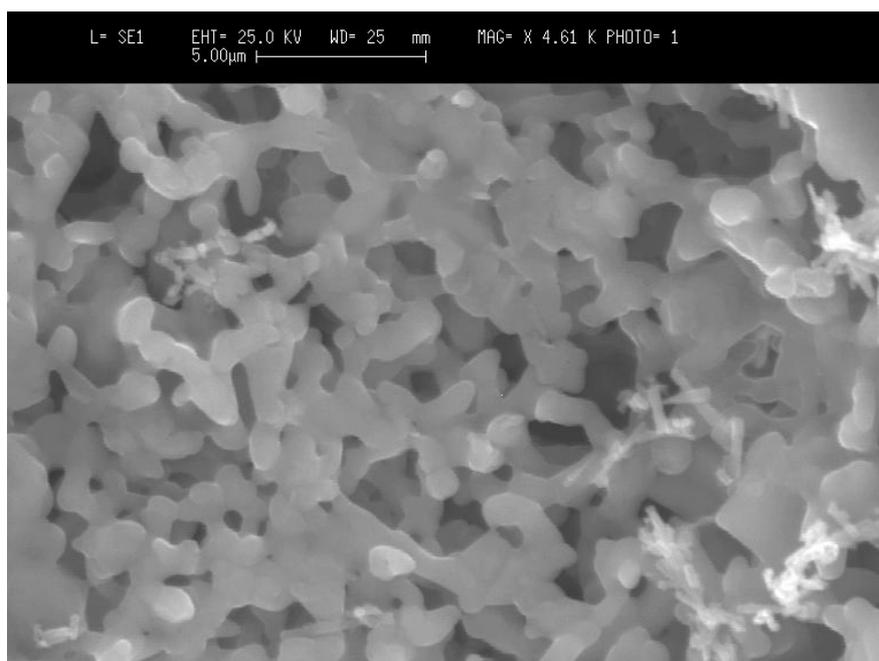


Fig.12: microfotografia di un campione di HA sintetico.

Nelle seguenti figure vengono messe a confronto le polveri dei vari campioni: HA sintetizzata in condizioni statica e HA sintetizzata in condizione dinamica.

Si osserva una diversa morfologia, infatti la forma dei cristalli e il grado di aggregazione è diversa.

Si può osservare come le dimensioni e la morfologia dei cristalli sia diversa. La figura.13 ($1.8 \cdot 10^{-2}$ moli di CaHPO_4 e 16.7 moli di H_2O) mostra numerosi cristalli eterogenei aggregati fra loro prodotti in condizioni statiche, aventi dimensioni maggiori rispetto ai cristalli mostrati in figura 14 e ottenuti in condizioni dinamiche.

E' importante notare come si noti una forma aghiforme nel campione ottenuto in condizioni dinamiche. Questa morfologia è stata riportata anche da Seckler et al [100].

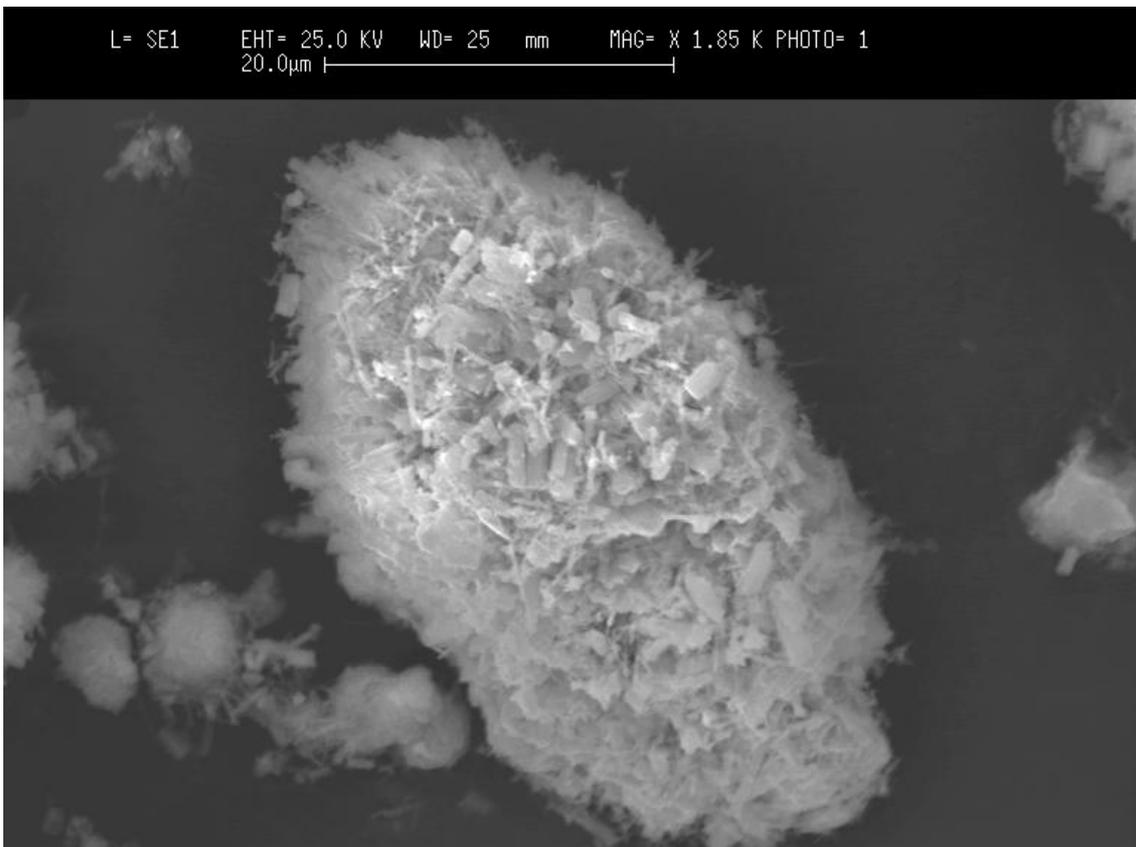


Fig.13: microfotografia di polvere di HA sintetizzata a 13 giorni.

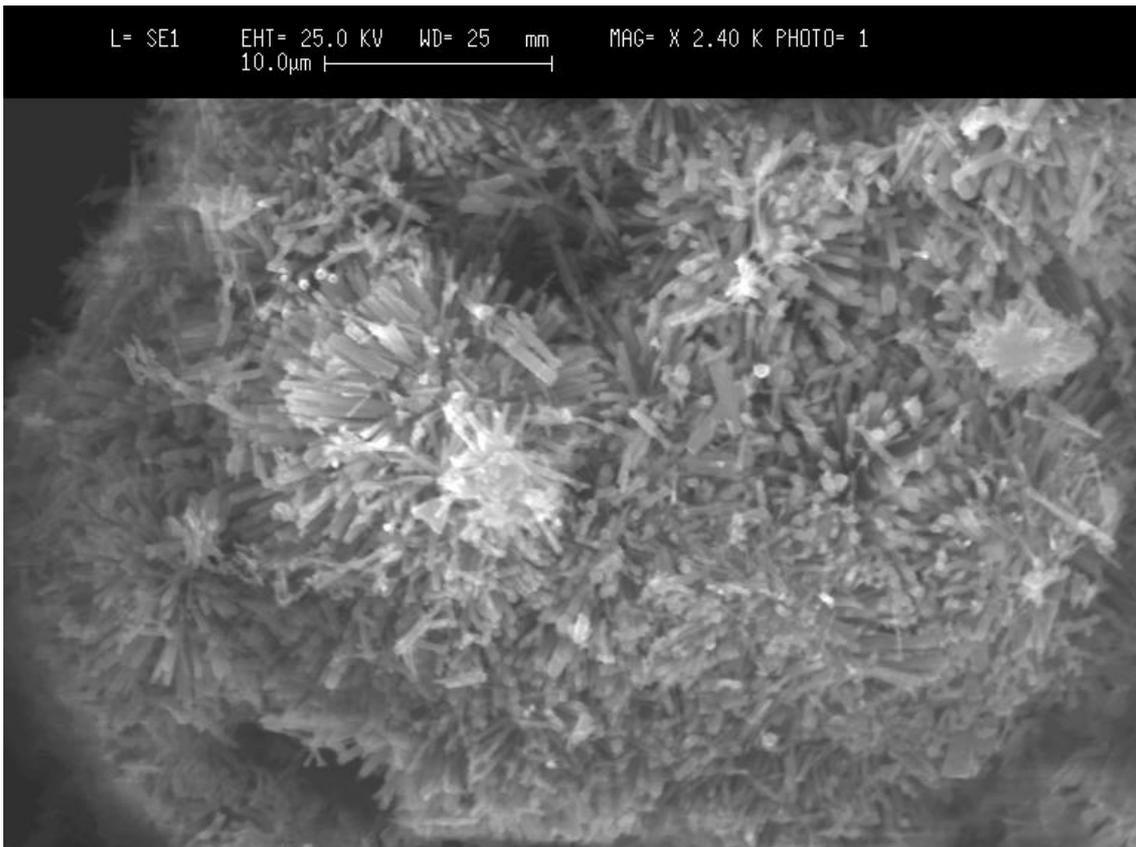


Fig.14: microfotografia di polvere di HA sintetizzata 2 giorni.

Qui di seguito sono mostrate le microfotografie di polveri di HA ottenute in condizioni statiche e dinamiche,. In questo caso le quantità dei reagenti di partenza sono state variate. Sono state prese in considerazione la polvere ottenuta con $1,4 \cdot 10^{-2}$ moli di CaHPO_4 e 21,7 moli di H_2O (condizioni statiche e dinamiche), e la polvere ottenuta con $2,2 \cdot 10^{-2}$ moli di CaHPO_4 e 21,7 moli di H_2O (in condizioni statiche e dinamiche). Le figure 5 e 6 mostrano le microfotografie dei campioni di HA sintetizzati in condizioni statiche e dinamiche, rispettivamente ($1,4 \cdot 10^{-2}$ moli di CaHPO_4 e 21,7 moli di H_2O).

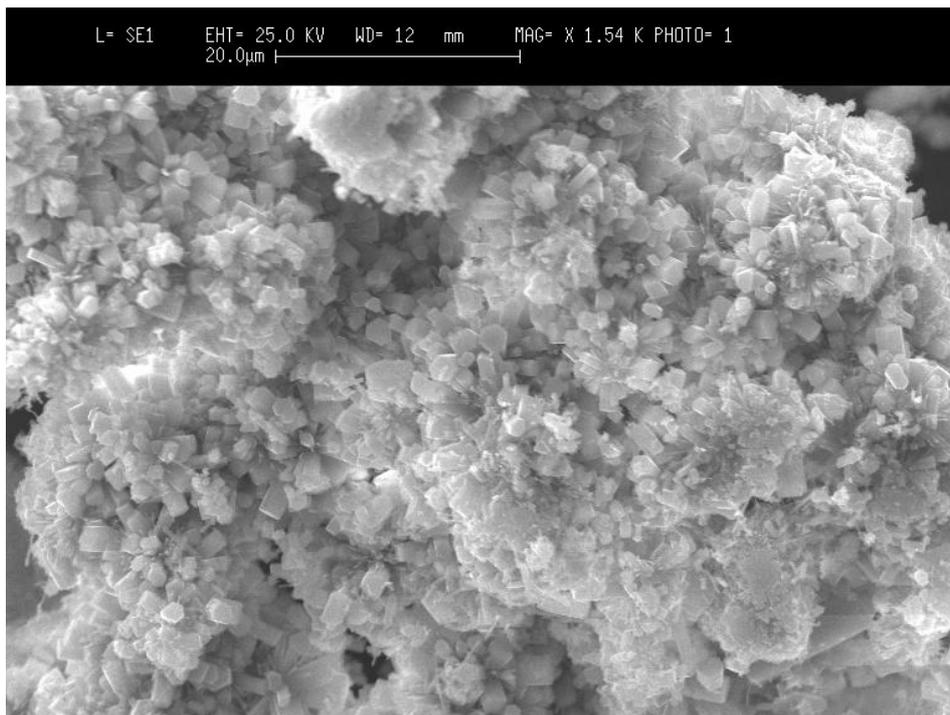


Fig.15: micrografia di HA sintetica (condizioni statiche)

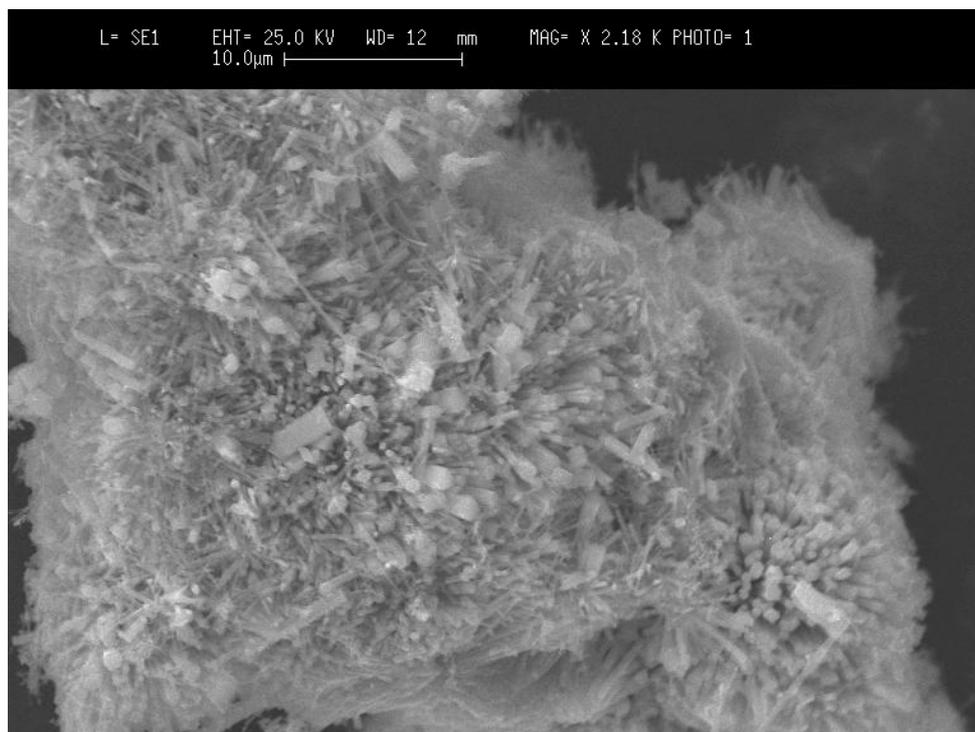


Fig .16: microfotografia di polvere di HA sintetica (condizioni dinamiche).

Si osserva una differente morfologia dei cristalli più omogenei e compatti nella prima, eterogenei nella seconda foto. La differenza molto probabilmente dipende dalle diverse condizioni di sintesi a cui vengono sottoposti i campioni. Le figure 17 e 18 mostrano invece le microfotografie di HA sintetizzata sempre in condizioni statica e dinamica, ma con diverse moli, $2,2 \cdot 10^{-2}$ moli di CaPO_4 e 21,7 moli di H_2O .

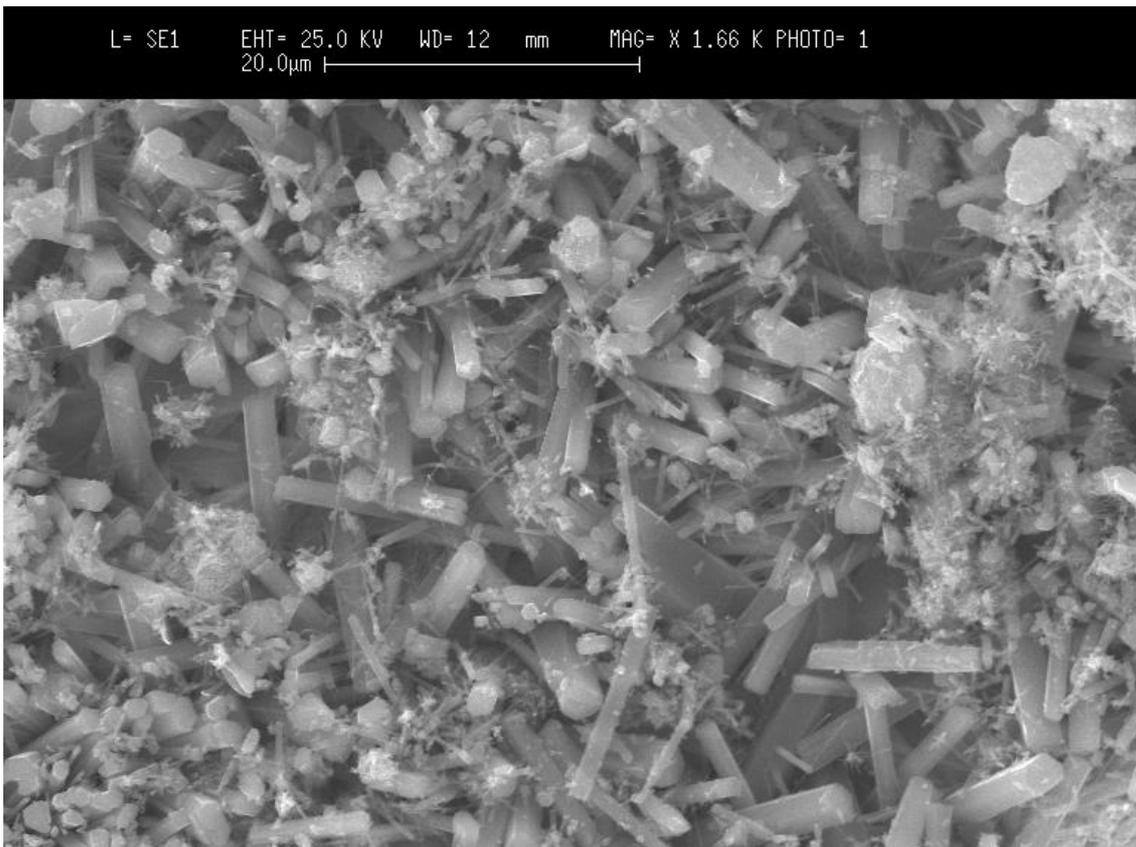


Fig.17: micrografia di HA sintetica (condizioni statiche)

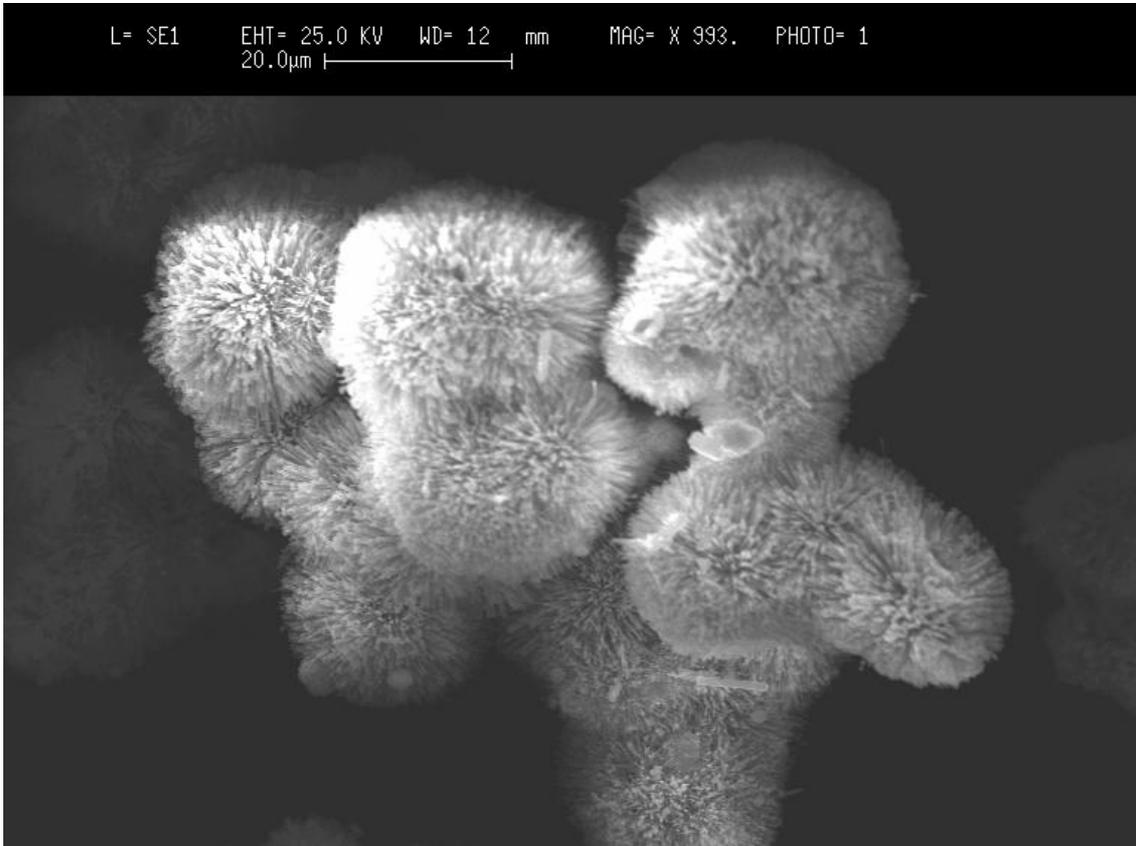


Fig.18: micrografia di HA sintetica (condizioni dinamiche)

Come si può notare la morfologia aghiforme è solo prodotta da sintesi condotte a condizioni dinamiche. A questo punto si può parlare di forme peculiari in funzione delle condizioni statiche o dinamiche.

Dai riportati in tabella si nota che il rapporto Ca/P si mantiene intorno ai valori ottimali, per le polveri sintetizzate in condizioni statiche, mentre per le polveri ottenute in condizioni dinamiche presentano un rapporto Ca/P più alto.

Nella seguente tabella vengono riportati i valori ottenuti dalla microanalisi, mettendo in evidenza il rapporto Ca/P dei diversi campioni.

Tabella .3

| Campioni | Ca | □ Ca | P | □ P | Mg | □ Mg | Ca/P |
|---|-----------|-------------|----------|------------|-----------|-------------|-------------|
| Fin-ceramica | 27,60 | 0,13 | 17,59 | 0,102 | 0,308 | 0,057 | 1,57 |
| HA commerciale | 26,80 | 0,064 | 17,96 | 0,057 | / | / | 1,49 |
| Ha(statica) CaHPO ₄ 1,8*10 ⁻² e H ₂ O 16,7 moli | 27,74 | 0,083 | 16,90 | 0,067 | / | / | 1,64 |
| Ha(statica) CaHPO ₄ 1,4*10 ⁻² e H ₂ O 21,7 moli | 25,71 | 0,116 | 17,85 | 0,098 | / | / | 1,44 |
| Ha(statica) CaHPO ₄ 2,2*10 ⁻² e H ₂ O 21,7 moli | 20,11 | 0,144 | 12,16 | 0,104 | / | / | 1,65 |
| HA(dinamica) CaHPO ₄ 1,8*10 ⁻² e H ₂ O 16,7 moli | 21,83 | 0,142 | 11,63 | 0,098 | / | / | 1,9 |
| HA(dinamica) CaHPO ₄ 1,4*10 ⁻² e H ₂ O 21,7 moli | 35,05 | | 19,00 | | / | / | 1,8 |
| HA(dinamica) CaHPO ₄ 2,2*10 ⁻² e H ₂ O 21,7 moli | 26,24 | 0,179 | 18,40 | 0,147 | / | / | 1,4 |

Capítulo 7

7.1 FORMAZIONE DI SCAFFOLD A BASE DI IDROSSIAPATITE POPROSA

Dopo aver stabilito i parametri ottimali per la procedura di sintesi al fine di ottenere un prodotto quanto più simile alla componente minerale del tessuto dentale e tessuto osseo, si è continuati nella ricerca con la progettazione di scaffold, tale da riprodurre l'architettura del tessuto osseo, utilizzando degli agenti porizzanti (quali collagene)

Successivamente sono stati preparati dei provini a base di HA e un composto organico o inorganico, utilizzato come agente porizzante. Per quanto riguarda il composito formato da HA-precipitazione è stato utilizzato come agente porizzante il collagene.

