

I N Ż Y N I E R I A BIOMATERIAŁÓW

ENGINEERING OF BIOMATERIALS
CZASOPISMO POLSKIEGO STOWARZYSZENIA BIOMATERIAŁÓW

Numer 54-55
Rok IX
ISSN 1429-7248

STYCZEŃ -
MARZEC 2006

WYDAWCA:

Polskie
Stowarzyszenie
Biomateriałów
w Krakowie

KOMITET REDAKCYJNY:

Redaktor naczelny
Stanisław Błazewicz

Sekretarz redakcji,
Skład komputerowy
Augustyn Powroźnik

RADA NAUKOWA:

**Jan Ryszard
Dąbrowski**

Jan Chłopek

Tadeusz Cieślik

**Monika Gierzyńska-
Dolna**

Andrzej Górecki

Wojciech Maria Kuś

Jan Marciniak

Stanisław Mazurkiewicz

Stanisław Mitura

Roman Pampuch

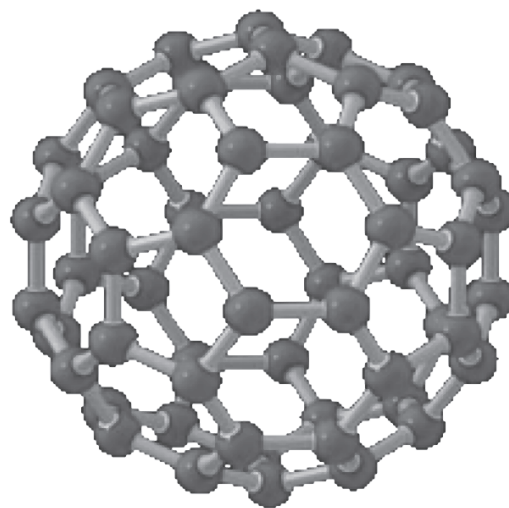
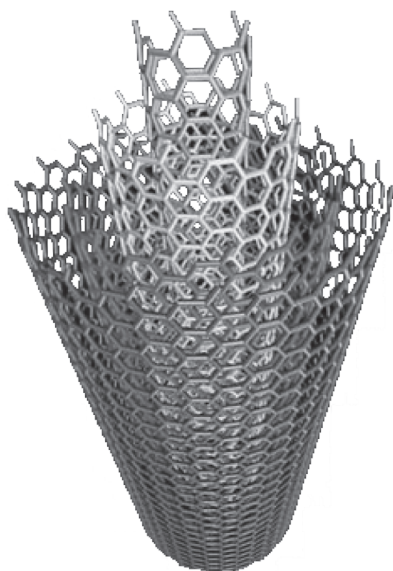
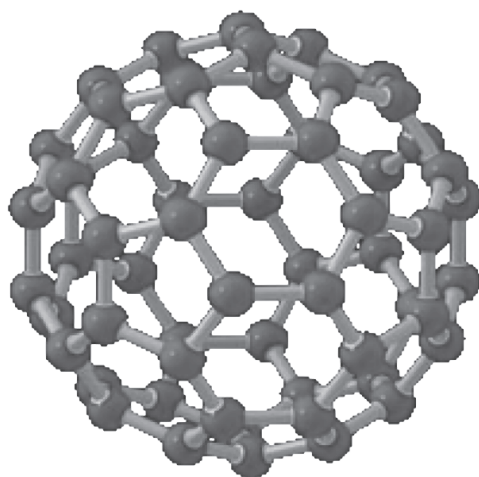
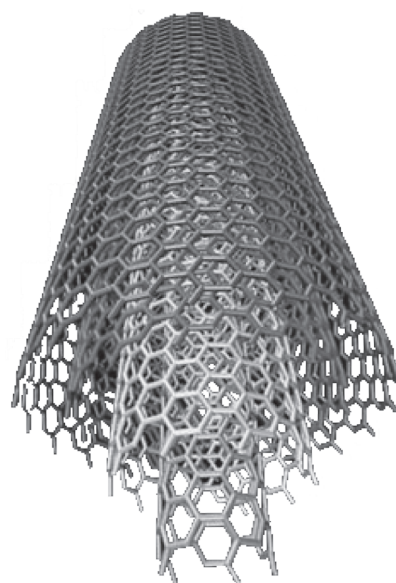
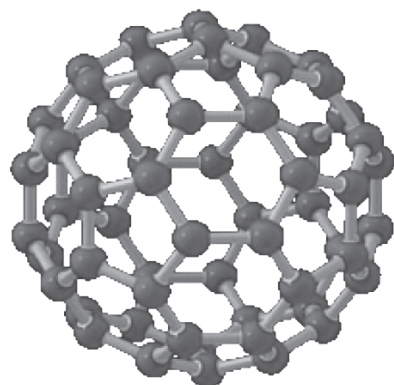
**Bogna Pogorzelska-
Stronczak**

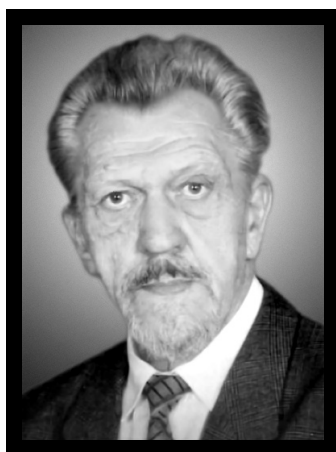
ADRES REDAKCJI:

Akademia
Górnictwo-Hutnicza
al. Mickiewicza 30/A-3
30-059 Kraków

Nakład: 200 egz.

Wydawnictwo Naukowe
AKAPIT
e-mail: wn@akapit.krakow.pl





WSPOMNIENIE O PROFESORZE ZBIGNIEWIE SZCZURKU

15 stycznia 2006r. roku odszedł od nas na zawsze w wieku 81 lat wybitny patomorfolog prof. dr hab. n. med. Zbigniew Szczurek, emerytowany profesor zwyczajny w I Katedrze i Zakładzie Patomorfologii w Zabrzu Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach. Tym, dla których był bliski z wyboru serca, przyjaźni i wspólnych przekonań, zapisał się w pamięci nie tylko jako lekarz – przyjaciel, uosobienie prawości i rzetelności, ale także jako człowiek mądrego, społecznego zaangażowania. W swoim życiu akademickim pełnił wiele funkcji, w tym Prodziekana i Dziekana Wydziału Lekarskiego w Zabrzu ŚAM.

Lekarz, humanista, człowiek o szerokim wachlarzu zainteresowań, nie tylko związanych z jego pracą naukową, ale również dotyczących różnych dziedzin życia. To Jego bardzo wnikliwe badania histopatologiczne otworzyły drogę dla medycznych aplikacji materiałów węglowych. Włókna węglowe i kompozyty wiele Mu zawdzięczają. Niewątpliwie współpraca z Profesorem i Jego zespołem miała istotny wpływ na nowe kierunki badań w obszarze biomateriałów.

Od samego początku brał udział w corocznej konferencji "Biomateriały w medycynie i weterynarii" organizowanej w Rytrze. Były to spotkania 2 grup ludzi – przedstawicieli środowisk medycznych i technicznych, którzy mówili różnymi językami, mówili o problemach nie do końca zrozumiałych dla obu stron. Największym sukcesem pierwszych spotkań było ustalenie wspólnego języka, ustalenie i zrozumienie pewnych definicji i pojęć, otwarcie drogi do owocnej dyskusji i właściwych wniosków. I tutaj objawiła się jakby pierwsza rola prof. Szczurka, rola nauczyciela środowiska technicznego z zakresu pojęć histopatologicznych, rola osoby integrującej środowiska techniczne i medyczne.

Zasadnicza rola to jednak rola analityczna pozwalająca ocenić reakcje tkankowe i komórkowe na wprowadzony do organizmu żywego obcy materiał jakim był implant. Największa trudność w interpretacji wynikała z innego charakteru

stosowanych implantów. Dotychczasowa praktyka dotyczyła głównie implantów metalicznych, w tym obszarze opracowane już były standardy i procedury postępowania.

Nowe biomateriały, które pojawiły się w latach 80-tych i 90-tych to materiały węglowe, polimerowe, ceramiczne i ich kompozyty. Materiały te wykazywały różne zachowanie biologiczne, niektóre z nich ulegały częściowej degradacji, inne były w pełni resorbowalne. Co więcej w ramach poszczególnych grup materiałów istniało wiele odmian o różnym składzie chemicznym, różnych właściwościach, różnej strukturze. Wszystko to utrudniało ocenę reakcji tkankowych i bardzo łatwo było o błędy. Staranności wnikiwość tych badań była tu cechą nadrzędną. Trzeba w tym miejscu jednoznacznie stwierdzić, że prof. Szczurek był prekursorem badań histopatologicznych tkanek narządów po implantacji materiałów węglowych w różnych formach i o różnym przeznaczeniu medycznym tj. włókien węglowych, włókniń oraz kompozytów. Pozwalały one sprecyzować m.in. w oparciu o badania reakcji tkankowych fizykochemiczne parametry decydujące o biogodności tych materiałów oraz mechanizmach ich oddziaływania ze środowiskiem biologicznym. Uzyskane korzystne wyniki badań potwierdziły, że sukces w implantologii jest m.in. wynikiem sprzężenia zwrotnego pomiędzy wynikami badań fizykochemicznych i technologicznych, a wynikami badań biologicznych. Podobnie było w przypadku polimerów i kompozytów. Można powiedzieć, że opracowane technologie nowych materiałów implantacyjnych są również udziałem prof. Szczurka i Jego zespołu.