Per quanto riguarda il composito formato da HA-precipitazione è stato utilizzato come agente porizzante il collagene tipo IV (Sigma-aldrich), mentre per il provino formato con HA-idrotermale è stato utilizzato il carbonato di stronzio, ottenendo morfologie e porosità differenti (come riportato in tabella 3), dovute principalmente ai diversi agenti porizzanti. Dai valori riportati in tabella si può notare come all'aumentare della porosità si ha una diminuzione della densità, dovuto naturalmente al maggior grado di vuoto ottenuto durante il processo di formazione dei provini.

| Campioni | Porosità (%) | Densità (g/ml) |
|-------------------|--------------|----------------|
| HA-precipitazione | 47,48 | 2,30 |
| HA-idrotermale | 8,97 | 2,44 |

Tab. 3. Dati di porosità di HA ottenute con diversi metodi di sintesi.

In Figura 19 si può osservare la particolare morfologia di due provini ottenuti in condizioni diverse. Di seguito sono riportati gli scaffold preparati in laboratorio.

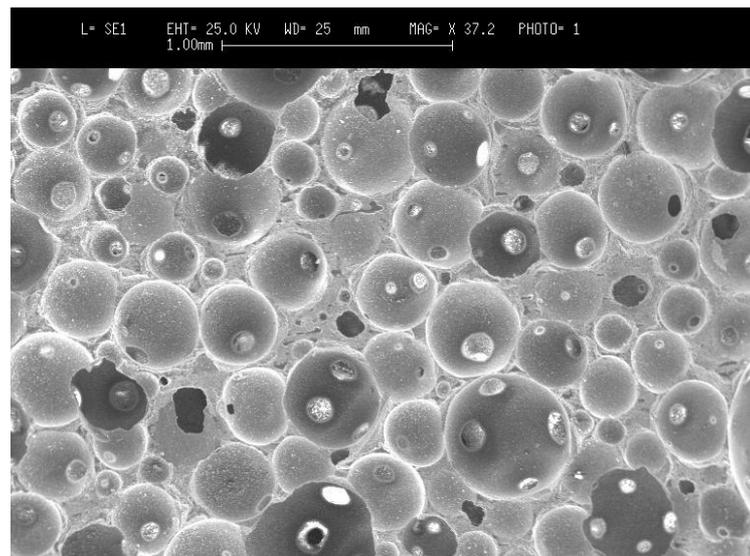
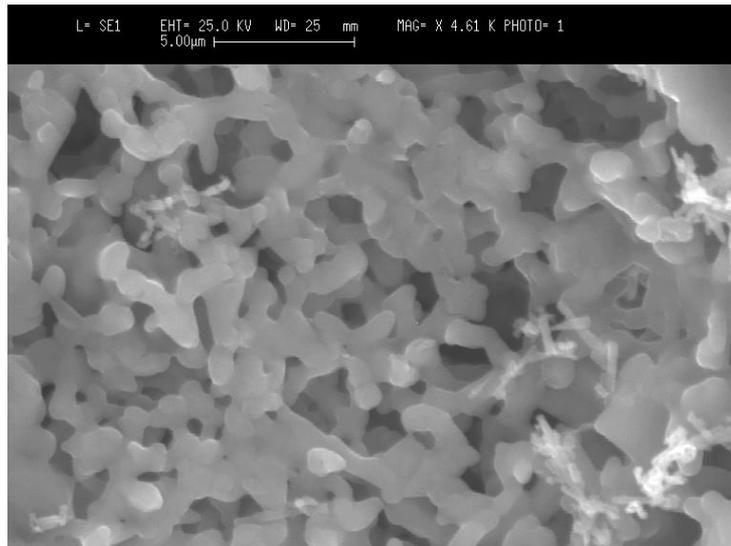


Fig.19 a,b Reazione idrotermale

Qui di seguito si può osservare la particolare morfologia di due provini ottenuti in condizioni diverse. Di seguito sono riportati gli scaffold preparati in laboratorio.

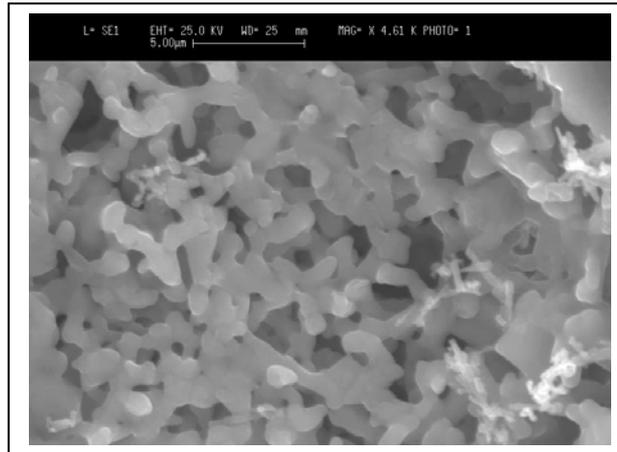


Fig.20 Reazione idrotermale

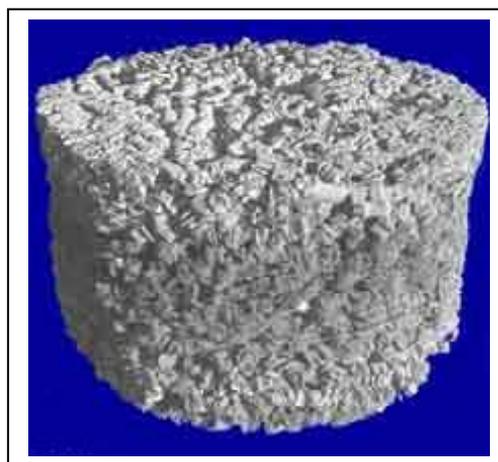


Fig 21 Scaffold preparato con la polvere sintesi idrotermale

Fig4. Micrografie rappresentanti HA-precipitazione (a) e un provino industriale (b) considerato come controllo .

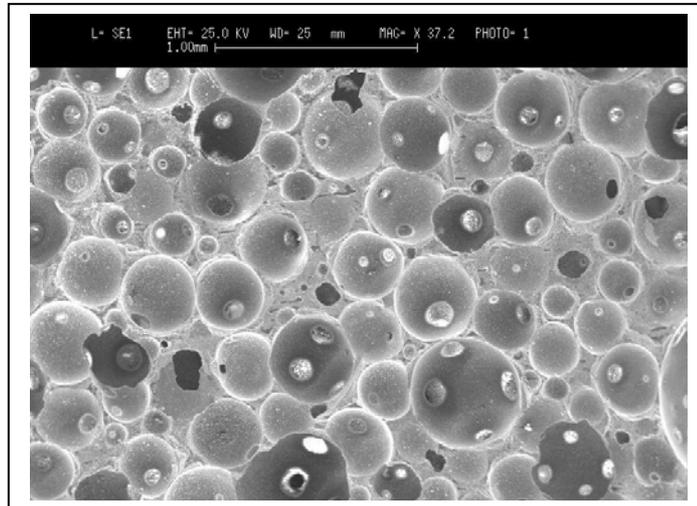


Fig.22 Reazione Precipitazione



Fig.23 Scaffold preparato con la polvere di precipitazione

Concludendo si può dire che la procedura più consona a produrre idrossiapatite sintetica è quella di precipitazione, infatti si ha una resa maggiore rispetto a quella idrotermale, la cristallinità è leggermente maggiore e i dati di porosità sono di gran lunga migliori. Quest'ultimo dato è anche funzione del diverso agente porizzante utilizzato. Il rapporto Ca/P è però diverso rispetto a quello della HA utilizzata come standard.

7.2 Formazione di compositi a base di idrossiapatite e collagene

Il collagene di tipo I utilizzato per la preparazione dei compositi, è stato fornito dall'azienda Aldrich come sospensione omogenea all'1% in Col ottenuta per aggiunta di una soluzione acquosa di acido acetico allo 0,3%.

L'origine di tale collagene è ovviamente di origine animale e più precisamente viene estratto dal tendine di cavallo, purificato da ogni tipo d'impurezza, quali sali minerali, batteri e telopeptidi e quindi disperso.

Il composito è stato ottenuto miscelando cristalli d'idrossiapatite (HA) precedentemente sintetizzati e caratterizzati, con la soluzione acquosa acetica di collagene (Col) e quindi disidratato per liofilizzazione o essiccazione all'aria. I cristalli di HA sono stati ottenuti con una tecnica di precipitazione per neutralizzazione, partendo da una sospensione acquosa di $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ed aggiungendo lentamente una soluzione acquosa di H_3PO_4 . La temperatura di reazione è mantenuta tra i 40-50°C in modo da ottenere HA con un grado di cristallinità nell'ordine del 45-55%.⁹

Con questo metodo è stato possibile ottenere compositi con diverso rapporto percentuale delle fasi che sono stati caratterizzati dal punto di vista cristallografico per mezzo di un diffrattometro ai raggi X per analizzare la fase cristallina.

Un altro tipo d'analisi a cui sono stati sottoposti i composti è di tipo termogravimetrico, attraverso la quale si registrano le variazioni di peso del campione

In funzione della temperatura a cui sono sottoposti.

Il collagene di tipo I impiegato nelle sintesi, è costituito per oltre un terzo degli aminoacidi totali da glicina e per un 20% circa da prolina e idrossiprolina.

Le fibre di collagene si auto-assemblano, formando un network caratterizzato da un'ampia distribuzione di pori che si può osservare dalla foto al SEM (**fig.25**) di un campione ottenuto disidratando la soluzione di collagene attraverso un processo di liofilizzazione.

Il diagramma ottenuto dall'analisi termogravimetrica del collagene liofilizzato (**fig.26**), mostra tre diversi processi termici dovuti: il primo, compreso tra i 25-125°C, alla perdita d'acqua, il secondo, tra 250-500°C, alla decomposizione delle molecole di collagene, subito seguito da una lieve perdita di peso dovuta alla combustione dei residui della componente organica e compresa tra i 550-900°C.

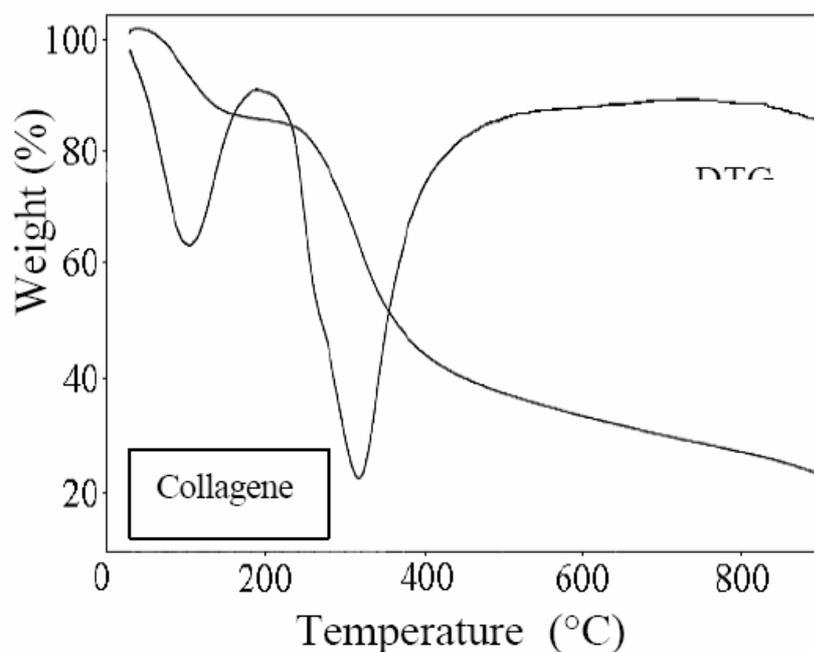


Fig. 26 analisi termogravimetrica del collagene

Composito HA/Collagene disperso

L'immagine ottenuta dall' SEM (**fig.27**) mostra la morfologia del composito idrossiapatite/collagene disperso (HA/Col_{disp}) che replica la struttura porosa del solo Col liofilizzato.

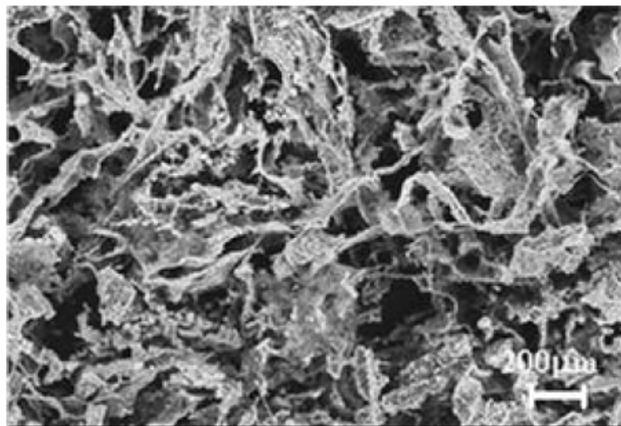
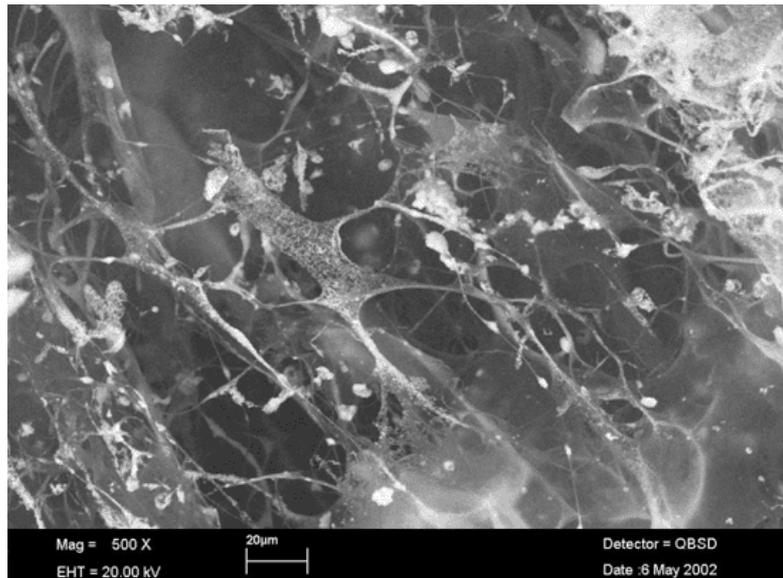
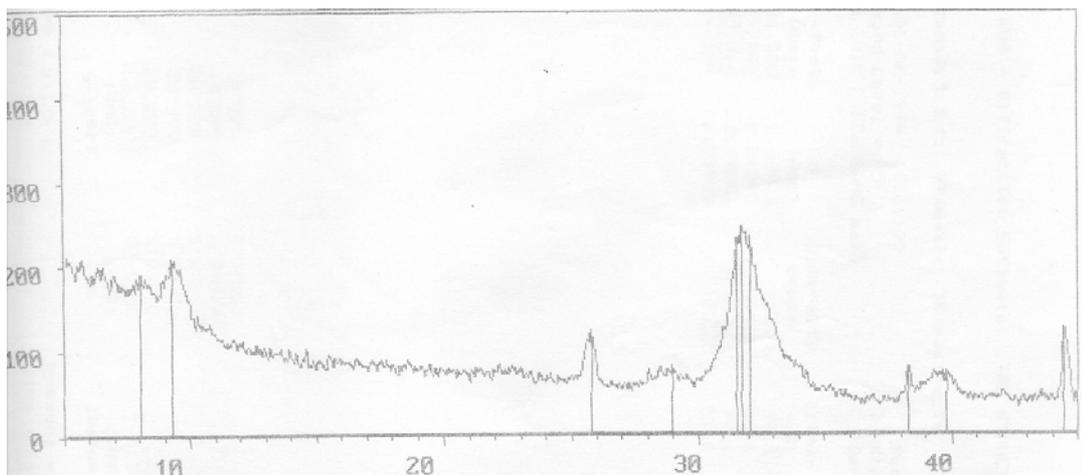


Fig.27 Composito a base di HA e collagene

I cristalli di HA, come mostra la foto ottenuta dal microscopio elettronico a scansione (SEM) (**fig.28**), risultano depositati sulle fibre di collagene e accresciuti senza un'orientazione preferenziale.



Un'ulteriore conferma di questa “non orientazione” ci viene data dallo spettro di diffrazione ai raggi X (**fig.30**): mentre dallo studio del tessuto osseo naturale, è possibile dimostrare un allineamento dell'asse-c dei cristalli di HA, gli spettri ottenuti da questo composito non mettono in evidenza alcuna orientazione preferenziale di tale asse cristallografico.



Capitolo 8
Applicazioni

Utilizzo dell'Idrossiapatite per formazione di scaffold come dispensatori di farmaci

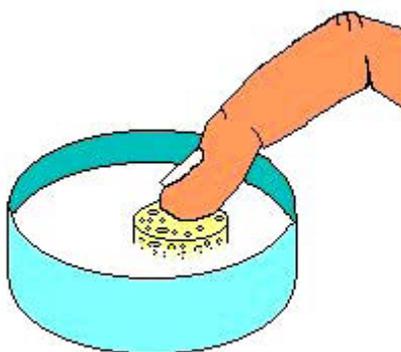
Preparazione delle pasticche di ha

Stabilite le condizioni ottimali per ottenere un prodotto che rispecchia le caratteristiche della componente minerale dell'osso, si è passati alla progettazione di dispensatori di farmaci antinfiammatori, al fine di garantire una costante

Sono state preparate delle pasticche di HA del diametro medio di 1 cm mediante la miscelazione di 2 gr di idrossiapatite con circa 1ml di H₂O distillata (barbottina), tale miscela è stata posta in una piastra Petri su cui vengono adagiati dei cilindri di spugna naturale. Procedendo così con il processo di imbibizione. Successivamente i cilindri di cellulosa e HA vengono posti in forni ventilati a 190°C per far evaporare l'acqua in eccesso, successivamente vengono posti in dei calcinatori ad una temperatura 1200 °C dove subiranno il processo di sinterizzazione, dove verrà eliminata la fase organica. Alla fine del ciclo termico si otterranno pasticche di HA sinterizzata, come positivo della spugna cellulosica. La cellulosa verrà completamente trasformata in H₂O e CO₂ e le pasticche ottenute mostreranno una certa porosità.

Imbibizione dei precursori spugnosi di cellulosa

Da un foglio di cellulosa pura (spugna compressa di fornitura commerciale "Spontex") si tagliano dei dischetti, che andranno poi idratati in H₂O distillata. Nel processo di idratazione essi si rigonfieranno in altezza dando origine ad un cilindretto 15 x 13 mm (altezza x diametro), che, dopo essiccazione, verrà tagliato in 3 pasticche. Si procede poi all'imbibizione delle pasticche con la barbottina di HA.

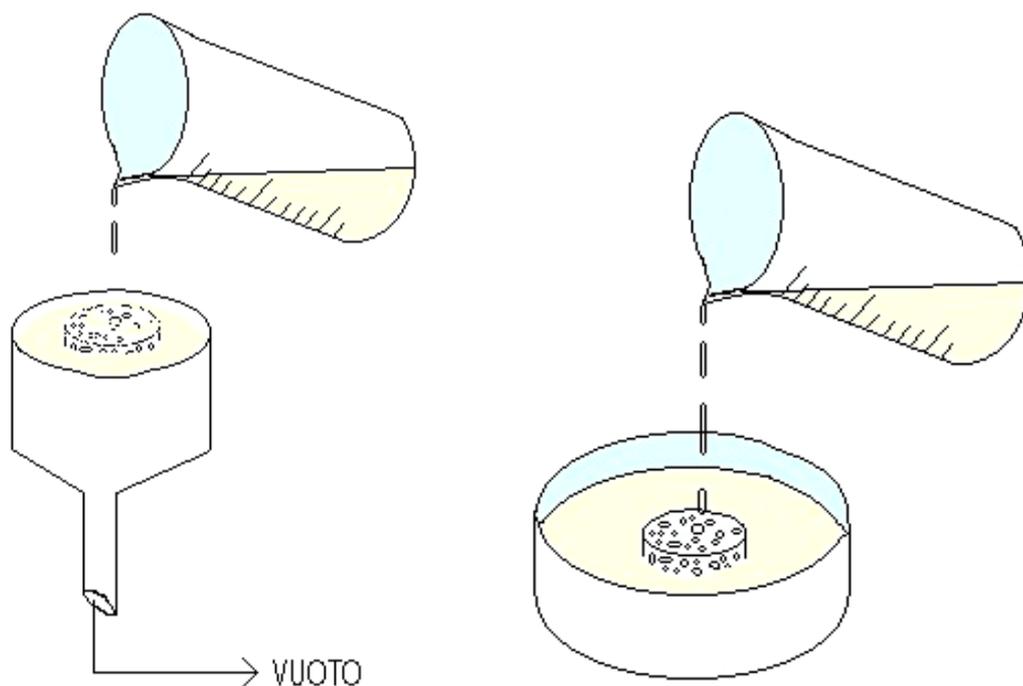


Procedimento di impregnazione delle pasticche di ha con il farmaco

Le pasticche di HA e farmaco vengono preparate secondo due procedimenti, il primo e quello di miscelare 2 gr di idrossiapatite con 200 mg di mesulid (farmaco antinfiammatorio). Il secondo metodo invece prevede il posizionamento delle pasticche di HA in all'interno di un imbuto su beuta codata collegata ad un sistema per il vuoto. Esse vengono poi ricoperte per 3 volte con soluzione di farmaco in acqua (alla % stabilita) facendo passare grazie al vuoto la soluzione attraverso le porosità dell'HA. Effettuata questa operazione si procede alla deposizione della soluzione di gelatina sopra alla pasticca, all'interno di un Petri, di circa 2- 3 mm. Si lascia essicare la soluzione all'aria per un'ora circa.

Tutto ciò è stato fatto per verificare:

- ◆ quale sia il metodo di adsorbimento ottimale;
- ◆ l'influenza della % di porosità delle pasticche sulla percentuale di farmaco adsorbito;
- ◆ penetrabilità del farmaco all'interno dei pori dell'HA.



Abbiamo preparato 3 pasticche di HA con il farmaco Mesulid e 3 pasticche di HA Mesulid e nanotubi. Si pesano 2 gr di HA ed abbiamo aggiunto 0.15 gr di farmaco , 2 gr di HA e 0.25 gr di farmaco e 2 gr di HA e 0.50 gr di farmaco si aggiungono poche gocce di acqua distillata e si pressano ottenendo così le 3 pasticche. Ciascuna pasticca viene messa in un beaker contenente 20 ml di acqua distillata e lasciati per un tempo che va da 30 min. 1 h e 2 h. Si ha il rilascio di un liquido di colore giallo più o meno intenso. Il tutto viene posto in un imbuto su beuta codata collegata ad un sistema per il vuoto; recuperato il liquido viene sottoposto ad analisi spettrofotometriche per vedere se, ed eventualmente in che concentrazione, è stato rilasciato il farmaco. Lo stesso procedimento viene fatto aggiungendo all' HA e alla mesulid 0.096 gr di nanotubi.

| Campioni | HA | Mesulid | Nanotubi | Tempo |
|-----------------|-----------|----------------|-----------------|--------------|
| Campione 1 | 2 gr | 50 gr | | 2 ore |
| Campione 2 | 2 gr | 0.15 gr | | 1 ora |
| Campione 3 | 2 gr | 0.25 gr | | 30 minuti |
| Campione 4 | 2 gr | 0.50 gr | 0.096 gr | 2 ore |
| Campione 5 | 2 gr | 0.15 gr | 0.096 gr | 1 ora |
| Campione 6 | 2 gr | 0.25 gr | 0.096 gr | 30 minuti |

Preparazione delle pasticche di Idrossiapatite

La polvere così caratterizzata è stata utilizzata per la progettazione e la realizzazione di supporti endossei, scaffold in grado di mimare l'architettura del tessuto osseo. Per questo motivo è stato necessario produrre un supporto con un certo grado di porosità, poiché è proprio la presenza dei pori che permette l'adesione delle cellule ossee e la loro crescita. Un prodotto al tempo stesso biocompatibile e biodegradabile tale che una volta impiantato lasci posto libero al tessuto osseo di nuova formazione.