Trzecim obszarem aktywności Profesora było Polskie Stowarzyszenie Biomateriałów. Profesor był członkiem założycielem tego Stowarzyszenia, członkiem Rady Naukowej Stowarzyszenia i czasopisma dwujęzycznego "Inżynieria Biomateriałów".

Myszę, że sukcesy w opisanych obszarach działania wynikały również z wielkiej osobowości Profesora. Była ona spoiwem, które pozwoliło Profesorowi spełniać tak wiele funkcji w naszym środowisku, środowisku biomateriałów. Jego życzliwość i otwartość do innych ludzi, zyskiwała powszechny szacunek i uznanie. Wszystko to świadczy o tym, że był wspaniałym człowiekiem, wielkim naukowym autorytetem ale i normalnym życzliwym kolegą.

Odszedł od nas człowiek wybitny i prawy, wielce zastężony dla nauki polskiej, niezastąpiony Kolegai Przyjaciel.

Na zawsze pozostanie w naszych sercach.

Żegnaj Profesorze!

Prof. dr hab. inż. Jan Chłopek
 Dziekan Wydziału Inżynierii Materiałowej i Ceramiki
 Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie
 Vice-Prezes Polskiego Stowarzyszenia Biomateriałów

SPIS TREŚCI

ZGODNOŚĆ STRUKTURALNO-ADAPTACYJNA
POŁĄCZEŃ KOŚCI Z POROWATYMI IMPLANTAMI
NA PODSTAWIE TRADYCYJNEGO JEDNOFAZO-
WEGO I WSPÓŁCZESNEGO DWUFAZOWEGO
POROSPĘŻYSTEGO MODELU
BIOMECHANICZNEGO TKANKI KOSTNEJ 1

R. UKLEJEWSKI, M. WINIECKI, P. ROGALA

STABILIZATORY DO ALLOGENNYCH
PRZESZCZEPÓW KOSTNYCH W OPERACJACH
REWIZYJNYCH I REKONSTRUKCYJNYCH
STAWU BIODROWEGO 13

J. JASIŃSKI, B. STODOLNIK, B. WÓJCKI, L. JEZIORSKI,
M. LUBAS, T.Sz. GAŹDZIK

BADANIA CYTOTOKSYCZNOŚCI WŁÓKNISTYCH
TWORZYW KOMPOZYTOWYCH 15

E. ZACZYŃSKA, A. CZARNY, B. ŻYWICKA,
E. STODOLAK, M. BŁAŻEWICZ

WPŁYW PARAMETRÓW POWIERZCHNI KOMPO-
ZYTOWYCH MATERIAŁÓW WŁÓKNISTYCH NA
ODPOWIEDŹ KOMÓRKOWĄ 19

E. STODOLAK, B. CZAJKOWSKA, T. MIKOŁAJCZYK,
M. BŁAŻEWICZ, D. WOŁOWSKA-CZAPNIK

KONSTRUKCJA WKŁADKI PROTEZY STOPY
Z MATERIAŁÓW KOMPOZYTOWYCH 23

J. CHŁOPEK, A. PRZAŁA, A. BOGUCKI

*Streszczone w Applied Mechanics Reviews
Abstracted in Applied Mechanics Reviews*

CONTENTS

ON THE STRUCTURAL-ADAPTIVE
COMPATIBILITY OF BONE WITH POROUS
COATED IMPLANTS ON THE BASE OF THE
TRADITIONAL ONE-PHASE AND THE MODERN
TWO-PHASE POROELASTIC BIOMECHANICAL
MODEL OF BONE TISSUE 1

R. UKLEJEWSKI, M. WINIECKI, P. ROGALA

STABILIZERS FOR BONE ALLOGENIC
GRAFTS APPLIED IN REVISION
OPERATIONS AND RECONSTRUCTION
OF HIP JOINT 13

J. JASIŃSKI, B. STODOLNIK, B. WÓJCKI, L. JEZIORSKI,
M. LUBAS, T.Sz. GAŹDZIK

THE STUDY OF CYTOTOXICITY OF FIBROUS
COMPOSITE MATERIALS 15

E. ZACZYŃSKA, A. CZARNY, B. ŻYWICKA,
E. STODOLAK, M. BŁAŻEWICZ

THE EFFECTS OF SURFACE PARAMETERS
OF FIBROUS COMPOSITE MATERIALS ON
CELLULAR RESPONSE 19

E. STODOLAK, B. CZAJKOWSKA, T. MIKOŁAJCZYK,
M. BŁAŻEWICZ, D. WOŁOWSKA-CZAPNIK

CONSTRUCTION OF FOOT PROSTHESIS INSERT
MADE OF COMPOSITE MATERIALS 23

J. CHŁOPEK, A. PRZAŁA, A. BOGUCKI

*Wydanie dofinansowane przez Ministra Edukacji i Nauki
Edition financed by the Minister of Education and Science*



**PERSPEKTYWY ZASTOSOWAŃ HYDROŻELI
POLIMEROWYCH I ELASTOMERÓW
TERMOPLASTYCZNYCH JAKO MATERIAŁÓW
CHRZĘSTNOPODOBNYCH 27**

P. ZDEBIAK, M. EL FRAY

**OCENA PARAMETRÓW KINEMATYCZNYCH
CHODU I EFEKTÓW FIZJOTERAPII PACJENTA
PO REKONSTRUKCJI ZERWANEGO
ŚCIĘGNA ACHILLESA NIĆMI WĘGLOWYMI
NA PODSTAWIE TRÓJWYMIAROWEJ
ANALIZY RUCHU 35**

W. CHWAŁA, T. RUCHLEWICZ, E. STASZKÓW, R. WALASZEK,
S. BŁĄŻEWICZ

**WPŁYW WYPEŁNIACZY NA WYBRANE FIZYCZNE
WŁAŚCIWOŚCI STOMATOLOGICZNYCH MATE-
RIAŁÓW KOMPOZYTOWYCH 42**

J. KARAŚ, L. CIOŁEK

**ANTYBAKTERYJNE DZIAŁANIE ŻELU
BOGATOPLĄTKOWEGO – BADANIA IN VITRO 46**

T. BIELECKI, T.S. GAŹDZIK, G. ZIÓLKOWSKI,
M. POMORSKA-WESOŁOWSKA

**WPŁYW AUTOGENNYCH CZYNNIKÓW WZROSTU
Z PŁYTEK KRWI NA PROCESY GOJENIA TKANKI
KOSTNEJ – DONIESIENIE WSTĘPNE 50**

A. CIEŚLIK-BIELECKA, T. BIELECKI,
T.S. GAŹDZIK, T. CIEŚLIK

**OCENA WPŁYWU AUTOGENNYCH CZYNNIKÓW
WZROSTU ZAWARTYCH W ŻELU
BOGATOPLĄTKOWYM NA PROCESY GOJENIA
TKANEK U PACJENTÓW PO PRZEBYTYCH
ZABIEGACH CYSTEKTOMII W ŻUCHWIE 54**

A. CIEŚLIK-BIELECKA, T. BIELECKI,
T.S. GAŹDZIK, T. CIEŚLIK

**PORÓWNANIE WGAJANIA MATERIAŁU
TKANKOWEGO I PROTEZY NACZYNIOWEJ
DAKRONOWEJ IMPREGNOWANEJ SOLAMI
SREBRA W ZAKAŻONYM ŚRODOWISKU 57**

A. PUPKA, P. CHUDOBA, J. SKÓRA, D. JANCZAK,
S. PAWŁOWSKI, P. SZYBER

**THE PERSPECTIVES OF POLYMERIC
HYDROGELS AND THERMOPLASTIC
ELASTOMERS AS ARTILAGE-LIKE
MATERIALS 27**

P. ZDEBIAK, M. EL FRAY

**ASSESSMENT OF KINEMATICS PARAMETERS
OF LOCOMOTION AND PHYSIOTHERAPIC
EFFECTS IN SUBJECT AFTER RECONSTRUCTION
OF RUPTURED ACHILLES TENDON WITH CARBON
SUTURES BASED ON THREE DIMENSIONAL -
MOTION ANALYSIS 35**

W. CHWAŁA, T. RUCHLEWICZ, E. STASZKÓW, R. WALASZEK,
S. BŁĄŻEWICZ

**THE EFFECT OF FILLERS ON PHYSICAL
PROPERTIES OF DENTAL COMPOSITE
MATERIALS 42**

J. KARAŚ, L. CIOŁEK

**ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF PLATELET
GEL – IN VITRO STUDY 46**

T. BIELECKI, T.S. GAŹDZIK, G. ZIÓLKOWSKI,
M. POMORSKA-WESOŁOWSKA

**INFLUENCE OF AUTOGENOUS GROWTH
FACTORS FROM TROMBOCYTES ON BONE
HEALING PROCESSES - PRELIMINARY REPORT 50**

A. CIEŚLIK-BIELECKA, T. BIELECKI,
T.S. GAŹDZIK, T. CIEŚLIK

**ESTIMATION OF INFLUENCE OF GROWTH
FACTORS CONTAINED IN PLATELET GEL ON
TISSUES HEALING PROCESSES IN PATIENTS
AFTER MANDIBLE CYST REMOVING 54**

A. CIEŚLIK-BIELECKA, T. BIELECKI,
T.S. GAŹDZIK, T. CIEŚLIK

**COMPARISON OF HEALING OF ARTERIAL
ALLOGRAFTS AND SILVER-COATED
VASCULAR PROSTHESIS IN INFECTED
ENVIRONMENT 57**

A. PUPKA, P. CHUDOBA, J. SKÓRA, D. JANCZAK,
S. PAWŁOWSKI, P. SZYBER

ZGODNOŚĆ STRUKTURALNO-ADAPTACYJNA POŁĄCZEŃ KOŚCI Z POROWATYMI IMPLANTAMI NA PODSTAWIE TRADYCYJNEGO JEDNOFAZOWEGO I WSPÓŁCZESNEGO DWUFAZOWEGO POROSPŘĘŻYSTEGO MODELU BIOMECHANICZNEGO TKANKI KOSTNEJ

RYSZARD UKLEJEWSKI*, MARIUSZ WINIECKI**, PIOTR ROGALA***

*ZAKŁAD PODSTAW BIOINŻYNIERII MEDYCZNEJ I ELEKTROTECHNIKI, INSTYTUT TECHNIKI,

AKADEMIA BYDGOSKA IM. KAZIMIERZA WIELKIEGO W BYDGOSZCZY

**KATEDRA PODSTAW KONSTRUKCJI MASZYN, POLITECHNIKA POZNAŃSKA

***KLINIKA ORTOPEDII AKADEMII MEDYCZNEJ IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU, ORTOPEDYCZNO-REHABILITACYJNY SZPITAL KLINICZNY W POZNANIU IM. W. DEGI W POZNANIU

Streszczenie

Biomechaniczną konstrukcję układu kość-implant, np.: konstrukcję sztucznego stawu biodrowego charakteryzuje zespół cech materiałowych, geometrycznych i dynamicznych, dobranych ze względu na zamierzony rekonstrukcyjny cel endoprotezoplastyki. Zagadnienie zgodności strukturalno-biomechanicznej pomiędzy porowatym implantem a kością należy do kluczowych ze względu na spełnianą w szkielecie rolę. W tym zagadnieniu należy w pierwszym rzędzie wyodrębnić problem zgodności strukturalno-adaptacyjnej implantów ortopedycznych pokrytych porowatą warstwą wierzchnią (porous coated implants) z porowatą tkanką kostną. Właściwości strukturalno-osteindukcyjne porowatych biomateriałów współpracujących z tkanką kostną warunkują adaptacyjne wrastanie tej tkanki do przestrzeni porowej warstw wierzchnich implantów, co z kolei determinuje właściwe i trwałe umocowanie implantu w kości. Praca zawiera krytyczny przegląd opublikowanych dotąd ważniejszych prac badawczych dotyczących istotnego z punktu widzenia inżynierii biomateriałów stosowanych w układzie kostno-stawowym człowieka zagadnienia zgodności strukturalno-adaptacyjnej połączenia kość-implant. Wykazano, że zagadnienie to nie może być w sposób należyty rozwiązane na podstawie tradycyjnego jednofazowego modelu biomechanicznego tkanki kostnej, a w literaturze przedmiotu brak jest jednoznacznych wytycznych dotyczących identyfikacji istotnych parametrów mikrostruktury porowatych pokryć implantów ortopedycznych. Zdaniem autorów, współczesny dwufazowy porospřężysty model biomechaniczny tkanki kostnej stwarza w tym względzie nowe możliwości, które pozwolą na zidentyfikowanie istotnych parametrów porostuktury, warunkujących strukturalno-osteindukcyjne właściwości porowatych warstw wierzchnich implantów ortopedycznych.

[Inżynieria Biomateriałów, 54-55,(2006),1-13]

Wprowadzenie

Chirurgia ortopedyczna uzależniona jest od implantowania ciał obcych zwanych implantami (lub poprawniej implan-

ON THE STRUCTURAL-ADAPTIVE COMPATIBILITY OF BONE WITH POROUS COATED IMPLANTS ON THE BASE OF THE TRADITIONAL ONE-PHASE AND THE MODERN TWO-PHASE POROELASTIC BIOMECHANICAL MODEL OF BONE TISSUE

RYSZARD UKLEJEWSKI*, MARIUSZ WINIECKI**, PIOTR ROGALA***

*DIVISION OF FUNDAMENTALS OF MEDICAL BIOENGINEERING AND ELECTROENGINEERING, INSTITUTE OF TECHNOLOGY, KAZIMIERZ WIELKI UNIVERSITY, BYDGOSZCZ, POLAND

**DEPARTMENT OF MACHINE DESIGN FUNDAMENTALS, POZNAN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, POZNAN, POLAND

***DEPARTMENT OF ORTHOPAEDIC SURGERY KAROL MARCINKIEWICZ UNIVERSITY OF MEDICAL SCIENCE, WIKTOR DEGA UNIVERSITY HOSPITAL IN POZNAN, POLAND

Abstract

The biomechanical construction of an orthopaedic implant, e.g. construction of artificial hip joint, is characterized by a set of material, geometrical and dynamic properties, designed to fulfill the joint reconstruction arthroplasty requirements. The problem of structural-biomechanical compatibility between porous implant and bone is a key-question in respect to the role performed in skeleton. At the first, in this matter, the problem of structural-adaptive compatibility of orthopaedic implants porous coatings with porous bone tissue should be stated. The structural-osteinductive properties of biomaterial influence the adaptive ingrowth of bone tissue into the pore space of a porous coating, which in turn determines the proper and permanent fixation of the implant in its bony surroundings. This paper presents a critical review of the published most significant research works dealing with the problem of the structural-adaptive compatibility of bone-implant fixation, important from the biomaterials engineering view point. There is shown that the problem cannot be appropriately analysed and solved on the base of the traditional one-phase biomechanical model of bone tissue and that it is still lack of clearly defined parameters of microstructure for porous coatings on the bone implants. In the authors opinion, the modern two-phase poroelastic biomechanical model of bone tissue gives new possibilities for the identification of the significant parameters influencing the structural-osteinductive properties of porous coatings of orthopaedic implants.

[Engineering of Biomaterials, 54-55,(2006),1-13]

Introduction

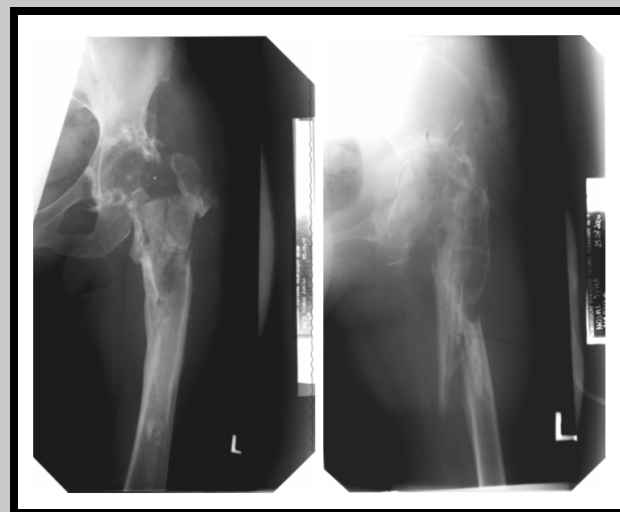
The orthopaedic surgery depends on the insertion of the implants into the human body. Implants are the medical devices made of one or more biomaterials that is intentionally placed within the body, either partially or totally buried beneath an epithelial surface [112]. They are made from the metals and alloys, porous bioceramics, hardened plastics, synthetic fibbers, soaked sponges with fluids, etc. Implants replace pathologically changed or damaged tissues of motion organs. The artificial parts of organs or entire ar-