Sono state preparate delle pasticche di HA del diametro medio di 0.9-1 cm, dello spessore di 0.3-0.4 cm e del peso di circa 2g

Le seguenti pasticche sono state utilizzate in seguito come esempi di dispensatori di farmaci, poiché è parere comune, in campo medico, mettere a disposizione sostitutivi di parti di ossa in grado non solo di correggere un difetto o di sostituire una parte di osso ma anche prevenire o curare eventuali infiammazioni che potrebbero essere scatenate in seguito all'introduzione nell'organismo di un corpo estraneo, agendo in loco.

Al fine di ottenere un composto con una certa porosità e per riprodurre una struttura simile a quella dell'osso è stato utilizzato un' agente porizzante, la cellulosa. Abbiamo utilizzato questo composto, per la facile reperibilità, conveniente a livello economico e non è tossico, poiché questa intorno ai 500°C avviene la decomposizione della cellulosa.

Le pasticche di HA sono stata preparate nel seguente modo: da un foglio di cellulosa pura (spugna compressa di fornitura commerciale "Spontex") si tagliano dei dischetti, che andranno poi idratati in H₂O distillata. Nel processo di idratazione essi si rigonfieranno in altezza dando origine ad un cilindretto 15 x 13 mm (altezza x diametro). Si procede poi all'imbibizione delle pasticche con la barbottina di HA. I campioni così ottenuti vengono messi in calcinatori e portati gradualmente alla temperatura di 1200°C, processo che permette la completa

decomposizione della cellulosa e il processo di sinterizzazione. Come mostrato in figura.

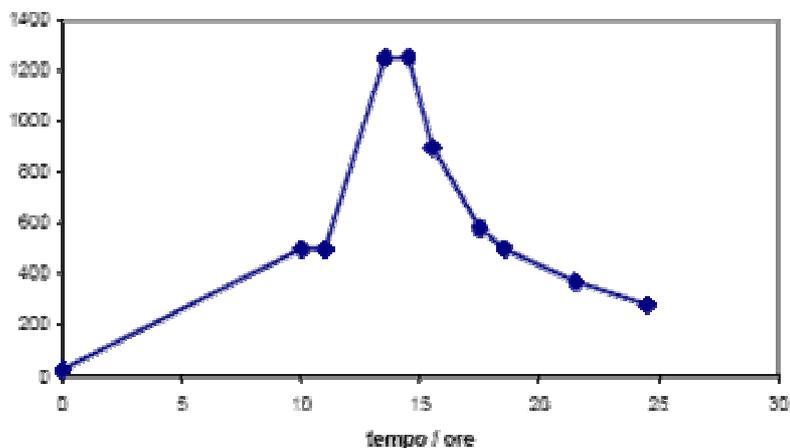


Fig.32 : Ciclo termico di sinterizzazione delle pasticche di HA.

Come si può notare dall'andatura del grafico, si passa da una temperatura ambiente ad una temperatura di 500° , con permanenza a questa temperatura per un'ora. Questa fase consente la decomposizione della cellulosa e la eliminazione della CO_2 , successivamente la temperatura di sinterizzazione viene portata a $1200^{\circ}C$ in circa 2 ore e lasciata a questa temperatura per quasi un'ora. Alla fine del ciclo termico si ottengono pasticche di HA sinterizzate, priva di cellulosa poiché questa è stata completamente trasformata in H_2O e CO_2 . Come si può notare dai seguenti grafici.

Il prodotto finale viene mostrato nella seguente figura:

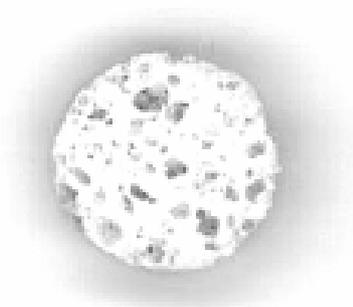


Fig.33 : Pasticca di HA ottenuta dopo la sinterizzazione

Nella seguente figura viene mostrata una microfotografia al SEM che mostra la distribuzione dei pori sulla superficie della pasticca, e messa a confronto con un campione di tessuto osseo umano.

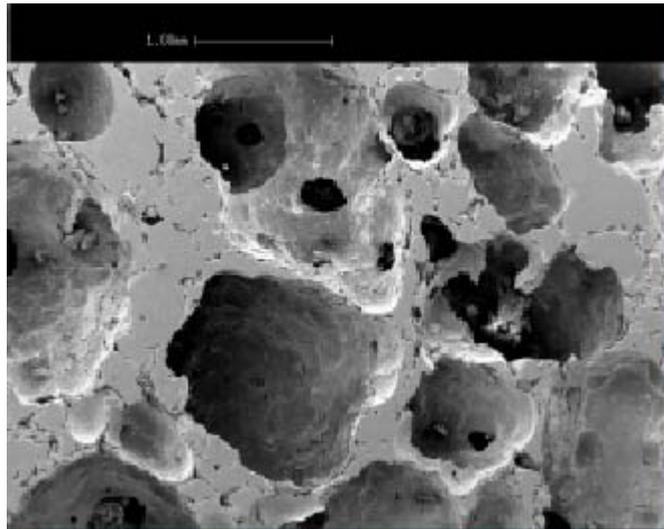


Fig.34 : Microfotografia della pasticca di HA

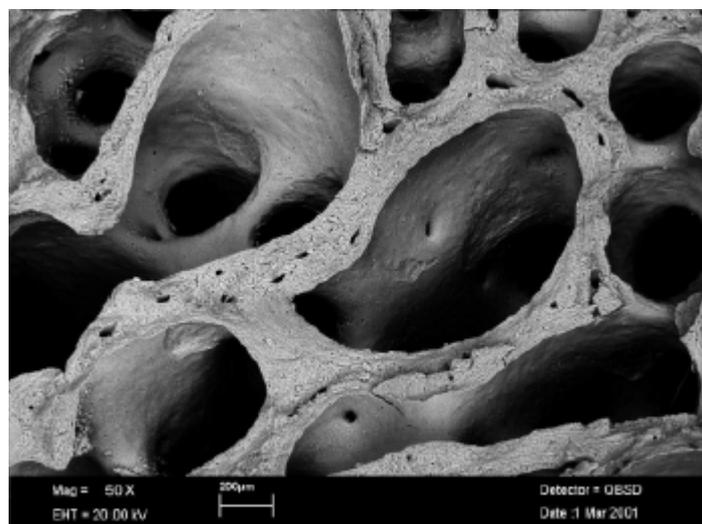


Fig.35 : Particolare del tessuto osseo umano fotografato al SEM

Dalle immagini si può notare come le pasticche ottenute presentano una organizzazione strutturale pressoché simile a quella del tessuto osseo.

SCAFFOLD A BASE DI NANOTUBI DI CARBONIO E IDROSSIAPATITE

Caratterizzazione dei nanotubi.

Insieme all'idrossiapatite, materiale utilizzato in campo ortopedico come sostitutivo dell'osso, è stato utilizzato un altro materiale, al fine di progettare e ottenere un supporto "scaffold" in grado di opporre una certa resistenza alle prove di durezza a cui verrà sottoposto. Gli scaffold sono stati preparati in modo da riprodurre l'architettura del tessuto osseo. Il procedimento seguito è lo stesso che è stato utilizzato per la produzione delle pasticche di HA.

Il materiale utilizzato è rappresentato da Nanotubi di Carbonio, fornitoci dal laboratorio di NMR dell'università di Namur. Questi sono stati utilizzati in quanto recenti studi hanno dimostrato che questo materiale, date le sue dimensioni (dell'ordine del micron) non interagisce con l'organismo poiché non viene riconosciuto dal sistema immunitario. Come mostrato in figura.

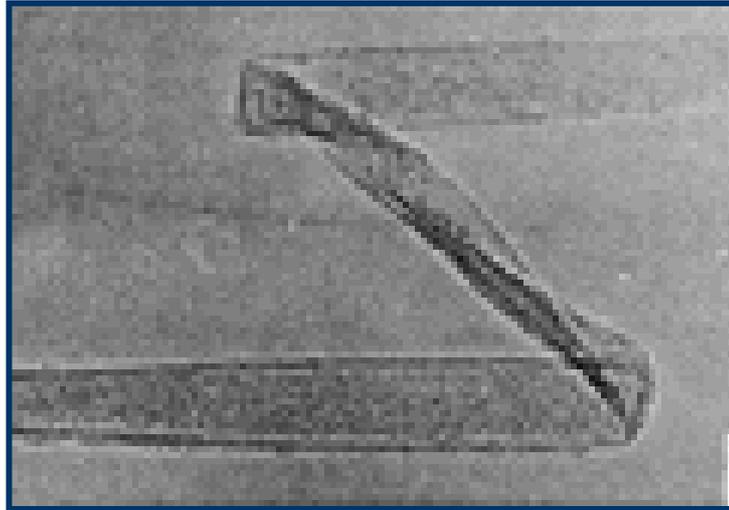


Fig.36 : Fibra di nanotubo in carbonio

Inoltre presentano una certa resistenza ed elasticità tale da sopportare ripiegamenti senza rompersi. Quindi dato le caratteristiche si pensa di utilizzarli per rinforzare i supporti di idrossiapatite che verranno utilizzati come sostitutivi dell'osso.

| PROPRIETA' | SWNT | Fibre di carbonio |
|-----------------------|--------|-------------------|
| MODULO DI YOUNG | ~1 TPa | 840 GPa |
| RESISTENZA A TRAZIONE | 30 GPa | 5.5 GPa |

Tabella . Proprietà fisiche dei nanotubi

Nella seguente figura viene mostrato uno spettro RX dei nanotubi.

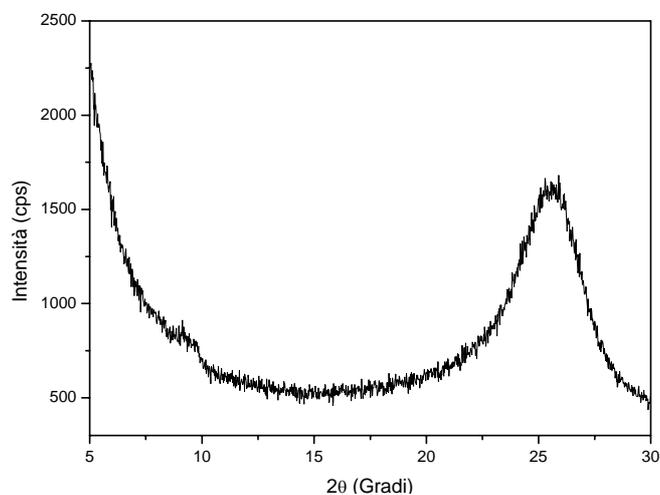


Fig37: XRD dei nanotubi

Lo spettro in esame mostra un picco di cristallinità a 25 2θ, l'assenza di altri picchi ci permette di affermare che il materiale non presenta impurezze.

L'andamento termico dei nanotubi in carbonio è rappresentato nella seguente figura.

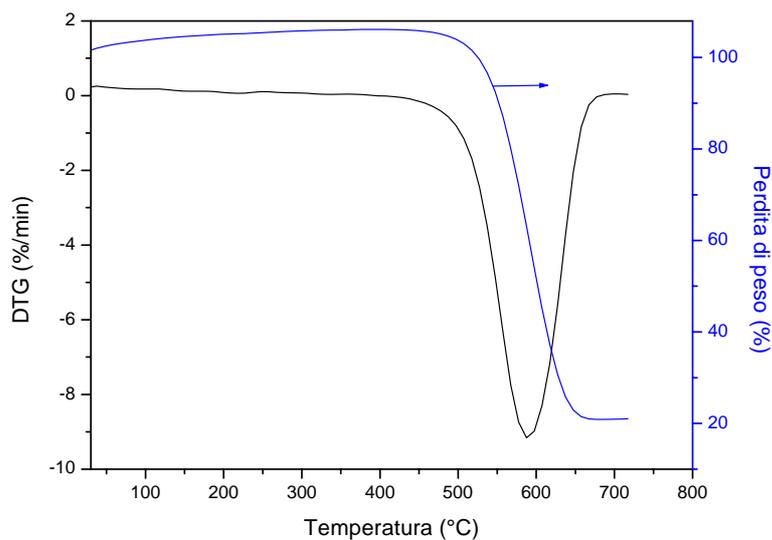


Fig38.: Curva TG (in blu) e DTG (in nero) dei nanotubi

Si può notare la curva TG mostra una perdita di peso di circa l'80%. La curva DTG evidenzia che questa perdita avviene intorno ai 600°C.

Per quanto riguarda la curva DSC di *figura* , si ha un unico picco esotermico proprio a 600°C, che a questo punto si può classificare come prodotto dal calore di combustione del materiale. Si deve inoltre notare (dalle curve appaiate TG-DTG) come fino ai 600°C non vi siano altre perdite di peso, a conferma del carattere idrofobico dei nanotubi.

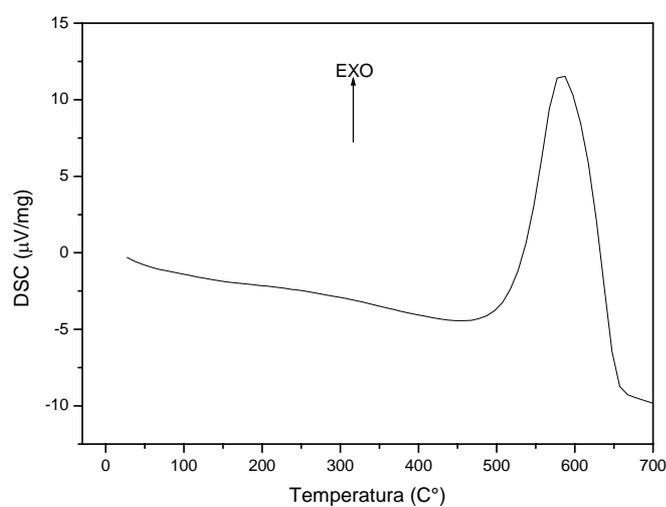


Fig. 38: Curva DSC dei nanotubi

Successivamente alla caratterizzazione dei nanotubi si è passati alla formazione delle pasticche di HA insieme ai nanotubi. Ad una miscela iniziale di idrossiapatite di 12g vengono aggiunti diverse quantità (% in peso) di nanotubi, precisamente 0,04%, 0,06%, 0,08%, al fine di ottimizzare il prodotto finale.

Di seguito viene riportato uno spettro RX di una miscela di nanotubi e HA.

Dal grafico si notano i picchi caratteristici dell'idrossiapatite ma non quello dei nanotubi, indice del fatto che quest'ultimi vengono integrati bene nel composto da diventare un tutt'uno da non essere riconosciuti.

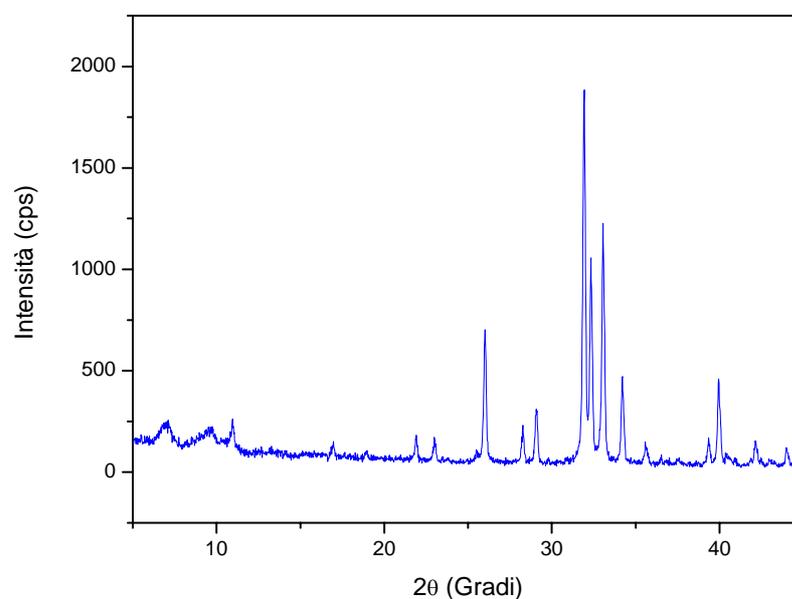


Fig.39 : Spettro RX di miscela di HA e nanotubi.

Anche d'analisi termogravimetrica come l'andamento sia simile sia in presenza sia in assenza dei nanotubi a conferma che le loro caratteristiche chimiche non interagiscono con quelle dell'idrossiapatite, tanto da mostrare una certa inerzia.

Preparazione delle pasticche di HA e Nanotubi in Carbonio.

Successivamente si è passati alla formazione di pasticche di HA e nanotubi con un certo grado di porosità, questi in seguito verranno utilizzati come dispensatori di farmaci. Valutando come supporti con queste caratteristiche rilasciano in ambiente fisiologico farmaci ad essi incorporati.

Le pasticche di HA e nanotubi sono state preparate nel seguente modo:

sono stati miscelati 12 g di HA con una opportuna quantità di nanotubi (0,04 – 0,06 – 0,08%wt) e 5 ml di acqua distillata.

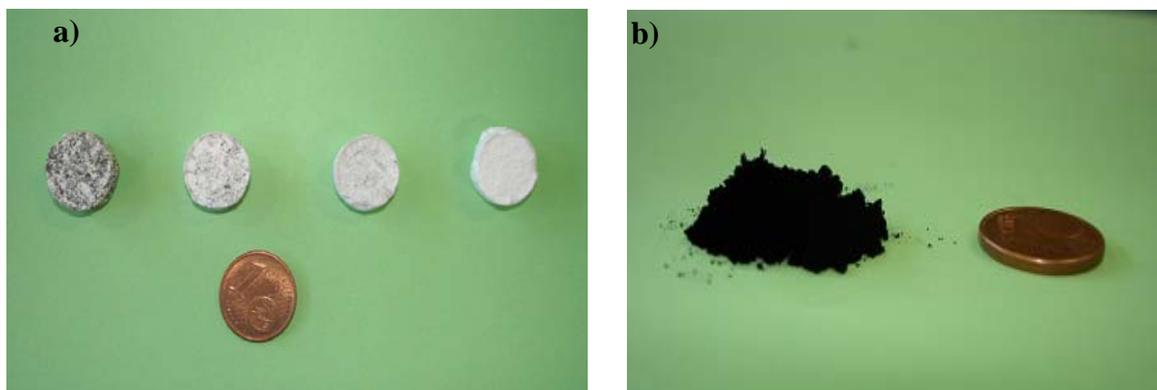


Fig 40: Pasticche con quantità variabili di nanotubi (a) e nanotubi in carbonio MWNT (b)

La formazione delle pasticche viene effettuata attraverso un impasticcatore in acciaio, posto a una pressione di circa 150 bar mediante una pressa idraulica, il

campione assume così una forma cilindrica di diametro 1,3 cm e spessore 0,6 cm (figura (a) e (b)).

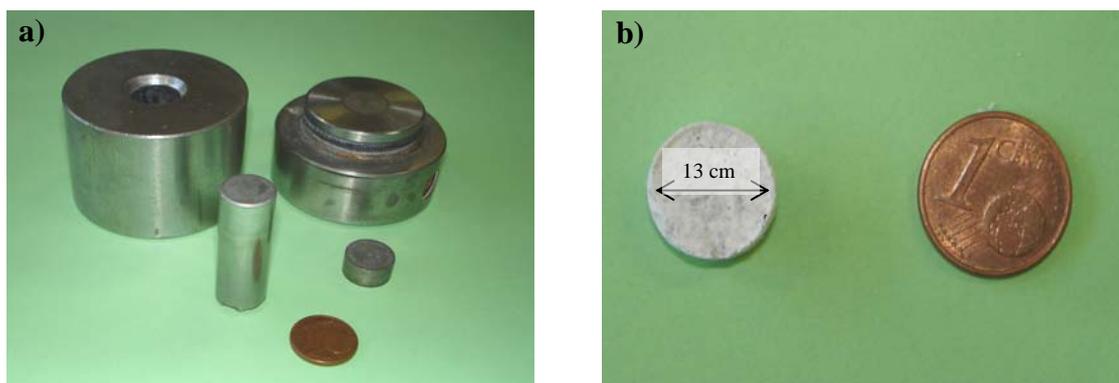


Fig.41: Impasticcatore in acciaio (a) e dimensioni pellets (b)

Le pasticche così ottenute sono state poste in forni ventilati al fine di eliminare l'acqua in eccesso.

Su di esse è stata effettuata innanzi tutto un'analisi porosimetrica per valutare il grado di porosità del campione e la distribuzione dei pori, caratteristica importante per una buona compatibilità e per garantire l'adesione e nonché la crescita delle cellule ossee.

La conoscenza della distribuzione porosimetrica per un campione destinato all'adsorbimento e al desorbimento di una certa sostanza è di estrema importanza. La percentuale di porosità dei campioni e la distribuzione porosimetrica può essere conosciuta attraverso lo strumento Porosimetro a mercurio della Micromeritics. L'analisi viene effettuata su ogni campione. Dallo strumento possiamo ottenere una percentuale di porosità media e la distribuzione delle dimensioni dei pori. Sono state analizzate 3 gruppi di 10

pasticche ogni gruppo con una percentuale differente di nanotubi. I risultati dell'analisi strumentale sono i seguenti:

- Pasticche con lo 0.04% di nanotubi porosità: 60%
- Pasticche con lo 0.06% di nanotubi porosità: 70%
- Pasticche con lo 0.08% di nanotubi porosità: 80%

Si può notare un progressivo aumento della porosità in funzione della percentuale di nanotubi. Sono state effettuate delle fotografie al SEM della superficie delle pasticche. Dalle microfotografie si notano le fibre di nanotubi di carbonio immersi nei cristalli di idrossiapatite. Si potrebbe dire che somigliano alle fibre di collagene su cui si depositano i cristalli di idrossiapatite (nel tessuto osseo umano) dando luogo al tessuto osseo.



Fig. 42 : Microfotografia di pasticca di HA+ nanotubi 0,04%



Fig. 43 : Microfotografia di pasticca di HA+ nanotubi 0,08%

Sulle pasticche sono state effettuate delle prove di compressione per valutare il grado di durezza opposto dalle pasticche. Dai dati ottenuti si nota come più è alta la % in peso dei nanotubi maggiore sarà la resistenza opposta alla compressione. Potremmo così dire che i nanotubi rinforzano il prototipo da noi progettato.

| NT (%) | σ (Kp) |
|--------|---------------|
| 0 | 30 |
| 0,04 | 2,2 |
| 0,06 | 1,6 |
| 0,08 | 1,2 |

Tabella Resistenza meccanica a compressione delle pasticche di HA e nanotubi, compressione superficiale

| NT (%) | σ (Kp) |
|--------|---------------|
| 0 | 16 |
| 0,04 | 2,2 |
| 0,06 | 1,6 |
| 0,08 | 1,2 |

Tabella Resistenza meccanica a compressione delle pasticche di HA e nanotubi, compressione laterale

Preparazione delle pasticche di HA e Nanotubi in Carbonio e Nimesulid.

La necessità di accoppiare una matrice organica ed una inorganica deriva dal fatto che l'osso naturale è costituito da queste due parti. Inoltre la matrice organica, in questo caso il farmaco, è in grado di sciogliersi nei liquidi fisiologici più o meno velocemente, a seconda di vari fattori come ad esempio il grado di reticolazione o il pH della soluzione in cui è posta. La parte inorganica, l'idrossiapatite, lasciata nuda dal farmaco, mostrerà poi un'ottima biocompatibilità ed osteoconduzione nei riguardi del tessuto osseo.

Sono state effettuate prove di adsorbimento del farmaco tal quale sulle pasticche di HA +nanotubi per verificare:

- quale sia il metodo di adsorbimento ottimale;
- l'influenza della % di porosità delle pasticche sulla percentuale di farmaco adsorbita e rilasciata
- penetrabilità della gelatina all'interno dei pori dell'HA.