tatami) do organizmu człowieka. Implantami nazywamy wszelkie przyrządy medyczne wykonywane z jednego lub więcej biomateriałów, które mogą być umieszczone wewnątrz organizmu, jak również częściowo lub całkowicie pod powierzchnią naskórka, oraz które mogą pozostać przez dłuższy czas w organizmie [112]. Są to różnego rodzaju metale oraz ich stopy, bioceramika porowata, utwardzone tworzywa sztuczne, syntetyczne włókna, gąbki nasączone płynami, itp. Implanty zastępują zmienione chorobowo lub uszkodzone tkanki narządu ruchu. Wszczepia się sztuczne części narządów oraz całe narządy (np.: częściowe lub całkowite endoprotezy stawów). Wśród wszczepianych implantów można wyróżnić: 1) implanty tymczasowe i resorbowalne oraz 2) stałe - np.: przeznaczone dla częściowej lub całkowitej alloplastyki różnych stawów. Współczesna chirurgia ortopedyczna leczy przy pomocy częściowej lub całkowitej alloplastyki stawu biodrowego [19], kolanowego [91], ramieniowego [9], łokciowego [61], skokowego [49], nadgarstek [66] oraz dłonie i palce [94]. Stosuje się także implanty dentystryczne [67], implanty kosteczek ucha środkowego [41], kości czaszki [83] oraz kręgosłupa [42]. Najczęściej stosowanym zabiegiem chirurgicznym wiążącym się z wprowadzeniem do środowiska wewnętrznego człowieka ciała obcego z założeniem, że spełniając długotrwale wyznaczoną im biomechaniczną funkcję będą biologicznie obojętne, polegającym na zastąpieniu chorego stawu przez sztuczny staw, jest endoprotezoplastyka stawu biodrowego. Najczęściej alloplastyki tego stawu dokonuje się w przypadku mechanicznych uszkodzeń stawu (np.: złamania szyjki kości udowej), zmian zwyrodnieniowych, nadmiernej niestabilności, wrodzonej wady stawu biodrowego (np.: dysplazja stawu biodrowego), jałowej martwicy głowy kości udowej oraz osteoporozy [19, 70]. Właściwy dobór endoprotezy stawu biodrowego jest kompromisem między warunkami klinicznymi (np.: warunki anatomopatologiczne pacjenta) a biomechanicznymi (np.: wzajemne relacje sztywności trzpień-kość) [6, 7, 60, 70]. Alloplastyka stawu biodrowego, mimo że jest najczęściej stosowanym na świecie zabiegiem wszczepiania implantów, nadal stwarza wiele trudności w ocenie prawidłowego doboru implantu i jego osadzenia w miejscu chorego stawu. Z biomechanicznego punktu widzenia zasadniczym problemem w całkowitej endoprotezoplastyce stawu biodrowego jest zagadnienie zgodności strukturalno-biomechanicznej implantu z kością, które polega na wytworzeniu właściwych relacji pól naprężeń w bezpośrednim otoczeniu kości wokół implantu oraz wyborze niezawodnej metody utwierdzenia implantu w kości.

Brak zgodności strukturalno-biomechanicznej implantów z tkanką kostną prowadzi do niepożądanych zjawisk biomechanicznych, tj. patologiczna przebudowa tkanki kostnej w rejonie przeciążenia, tzw. stress bypass czy resorpcja (zanik) tkanki kostnej (osteoliza) w wyniku powstawania zerowych stref odkształceń w kości, tzw. stress shielding. Rozprzestrzenianie się tych zjawisk w otoczeniu implantu prowadzi do osłabienia rozważanego połączenia i powstania mikroruchów generujących bóle, co w następstwie powoduje obłuzowanie komponentów endoprotezoplastyki oraz jej znaczną destrukcję po usunięciu implantu (RYS.1). Wymusza to nieustanną ewolucję kolejnych generacji implantów kostnych, tj. poszukiwanie coraz to nowszych rozwiązań konstrukcyjnych implantów, które mają na celu ograniczenie powikłań lokalnych i ogólnoustrojowych alloplastyki stawów. Wszczepienie pacjentom ze zmianami zwyrodnieniowymi stawu biodrowego endoprotezy pozwala w 90% przypadków na powrót do normalnego życia pozbawionego bólu związanego z dolegliwością chorego stawu, pozwala na wznowienie pracy, a czasem nawet na powrót do aktywnego uprawiania sportu, na okres od 10 do 20 lat, kiedy to w wyniku obłuzowania komponentów alloplastyki stawu

tificial organs can be implanted (e.g. partial or total joint endoprostheses). Among implants we can distinguish: 1) temporary and resorbable implants and 2) permanent implants - designed for partial or total arthroplasty of various joints. Modern orthopaedic surgery uses total or partial arthroplasty in treatment of hips [19], knees [91], shoulders [9], elbows [61], ankles [49], wrists [66] hands and fingers [94]. Dental implants [67], middle-ear implants [41] skull [83] and vertebral [42] implants are also used. The most often performed orthopaedic surgery involving the insertion of the implants into human organisms, which have to fulfil their long-term function and remain biologically compatible, is THA (Total Hip Arthroplasty). THA treats the pathologically changed joints. THA is performed for mechanical damages of joint (e.g. fracture of neck of the femur), degenerative changes, excessive joint instability, congenital joint defect (e.g. dysplasia of hip joint), aseptic necrosis and osteoporosis [19, 70]. THA is compromised between clinical condition of a patient and biomechanical compatibility of bone-implant (stress-strain relations in bone-implant interfacing region) [6, 7, 60, 70]. THA is the most often performed orthopaedic surgery, though still generates many problems in bone-implant interface. From the biomechanical point of view the fundamental problem in THA is the problem of structural-biomechanical compatibility of bone-implant interface, which consists in striving for appropriate stress-strain characteristics in bone-implant interface and in the selection of a reliable fixation method.

The lack of the structural-biomechanical compatibility of bone-implant fixation leads to undesirable biomechanical effects (e.g. stress bypass or stress shielding) producing non-physiological remodelling of bone or bone osteolysis following further insufficiency, e.g. loosening of artificial joint components, sometimes leaving bone in extensive destruction (FIG.1). This necessitates research on newer implant solutions, i.e. permanent evolution of more advanced generations of bone implants due to minimize the complications in THA. The implantation of endoprostheses in 90% of cases allow patients to return to normal life activity for 10-20 years without suffering pain, come back to work and sometimes even to sport activity. Further a revision surgery



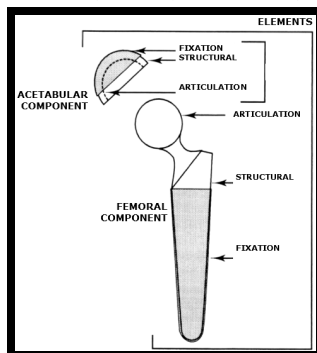
RYS. 1. Obraz radiologiczny zniszczeń w obrębie bliższej połowy kości udowej po usunięciu endoprotez trzpieniowych z powodu ich obłuzowania i resorpcji kostnej na skutek zjawiska stress shielding (materiał własny).

FIG. 1. Roentgenogram of destruction in femoral bone with bone resorption caused by stress shielding leading to loosening of components of the endoprosthesis (own material).

zachodzi konieczność operacji rewizyjnej [70].

Połączenie kości z implantem

Największym i nieodłącznym problemem całkowitych alloplastyk różnych stawów jest doprowadzenie do powsta-



RYS. 2. Komponenty i elementy całkowitej endoprotezy stawu biodrowego [19].
FIG. 2. Generic total hip arthroplasty device, showing components and elements [19].

nia niezawodnego i trwałego połączenia implantu z kością oraz utrzymanie optymalnej współpracy w strefie kontaktu pomiędzy nimi, zarówno na poziomie tkankowo-biomateriałowym, w postaci biointegracji tkanki z biomateriałem, jak i na poziomie narządu, w postaci przywrócenia funkcji układu kostno-stawowego [79]. W przypadku całkowitej alloplastyki stawów dążenie do uzyskania trwałego połączenia implantu z kością było i jest czynnikiem wymuszającym nieustanną ewolucję kolejnych rozwiązań konstrukcyjnych endoprotezoplastyk.

Endoproteza przeznaczona do całkowitej alloplastyki stawu biodrowego składa się z dwóch podstawowych komponentów (udowego i panewkowego) wyposażonych w trzy elementy funkcyjne każdy (RYS. 2).

Zarówno panewkowy jak i udowy komponent zawierają następujące 3 elementy:

- element odwzorowujący, który odwzorowuje właściwości i geometrię gniazda panewki w przypadku komponentu panewkowego oraz element odwzorowujący właściwości i geometrię główki kości udowej w przypadku komponentu udowego;
- element kotwiczący, który zamocowuje odtworzoną powierzchnię stawową w okolicy okołopanewkowej w przypadku komponentu panewkowego oraz element mocujący powierzchnię trzpienia endoprotezy do bliższej części kości udowej w przypadku komponentu udowego;
- element strukturalny, który ma za zadanie łączyć element odwzorowujący z elementem kotwiczącym oraz utrzymywać w przewidzianej relacji pomiędzy nimi.

Podczas gdy każdy z wyszczególnionych komponentów może mieć więcej niż jedną fizyczną część, każda z tych części może być przypisana do jednego albo więcej z wyszczególnionych elementów funkcyjnych. Dlatego też zamocowany polimetakrylometylowym cementem, metalowy, jednoczęściowy ("monoblock") komponent udowy zawiera te same trzy funkcyjne elementy, co złożona wieloczęściowa proteza z metalowym trzpieniem, posiadająca kotwiczące podkładki, wypełniające kołnierze lub kliny, hydroksyapatytową warstwę pokrywającą trzpień oraz ceramiczną główkę [19]. Podstawowymi elementami składowymi endoprotezy są zazwyczaj: trzpień, główka i panewka.

Właściwe założenie i funkcjonowanie endoprotezy stawu biodrowego obejmuje trzy niezależne zagadnienia: (1) mocowanie panewki w kości miednicy, (2) niezawodną pracę przegubu główka-panewka, (3) mocowanie trzpienia endoprotezy w kości udowej. Według Parka [78] wyróżnia się trzy główne metody mocowania poszczególnych elementów sztucznego stawu: (1) mechaniczne - uzyskane przez połączenie wciskane z dopasowaniem (tzw. press-fitting)

is often required, as a result of loosening of THA components [70].

3
.....

Bone-implant fixation

The most inherent problems of dealing with TJA (Total Joint Arthroplasty) are reliable and durable fixation of an implant in a bone and the maintenance of optimal interaction (structural-biomechanical compatibility) of bone-implant interface. There is required an optimal interaction on the tissue-biomaterial level in form of the biointegration of bone tissue with biomaterial, as well as on the organ level, in form of the restitution of skeletal system functions [79]. Achieving a durable bone and implant attachment in TJA was and still is a factor necessitating the evolution of improved solutions of endoprostheses.