Le pasticche sono costituite da una miscela di HA+nanotubi (peso % variabile) + farmaco. Le pasticche presentano un peso iniziale di 12g, queste poi sono state poste in soluzione fisiologica, per valutare quanto farmaco viene rilasciato in soluzione. Le pasticche vengono lasciate in soluzione a tempi differenti 30min-1

ora- 2 ore, la scelta del tempo è stata fatta prendendo in considerazione l'emivita del principio attivo (nimesulide) Le pasticche di HA + nanotubi+ farmaco sono poi state pesate per verificare la % di farmaco che è stata rilasciata. Successivamente procede alla determinazione spettrofotometrica a $\lambda=800$ nm. Effettuata una retta di calibrazione ($\epsilon=4.0$ M-1cm-1) è possibile procedere alle misurazioni.

Sono state immerse in soluzione tampone a 37 °C varie pasticche, a diverse porosità %, in figura vengono riportati le curve spettrofotometriche del farmaco tal quale e del farmaco rilasciato dalle pasticche a diversa % di nanotubi, che influenzano la porosità del campione.

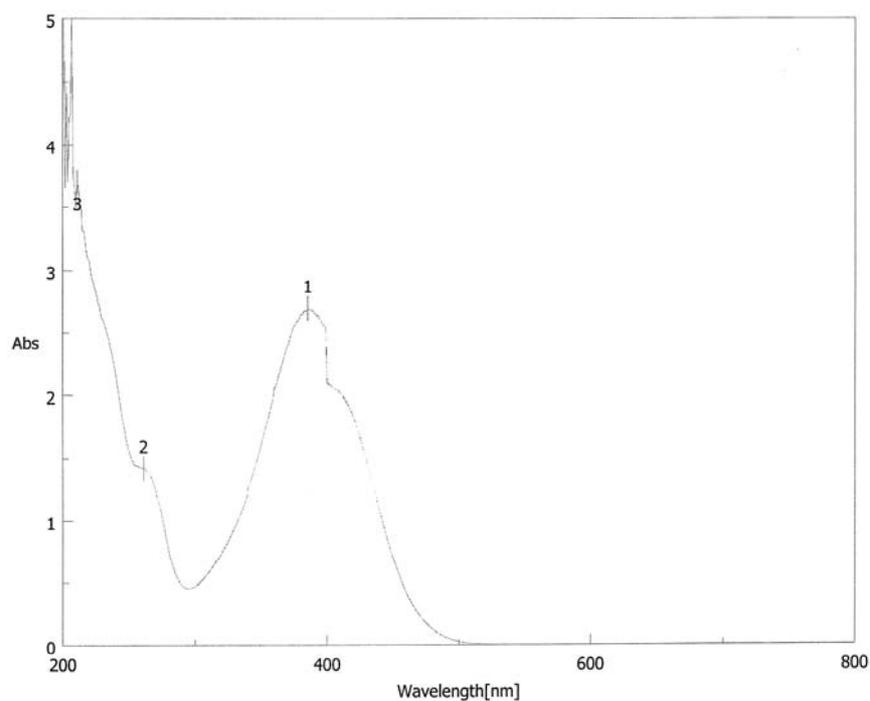


Fig.44 : Curva spettrofotometrica del farmaco tal quale.

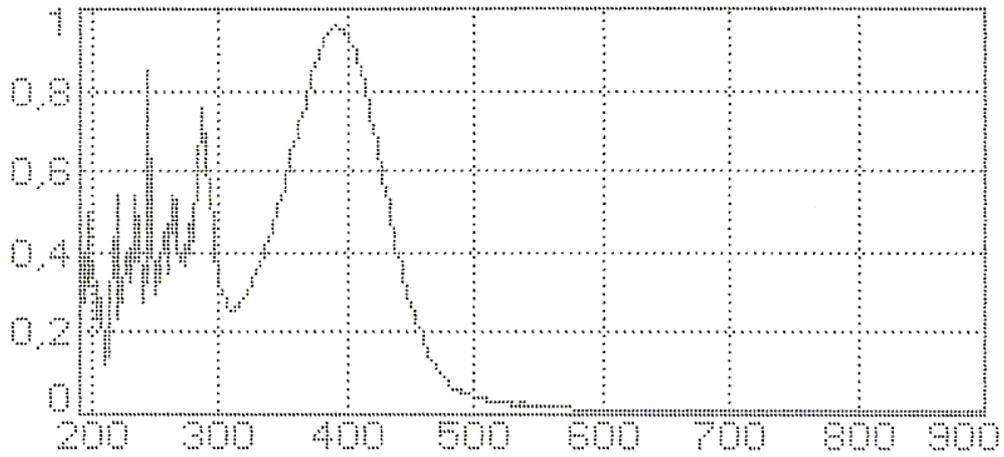


Fig.45 : Pasticca mesulid + HA 30 min

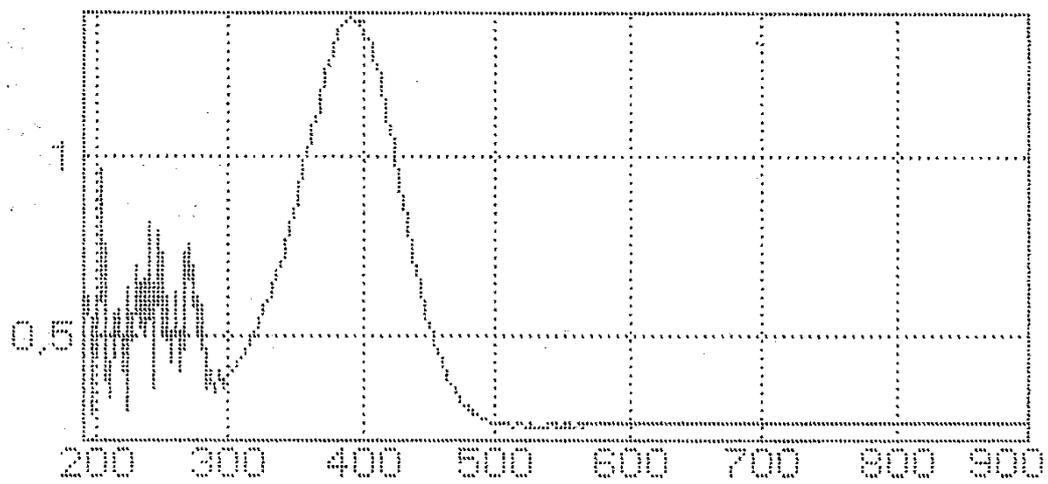


Fig.46 : Pasticca mesulid + HA 1 ora

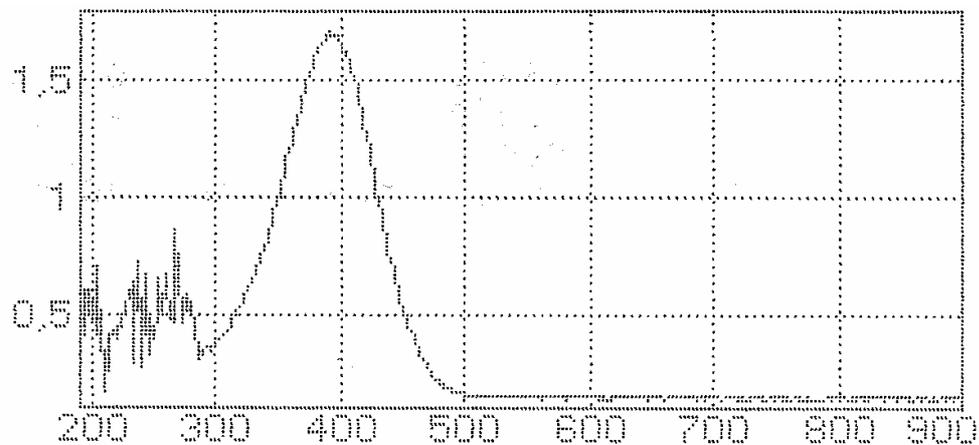


Fig.46 : Pasticca mesulid + HA 2 ora

Di seguito vengono riportati le curve spettrofotometriche della soluzione contenente il farmaco rilasciato dalle pasticche HA+nanotubi.

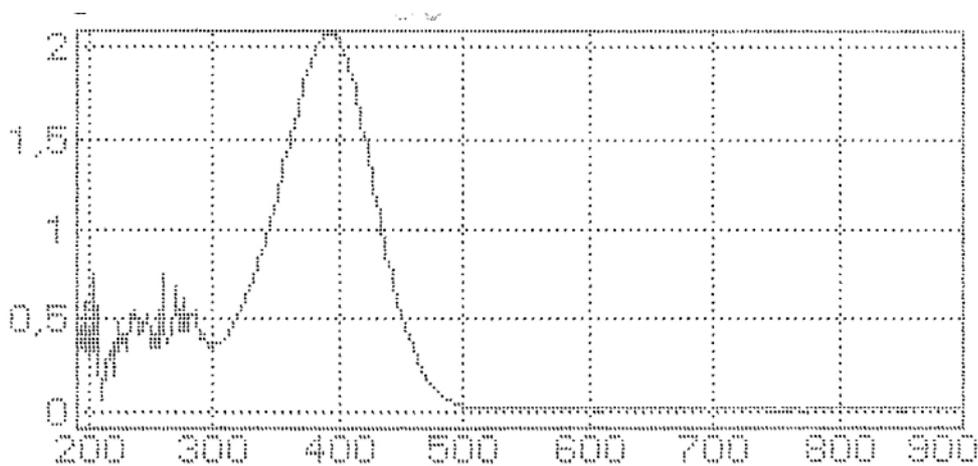


Fig. 47: Pasticca mesulid + HA+ nanotubi 30 min

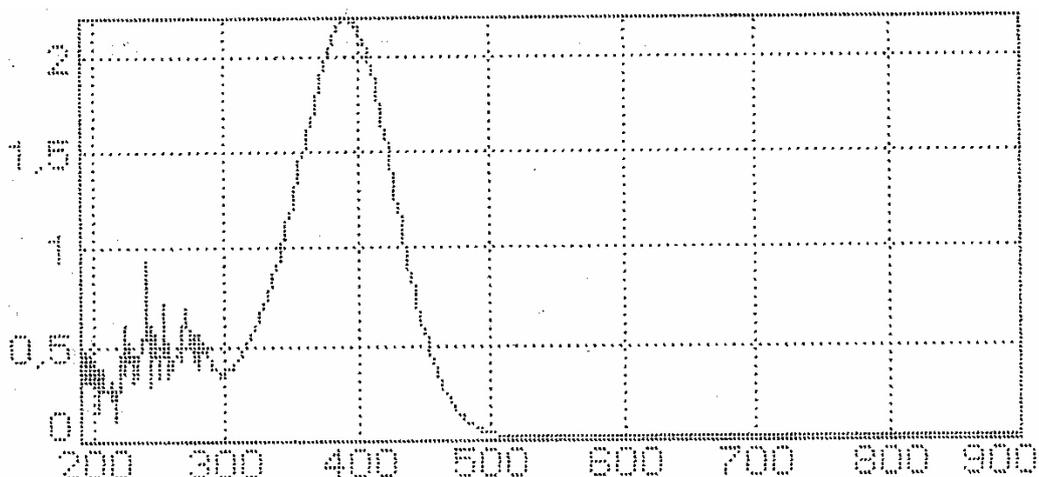


Fig.48 : Pasticca mesulid + HA+ nanotubi 1 ora

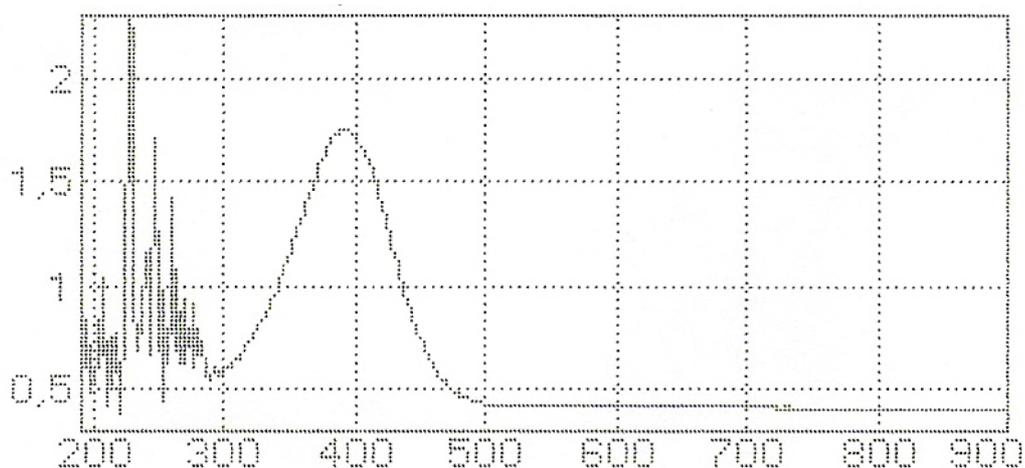


Fig. 49: Pasticca mesulid + HA+ nanotubi 2 ora

Dai grafici si nota come il farmaco viene completamente rilasciato in soluzione già a 30 min. Ma si ottiene una quantità maggiore rilevata dall'assorbanza nelle pasticche formate da HA+nanotubi e farmaco. La presenza del farmaco viene rilevata dal fatto il picco a cui si ha il massimo dell'assorbanza è 400, come riportato nella curva spettrofotometrica del farmaco tal quale.

Qui di seguito vengono riportati in grafico l'andamento

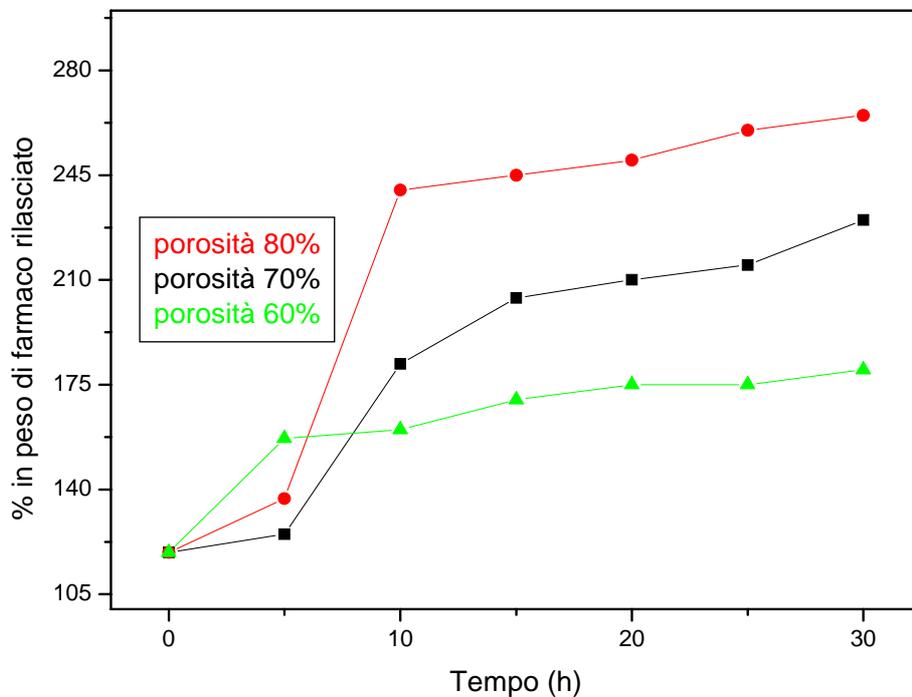


Fig. 50

Da questi dati si può dedurre che la porosità % delle pasticche di HA influenza il rilascio del farmaco, infatti maggiore è la porosità e maggiore è la velocità del rilascio. Inoltre si possono chiaramente osservare 2 step nelle curve: un primo rilascio veloce, seguito da uno più lento.

Il farmaco viene rilasciato dalla pasticca di HA+nanotubi molto velocemente e perciò in un tempo troppo breve indice del fatto che i nanotubi contribuiscono ad aumentare la porosità della pasticca, di conseguenza a rilasciare troppo velocemente il farmaco, il quale invece dovrebbe essere rilasciato in tempi minori affinché il farmaco possa esplicare le sue proprietà curative.

Utilizzo dell'Idrossiapatite nella remineralizzazione del dente umano.

Infine si è pensato di mettere appunto un prodotto, per l'igiene orale, a base di IDROSSIAPATITE, (componente minerale del tessuto osseo e dentale), (utilizzato per la prevenzione delle carie, nonché per prevenire la remineralizzazione del dente. Fin ad oggi il FLUORO ha rappresentato l'alleato essenziale alla protezione dei nostri denti, tanto è vero che nel corso degli anni sono stati introdotti sul mercato numerosi dentifrici contenenti fluoro. Il loro utilizzo ha inciso sulla diminuzione delle carie dello smalto dei denti, ma è difficile trattare la carie del colletto, quella zona del dente vicino alla gengiva molto delicata a causa del fatto che dopo i vent'anni inizia un processo di retrazione della stessa che lentamente scopre tale zona esponendola all'attacco dei batteri. Perciò si è pensato di un dentifricio a base di idrossiapatite, composto che entra nella costituzione della dentina. L'idrossiapatite risulta in grado di stimolare la dentina a riformarsi quando si mantiene un ambiente umido e leggermente acido come quello che si trova all'interno della bocca. I campioni su cui è stata condotta la nostra indagine sono campioni di denti umani affetti da carie, sottoposti a trattamenti con pasta dentifricia o gel contenenti diverse quantità di idrossiapatite (5%-10%-15%), a tempi variabili, in modo da simulare il "comportamento igienico" delle persone, più precisamente la frequenza con cui una persona si lava i denti nell'arco della giornata, 1 volta al giorno (24 ore), 2 volte al giorno (12 ore) 3 volte al giorno (6 ore). I denti sono stati trattati con la miscela dentifricio idrossiapatite, con l'aiuto di un comune spazzolino, (la durata dello spazzolamento è stato di circa 5 minuti, tempo massimo impiegato per lavarsi i denti). I denti così trattati sono stati successivamente analizzati, caratterizzati mediante gli strumenti presenti in laboratorio, diffettometria RX,

analisi termogravimetrica TG/DTG, SEM e EDS, al fine di mettere in evidenza le differenze qualitative e quantitative delle varie componenti del tessuto dentale.

In tabella vengono riportati i campioni, utilizzati nel nostro studio, sottoposti a trattamento.

Tabella contenente campioni di denti trattati con HA al 5 %

| Campioni | Tipo dentifricio | Tempo |
|-------------|------------------|--------|
| Campione 1 | pasta | 6 ore |
| Campione 2 | gel | 6 ore |
| Campione 3 | pasta | 6 ore |
| Campione 4 | gel | 6 ore |
| Campione 5 | pasta | 12 ore |
| Campione 6 | gel | 12 ore |
| Campione 7 | pasta | 12 ore |
| Campione 8 | gel | 12 ore |
| Campione 9 | pasta | 24 ore |
| Campione 10 | gel | 24 ore |
| Campione 11 | pasta | 24 ore |
| Campione 12 | gel | 24 ore |

Tabella contenente campioni di denti trattati con HA al 10 %

| Campioni | Tipo dentifricio | Tempo |
|-----------------|-------------------------|--------------|
| Campione 13 | pasta | 6 ore |
| Campione 14 | gel | 6 ore |
| Campione 15 | pasta | 6 ore |
| Campione 16 | gel | 6 ore |
| Campione 17 | pasta | 12 ore |
| Campione 18 | gel | 12 ore |
| Campione 19 | pasta | 12 ore |
| Campione 20 | gel | 12 ore |
| Campione 21 | pasta | 24 ore |
| Campione 22 | gel | 24 ore |
| Campione 23 | pasta | 24 ore |
| Campione 25 | gel | 24 ore |

Tabella contenente campioni di denti trattati con HA al 15 %

| Campioni | Tipo di dentifricio | Tempo |
|-----------------|----------------------------|--------------|
| Campione 25 | pasta | 6 ore |
| Campione 26 | gel | 6 ore |
| Campione 27 | pasta | 6 ore |
| Campione 28 | gel | 6 ore |
| Campione 29 | pasta | 12 ore |
| Campione 30 | gel | 12 ore |
| Campione 31 | pasta | 12 ore |
| Campione 32 | gel | 12 ore |
| Campione 33 | pasta | 24 ore |
| Campione 34 | gel | 24 ore |
| Campione 35 | pasta | 24 ore |
| Campione 36 | gel | 24 ore |

Materiali adoperati

I materiali che sono stati adoperati nel corso di questo studio sono:

- idrossido di calcio;
- acido fosforico;
- acqua distillata;
- pasta e gel dentifricio;
- denti.

Preparazione dell'HA

La polvere di HA utilizzata è stata preparata mediante sintesi per precipitazione. Tale sintesi consiste nel miscelare l'acido solforico con l'idrossido di sodio. Sono stati pesati 3,26 grammi di acido solforico ed è stata poi aggiunta l'acqua distillata fino ad un volume di 100 ml. Sono stati successivamente pesati 3,70 grammi di idrossido di sodio che sono stati aggiunti a 100 ml di acqua distillata. Il beaker contenente l' H_2O distillata e l'acido solforico sono stati messi per qualche minuto sotto agitazione e poi, goccia a goccia, con una pipetta pasteur è stata aggiunta la soluzione di H_2O distillata e l'acido solforico.

Al termine dell'operazione si è lasciato il tutto sotto agitazione per 15 minuti circa, dopodiché il precipitato è stato filtrato e asciugato in forno ad una temperatura di $180^{\circ}C$. Dopo un paio d'ore il composto è stato frantumato e la polvere ottenuta è stata calcinata per un'ora ad una temperatura di $1200^{\circ}C$. LA polvere calcinata è stata analizzata ai raggi x .

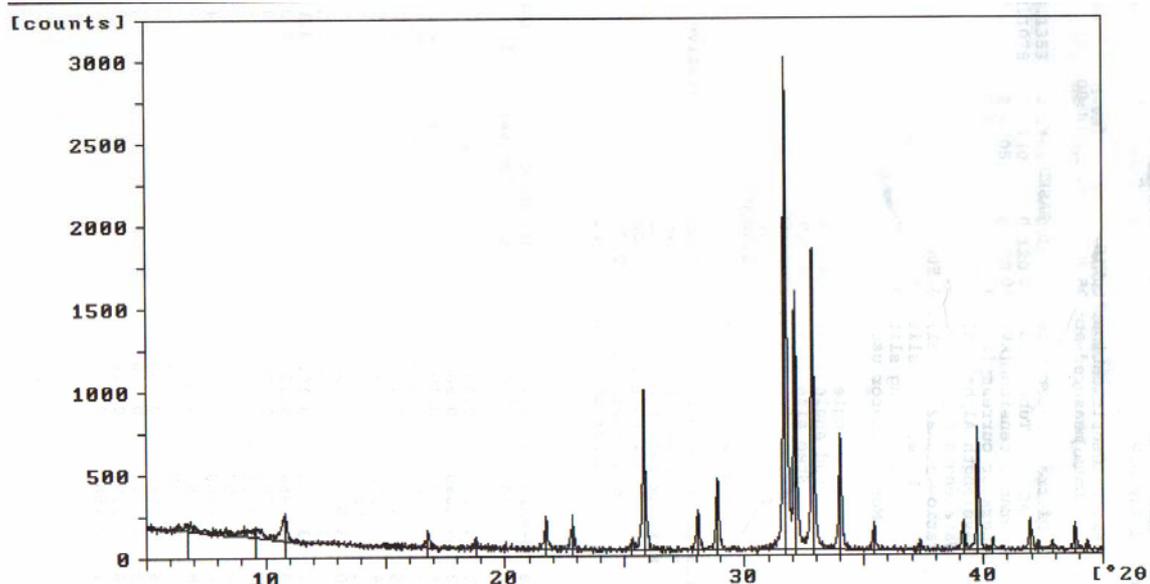


Figura 51: *grafico della struttura cristallina dell'idrossiapatite*

Preparazione dei campioni di denti

L'indagine è stata compiuta su campioni di denti umani, provenienti da individui sia di sesso maschile che femminile. Dopo il prelievo, i denti sono stati accuratamente riposti in appositi contenitori sui quali è stata riportata l'età ed il sesso del donatore. Successivamente, i campioni sono stati lavati con detergente in modo da eliminare i grassi ed inquinanti ambientali di natura diversa che potrebbero interferire con analisi successive. Al termine del lavaggio i campioni sono stati asciugati e tagliati in sezioni molto sottili.

I campioni così trattati sono stati conservati per essere poi trattati e analizzati.