The endoprosthesis for total hip arthroplasty consists of two primary components: femoral and acetabular assembled of three elements (FIG. 2).

On both, the femoral and acetabular side, the components consists of:

- the articulation element - an element to restore the articulating surface property and geometry of the femoral head (on the femoral side) and the articulating surface property and geometry of the acetabular socket (on the acetabular side);
- the fixation element - an element to anchor (fix) the restored surface to the proximal femur (on the femoral side), to the periacetabular pelvis (on the acetabular side);
- the structural element - an element to couple the articulation element and the fixation element, and to maintain an appropriate structural relationship between them.

While each of these two components (femoral and acetabular) may have more than one physical part, each of those parts may be assigned to one or more of these functional elements. Thus a PMMA cemented all-metal one-piece ("monoblock") femoral component contains the same three functional elements as a complex multipart modular implant with metal stem, fixation pads, space filling collars or wedges, hydroxyapatite coating and ceramic femoral head [19]. THA endoprosthesis usually consists of femoral stem, femoral head and one or two acetabular components.

The problem of reliability of total hip arthroplasty comprises three independent questions: (1) the fixation of the acetabular element to the periacetabular pelvis, (2) unfailing work of articulation elements (femoral head and acetabular socket), and (3) the fixation of femoral stem. The fixation of particular endoprosthesis elements is generally divided into two categories, i.e. cemented and cementless. After Park [79] the THA fixation methods can be divided into the following main groups: (1) mechanical: - by press-fitting [21]; - with bony cement as a binding factor [25]; - with the threaded elements [1, 102]; (2) biological: - by the adaptive ingrowth of bone tissue into the gaps of the implant texture or into the porous coating made on implant surface by various methods [22], and (3) direct: - by mechano-physicochemical fixation of the bone and the implant layer covered with porous calcium hydroxyapatite $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$, the mineral structure of which is similar to the inorganic part of the bone [99]. The direct fixation between bone and implant can be also obtained in case of applying of porous Bioglass® - glassy-ceramic biomaterial [45,46]. It happens by selective dissolving of its surface layer. The fixation methods used in implantology are presented in TABLE 1.

Every fixation mechanism has idiosyncratic behaviour. Their load transfer characteristics as well as the failure mechanisms are different. Further complexity arises from endoprosthesis which combine two or more of the fixation

[21], z użyciem polimetakrylenowego cementu kostnego jako czynnika wiążącego [25], lub z użyciem gwintowanych elementów [1, 102]; (2) biologiczne - uzyskane dzięki adaptacyjnemu wrastaniu tkanki kostnej w szczeliny tekstury wykonanej na powierzchni implantu lub do przestrzeni porowej warstwy porowatej naniesionej na implant różnymi metodami [22]; i (3) bezpośrednie - uzyskane poprzez chemiczne wiązanie pomiędzy pokrytą hydroksyapatytem wapniowym $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$, którego mineralna struktura jest podobna do nieorganicznej części kości, powierzchnią implantu a kością [99]. Bezpośrednie wiązanie fizyko-chemiczne pomiędzy kością a biomateriałem zaobserwowano również w przypadku Bioszkl[®], tworzywa szklano-ceramicznego [45,46]. Zachodzi ono poprzez selektywne rozpuszczanie się warstwy powierzchniowej. Zestawienie stosowanych w implantologii metod mocowania endoprotez przedstawiono w TABELI 1.

Każdy ze wspomnianych mechanizmów mocowania implantu w kości ma inną charakterystykę przenoszenia obciążenia oraz inny mechanizm powstawania uszkodzenia. Złożoność coraz to nowszych konstrukcji endoprotez dopuszcza łączenie różnych mechanizmów mocowania w róż-

mechanisms in different regions of the implant. Various mechanisms of fixation are used in order to customize load transfer to structural-biomechanical requirements of different regions of bone. Loosening, unlocking, or de-bonding between implant and bone constitute some of the most important mechanisms of endoprosthetic failure [78].

Cementless total HIP arthroplasty

When implants are fixed by bony polymetacrylate cement, the bone tissue usually remains passive. In case of porous implants, fixed without cement, the bone tissue creates new bone formation actively on implant surface. Components of cementless arthroplasty, e.g. stems of THA, are partly or entirely covered by porous layer ingrowing with bone tissue. The pioneer of the concept of biological fixation was Greenfield (1910, [20]) who was patented the cage framing construction for a tooth root. He believed the construction lets the bone tissue to ingrow or overgrow on this kind of scaffold. Greenfield supposed bone ingrown into the cage frame will ensure sufficient stability and load bearing

Metody mocowania Methods of Fixation	Przykłady Examples
1. Mocowanie mechaniczne / Mechanical fixation a) Czynne – z użyciem wkrętów, śrub, rygli, drutów, gwintów/ Active – use of screws, bolts, nuts, wires, tapers, etc. b) Bierno – pasowane z wciskiem Passive – interference fit and non-interference fit	Williams i Roaf, (1973, [113]); Teloken i współprac., (2002, [102]); Moore, (1952, [69]); Mittlemeier, (1975, 1976, [68]); Engh i współprac., (2001, [37]);
2. Mocowanie za pośrednictwem cementu kostnego / Bone cement fixation a) Czysty cement/ Pure cement b) Modyfikowany cement – kompozytowy cement – cement nasączony cząstkami resorbowalnymi Modified cement – composite cement - resorbable particle impregnated cement	Charnley, (1970, 1972, [24,25]); Park, (1986, [76]); Liu i współprac., (1987, [62]); Dai i współprac., (1991, [32]); Henrich i współprac., (1993, [47]);
3. Mocowanie biologiczne / Biological fixation a) Adaptacyjne wrastanie tkanki kostnej Porous ingrowth b) Adaptacyjne wrastanie tkanki kostnej wspomagane stymulacją polem elektrycznym i elektromagnetycznym, ultradźwiękami, wszczepami allogenicznymi, autogennymi lub przy pomocy kostnych materiałów biozastępczych i inne Modified porous ingrowth – e.g. electrical and pulsed electromagnetic field stimulation; non-invasive low intensity ultrasound; autografts, allografts and bone graft substitutes, etc. c) Białka morfogeniczne kości i czynniki wzrostu Bone morphogenic proteins (BMP) and growth factors (GF) d) Czynniki farmakologiczne Pharmacological agents	Smith, (1963, [96]); Klawitter i Hulbert, (1972 [57]); Hirshhorn i współprac., (1972, [50]); Homsy i współprac., (1972, [52]); Sauer i współprac., (1974, [90]); Engh i współprac., (1990, 1992, [38,39]); Kienapfel i współprac., (1992, [56]); Bobyn i współprac., (1999, [13]); Park i Kenner, (1975, [77]); Wienstein i współprac., (1976, [111]); Buch i współprac., (1984, [17]); Berry i współprac., (1986, [5]); Rivero i współprac., (1986, [84]); Russotti i współprac., (1987, [89]); Shimizu i współprac., (1988, [92]); Tanzer i współprac., (1996, [101]); Cook i współprac., (2002, [28]); Kozinn i współprac., (1982, [58]); Trancik i współprac., (1990, [103]); Celeste i współprac., (1990, [23]); Barrack i współprac., (2003, [3]); Urist i współprac., (1982, [108]); Green i współprac., (1994, [40]); Bobyn i współprac., (2005, [12]);
4. Mocowanie bezpośrednie (chemiczne, adhezyjne)/ Direct (chemical) bonding fixation (Adhesion) a) Osteopodobne/indukcyjne bioszkl[®] Osteogenic/inductive-glass-ceramics b) Osteoindukcyjny hydroksyapatyt Osteoinductive hydroxyapatite	Blencke i współprac., (1978, [10]); Hench i Paschall, (1973, [45]); Biernbaum i współprac., (2002, [8]); D'Antonio i współprac., (2002, [33]); de Groot, (1983 [35]); Kay, (1988, [55]); Cook i współprac., (1988, [29]); Sř balle i współprac., (1992 [97-99]); Jasty i współprac., (1992, [53]); Overgaard (2000, [75]); D'Antonio i współprac., (2001, [34]);

TABELA 1. Zestawienie metod mocowania implantów w kości (zmodyfikowane i uzupełnione za [78]).

TABLE 1. Summary of various methods of endoprosthesis fixation (modified and extended after [78]).

capacity of a tooth. First attempt of biological fixation of the endoprosthesis stem into the marrow canal was carried by Moore in the 1950s of the 20th century [69]. He designed the endoprosthesis with the holes in the stem and filled them cancellous bone. After the bone remodelling, the cancellous bone grafts were formed as a bone bridge between a

nych strefach implantu. Rozmaitość mechanizmów mocowania pozwala na dostosowanie przeniesienia obciążenia do wymagań strukturalno-biomechanicznych różnych regionów kości, przez co dąży się do zachowania prawidłowej porowatości kości w danym regionie, zapobiegając niepożądaną przebudowie tkanki kostnej [78].

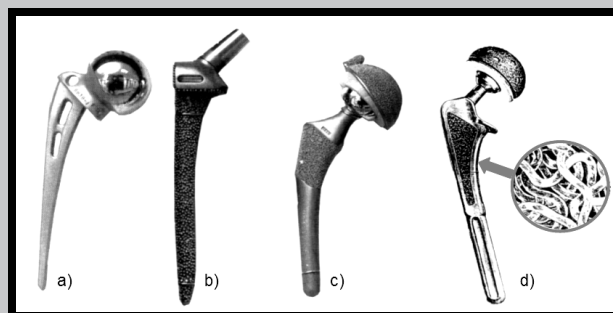
Bezcementowa całkowita alloplastyka stawu biodrowego

W odróżnieniu od implantów mocowanych z użyciem cementu, gdzie tkanka kostna pozostaje pasywna, w przypadku porowatych implantów, mocowanych bez użycia cementu, wymagany jest aktywny udział tkanki kostnej w procesie zespalania implantu z kością. Bezcementowa alloplastyka to taka, w której na trzpieniu endoprotezy, lub na jego części, występuje warstwa porowata (porous coating), w którą wrasta tkanka kostna, co daje trwałe połączenie implantu z kością. Pionierem koncepcji biologicznej fiksacji implantu w kości jest Greenfield, który w 1910 roku opatentował klatkowy szkielet konstrukcji przeznaczonej dla mocowania korzenia sztucznego zęba [20]. Uważał on, iż taka konstrukcja pozwoli tkance kostnej obrastać i wrastać w taki rodzaj rusztowania i przypuszczał, że wrośnięcie kości w tak zbudowaną konstrukcję zapewni dostateczną stabilność i nośność dla zęba. Jako pierwszy możliwość zakotwiczenia trzpienia endoprotezy w kanale szpikowym na drodze biologicznej odpowiedzi tkanki kostnej wykorzystał w latach pięćdziesiątych dwudziestego wieku Moore [69]. Zaprojektował on endoprotezę z otworami w trzpieniu (RYS. 3a), które wypełniał kością gąbczastą, której przeszczepy po przebudowie miały tworzyć mostowe połączenie z kością udową i wzmacniać stabilność zamocowania implantu. W latach 50-tych badano możliwość wykorzystania w rekonstrukcji ubytków kostnych poliwinylowych gąbek [81].

Na początku lat sześćdziesiątych Smith prowadził badania nad porowatym materiałem biozastępczym z ceramiki korundowej nasyczonej żywicą epoksydową o nazwie Cerocium® [96]. W materiale tym, mimo faktu, iż wykazywał dobre przyleganie do tkanki, średni rozmiar porów o wielkości 18 mm nie pozwalał na wrastanie tkanki kostnej. W 1963 Sivash przedstawił wyniki stosowania metalowej (przegubowej) bezcementowej endoprotezy [95]. Pierwszy implant z powierzchnią porowatą opracowany został w 1968 roku [51]. Intensywne badania nad bezcementową techniką mocowania trzpieni trwały w latach siedemdziesiątych dwudziestego stulecia [18], również w tym samym czasie rozwijała się technologia produkcji mikroporowatych powierzchni, np.: napylenie plazmowe [75]. Koncepcja wrastania tkanki kostnej w przestrzeń porową materiału biozastępczego badana była w odniesieniu do metali [51, 72], ceramiki [57, 82] i polimerów [90]. Efektem tych badań było pojawienie się z praktyce klinicznej zmodyfikowanych endoprotez kompozytowych o trzpieniach metalowych z napyłanymi porowatymi warstwami powierzchniowymi - metalicznymi lub ceramicznymi [11]. W 1975 Lord implantował prototyp endoprotezy z porowatą warstwą wierzchnią. Ostateczny model składał się z metalowej panewki ze skośnym i przerywanym gwintem, wkładki polietylenowej oraz modularnej komponenty udowej. Metalowa głowa była połączona z prostym trzpieniem, pokrytym metalowymi kuleczkami o średnicy dochodzącej do 1 mm [63], (RYS. 3b). W 1977 roku Engh rozpoczął implantację bezcementowych trzpieni powlekanych warstwą porowatą, modyfikując do tego celu endoprotezę Moora [39]. W 1980 roku Parthofer i Mönch zastosowali bezcementową endoprotezę, również popularną w Polsce, w której elementy metalowe wykonane były ze stopu Ti-6Al-4V o nazwie ISOTAN. Zewnętrzna powierzchnia

femur and an implant (FIG. 3a). In the 1950s, the use of porous polyvinyl sponges was investigated for the reconstruction of bone [81]. In the early 1960s Smith found the porous graft substitutes made of aluminate ceramic saturated with epoxide resin called Cerocium®. Get a good adherence of this material to bone tissue, but the average pore dimension (18 mm) didn't make the bone possible to ingrow [96]. In 1963 Sivash published the findings of metal (hinged) cementless endoprosthesis application [95]. The first implant with porous layer was designed in 1968 [51]. In the 1970s of 20th century intensive research on cementless technology of implant fixation were conducted [18]. At the same time the technologies of microporous surfaces production was developed (e.g. plasma spraying technique) [75]. The concept of bone tissue ingrowth into biomaterials was investigated with reference to metals [51, 72], ceramics [57, 82] and polymers [90]. The modified composite endoprosthesis with stems made of metal core covered with porous metal or ceramic layers have appeared in late seventies [11]. In 1975 Lord implanted the porous endoprosthesis prototype. The final model consisted of a metal acetabular component with a diagonal intermittent taper, a polyethylene insert and a modular femur component. The metal head of the endoprosthesis was connected with a straight stem covered with 1 mm diameter metal beads [63], (FIG. 3b). Engh (1977, [39]) was implanted stems with porous coated layer. For this purpose he modified the Moore's endoprosthesis. Parhofer and Mönch applied cementless endoprosthesis, popular also in Poland, with metal elements made of titanium alloy, called ISOTAN (Ti6Al4V). The outer layer of the acetabulum and one third part of the proximal part of stem was coated by titanium backed layer (1980, [80]).

The 1980s of the 20th century are considered as a period of clear division between cemented and cementless THA adherents [59]. Also compromising designs appeared - hybrid endoprosthesis: - with an acetabular cementless fixation and the stem implanted with the use of modern cement fixation technology [43]. It was a time when the various technologies of coating of the metallic stems of endoprosthesis with hydroxyapatite developed intensively. Metallic porous coatings can be made e.g. by the sintering



RYS. 3. Przykłady rozwiązań bezcementowych trzpieni powlekanych metalową warstwą porowatą: a) endoproteza Moore'a, b) porowata endoproteza Lorda, c) porowata endoproteza Hungeforda-Kenny'ego, d) endoproteza z powleczona strukturą metalu w kształcie poskręcanych włókien [19].

FIG. 3. Examples of first cementless endoprosthesis models: a) Moore's endoprosthesis from 1950 with window holes, b) Lord's porous endoprosthesis from 1975, c) Hungefor-Kenny's porous endoprosthesis, d) the endoprosthesis with metal layer made of bent fibber or wire [19].

panewki, jak i 1/3 części górnej trzpienia, tej protezy pokryte były sproszkowanym tytanem [80].

Dekada lat osiemdziesiątych jest uważana przez wielu chirurgów za okres wyraźnego podziału zwolenników cementowej i bezcementowej całkowitej alloplastyki stawu biodrowego [59]. Pojawiły się też rozwiązania kompromisowe, tzw. hybrydowe endoprotezy, w których panewka mocowana była bezcementowo, natomiast trzpień ustalany za pomocą nowoczesnej techniki cementowania [43]. Metaliczne porowate powłoki wykonuje się przez spiekanie kobaltowo-chromowych proszków lub kulek lub też poprzez zgrzewanie dyfuzyjne tytanowej siatki drucianej [99], (rys. 3d). W późnych latach osiemdziesiątych nastąpił dynamiczny rozwój technik pozwalających na nanoszenie hydroksyapatytowej ceramiki na metalowe podłoże trzpieni endoprotez, wśród których najpopularniejszą jest napylanie plazmowe [48]. Porowate warstwy ceramiczne wytwarza się przez także hydrotermalnie z koralu [2]. Rozwijane są także inne techniki nakładania porowatych warstw ceramicznych np.: poprzez napylanie katodowe [73], powlekanie przez zanurzenie i spiekanie, powlekanie kontaktowe, powlekanie galwaniczne jonami [26], prasowanie izostatyczne na gorąco [65], elektroforetyczne osadzanie [36], osadzanie techniką zol-żel [4]. Lata dziewięćdziesiąte ubiegłego stulecia odznaczyły się dalszym dynamicznym rozwojem koncepcji endoprotez bezcementowych.

W związku z większymi możliwościami technologicznymi w zakresie wykonywania różnych struktur porowatych nastąpił pewien "renesans" THRA - kapoplastyki (THRA - total hip resurfacing arthroplasty), [86, 88, 93, 109] Zaletą tego rozwiązania konstrukcyjnego endoprotez, jest mała inwazyjność polegająca na oszczędności okolicy stawowej tkanki kostnej w stosunku do obecnie stosowanych endoprotez trzpieniowych, i coraz to potężniejszych rewizyjnych endoprotez, oraz możliwość mocowania bezcementowego, (RYS. 4).