Trattamento della pasta e del gel dentifricio

Sono stati pesati 5 grammi di pasta dentifricia alla quale sono stati aggiunti 10 ml di acqua distillata ed il tutto è stato centrifugato per 15 minuti a 6 RPM (velocità di centrifugazione). Al termine della centrifuga il soprannatante è stato eliminato e il pellet è stato sciacquato con 10 ml di acqua distillata e si è ripetuta la centrifuga. Questa operazione è stata effettuata per tre volte e alla fine il pellet è

stato riposto in un contenitore per essere successivamente utilizzato per il trattamento dei denti con l' HA. La stessa operazione è stata effettuata per il gel dentifricio.

I campioni di denti cariosi sono stati trattati con dentifricio, sottoforma di pasta e di gel, miscelati ad un certo quantitativo di idrossiapatite, sintetizzato nel nostro laboratorio con il metodo di precipitazione. Lo scopo è quello di mettere in evidenza se tale trattamento provoca modifica a livello della componente minerale del tessuto dentale, più precisamente se facilita il processo di mineralizzazione del dente.

Analisi diffrattometrica dei denti cariosi trattati con pasta dentifricia contenente idrossiapatite

I campioni di denti sono stati trattati con pasta dentifricia miscelata all'idrossiapatite, questa è stata aggiunta in quantità differenti, 5%- 10%-15%, al fine di valutare quale siano le quantità ottimali tali da permettere una demineralizzazione. La pasta dentifricia è stata sottoposta ad una serie di centrifughe al fine di eliminare i fosfati di calcio contenuti nello stesso, evitando che questi possano interferire con quelli dell'idrossiapatite miscelati, così da non falsare i dati ottenuti dalle analisi effettuate.

I campioni inoltre sono stati tratti con questo composto, in tempi diversi, 6 ore, 12 ore, 24 ore, tempi che simulano i tempi previsti per una buona igiene orale, quindi quante volte una persona lava i denti nell'arco della giornata; 1 volta al giorno (trattamento ogni 24 ore), 2 volte al giorno (trattamento a 12 ore), 3 volte al giorno (trattamento a 6 ore).

Qui di seguito vengono riportati gli spettri RX dei campioni di denti più rappresentativi, trattati con pasta dentifricia contenente il 5% di idrossiapatite in

tempi diversi 6 ore, 12 ore, 24 ore. Si può notare, dall'andamento degli spettri, come i campioni mostrino un comportamento analogo, e come in funzione del tempo di esposizione la cristallinità sia aumentata progressivamente.

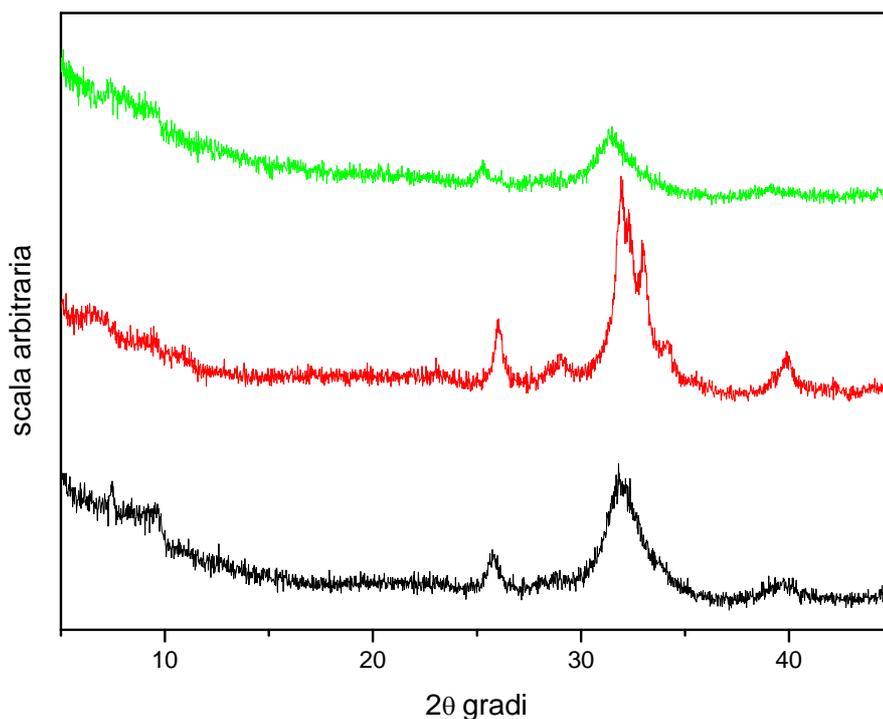


Fig52 1spettri RX di campioni di denti trattati con pasta dentifricia e idrossiapatite al 5%

Qui di seguito vengono riportati in tabella i valori delle d i valori si mantengono pressoché costanti. Aumentando all'aumentare del tempo che intercorre tra un trattamento e l'altro.

Tabella 1: intensità medie relative di campioni trattati con pasta dentifricia contenente il 5 % di HA a tempi diversi

| Campione | Tempo | 2θ=26(cps) | 2θ=32(cps) | Intensità media |
|----------------------|--------------|-------------------------------------|-------------------------------------|------------------------|
| Campione riferimento | / | | 119 | |
| Campione 1 | 6 ore | 48 | 121 | 84.5 |
| Campione 2 | 6 ore | 49 | 120 | 84.5 |
| Campione 3 | 6 ore | 49 | 125 | 87 |
| Campione 4 | 6 ore | 48 | 123 | 85.5 |
| Campione 5 | 12 ore | 88 | 313 | 200.5 |
| Campione 6 | 12 ore | 89 | 315 | 202 |
| Campione 7 | 12 ore | 44 | 137 | 90.5 |
| Campione 8 | 12 ore | 43 | 135 | 89 |
| Campione 9 | 24 ore | 58 | 110 | 84 |
| Campione 10 | 24 ore | 55 | 109 | 82 |
| Campione 11 | 24 ore | 52 | 132 | 92 |
| Campione 12 | 24 ore | 50 | 130 | 90 |

Qui di seguito vengono riportati gli spettri RX dei campioni trattati con pasta dentifricia contenente il 10% di idrossiapatite, con la relativa tabella nella quale sono riportati i valori delle intensità medie cristalli dei singoli campioni. Si può notare come ad un aumento delle percentuali in peso dell'idrossiapatite ci sia un aumento della cristallinità., in funzione anche ai tempi di esposizione, come mostrano i valori riportati in tabella.

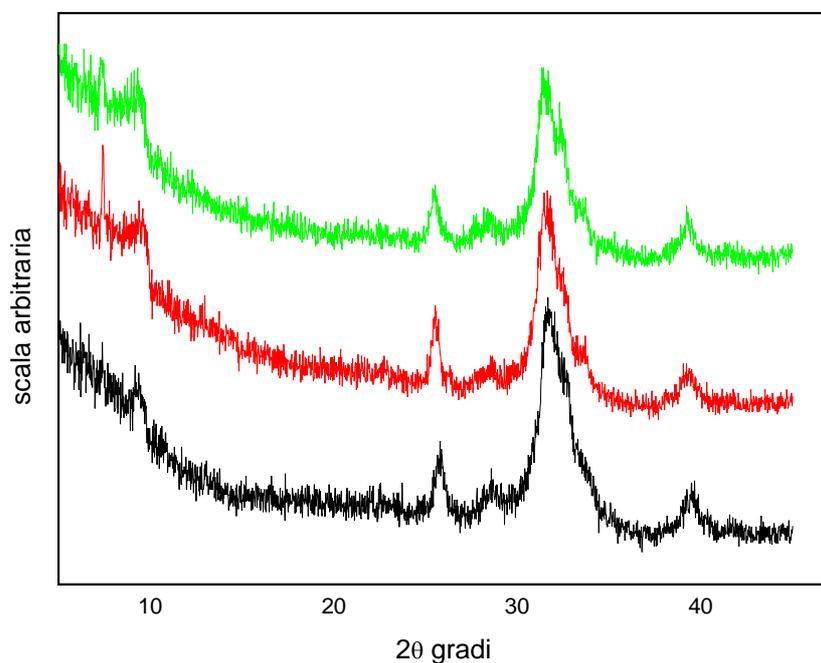


Fig. 53 spettri RX di campioni di denti trattati con pasta dentifricia e idrossiapatite al 10%

Tabella 2: intensità medie relative di campioni trattati pasta dentifricio contenente il 10 % di HA

| Campione | Tempo | 2θ=26(cps) | 2θ=32(cps) | Intensità media |
|-------------|--------|------------|------------|-----------------|
| Riferimento | / | | 119 | |
| Campione 13 | 6 ore | / | 130 | 60 |
| Campione 14 | 6 ore | / | 133 | 66.5 |
| Campione 17 | 12 ore | 24 | 66 | 45 |
| Campione 18 | 12 ore | 24 | 65 | 44.5 |
| Campione 22 | 24 ore | 34 | 200 | 117 |
| Campione 24 | 24 ore | 48 | 276 | 81 |

La seguente figura mostra gli spettri RX dei campioni trattati con il 15% di HA .
Dall'andamento si può notare come si ha una diminuzione della cristallinità,
imputabile al fatto che molto probabilmente le quantità elevate di HA abbiano
un effetto abrasivo sulla superficie del dente.

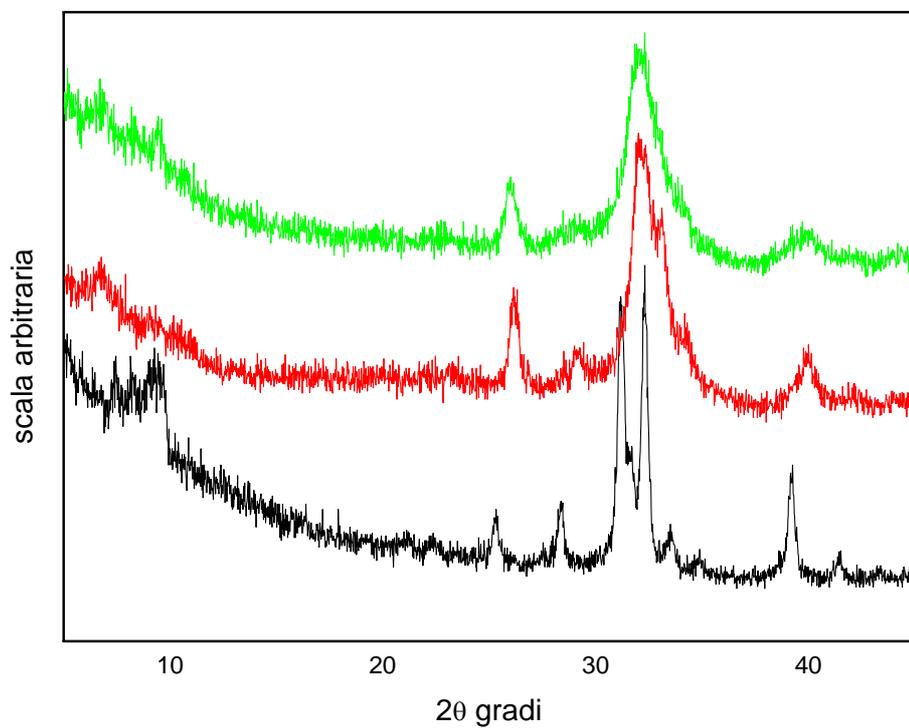


Fig.54: spettri RX di campioni trattati con pasta dentifricia contenente 15% di HA

Tabella 3: intensità medie relative di campioni trattati con dentifricio contenente il 15 % di HA

| Campione | Tempo | 2θ=26(cps) | 2θ=32(cps) | Intensità media |
|-----------------|--------------|-------------------------------------|-------------------------------------|------------------------|
| Riferimento | / | | 119 | |
| Campione 25 | 6 ore | / | 42 | 42 |
| Campione 26 | 6 ore | / | 44 | 44 |
| Campione 29 | 12 ore | 38 | 90 | 64 |
| Campione 30 | 12 ore | 40 | 95 | 67.5 |
| Campione 33 | 24 ore | 67 | 155 | 111 |
| Campione 34 | 24 ore | 66 | 154 | 110 |

Prendendo in considerazione i picchi corrispondenti alle intensità massima dell' ha è stato costruito un grafico che ci permette di valutare quali sono le condizioni ottimali, al fine di ottenere un aumento della cristallinità e quindi, indirettamente, della durezza del dente. Si può notare come l'aumento della cristallinità si ha in seguito al trattamento a 6 ore.

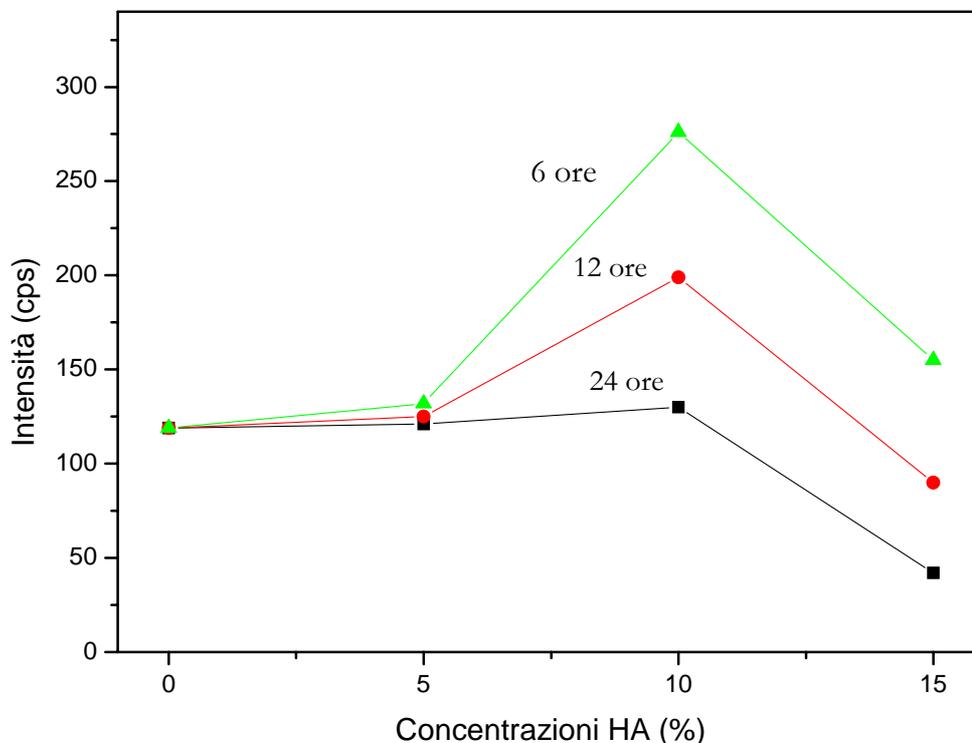


Fig 55 Valori cristallinità in funzione delle concentrazioni di HA.

Analisi diffrattometrica dei denti cariosi trattati con gel dentifricia contenente idrossiapatite

I campioni di denti sono stati trattati anche con gel dentifricio contenente HA in diverse quantità. Si è osservato che durante la miscelazione del gel e della polvere non si ottiene un composto omogeneo, come nel caso della pasta dentifricia, ma si formano degli aggregati di HA dispersi nel gel.

Di seguito vengono riportati gli spettri RX dei campioni trattati con il 5% di HA a diverse tempi e successivamente la relativa tabella, nella quale sono riportati i valori delle intensità medie relativi ai picchi dell'idrossiapatite.

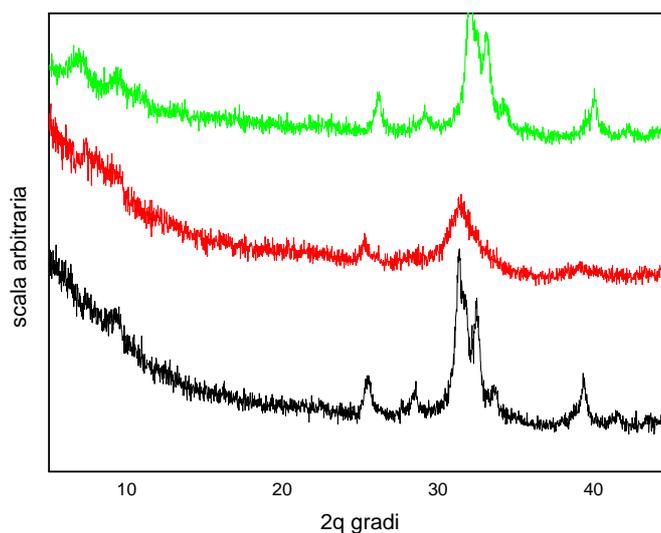


Fig.56: spettri RX di campioni trattati con gel dentifricia contenente 5% di HA

La Tabella 4 mostra le intensità medie relative di campioni trattati con dentifricio contenente il 5 % di HA a tempi diversi

| Campione | Tempo | 2θ=26(cps) | 2θ=32(cps) | Intensità media |
|----------------------|--------|------------|------------|-----------------|
| Campione riferimento | / | | 119 | |
| Campione3 | 6 ore | 49 | 125 | 87 |
| Campione 4 | 6 ore | 48 | 123 | 85.5 |
| Campione 7 | 12 ore | 44 | 137 | 90.5 |
| Campione 8 | 12 ore | 43 | 135 | 89 |
| Campione 11 | 24 ore | 52 | 132 | 92 |

| | | | | |
|-------------|--------|----|-----|----|
| Campione 12 | 24 ore | 50 | 130 | 90 |
|-------------|--------|----|-----|----|

Qui di seguito vengono riportati gli spettri RX dei campioni trattati con pasta dentifricia contenente il 10% di idrossiapapatite, con la relativa tabella nella quale sono riportati i valori delle intensità medie cristalli dei singoli campioni.

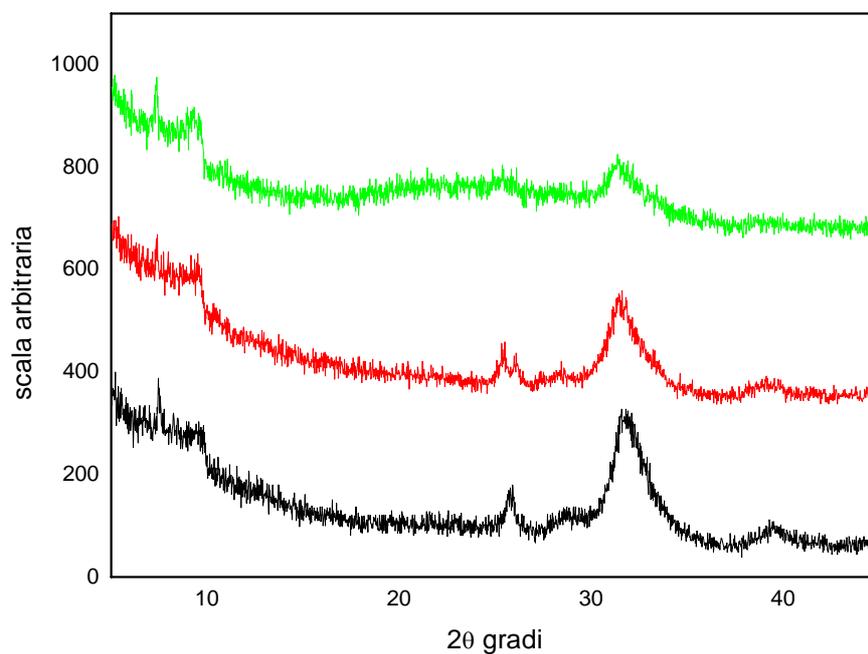


Fig.57 spettri RX di campioni trattati con gel dentifricia contenente 10 % di HA

La Tabella 5 mostra le intensità medie relative di campioni trattati con gel dentifricio contenente il 10 % di HA

| Campione | Tempo | 2 θ =26(cps) | 2 θ =32(cps) | Intensità media |
|-------------|--------|---------------------|---------------------|-----------------|
| Riferimento | / | | 119 | |
| Campione 15 | 6 ore | 45 | 182 | 63.5 |
| Campione 16 | 6 ore | 44 | 185 | 114.5 |
| Campione 19 | 12 ore | / | 63 | 31.5 |
| Campione 20 | 12 ore | / | 62 | 31 |
| Campione 23 | 24 ore | 72 | 240 | 156 |
| Campione 24 | 24 ore | 48 | 276 | 81 |

La figura 5.6 mostra i grafici RX dei campioni trattati con il 15% di HA.

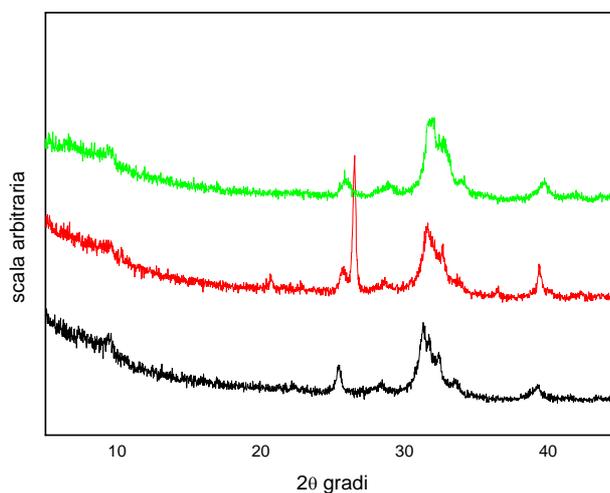


Fig58: spettri RX di campioni trattati con gel dentifricia contenente 15 % di HA

La tabella 6 riporta i valori delle intensità medie cristalli dei singoli campioni.

Tabella 6: intensità medie relative di campioni trattati con gel dentifricio contenente il 15 % di HA

| Campione | Tempo | 2θ=26(cps) | 2θ=32(cps) | Intensità media |
|-----------------|--------------|-------------------------------------|-------------------------------------|------------------------|
| Campione 27 | 6 ore | 204 | 41 | 122.5 |
| Campione 28 | 6 ore | 204 | 44 | 124 |
| Campione 31 | 12 ore | 88 | 313 | 200.5 |
| Campione 32 | 12 ore | 85 | 314 | 199.5 |
| Campione 35 | 24 ore | 41 | 20 | 30.5 |
| Campione 36 | 24 ore | 40 | 22 | 31 |

Prendendo in considerazione i picchi massimi corrispondente all'idrossiapatite abbiamo costruito un grafico che ci ha permesso di vedere quali sono le condizioni ottimali per ottenere un gel dentifricio con quantità ottimali di HA affinché possa esplicare al meglio le “proprietà benefiche”

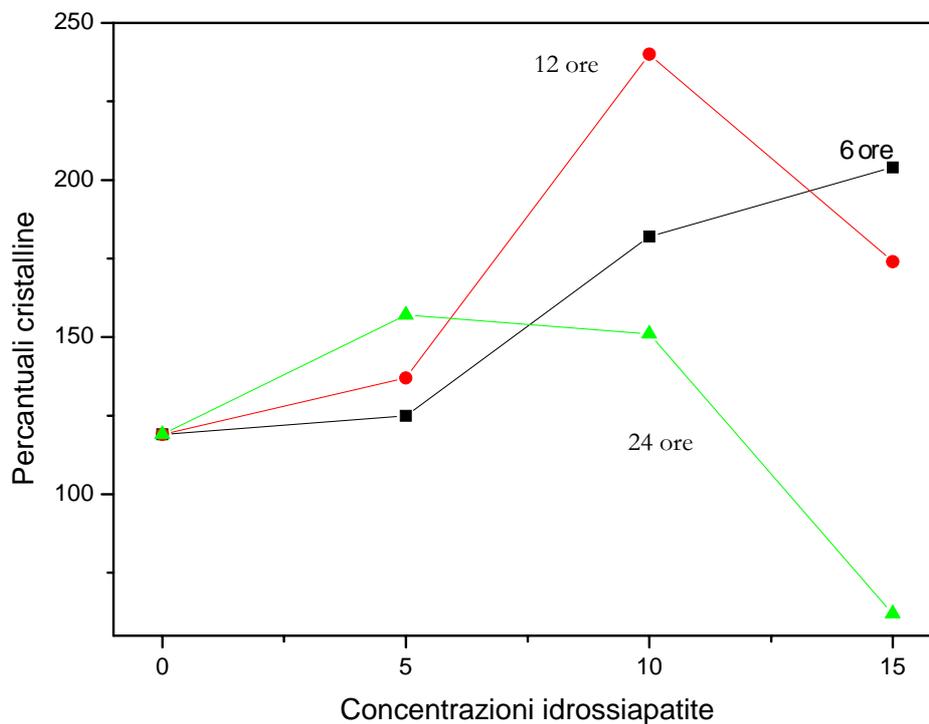


Fig.59

Analisi termogravimetrica dei denti cariosi trattati con gel e pasta dentifricia contenente idrossiapatite

Sui campioni sono stati effettuati analisi termogravimetriche, sia su quelli trattati con pasta dentifricia sia su quelli trattati con gel dentifricio. Qui di seguito vengono riportate le curve TG/DTG dei campioni più rappresentativi, poichè il trattamento non va ad intaccare la parte organica del tessuto dentale, tale analisi non rileva alcun cambiamento nelle componenti organiche. Le differenze rilevate sono funzione dello stato avanzato della carie.