Przebudowa tkanki kostnej korowej oraz adaptacyjne wrastanie tkanki kostnej w świetle współczesnego porosprężysto-elektrofizjologicznego modelu biomechanicznego tkanki kostnej

Zarys biologii przebudowy struktury kości korowej

Nowotworząca się kość zastępuje tkankę kostną wokół implantu zniszczoną podczas jego wszczepiania. Zastąpienie zniszczonej i martwej tkanki kostnej następuje przez rozpuszczanie (resorpcja osteoklastyczna), a następnie formowanie nowej tkanki kostnej w postaci blaszek. Kość przebudowując się tworzy półokrągłe brzegi cementowe, systemy Haversa, gąbczastą część kości, półosteony lub międzysystemowe blaszki jako zachowane fragmenty osteonowych jednostek biostrukturalnych kości częściowo rozpuszczone przez ciągły proces przebudowy tkanki kostnej [54, 74]. Przebudowa tkanki kostnej usuwa mikrozniszczenia powstałe w kości, zastępuje martwą lub przemineralizowaną kość, a także dostosowuje jej mikroarchitekturę do miejscowych naprężeń mechanicznych. W przypadku kości osteoporotycznej zwiększa jej porowatość, a także dochodzi do zmniejszenia grubości warstwy korowej oraz obniżenia wytrzymałość kości. Kolejno występujące etapy procesu przebudowy kości korowej zaprezentowano na RYS. 5.

W skrócie (za [31]), proces tworzenia systemów przebiega następująco: komórki kościogubne, osteoklasty, przemieszczają się do przodu w skoncentrowanym ataku na zniszczoną patologiczną tkankę kostną. Tworzą tzw. "sto-



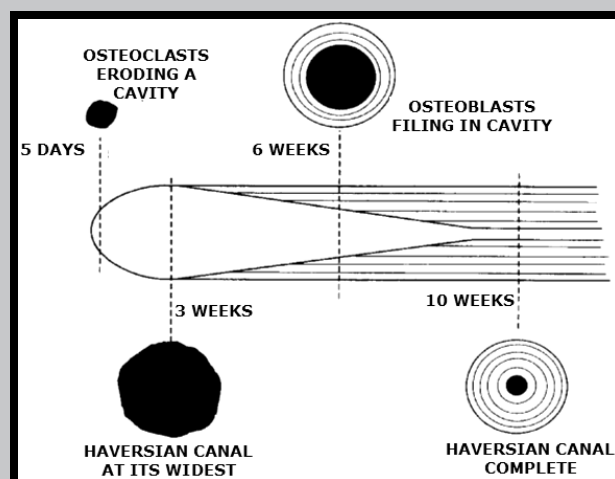
RYS. 4. Rozwiązania konstrukcyjne endoprotez THRA stawu biodrowego [109].

FIG. 4. Examples of total hip resurfacing arthroplasty [109].

of cobalt-chromium powders or beads as well as by diffusive welding of titanium wire mesh [99], (FIG.3d). One of the most popular technologies of producing hydroxyapatite coatings is the plasma spraying [48]. The porous ceramic coatings can be also obtained hydrothermally from coral [2]. There are also known other technologies of porous hydroxyapatite coatings production, e.g. beam sputter deposition [73], dip-coating-sintering, immersion coating, ion plating [26], hot isostatic pressing [65], electrophoretic deposition [36], sol-gel technique [4], etc. The nineties of the 20th century further were distinguished as substantial progress in cementless endoprosthesis constructions.

Currently, in connection with major technological possibilities in producing of porous coatings, there can be observed the return of THRA (Total Hip Resurfacing Arthroplasty) [86, 88, 93, 109]. This constructional solution has an important advantage. Its low invasiveness saves periacetabular bone tissue, in relation to traditional long-stem endoprostheses, and larger and longer revision endoprostheses, (FIG. 4). The great benefit of THRA is also the possibility of its cementless fixation.

Cortical bone remodelling and adaptive bone tissue ingrowth in the light of the modern poroelastic model of bone



RYS. 5. Schemat tworzącego się systemu Haversa w przekroju podłużnym i oraz przekrojach poprzecznych ukazujących odpowiednie stany po 5 dniach, 3 tygodniach, 6 tygodniach i 10 tygodniach [31].

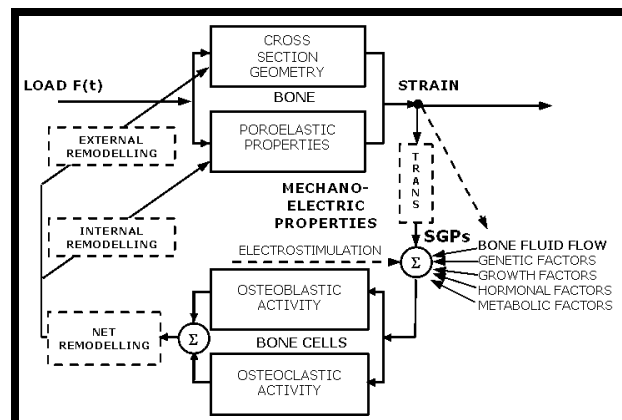
FIG. 5. Diagram of forming secondary osteon (Haversian system) in longitudinal view and cross-sectional views which presents the consecutive stages of the process: after 5 days, 3 weeks, 6 weeks and 10 weeks [31].

żek tnący" w kształcie połowy skorupki jajka, o średnicy ok. 200 mm i długości 300 mm. Stożek tnący posuwa się naprzód i pozostawia za sobą cylindryczną jamę o średnicy ok. 200 mm. Jednocześnie powstała jama zaczyna się wypełniać. Na jej gładkich wewnętrznych ścianach kościotwórcze komórki kostne (osteoblasty) osadzają się tworząc koncentryczne blaszki. W rezultacie powstaje system Haversa z rozpoznawalnymi cylindrycznymi warstwami i centralnym kanałem, który zawiera jeden lub dwa naczynia krwionośne oraz nerwy. Rys. 6 przedstawia podstawową jednostkę przebudowującej się kości korowej - osteoklasty tworzące tunel oraz wypełniające go osteoblasty. Szczegółowo biologię przebudowującej się tkanki kostnej opisano np.: w [54,74].

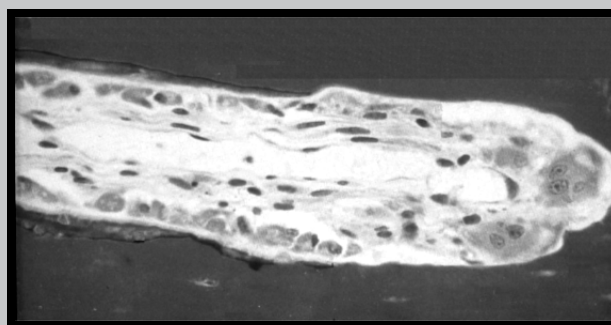
Mechanizm adaptacyjnej przebudowy tkanki kostnej

Mechaniczne obciążanie kości długiej powoduje sprężyste odkształcanie zmineralizowanej macierzy kostnej kości korowej. To sprężyste odkształcenie materiału fazy stałej kości korowej powoduje przepływ płynu śródkostnego wypełniającego pory kości. Przepływ jonowego płynu w przestrzeni porowej tkanki kostnej korowej podczas jej mechanicznego odkształcania ma zasadnicze znaczenie dla biodynamiki przebudowy tkanki kostnej. Jest odpowiedzialny za generowanie w kości zjawisk elektrokinetycznych: prądu elektrokinetycznego oraz elektrycznych potencjałów odkształceniowych SGPs (strain generated potentials) [106]. W ten sposób porowata kość korowa wypełniona fizjologicznym płynem podczas mechanicznego obciążania kości długich działa jak mechano-elektrokinetyczny przetwornik [107].

Schemat biodynamiki kości przedstawiony na RYS. 7 został zaproponowany w [87, 100, 106] jako zasadnicza modyfikacja schematu przebudowy kości przedstawionego przez Harta i wspólr. w [44]. Uwzględniono w tym schemacie dwufazowy porosprężysty model biomechaniczny kości, elektromechaniczne właściwości porowatej kości wypełnionej jonowym płynem (np.: osteopotencjały SGPs) oraz elektryczną stymulację komórek kostnych [15] a także możliwość stymulacji komórek kostnych przez przepływ płynu (fluid shear stress hypothesis - zaproponowanej przez Cowina i wspólr. [30]). Uwzględnione zostały mechaniczno-adaptacyjne właściwości tkanki kostnej w zakresie: 1) tzw. przebudowy zewnętrznej (tj. zmiany kształtu przekroju poprzecznego trzonu kości długiej) oraz 2) tzw. przebudowy wewnętrznej (tj. zmiany właściwości porosprężystych materiału ściany trzonu kości długiej przez zmianę porowatości kości korowej; właściwości mechatroniczne kości, które przedstawiono na schemacie za pomocą przetwornika mechano-elektrycznego TRANS i osteopotencjałów SGPs.



RYS. 7. Kość jako układ biodynamiczny [87, 100].
FIG. 7. The schematic diagram of the bone biodynamics. [87, 100].



RYS. 6. Przebudowa tkanki kostnej korowej - osteoklasty drążące tunel oraz wypełniające go osteoblasty [54].