La figura 60, riporta le curve TG dei campioni di denti affetti da carie.

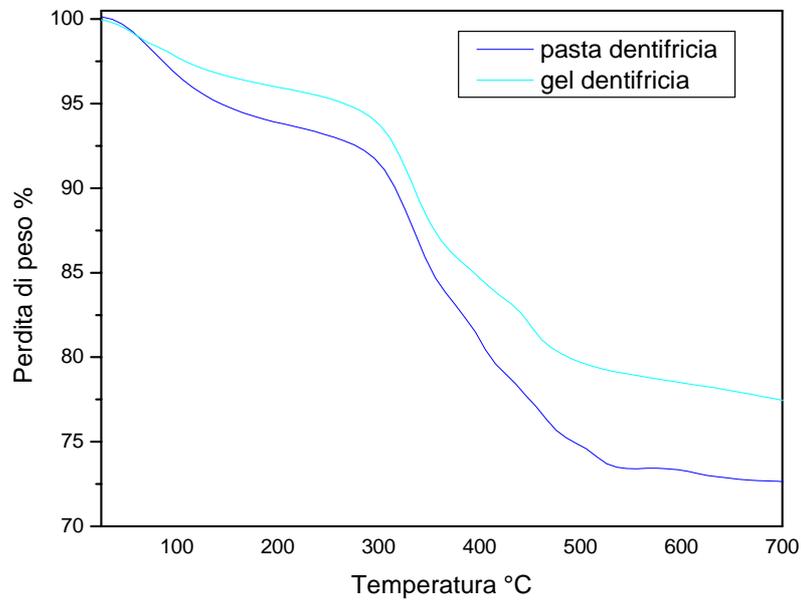


Fig 60 Termogramma (TG) rappresentativo di dente trattati con pasta e gel dentifricia

La figura 61 mostra l'andamento relativo alle curve DTG dei campioni di denti. Sono presenti 3 picchi corrispondenti a punti nei quali si registrano le perdite di peso (relative alla TG).

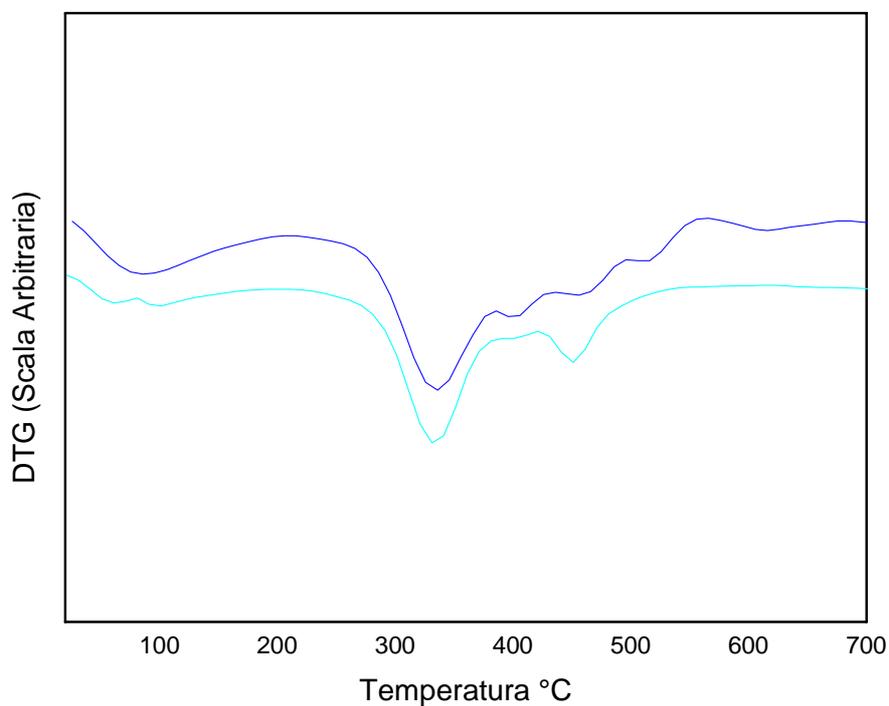


Fig 62 Curve DTG di campioni di denti trattati con pasta e gel dentifricia.

Nella tabella 7 sono riportati i valori relativi alla perdita di peso dei campioni di denti). Confrontando tali valori con quelli degli stessi campioni non trattati una distribuzione costante.

Tabella 7 relativa alle perdite di peso totale dei campioni

| Campioni | <i>Età</i> | Perdita H₂O (%) | I Picco Organico (%) | II Picco Organico (%) | Perdita Totale (%) |
|-----------------|------------|-----------------------------------|-----------------------------|------------------------------|---------------------------|
| Sano A | 40 | 5,49 | 11,41 | 4,9 | 21,8 |
| Camp 2 pH 5 | 13 | 4.12 | 10.94 | 6.29 | 21.35 |
| Camp16 pH 5 | 20 | 6.07 | 16.39 | 3.15 | 25.61 |

La figura 63 mostra le DSC dei campioni di denti appartenenti nei quali sono visibili non solo il classico picco endotermico corrispondente alla perdita di acqua, a circa 100°C, ma anche i 2 picchi esotermici, corrispondenti alla perdita di matrice organica.

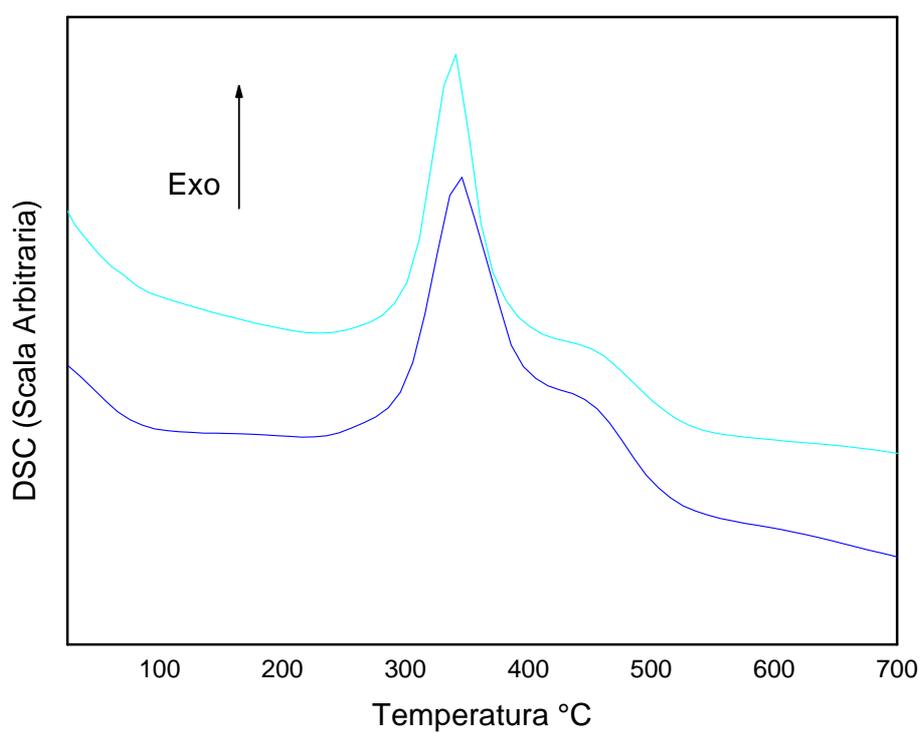


Fig 63 Curve DSC di campioni di denti

Nella tabella 8 sono mostrati i valori relativi alle temperature DSC dei campioni di denti trattati, che mostrano una certa regolarità nei due picchi esotermici.

Tabella 8 Valori relativi alle temperature DSC di campioni di denti

| <i>Campioni</i> | Età | Temperatura H₂O (°C) ENDO | Temperatura I picco organico (°C) EXO | Temperatura II picco organico (°C) EXO |
|--------------------|------------|---|--|---|
| Riferimento | 40 | 121,40 | 345,00 | 439,50 |
| Camp 2pH 5 | 13 | 67,1 | 339 | 432,7 |
| Camp 16pH 5 | 20 | 75,4 | 344,1 | 434,8 |

Analisi SEM dei campioni trattati con pasta e gel dentifricia.

Mediante microscopia elettronica è stato possibile mettere in evidenza la morfologia del tessuto osseo del dente. Sugli stessi campioni è stata effettuata la microanalisi, al fine di mettere in evidenza la composizione della componente minerale del tessuto dentale. Prima di individuare e quantificare i minerali presenti nel dente, è opportuno elencare e descrivere i minerali e gli oligoelementi normalmente presenti nel tessuto osseo del dente.

Tabella 8 minerali e oligoelementi

| | | |
|-----------|----------|----------|
| Zinco | Potassio | Magnesio |
| Silicio | Cloro | Calcio |
| Alluminio | Fluoro | Nichel |

Zinco: E' un oligoelemento (ossia presente nel nostro organismo solo in piccolissime quantità), essenziale per la crescita e lo sviluppo. E' distribuito per il 50 % nel sangue, e per il 30-35% nelle ossa e nella pelle. Stimola la resistenza alle infezioni batteriche e virale. Nel dente è stato trovato in piccole quantità nei denti patologici si pensa che agisca modificando la cinetica di mineralizzazione, effettuando una immediata risposta all'attacco di agenti batterici.

Potassio: Elemento indispensabile per ogni organismo vivente, nel nostro organismo ha molte funzioni, tra cui quelle di controllare la “contrazione del muscolo cardiaco” e la conducibilità dell'impulso elettrico. Viene introdotto con la dieta soprattutto con frutta e verdura.

Magnesio: Minerale di cui sono maggiormente ricchi i muscoli e le ossa, dotato di importanti funzioni biologiche. Viene assunto con l'alimentazione, anche se viene assimilato con difficoltà.

Silicio: Si presenta nell'organismo come derivato eterico dell'acido silicico. Si pensa che abbia un ruolo strutturale nei glicosamminoglicani e nei loro complessi

proteici. La maggior parte del silicio organico, si trova nelle ossa, tessuti connettivi ecc.

Cloro: Si trova nei tessuti sotto forma di Cloruro di Sodio. Possiede una forte azione antibatterica, grazie alle sue proprietà ossidanti.

Calcio: Questo importante elemento chimico, svolge innumerevoli funzioni; entra nella composizione delle ossa e dei denti, partecipa al processo di coagulazione del sangue, permette gli scambi attraverso le membrane delle cellule ecc. Nelle ossa e nei denti, il calcio è presente come minerale di apatite (idrossiapatite). Normalmente questi minerali sono insolubili, ma l'organismo riesce a liberarli grazie o alla presenza di ormoni quali il paratormone o mediante variazione dell'acidità del sangue.

Alluminio: E' un elemento che si trova nei cibi lievitati, nei formaggi lavorati, nei cereali, nella verdura ecc. La sua presenza nel dente si pensa sia dovuta in seguito all'alimentazione.

Fluoro: Minerale, assimilato in piccole quantità nel nostro organismo. Si deposita nelle ossa e nei denti in forma di ione fluoruro, dove fa parte della struttura e per i quali è indispensabile sia nello sviluppo che nel mantenimento. E' noto che il minerale catalizza la mineralizzazione dello smalto nei denti in fase di crescita e la demineralizzazione dello smalto superficie. Vi è quindi una stretta relazione tra carie dentale e contenuti di fluoro; la fluorurazione delle acque o la naturale presenza in esse di questo elemento in alte concentrazioni, riduce l'incidenza della carie, nei denti permanenti e ne protegge la normale struttura morfologica e chimica. E' proprio per le sue proprietà che il fluoro viene utilizzato per arricchire la composizione di dentifrici e colluttori. L'eccesso di fluoro, però, può essere dannoso perché provoca lesioni dello smalto dei denti.

Nichel: Minerale di cui non sono state mai rilevate delle carenze, ha la funzione di attivare e/o inibire l'attivazione di molti enzimi contenenti altri elementi. Può essere introdotto con l'alimentazione (noci, fagioli, cioccolato ecc) oppure rilasciato nella bocca da amalgame dentali (utilizzate per le otturazioni in odontoiatria) in quanto i cibi salati creano più facilmente processi elettrolitici in grado di corrodere le amalgame rilasciando i minerali di cui sono composte.

Nella seguente figura, è mostrata l'immagine di una sezione di dente sano (molare).

La seguente microfotografia mostra la dentina di un dente carioso, sono ben evidenti i tubuli dentinali.

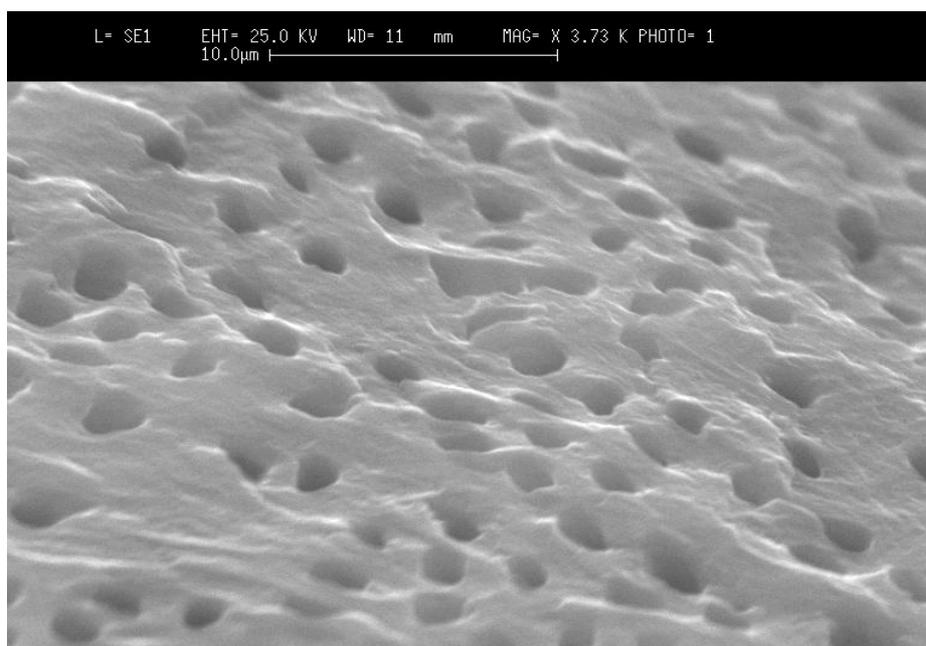


Fig.64: microfotografia di un dente carioso, sono ben evidenti i tubuli dentinali

Qui di seguito vengono riportate le microfotografie dei campioni trattati con pasta dentifricia e HA in diverse quantità 5%-, 10%, 15%. Dalle figura sono bene evidenti i grumi di idrossiapatite depositati sulla superficie del dente, e di come questi abbiano in qualche modo, leggermente occluso i tubuli dentinali.

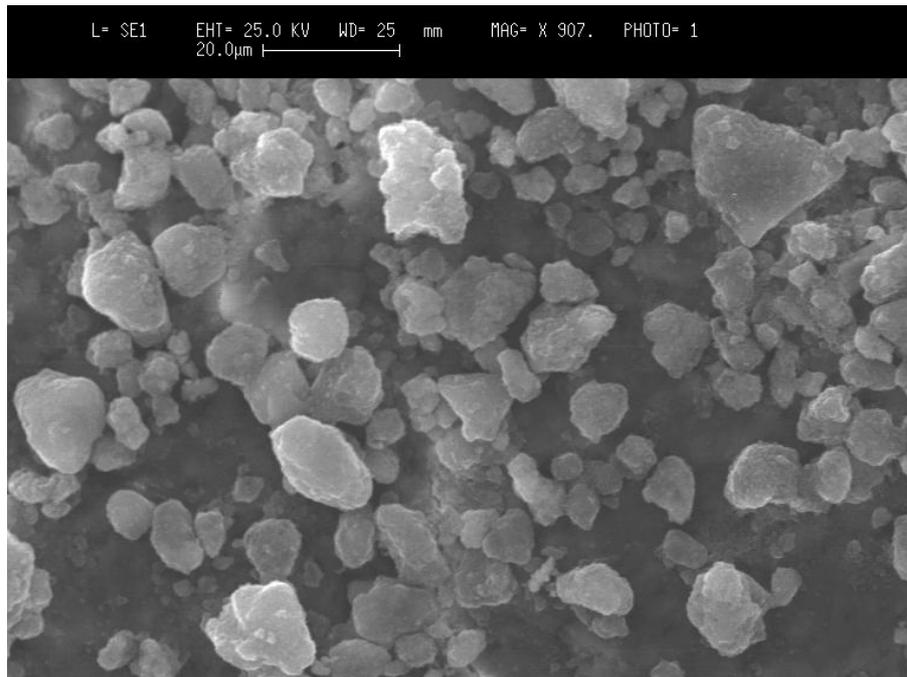


Figura 64: microfotografia di denti trattato con pasta dentifricia

In questa figura sono ben visibili gli aggregati di HA depositatosi sulla superficie del dente.

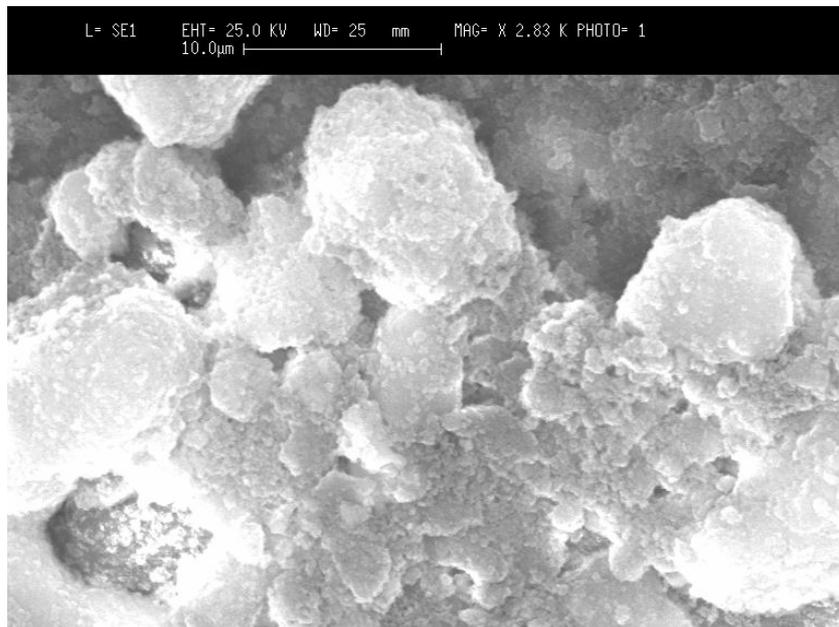
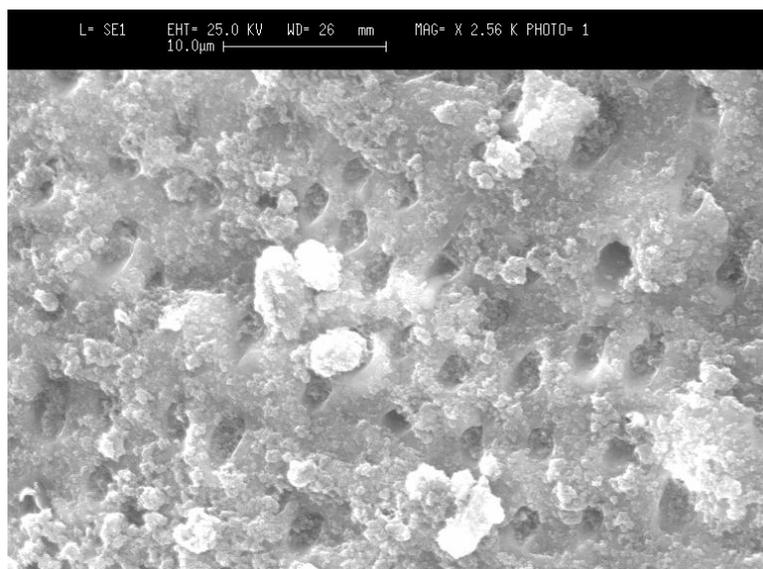
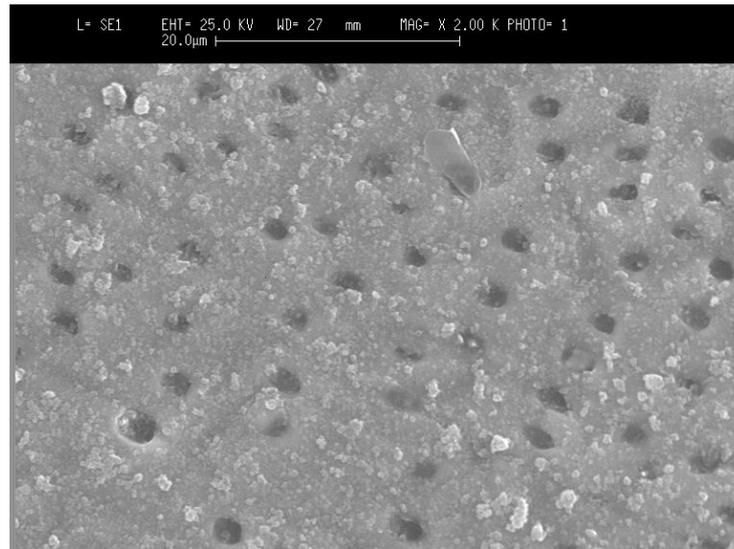
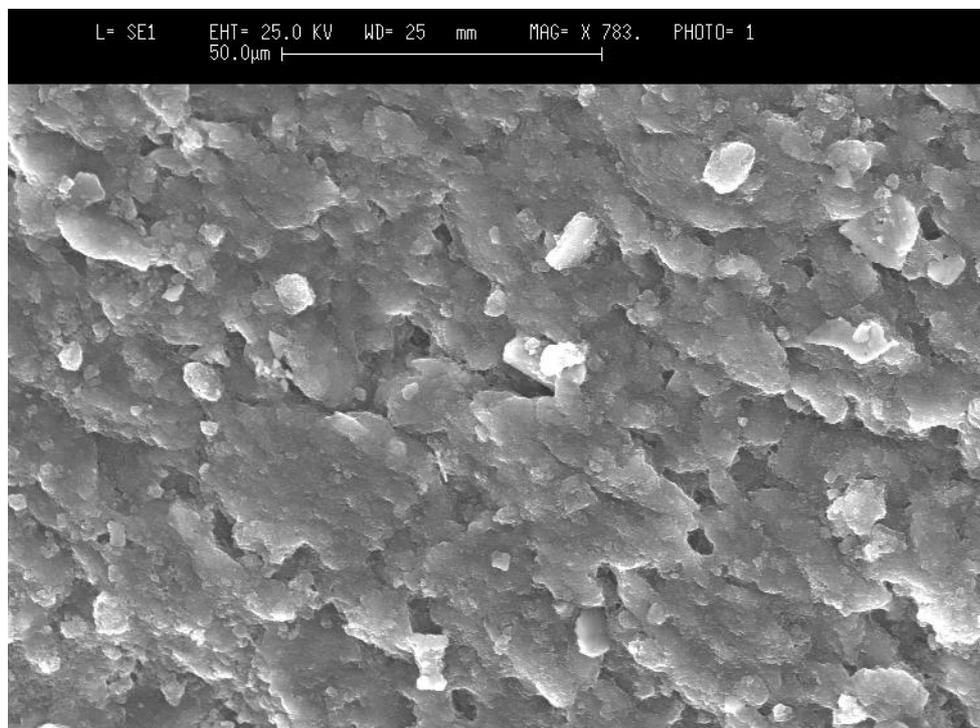


Figura 65 : particolare della figura 5, sono ben visibili i cristalli di idrossiapatite
Le seguenti figure rappresentano le superfici di campioni di denti trattati con dentifricio e HA al 5%.

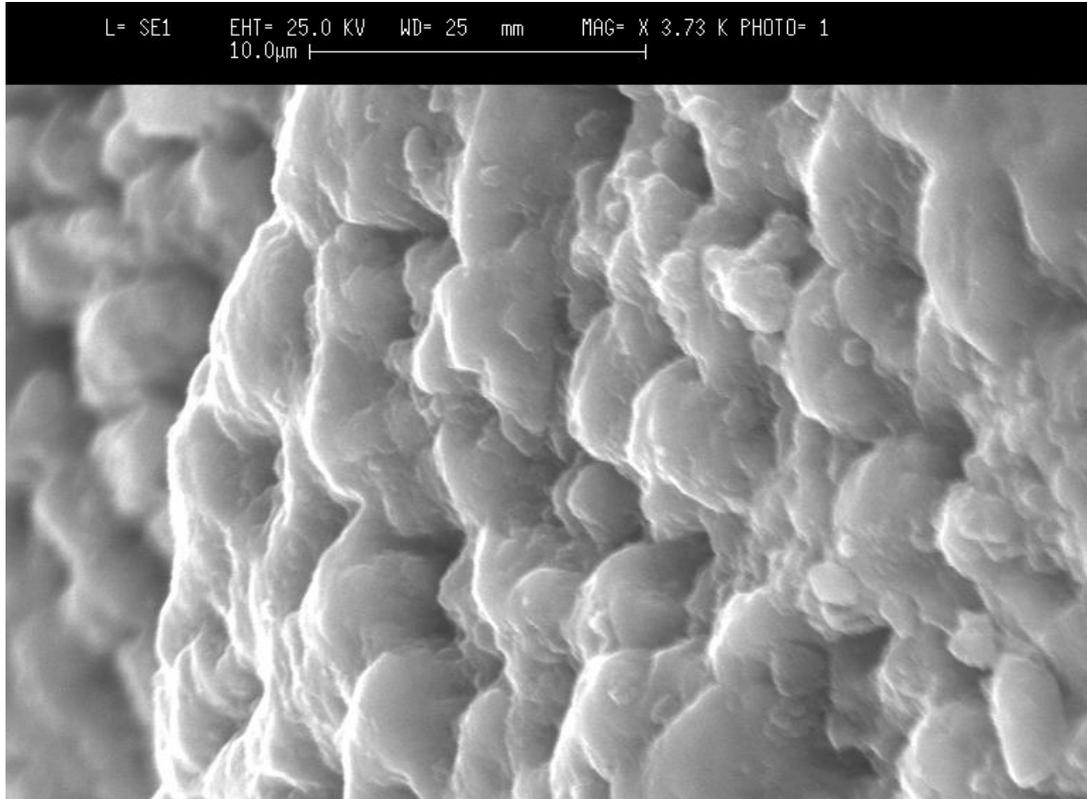




Nella seguente microfotografia vengono messi in evidenza come i granuli di HA si siano aggregati tra loro e disposti sulla superficie del dente ricoprendo i canalicoli.



Microfotografia di un campione di dente trattato con dentifricio e HA al 10%



Microfotografia di un campione di dente trattato con HA

In questa microfotografia si nota come l'idrossiapatite si sia aggregata e disposta sui tubuli dentinali ricoprendoli.

Conclusioni

Dopo un lungo lavoro è opportuno trarre le conclusioni.

La ricerca moderna sulle protesi ossee è orientata verso la sintesi e la sperimentazione di sostitutivi dell'osso, quali materiali metallici, polimerici o ceramici, utilizzabili a seconda della necessità. Il vantaggio più evidente dei materiali bioceramici rispetto agli altri consiste nella loro grande stabilità chimica nell'ambiente fisiologico. Uno degli obiettivi prefissati è quello di sintetizzare Idrossiapatite, che rappresenta il materiali largamente utilizzato per la produzione di protesi endossee. La scelta di questo materiale è motivata dal fatto che rappresenta la componente minerale del tessuto osseo umano.

Le sintesi dell'idrossiapatite sono state condotte in condizioni dinamiche (previa agitazione) in condizioni statiche (senza agitazione), al fine di poter evidenziare le migliori condizioni di cristallizzazione, determinando i migliori valori possibili di cristallinità, resa della reazione e rapporto Ca/P. Dai dati ottenuti si può affermare che la procedura di sintesi più consona per l'ottenimento della polvere di idrossiapatite più cristallina è quella statica. Attraverso lo studio cinetico, sui campioni di idrossiapatite (ottenuti a diverse quantità di CaHPO_4 e di acqua distillata) si può affermare che in condizioni dinamiche aumentando la quantità di CaHPO_4 si ottiene una maggiore cristallinità, invece in condizioni statiche ad un aumento della quantità di acqua corrisponde un aumento della cristallinità. Quindi si potrebbe affermare che le condizioni ottimali al fine di ottenere un prodotto migliore (in relazione ad una maggiore cristallinità) sono quelle statiche. La resa è invece influenzata dalle condizioni dinamiche. Infatti in tali condizioni si ha un aumento della quantità di prodotto (25% di resa della reazione), rispetto alla sintesi condotta in condizioni statiche. I tempi di sintesi sono pressoché simili discostandosi di poco. L'inizio della cristallizzazione avviene, in tutti i casi intorno a un giorno, mentre la reazione si stabilizza tra il terzo (per le sintesi in condizioni statiche) e il quinto giorno di sintesi (per la sintesi a condizioni dinamiche). Per quanto riguarda la morfologia dei cristalli si nota una sostanziale differenza confrontando i prodotti ottenuti in condizioni

statiche e dinamiche (a parità di moli dei reagenti caratteristici). Da una attenta analisi microscopio (SEM) si evidenzia una differenza nella forma dei cristalli di HA ed un diverso grado di aggregazione. Infatti in condizioni dinamiche si ottiene un prodotto caratterizzato da una morfologia aghiforme e con un alto grado di compattazione, mentre le polveri ottenute in condizioni statiche mostrano dei cristalli di dimensioni maggiori e compatti. E' importante notare che la forma aghiforme, delle polveri di HA, è stata riportata anche da Seckler et al[101]. Per quanto riguarda il rapporto Ca/P, in condizioni statiche si ottiene un prodotto con valori Ca/P pari a quello riportato in letteratura, 1,67., mentre in condizioni dinamiche i valori si discostano arrivando anche a 1.9. Stabilite le condizioni ottimali per ottenere un prodotto che presenti caratteristiche simili alla componente minerale dell'osso, e stabilite le condizioni di sintesi per ottimizzare i tempi di produzione e resa del prodotto, è stato condotto uno studio sperimentale mirato alla progettazione di un composto ceramico bioattivo per impianti endoossei ed in grado di fornire un rilascio controllato di farmaci. A tal fine sono stati utilizzati differenti agenti porizzanti al fine di ottenere provini strutturalmente simili al tessuto osseo. Tali agenti (Carbonato di stronzio, collagene di tipo I e IV, cellulosa) sono state miscelate all'idrossiapatite e sottoposto al processo di sinterizzazione. Dai dati ottenuti si può affermare che l'agente porizzante che permette di ottenere un provino con alto grado di porosità è la cellulosa.

Definite le condizioni sperimentali di preparazione di scaffold ceramici costituiti di HA biocompatibile ad alta cristallinità aventi forma cilindrica e morfologia porosa che gli attribuisce proprietà bioattive come osteoconduttore. Si è cercato di ottimizzare il nostro prototipo al fine di migliorare le caratteristiche fisico-meccaniche, a tal motivo è stato inserito nella miscela base uno nuovo composto innovativo, nanotubi in carbonio, aggiunti alla miscela di HA in quantità % differenti (0,04 %- 0,06 %- 0,08%) al fine di ottenere un prodotto in grado di offrire una maggiore resistenza alla frattura. Dai dati ottenuti, mediante analisi

effettuate con lo strumento che determina la durezza vickers, si può notare che all'aumentare della percentuale di nanotubi aumenta la resistenza alla compressione, indice del fatto che i nanotubi rinforzano, il prototipo e quindi oppongono resistenza. A questo prototipo è stato aggiunto del farmaco al fine di ottenere un dispensatore farmaceutico, tale da poter combinare due funzioni molto importanti, riempitivi osseo (sostituto di parti di ossa non più funzionali) e dispensatore di farmaco per un'azione antinfiammatoria locale.

L'obiettivo della tesi è stato quindi raggiunto mediante la realizzazione di un dispensatore di farmaci per tessuti ossei in grado di cedere il principio attivo localmente, riducendone la tossicità sistemica, con una cinetica che può essere modulata nel tempo e che una volta terminata la riserva di farmaco e della componente polimerica rimane nell'impianto endoosseo come materiale biocompatibile ma anche bioattivo, consentendo alle cellule ossee di penetrare all'interno della struttura porosa ed utilizzare le riserve di ioni calcio e fosfato per formare nuovo tessuto osseo.

L'idrossiapatite da noi prodotta è stata utilizzata anche per la produzione di un composto a base di dentifricio arricchito di HA, da utilizzare su campioni di denti umani affetti da carie, e valutarne l'efficacia in termini di remineralizzazione della parte intaccata, la dentina, quindi un trattamento con effetto preventivo e curativo. Infatti la carie provoca la distruzione della componente minerale del tessuto osseo dentale, composta da fosfati di calcio, più precisamente dall' HA, rendendo il dente facilmente attaccabile da agenti patogeni che ne provocano la completa distruzione. Siamo riusciti a dimostrare come trattamenti a base di HA, siano in grado di stimolare la dentina a riformarsi, questo fenomeno è correlabile con un aumento della parte minerale del dente, rilevato con l'analisi ai Raggi X. Infatti attraverso questa analisi si è notato che, i campioni sottoposti a trattamenti con pasta dentifricia contenente il 5% di idrossiapatite mostrano un aumento della cristallinità, correlabile con una possibile remineralizzazione della componente minerale del dente (la dentina), in funzione del tempo di

esposizione al trattamento, d'altronde osservando i valori delle intensità medie dei picchi corrispondenti all'HA si nota un aumento progressivo della cristallinità. Lo stesso vale per i campioni sottoposti allo stesso trattamento con gel dentifricio. I campioni sottoposti a trattamenti con pasta dentifricia contenente il 10% di HA mostrano anch'essi un aumento della cristallinità, lo stesso vale per i campioni sottoposti al trattamento con il 15% di HA. Ma va notato però che il massimo grado di cristallinità lo sia ha nel trattamento a 24 ore e anche se il trattamento con il 15% di HA provoca una diminuzione della cristallinità, spiegabile con il fatto che l'elevato contenuto di cristalli di HA sortisce un effetto abrasivo sul dente, rilevabile solo a livello microscopico. Mentre i trattamenti a 12 ore mostrano una diminuzione della cristallinità rispetto al trattamento a 24 ore, pur avendo il picco massimo al 10% di HA, indice del fatto che per un trattamento efficace nella prevenzione e nella cura delle carie dentali sarebbe e le quantità ottimali di HA sono 10 %. Il massimo grado di cristallinità si riscontra nei trattamenti intervallati da 24, al 10% di HA. I trattamenti condotti a 6 ore e a 12ore mostrano una minore cristallinità rispetto al trattamento a 24 ore, pur avendo il picco massimo al 10% di HA, indice del fatto che il poco tempo che intercorre tra un trattamento e l'altro non danno il tempo necessario ai cristalli di HA mineralizzare la superficie del dente, ma sortisce un effetto abrasivo. Quindi fino al 10% la mineralizzazione è funzione del tempo.

Per quanto riguarda il trattamento con gel dentifricio e HA abbiamo riscontrato un aumento della cristallinità nei campioni trattati a 6ore, in questo caso si ha un progressivo aumento della cristallinità all'aumentare delle quantità di HA aggiunte al gel dentifricio, molto probabilmente dovuto al fatto che durante la fase di miscelazione dell' HA al gel si formano degli aggregati di HA dispersi in quest'ultimo, maggiori sono le quantità di HA maggiori saranno gli aggregati dello stesso, maggiore sarà il contatto della superficie dentale con l' HA. Al contrario nella pasta dentifricia l' HA si amalgama bene con quest'ultimo,

creando un composto omogeneo che grazie allo spazzolamento viene posta su tutta la superficie del dente, tanto che poche quantità di HA “assunte” costantemente sono efficaci nel processo di demineralizzazione.

Attraverso l'analisi al SEM è stato possibile metter in risalto le caratteristiche morfologiche del dente. Nel dente affetto da carie sono ben visibili i tubuli della dentina, i quali vengono “fuori” quando inizia a consumarsi la dentina stessa.

Le microfotografie dei campioni di dente trattati con pasta dentifricia e gel dentifricia con l'aggiunta di HA, evidenziano la presenza di grumi sulla superficie del dente. Tali grumi non sono altro che cristalli di HA depositatosi sulla dentina.

Nei trattamenti in cui le quantità di HA sono del 10% i campioni evidenziano maggiori cristalli di HA depositati sulla superficie dentale, e i tubuli dentinali risultano meno accentuati, quasi “occlusi”. Lo stesso si evince dalle microfotografie dei campioni trattati con pasta gel e HA. Quindi i movimenti rotatori effettuati con lo spazzolino permettono ai cristalli di HA di depositarsi e “ancorarsi” ai cristalli presenti nel dente. Quindi il composto viene sciolto con acqua, creando l'ambiente umido, ideale, tale per cui l'HA è in grado di stimolare la dentina a riformarsi, per poi ricomporsi attraverso l'interazione tra gli atomi dello smalto naturale e del composto stesso. Il risultato è una cristallizzazione del composto che determina un aumento della cristallinità del dente, traducibile con un aumento della durezza della superficie del dente. Potremmo dire questo composto potrebbe avere effetti benefici nella prevenzione e nella cura delle carie dentarie. Forse un giorno andare dal dentista non farà più paura. Addio quindi al doloroso e ronzante trapano, odiato da grandi e piccini, in favore di un nuovo nuova pasta dentifricia auto-riparante che permette di curare, in circa 10 giorni, le piccole lesioni ai denti causate dalla carie e forse potremmo anche dire: *“Sedersi sulla sedia del dentista non toglierà più il sorriso....”*

Appendice

Nel corso dei tre anni di dottorato, parallelamente al mio progetto di ricerca riguardante i biomateriali, ho effettuato uno studio sulla stabilità dei farmaci quali (antiinfiammatori, integratori di vitamina D, e contraccettivi orali), più precisamente è stata effettuata una caratterizzazione chimico-fisica dei farmaci in corretto stato di conservazione e non. Il campionamento è stato effettuato catalogando i farmaci in base al principio attivo, in base alla loro data di scadenza e in base allo stato di conservazione. I farmaci così catalogati sono stati sottoposti alla caratterizzazione, con gli strumenti presenti in laboratorio, al fine di metter in evidenza le caratteristiche chimiche del principio attivo e degli eccipienti. Sono stati analizzati anche farmaci scaduti, per valutare eventuali differenze nella composizione chimica dello stesso. Successivamente sono stati effettuati prove per valutare il grado di stabilità del farmaco oggetto di studio, sottoponendolo, in intervalli di tempo da noi stabiliti, all'azione del sole, della temperatura e dell'umidità. Dimostrando così quanto è importante che il farmaco venga correttamente conservato.

Infatti la corretta conservazione dei medicinali è importante per mantenere inalterate le loro caratteristiche per tutto il periodo di validità indicato sulla confezione. In altre parole, per garantirne la stabilità, essenziale perché i farmaci possano esplicare in pieno l'attività farmacologica attesa.

Secondo la Farmacopea Italiana, "testo di riferimento" per la preparazione dei farmaci, "un medicamento è considerato stabile quando, in un determinato periodo di tempo, le sue proprietà essenziali non cambiano o cambiano entro limiti tollerabili, se conservato in un recipiente adatto, in condizioni definite di temperatura, di umidità e di esposizione alla luce".

Vale a dire che i principi attivi di un medicinale non devono essere considerati stabili indefinitamente, bensì soggetti nel tempo a variazioni anche significative delle loro proprietà. Dagli studi effettuati possiamo affermare che i termini di validità indicati sulle confezioni, cioè il periodo che intercorre fra la data di preparazione e quella di scadenza (per certi farmaci si tratta di soli 12 mesi),

confermano la difficoltà a mantenere inalterate nel tempo le caratteristiche chimiche, chimico-fisiche e farmacologiche di un medicinale. Cioè, l'aspetto, la forma, le proprietà. L'indicazione della data di scadenza garantisce quindi la sicurezza e l'efficacia d'impiego.

L'arco di tempo definito come "periodo di stabilità" in pratica è il periodo che intercorre fra il momento della preparazione del farmaco e il momento in cui non soddisfa più i requisiti della Farmacopea, perché ha perso oltre il 10 per cento della sua attività oppure perché è cambiata la sua tossicità generale.

Quest'ultima evenienza è fortunatamente piuttosto rara: dal punto di vista della tossicità, infatti, l'impiego dei farmaci dopo la data di scadenza comporta in generale problemi di lieve entità, come riportato in numerosi studi. La data di scadenza si riferisce al prodotto integro nella confezione originale. Finché la confezione è chiusa la maggior parte dei farmaci si conserva a lungo (3-5 anni). È sempre indicata sulla scatola (obbligo di legge), ma non necessariamente sul contenitore interno o sul blister di alluminio. Per questo motivo i farmaci non vanno mai sconfezionati.

Molti farmaci temono l'esposizione al calore, all'umidità e alla luce.

La temperatura

In genere, un aumento di temperatura di 10 gradi fa aumentare la velocità delle reazioni chimiche di 2-4 volte. Ciò significa che si raddoppia o quadruplica anche la velocità con cui un farmaco si decompone (perde le sue proprietà e/o può diventare tossico). Attenzione perciò a non lasciare i farmaci vicino a fonti di calore o a lungo sotto il sole (per esempio, in automobile).

La luce

Può provocare profonde alterazioni nella struttura dei farmaci, attraverso complesse reazioni chimiche. Per questo le confezioni dei medicinali sono tali da evitare l'esposizione alla luce dei prodotti sensibili (flaconi di vetro scuro, blister di alluminio opachi) e vanno sempre tenute rigorosamente chiuse.

L'umidità

Può favorire il deterioramento dei medicinali, abbreviando il loro periodo di validità. L'ideale è conservarli in luoghi freschi e asciutti.

Dallo studio effettuato sui farmaci è stato possibile valutare quali sono i cambiamenti a cui va incontro il farmaco a vari trattamenti sottoposti, trattamenti hanno lo scopo di riprodurre gli effetti della temperatura dell'umidità e della luce sui farmaci oggetto di studio. Inoltre con i farmaci antinfiammatori sono stati riposte le condizioni fisiologiche dell'apparato gastrointestinale al fine valutare il comportamento del farmaco durante la sua discesa lungo il tratto gastroenterico.

Nel caso più specifico viene qui di seguito riportato il comportamento dei farmaci a antinfiammatori a base di Iuprofene e Ketoprofene. Dapprima sono state osservate, attraverso Analisi Termogravimetrica e Raggi X, le caratteristiche chimico fisiche dei farmaci nuovi, scaduti e prossimi alla scadenza. Dagli spettri RX, fatti sui farmaci si è visto che, le intensità dei picchi corrispondenti al principio attivo e agli eccipienti è funzione della quantità in cui essi sono contenuti nei singoli farmaci; infatti nel Ketoprofene Doc, il campione presenta uno spettro RX con intensità maggiore, rispetto ai farmaci appartenenti alla stessa classe, poiché il farmaco che contiene una maggiore quantità di principio attivo. Lo stesso vale per i farmaci appartenenti alla categoria di quelli contenenti Ibuprofene. I risultati ottenuti dalle analisi termogravimetriche mostrano che i farmaci contenuti Ibuprofene, come il Moment, presentano una perdita di peso totale minore (75%) rispetto alla classe dei farmaci contenenti Ketoprofene (circa 90%), questo risultato potrebbe essere tradotto in termini di stabilità, e quindi disponibilità del principio attivo e cioè, la molecola non si degrada totalmente, la sua struttura non viene intaccata nella sua interezza rimanendo stabile durante il processo. Infatti in letteratura è riportato che in genere, un aumento di temperatura di 10 gradi fa aumentare la velocità delle

reazioni chimiche di 2-4 volte. Ciò significa che si raddoppia o quadruplica anche la velocità con cui un farmaco si decompone (perde le sue proprietà e/o può diventare tossico), in questo caso la perdita di peso in % è dovuta alla distruzione dei principi attivi del farmaco stesso. Prove condotte invece sugli stessi farmaci, di entrambe le categorie, ma scaduti, mostrano, per quanto concerne i Raggi X, una diminuzione della cristallinità traducibile come diminuzione delle componenti dei farmaci. Anche dalle analisi termogravimetriche si osserva una maggiore perdita di peso totale, rispetto ai farmaci non scaduti. Il tutto potrebbe essere inteso anche come una perdita di stabilità del farmaco stesso oltre la data di scadenza riportata sulle confezioni. Questo significa che i principi attivi di un medicinale non devono essere considerati stabili indefinitamente, bensì soggetti nel tempo a variazioni anche significative delle loro proprietà. I termini di validità indicati sulle confezioni, cioè il periodo che intercorre fra la data di preparazione e quella di scadenza (mai superiore a 5 anni), manifestano la difficoltà a mantenere inalterate nel tempo le caratteristiche chimiche, chimico-fisiche e farmacologiche di un medicinale: l'aspetto, la forma, le proprietà. Infatti il fatto che si abbia una diminuzione dell'intensità del picco corrispondente al principio attivo, corrisponde ad una minore quantità dello stesso e di conseguenza potrebbe essere tradotto come minore disponibilità e minore efficacia del farmaco stesso. Lo stesso vale per le analisi termogravimetriche, risultati ci mostrano una maggiore perdita di peso degli eccipienti e del principio attivo nel farmaco, per entrambe le categorie farmaceutiche. In molti casi si ha una perdita totale del 100%, traducibile come una minore resistenza del farmaco ai processi di degradazione, e quindi chimicamente meno stabile. L'indicazione della data di scadenza garantisce quindi la sicurezza e l'efficacia d'impiego. L'arco di tempo definito come "periodo di stabilità" in pratica è il periodo che intercorre fra il momento della preparazione del farmaco e il momento in cui non soddisfa più i requisiti della F.U. Italiana (IX Edizione), perché ha perso la sua attività oppure perché sono

cambiate le sue caratteristiche generali, come aspetto e forma. Potremmo quindi affermare, riferendoci anche a studi riportati in letteratura, che l'impiego dei farmaci dopo la data di scadenza comporta in generale problemi di lieve entità. Le uniche segnalazioni di effetti tossici da farmaco scaduto è stata associata all'uso di antibiotici della famiglia delle tetracicline (danno renale) e delle penicilline (aumentata probabilità di reazioni allergiche). La data di scadenza si riferisce al prodotto integro nella confezione originale. Finché la confezione è chiusa la maggior parte dei farmaci si conserva a lungo (3-5 anni) se non diversamente indicato sulla confezione. Per questo motivo i farmaci sconfezionati non devono essere mai dispensati. Le stesse analisi sono state condotte sui farmaci sottoposti a trattamento termico, al fine di simulare le condizioni ambientali presenti nelle case degli italiani, e valutare come la temperatura e l'umidità agiscono sulle caratteristiche dei farmaci presi in esame. Nel nostro caso è stato riprodotto l'ambiente umido che si crea in una stanza dove ci siano dei vapori (bagno, cucina). I campioni sono stati posti in una camera satura di umidità ad una temperatura compresa tra i 30°C e i 60°C, per un periodo di tempo compreso tra i 7 e i 30 giorni, considerato il fatto che nell'arco di un mese a tutti capita di prendere uno di questi farmaci anche per combattere un banalissimo mal di testa. I risultati ottenuti dai raggi X e dalle analisi termogravimetriche mostrano lievi variazioni nelle intensità dei picchi corrispondenti al principio attivo e agli eccipienti, e lievi variazioni di perdite di peso, registrati dalle curve TG/DTG rispetto ai campioni in corretto stato di conservazione. Anche le analisi microscopiche condotte sui farmaci trattati non mostrano significative variazioni della morfologia del farmaco. Questo ci permette di dire che una cattiva conservazione del farmaco, in ambienti dove temperatura e umidità sono variabili, viene modificata la struttura cristallina del principio attivo, e degli eccipienti; tutto ciò si riflette in una minore biodisponibilità del farmaco ed una minore efficacia del farmaco stesso, quindi non si hanno effetti dannosi per l'organismo, ma una diminuita efficacia

terapeutica. Infatti la temperatura, l'umidità e anche la luce sono causa di instabilità dei farmaci. Come regola generale, i medicinali devono essere conservati alla temperatura riportata sulle confezioni. In mancanza di indicazioni riguardanti la conservazione, vanno conservati a temperatura ambiente, tra gli 8 e i 25 °C. In ultimo, gli stessi farmaci sono stati sottoposti a trattamenti a diversi pH con soluzioni di HCL al fine di simulare il percorso del farmaco lungo il tratto gastro-intestinale. Poiché l'ambiente acido dello stomaco e il tempo di svuotamento gastrico influenzano l'assorbimento del farmaco, abbiamo trattato i farmaci a pH crescenti e abbiamo aumentato la durata nel tempo del trattamento del farmaco stesso, perché la contemporanea assunzione di cibo rallenta lo svuotamento gastrico. I farmaci, sono stati trattati ai diversi pH (3-5-7) e per un tempo diverso che tenesse conto dell'emivita del principio attivo (30 min, 1 ora, 2 ore 30 min, 3 ore), tutto ciò per valutarne la biodisponibilità e quindi l'effetto terapeutico. I dati ottenuti attraverso le analisi diffrattometriche, evidenziano una minore cristallinità (minore intensità del picco corrispondente al principio attivo) nei farmaci a base di Ibuprofene trattati con HCl a pH 3 per 1 h. Fatta eccezione per il Moment, che mostra minore cristallinità dopo trattamento in HCl per 2,5 h, in quanto ha una maggiore quantità di principio attivo, rispetto agli altri farmaci della stessa categoria, quindi un effetto terapeutico prolungato nel tempo. Riguardo il Ketoprofene, si può invece affermare che nella forma farmaceutica Ketodol, diminuisce la cristallinità dopo trattamento di 1 h in HCl a PH 7, si può quindi supporre che la sua efficacia si espliciti in un tempo maggiore rispetto al Moment. Le analisi termogravimetriche condotte sui campioni trattati con HCl hanno dato, per le due classi farmaceutiche, valori diversi. In particolare Antalgil ed Antalisin (Ibuprofene) presentano una perdita di peso (curva TG/DTG) di circa il 100% nel trattamento con HCL a PH 5 per 30 min, rispetto al Moment che mostra invece una perdita di peso pressoché costante in tutta la durata del trattamento. Dei farmaci a base di Ketoprofene, il Ketodol è stato preso come farmaco di riferimento, ed ha mostrato un

andamento analogo a quello del Moment. In ultimo, potremmo dunque sostenere che il Moment ed il Ketodol sono le due specialità medicinali, delle rispettive classi, con effetto terapeutico prolungato nel tempo. Allo stesso modo sono stati caratterizzati una particolare classe di farmaci, contraccettivi orali a base di Ciproterone acetato e Etinilestradiolo anche in questo caso distinti in farmaci non scaduti e scaduti. Dagli spettri RX, fatti sui farmaci si è visto che, le intensità dei picchi corrispondenti al principio attivo e agli eccipienti è funzione della quantità in cui essi sono contenuti nei singoli farmaci; inoltre si è notato come gli eccipienti soprattutto il lattosio presentino un picco di maggior intensità rispetto ai principi attivi dovuto al fatto che questi sono presenti in piccole quantità. Gli spettri RX dei campioni presi in esame mostrano un andamento simile, non si riscontrano differenze tra loro, indice del fatto che questi farmaci presentano una composizione pressochè simile. I risultati ottenuti dalle analisi termogravimetriche mostrano che i farmaci contenenti Ciproterone Acetato e Etinilestradiolo mostrano perdite di peso totali pressochè costanti, si ha una perdita di peso totale del 90% questo risultato potrebbe essere tradotto in termini di stabilità, e quindi disponibilità del principio attivo e cioè, la molecola si degrada totalmente, e insieme ad esso anche gli eccipienti, il 10% di peso rimanente del campione di partenza potrebbe essere dovuto alla presenza di residui di eccipienti che non si sono completamente degradati durante il processo. Anche dalle analisi termogravimetriche si osserva una maggiore perdita di peso totale, rispetto ai farmaci non scaduti. Il tutto potrebbe essere inteso anche come un perdita di stabilità del farmaco stesso oltre la data di scadenza riportata sulle confezioni. Questo significa che i principi attivi di un medicinale non devono essere considerati stabili indefinitamente, bensì soggetti nel tempo a variazioni anche significative delle loro proprietà. Infatti il fatto che si abbia una diminuzione dell'intensità del picco corrispondente al principio attivo, corrisponde ad una minore quantità dello stesso e di conseguenza potrebbe essere tradotto come minore disponibilità e minore efficacia del farmaco stesso.

Lo stesso vale per le analisi termogravimetriche, risultati ci mostrano una maggiore perdita di peso degli eccipienti e del principio attivo nel farmaco, per entrambe le categorie farmaceutiche. In molti casi si ha una perdita totale del 90%, traducibile come una minore resistenza del farmaco ai processi di degradazione, e quindi chimicamente meno stabile. Ma mentre l'impiego di farmaci antinfiammatori e i farmaci generici, come riportato in letteratura, dopo la data di scadenza comporta in generale problemi di lieve entità, per i Contraccettivi orali sono state fatte segnalazioni di effetti tossici da farmaco scaduto, questo perché la molecola del principio attivo presenta una minore stabilità, e subisce reazioni chimiche che comportano la formazione di nuove molecole, che potrebbero causare effetti tossici. La presenza di una nuova molecola è stata riscontrata attraverso le analisi di fotodegradazione supportate dai RX, infatti si è ipotizzati che si formino dei prodotti di degradazione visibili dal fatto che si ha prima una diminuzione delle intensità medie dei principi attivi lineare, per esserci nuovamente un aumento e per poi diminuire. La presenza di un aumento della cristallinità potrebbe essere ricondotta alla presenza di prodotti di degradazione.

Dai dati ottenuti dalla caratterizzazione dei diversi farmaci potremmo affermare che una cattiva conservazione del farmaco, ad esempio conservato in cucina o nel bagno, dove temperatura e umidità sono variabili, viene modificata la struttura cristallina del principio attivo, e degli eccipienti, tutto ciò si riflette in una minore biodisponibilità del farmaco ed una minore efficacia del farmaco stesso, quindi non si hanno effetti dannosi per l'organismo, ma una diminuita efficacia terapeutica.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Prof. Daniele Bani- Università di Firenze: danielebani@unifi.it
- 2) Y.C Fung in *Bioceramics, Mechanical properties of living tissues* (springer – Verlog Inc. New York,1993)
- 3) T.Snora Saraju, D.B Phebe, *Journal of Materials Science* 31 (1996)
- 4) S. Barbare, V.DiFranca, Vgalbeati in *Anatomia e Fisiologia dell'uomo*
- 5) www.istologiaosso.htm
- 6) Dr.ssa Isabella Manetti : manetti@vico.it
- 7) Anderson Iac: Biology of Disease: *Mechanism of mineral formation in bone*: Lab. Invest. 60, 320 (1989)
- 8) Albert L. Lehninger, David L. Nelson, Michael M. Cox: *Principi di Biochimica*. Zanichelli
- 9) A. miller and D.A. D. Parry: *Structure and Packing of Microfibrils in collagen*. J. mol. Biol. 75(1973)
- 10) Monesi V: *Istologia* Ed. Piccin Padova (1977)
- 11) S.Lees, K. ProsteK: *The locus of mineral crystallites in bone*. Comm. Tissue Res.(1988)
- 12) A. miller and D.A. D. Parry: *Structure and Pcking of Microfibrils in collagen*. J mol Biol. 75(1973)
- 13) Bilezzikien JP, Raisz LG, Rodan GA: *Principle of bone biology*. Accademjc Press. San Diego, USA 1996
- 14) K. Kinhn, in R Myne and R. Burgeson eds: *Structure and Function of collagen types*, Accademic Press (1987)

- 15) M.E Nimni, M. Zern and L. Reid, eds.: *Extracellular Matrix* (1993)
- 16) Molecular Biology Of The cell, 3rd edi. Part IV : *Cell in Their Social context* chapter 19 : *Collagenous Are The Major Proteins Of The Extracellular Matrix.*
- 17) Albert L. Lehninger, David L. Nelson, Michael M. Cox : *Principi Di Biochimica* seconda edizione, Zanichelli. (1994)
- 18) F. Betts, N.C Blummenthal, As. Posuer: *Bone Mineralization.* J.Crit. Griowt (1981)
- 19) S. Leus, K. Prostek : The *Locus Of Mineral Crystallites in bone.* Corn. Tissues Res. (1988)
- 20) A. Miller and D. AD. Porry : *Structure And Packing Of Microfibriles in Collagen:* J. Mol. Biol. (1973)
- 21) E.D. Eanes. : *Crystall Growth Of Mineral Phases in Skeleton Tissues.* Prog. Crys. Growth Charact. (1980)
- 22) A. Franzein and A. Oldberg.. *Non Collagenus Proteins Of Bone.* In : Clynical Impact Of Bone And Connective Tissues Marker. Ludh and Jan I. Thorell.
- 23) Princ PA: *Osteocalcin. Bone And Mineral Research.* Princeton Excerpt a Medica. (1983)
- 24) Puchact E., Lion JB, Stein GS: *Crhomosomal Localization Of The Human Osteocalcin Gene.* Endocrinology-124 (1989)
- 25) Thermine JD, Keimarn HK, Whitson SW: *Osteonectin, A Bone Specific Protein Phospate Gene.* J. Biol. Chem.-263 (1988)
- 26) Bianco P, Kopp JB, Fisher LW, Thermine JD, Giron Robey p. : *New Date On The Distribution Of Osteonectin/ SPARC in Human*

- And Mouse Tissues Their Potential Implication.* J Bone Miner Res (1988)
- 27) Weiss MP, Kimal R, Harris H.: *Structure Of The Human Liver/ Bone/ Kidney Alkalin Phospatase gene.* J.Biol.Chem.-263 (1988)
- 28) Mbnji-Mnamba JM, Dcoker J, Geners G. : *Collagen And Non Collagenous Proteins In Different Mineralization Stages Of Human Femur.*Acta Anat-134 (1989)
- 29) Franzeir WA: *Thrombospondin.* J,Cell. Biol.-105 (1987)
- 30) Bianco P, Fisher LW, Yanug MF, Thermine JD, Gerhan Robey P: *Expression of Bone Sialoprotein In Human Developing Skeletal And Non Skeletal Tissues.* Calcif. Tisses. Int. In press.
- 31) Butler WT,: *The Nature and Significance Of Osteopontin.* Coll. Relat. Ress.-23 (1989)
- 32) Rouslathie: *Proteglicans In Cell Regulation.* J. Biol. Chem.-264 (1989)
- 33) R.A. Young and W.E. Brown: *Structure Of Biological Minerals.* In: Biological Mineralitation And Demineralitation. Dahlern Kanfhenzen- Ed.G.H NoncollesSpinger-VerlagBerlin, Heidelberg N.Y (1982)
- 34) R.A Young: *Biological Apatite VS Hidroxyapatite At Atomic Level.* Clin. Orthop.-113 (1975)
- 35) Glimcher Ma. Et al. : Macromolecular aggregation States In Relation To Mineralitation : The Collagen-Idroxyapatite Sistem As Study In Vitro. Proc. Note Acad. Sci. Usa 43-860 (1957)
- 36) Bloom Fawcett: Trattato Di Istologia. Ed. Piccin Padova (1970)
- 37) Anatomia Umana Edises.
- 38) P. Rosati: Citologia E Istologia. Edi-Ermes, Milano (1989)
- 39) Anatomia Umana Edises.

- 40) Hancock NM *Biology Of Bone*. University Press, Cambridge UK (1972)
- 41) www.Roche.it : Metabolismo Osseo Immulite
- 42) www.Roche.it : Protagonista: Metabolismo Osseo
- 43) www.Roche.it : Dr Edoardo Pozzi: Il rimodellamento Osseo, Aspetti Biochimici e Funzionali
- 44) Owen M.: *Histogenesis Of Bone Cells*. Calcif. Tissues Res-25;265 (1978)
- 45) Reichel H., Koeffler HP, Norman AW : *The Role Of Vitamin D Endocrin system In Health And Disease*. New England J. Med.-320 (1989)
- 46) Raisz Lg, Kream BE: *Hormonal Control Of Skeleton Growth* . Annu. Rev. Physiol.-43 :225 (1981)
- 47) Urist MR Et Al. *Bone cell Differentiation And Growth Factor*. Science-220:680 (1983)
- 48) Zipkin I: *Biological Mineralitation*. J Wiley e Sons. New York USA (1973)
- 49) www.Mepha.ch Mepha Pharma sa
- 50) www.Benessere.com
- 51) www.Salute.tin.it : Dott. Fabio Bertaiola
- 52) [www.Elvirodicave.it/cosa è alluce valgo.html](http://www.Elvirodicave.it/cosa_è_alluce_valgo.html)
- 53) www.lombalgia.it Dr Jacob Thekkera
- 54) www.lombalgia.it Dr Donato Beccellari
- 55) L. Menbue, L. Forti et al. : *A study Of Materials To Produce Bioceramics With Controlled Porosity For Prosthetic Implants Stabilized By Bone Tissue Ingrowth*. Biomateriali, 3 / 4(1992)
- 56) L. Nicolais, Composite materials for Biomedical Applications, Int. Jour. Art. Organs, (1980).

- 57) L. Nicolais, *Le Strutture Come Riferimento Per La Progettazione Di Biomateriali*, VII Congresso Nazionale di Chirurgia Maxillo-Facciale, Monduzzi Editore, Ischia 28-31 Maggio 1991,3.
- 58) R. Martinetti, A. Belpassi et al.: *Idrossiapatite Porosa Sintetica Per Sostituzioni Ossee: Caratterizzazione Chimico-Fisica*. Biomateriali (1992)
- 59) R. Martinetti, H. Dennisen, E. Roncari , P. Rinasco, C. Mangano, *Fourth Euro Ceramics*-vol.8 (1995), 53
- 60) M. Fabbri, A. Nataloni G. Celotti, A Ravaglioli, *Fourth Euro Ceramics*-vol.8 (1995), 109
- 61) R. Martinetti, H. Dennisen, E. Roncari , P. Rinasco, C. Mangano, *Fourth Euro Ceramics*-vol.8 (1995), 53
- 62) Misch CE: Dietsh-F : *Bone – Grafting Materials In Implant Dentistry*. Implant-Dent. (1993) Fall. 2 (3).
- 63) A. Ravaglioli, A. Krajewski: *Bioceramica e Corpo Umano*. Ed. Faenza (1984)
- 64) J. C. Elliot: *Structure and Chemistry Of The Apatites And Other Calcium Orthophosphates* .
- 65) Gabbi C., Locardi B., Pazzeggia, Verità: *Il Biovetro Quale Materiale Di Rivestimento Del Titanio*. Riv. Staz. Sper. Vetro, 2 (1991)
- 66) Cesare Brisi: *Chimica Applicata*. Ed. Leprotto e Bella.
- 67) J. C. Elliot: *Structure and Chemistry Of The Apatites And Other Calcium Orthophosphates* .
- 68) P. Ducheyne, T. Kokubo, C.A van Blytterswijk, eds, *Bone Bonding Biomaterials*. Leiderdorp, Netherlands : Reed Healthcare Communications, (1992)
- 69) LL. Hench, *Biomaterials* (1998), 19

- 70) E. Bertoni, A. Bigi, G. Falini, S. Pazavolta, N. Roveri, *J.Mater. Chem.* (1999), 9.
- 71) M. Sous, R Barelle, F. Rousais, D. Clement, J Amedee, B. Dupuy, C.H. Baquey, *Biomaterials* (1998), 19.
- 72) S. Langstaff, M. Sayer, T.J.N. Smith, S.M. Pugh, *Biomaterials*, (2001), 22.
- 73) Dott. Angelo Nataloni: *Dalle Bioceramiche Alla Ingegneria Tissutale: Le Biotecnologie Del Terzo Millennio*
- 74) M. Fabbri, G.C. Celotti, A. Ravaglioli: Hydroxyapatite-Based Porous Aggregates: Physico-Chemical Nature, Structure, Texture And Architecture. *Biomaterials*. (1994)
- 75) www.spazioinwind.libero.it/teobenedetti/ceramica-calcio-fosfato
- 76) www.Fin-ceramica.it
- 77) S.B. Hendricks, M.E. Jefferson and V.M. Mosley, *Kristallogr.* 81 (1932) 352.
- 78) A. Ascenzia, E. Bonucci, P. Generali, A. Ripamonti and N. Roveri. *Calcif. Tissue Int.* 29 (1979) 101.
- 79) R.A. Youngt, W. van der Lugt and J.C. Elliot. *Nature* 223 (1969) 729.
- 80) www.spazioinwind.libero.it/teobenedetti/ceramini-calcio-fosfato
- 81) www.Fin-ceramica.it
- 82) www.spazioinwind.libero.it/teobenedetti/ceramicic-calcio-fosfato
- 83) H.M. Rootare, V.R. Deitz and F.G. Carpenter *J.Coll.Sci.* 17 (1962) 179.
- 84) C.P.A.T. Klein et al.: *Studies of The Solubility of The Different Calcium Phosphate Ceramics Particles in Vitro*. *Biomaterials*, 11 (1990)

- 85) F.C.M. Driessens et al.: *Metastable States in Calcium Phosphate-Aqueous Phase Equilibration*. J. Crystal. Growth, 53 (1981)
- 86) CARLO DI BELLO: Biomateriali "Introduzione allo studio dei materiali per uso biomedico" Patron Editor 2004
- 87) RICCARDO PIETROBISSA: "Biomateriali per protesi e organi artificiali"
Patron Editor 2004
- 88) ACS SYMPOSIUM SERIAS 804: "Polimery Nanocompositivity"
Ed. by Roman Wri Shmonoorbi and Richard A.Voia
- 89) ELSEVIER APPLIED SCIENCE: "Bioceramics and the human bo"
Edited by A. Ravaglioli and Krajewki
- 90) ENCICLOPEDIA CHIMICA: "Struttura e proprietà della materia" Isedi
- 91) WWW. ORTHOPEDIE.COM: "Processi di adesione ed accrescimento dei tessuti"
- 92) WWW. ORTHOPEDIE.COM: "Interazioni tra biomateriali e tessuti"
- 93) WWW.TESIONLINE.IT: "Aspetti classificativi, biologici e medico-legali dei biomateriali"
- 94) WWW.ISTEC.CNR.IT: "Studio delle proprietà dei biomateriali"
- 95) WWW.TECHNICA.NET: "Biomateriali Polimerici"
- 96) WWW. 2INIME.IT: "Caratterizzazione dei biomateriali"
- 97) Http: Spazio in wind.libero.it: Le classi di bioceramici
- 98) WWW.IDEMNET.IT: "Fullerene e nanotubi"

- 102) WWW.IDEMNET.IT: "Le caratteristiche principali dei nanotubi"
- 103) WWW.IDEMNET.IT: "Ma come si producono i nanotubi? "
- 104) WWW.ORTHOPEIDIE.COM.: "Interazioni tra biomateriali e tessuti"
- 105) WWW.ORTHOPEIDIE.COM.: "Biomateriali come sostitutivi d' osso in chirurgia
- 106) orale: biomateriali di derivazione biologica e biomateriali di sintesi"
- 107) WWW.IDROSSIAPATITE.IT
- 108) WWW.UNIME.IT : "Biomimetici e Biomateriali"
- 109) L.FAMBRI,A.DE LOLLIS,P.CAPUANA,C.MIGLIARESI:
"Confronto fisico-
- 110) meccanico di cementi ossei commerciali" Ed. Giornale Italiano di Ortopedia e
- 111) Traumatologia-2[^] suppl. Vol .XXII fasc. 2 giugno 1996
- 112) DANIEL C.HARRIS: "Elementi di chimica analitica" Ed. Zanichelli
- 113) ENCICLOPEDIA MEDICA: Zanichelli
- 114) LISSA ROTUNDO: "Biologia"
- 115) FRANCESCO CLEMENTI, GUIDO FUMAGALLI:
"Farmacologia Generale e
- 116) Molecolare" Ed. UTET
- 117) BRUCE ALBERTS: "Biologia Molecolare della cellula" Ed. Zanichelli
- A. OKAZAKI, T. KOSHINO, T. SAITO, T. TAKAGI: "Osseous tissue reaction

- 118) around hydroxyapatite block implanted into proximal metaphysis of tibia of rat
- 119) with collagen-induced arthritis" *Biomaterials* 2000
- 120) ANDREA PECORA "Biomateriali sostitutivi dell'osso: idrossiapatite di sintesi"
- 121) Tesi di Laurea-Università Cattolica del Sacro Cuore-Facoltà di Medicina e Chirurgia,
- 122) A.A. 1998/99
- 123) T.S Narasaraju, D.B. Phebe, *Journal of Materials Science* 31 (1996)
- 124) S. Barbore, V. Di Francia, V. Galbiati in *Anatomia e Fisiologia dell'uomo*.
- 125) www.spazioinwind.libero.it/teobenedetti/ceramici-calcio-fosfato
- 126) www.Fin-ceramica.it
- 127) Lia Damascelli: *Bioteconologie: Officine Ricambi.....Umani*. Quark, 8 (2001)
- 128) www.cba.unige.it/cba/cbaita.html
- 129) Lia Damascelli: *Bioteconologie: Officine Ricambi.....Umani*. Quark, 8 (2001)
- 130) Quark, (2003)
- 131)
- 132) R. Martinetti, A. Belpassi, A. Nataloni, V. Biasimi, G. Martignani: *Porous Hydroxyapatite As Synthetic Bone Graft: Physico-Chemical Characterisation*- 7° Congresso Nazionale della Società Nazionale Biomateriali, Roma (1999)
- 133) Galen W. Ewing: *Industrial Methods Of Chemical Analysis*. 23: McGraw Hill Book Company. N.Y. (1985)

- 134) Jong Jin Lim: *Thermogravimetric Analysis Of Human Femour Bone*.
J. Biol. Pyis. 3 (1975)
- 135) Galen W. Ewing: *Industrial Methods Of Chemical Analysis*. 23:
McGraw Hill Book Company. N.Y. (1985)
- 136) www.encosrl.it Enco Journal:14 Sezione Prove di Laboratorio
- 137) Le Scienze, I Quaderni: 123 (2001) *Microscopio Elettronico a Scansione*.
- 138) Atsuo Ito, Satoshi Nakamura et al.: *Hidrothermal Growth Of Carbonate-Containing Hydroxyapatite Single Crystal*
- 139) MM Seckler, M. Danese, S. Derenzo et al.: *Influence of process conditions on Hydroxyapatite Crystallinity Obtained by Direct Crystallization*. Mat. Res.-2 (2000).
- 140) P.Giusti , Dip. Di Ing. Dell'università degli studi di Pisa “ Materiali polimerici bioartificiali: un ponte tra il mondo scientifico e quello biologico”
- 141) A. Ravaglioli, A Krajewski, A. Nataloni, R. Martinetti, N. Francaviglia, G. Castellani “Ceramic biomaterials: classification and tissue response” Mat. Res. (2000)