FIG. 6. Cortical bone remodelling - osteoclast resorbing tunnel and osteoclasts filling in it [54].

tissue

The outline of bone remodelling biology

New bone formation replaces bone tissue around the implant destroyed during the implant insertion procedure. The replacement of destroyed and dead bone occurs by resorption, followed by formation of lamellar new bone. Bone remodelling produces resting (scalloped) cement lines, secondary osteons or Haversian systems, trabecular parts of bone, hemiosteons or interstitial lamellae as surviving fragments of bone structural units partially resorbed by continuous bone remodelling [54, 74]. Bone tissue remodelling is important process for removal microdamage, it replaces dead and hypermineralized bone and adapt microarchitecture to local mechanical stresses. In case of osteoporotic bone it increases bone porosity, decreases the width of cortical shell of bones and reduces bone strength. The stages of cortical bone remodelling are presented on the scheme in FIG. 5.

In brief (after [31]), Haversian systems form like this: many bone-destroying cells, called osteoclasts, move forward in a concentrated attack on the pathological bone tissue. They form so-called "cutting cone", shaped like "half tin eggshell", about 200 mm in diameter and 300 mm long. A cutting cone advances and leaves cylindrical cavity of diameter about 200 mm behind. As soon as the cavity forms, it begins to fill in. Those walls of the cavity are made smooth, and bone is deposited on the internal surface in concentric lamellae. The end of the result is the Haversian system with distinguishable cylindrical layers and central cavity, which contains one, or sometimes two, blood vessels, and nerves. Figure 6 presents osteoclasts resorbing a tunnel and osteoblasts filling it. The complete description of bone tissue biology can be found e.g. in [54, 74].

Mechanism of adaptive bone ingrowth

Mechanical load of a long bone causes an elastic deformation of osseous mineralized matrix of cortical bone. This elastic deformation of solid phase of cortical bone causes bone pore fluid to flow. The flow of the ionic fluid in pore space of cortical bone during mechanical loading of bone has a fundamental influence on the biodynamic properties of bone. It generates in cortical bone the electrokinetic effects: the electrokinetic current and the strain generated potentials SGPs, [106]. In this way the porous cortical bone saturated with physiological fluid in a mechanically loaded long bone works as a mechano-kineto-electric transducer [107].

The diagram of bone biomechanics presented in FIG. 7 was proposed in [87, 100, 106] as an essential modification of diagram of scheme of bone remodelling presented by

Mechano-elektryczne (mechatroniczne) właściwości tkanki kostnej [105, 107] warunkują generowanie potencjałów odczłupeniowych SGPs, które są jednym z czynników warunkujących adaptacyjną przebudowę tkanki kostnej w odpowiedzi na historię obciążeń mechanicznych kości. Czynnikiem ten w rezultacie jest, między innymi, odpowiedzialny za trwałość połączenia kość-implant [115].

Wpływ cech mikrostruktury powierzchni implantów na warunki utworzenia i wytrzymałość połączenia kość-implant

Problem zgodności strukturalno-biomechanicznej dotyczy zapewnienia efektywnej trwałości oraz niezawodności połączeniu kość-porowaty implant. W zagadnieniu tym można wyróżnić: 1) zgodność strukturalną (strukturalno-adaptacyjną), która dotyczy indukcji procesu wrastania tkanki kostnej w pory implantu adaptacyjnie do historii obciążeń kości zgodnie z prawem przebudowy Wolffa [116]; oraz 2) zgodność biomechaniczną, która dotyczy zapewnienia długookresowej wytrzymałości rozważanego połączenia kość-porowaty implant m. in. przez zapobieganie powstawaniu niekorzystnych pól naprężeń w kości. Kryterium zgodności strukturalno-adaptacyjnej połączenia kość-porowaty implant określa zdolność porowatej warstwy wierzchniej implantu do indukowania efektywnego wrastania tkanki kostnej do przestrzeni porowej warstwy, tzn. wrastania pozwalającego na uformowanie w pełni zmineralizowanej tkanki kostnej. Każdy biologicznie kompatybilny porowaty biomateriał dopuszcza wrastanie w jego pory tkanki kostnej pod warunkiem zapewnienia właściwego przedziału wartości parametrów porostruktury dla umieszczenia w niej komórek kostnych (osteonów) [19]. Warunkiem koniecznym zajścia procesu adaptacyjnej przebudowy tkanki kostnej jest zgodność parametrów porostruktury warstwy wierzchniej implantu z parametrami mikrostruktury przebudowującej się i zmineralizowanej tkanki kostnej [114].

Wielu autorów badało wpływ cech mikrostruktury implantów na efektywność adaptacyjnego wrastania tkanki kostnej oraz na wytrzymałość i trwałość połączenia kość-porowaty implant. W latach siedemdziesiątych Robertson i inni [85] oraz Weish i inni [110] badając porowate powierzchnie o charakterystycznym rozmiarze mniejszym niż 100 mikrometrów znaleźli korelację pomiędzy wzrostem rozmiaru porów a wzrostem wytrzymałości zakotwiczenia implantu. Klawitter i Hulbert ustalili, że wymiar 100 mm stanowi minimalny rozmiar pora konieczny dla utworzenia w pełni zmineralizowanej tkanki kostnej. Wyniki ich badań sugerują, że optymalne średnice porów powinny wynosić 100-135 mm [57]. W 1980 roku Bobyn i współprac. [14] przedstawili wyniki badań klinicznych, z których wynikało, że wrastanie tkanki kostnej w mikroporową powierzchnię jest możliwe przy rozmiarze porów pomiędzy 50 a 500 mikrometrów. W 1984 roku Broker i współprac. [16] opublikowali pracę, w której stwierdzają, że ze względu na pożądane przerastanie wszczepu tkanką kostną, optymalny rozmiar porów materiału porowatego pokrywającego endoprotezę zawiera się w przedziale od 100 do 400 mikrometrów. Według [78] wrastanie tkanki kostnej wystąpi w przypadku powłoki porowatej o rozmiarze porów większym niż 75 mm. Minimalny wymiar porów jest podyktowany średnicą osteonów zdrowej (nie-osteoporotycznej) kości korowej. W przypadku porów o rozmiarach mniejszych od 75 mm nie odnotowuje się wrastania tkanki kostnej. W przedziale rozmiaru porów pomiędzy 75 a 150 mm występuje co prawda wrastanie, ale trudno utrzymać w pełni zdolne do życia osteony [78]. Kliniczne doświadczenie wskazuje, że charakterystyczny rozmiar

Hart et al. [44]. It takes into account the two-phase poroelastic model of bone tissue, the electromechanic properties of porous cortical bone saturated with ionic fluid (i.e. SGPs) and electric stimulation of bone cells [15] and also the possibility of stimulation of bone cells by bone fluid flow (fluid shear stress hypothesis - elaborated by Cowin et al. [30]). There are presented the mechano-adaptive properties of bone: 1) the so-called external remodelling - i.e. the change of the shape of cross section of long bone and 2) the so-called internal remodelling - i.e. the change of the porous properties of cortical bone; the mechanoelectric properties of bone are illustrated on diagram in FIG. 7 by mechanoelectric transducer TRANS and the strain generated potentials SGPs.

The mechanoelectric properties of bone (the mechatronic properties of living bone [105, 107]) conditions the generation of the strain generated potentials which are a co-factor of stimulation of adaptive remodelling of bone in response to the mechanical load history. The co-factors are consequently conditioning, among others, the stability of bone implants [115].

Influence of the surface microgeometry on the formation of bone-implant fixation and its biomechanical stability

The problem of structural-biomechanical compatibility concerns with ensurance of long-term stability and reliability of load-carrying construction of bone-porous implant fixation. In this matter we can distinguish: 1) the structural (structural-adaptive) compatibility - dealing with the induction of process of adaptive bone tissue ingrowth into pore space of implant coating, which, according to Wolff's law [116], depends on the bone physiological load history; and 2) the biomechanical compatibility - dealing with ensurance of long-term stability of considered bone-porous implant fixation, among others, by prevention of generating of non-physiologic stress fields in bone tissue around the implant. The criterion of structural-adaptive compatibility of bone-implant fixation can be defined as the ability of a porous coating of implant to inducing on its surface an effective bone tissue ingrowth - the ingrowth allowing creating mineralized new bone formation. Every biologically compatible porous biomaterial permits bone tissue ingrowth when the proper range of pore size to place in it osteons is ensured [19]. The necessary condition to proceed the adaptive bone tissue ingrowth is the compatibility of the parameters of porous coating microgeometry with the structure parameters of remodelling and mineralized bone tissue [114].

The influence of the surface microgeometry on the formation of bone-implant fixation and its biomechanical stability has been investigated by many authors. In the 70-ties of the 20th century Robertson et al. [85] and Weish et al. [110] found the correlation between the augmentation of fixation strength and the pore size increase. Klawitter and Hulbert estimated that 100 mm should be the minimal pore dimension required for fully mineralized bone tissue formation. The results of their research suggest the optimal pore size between 100 and 135 mm [57]. Bobyn et al. (1980, [14]) presented the results of the clinical research, in which they stated the bone tissue ingrowth into the porous coating is possible if the pore size is between 50 and 500 mm. Brooker et al. (1984, [16]) announced the pore size required for bone ingrowth in porous coated implants between 100 and 400 mm. According to [78] bone tissue ingrowth into the pores on implant surface will occur if the pore size is at least 75 mm. The minimum pore size depends on the os-

porów przestrzeni porowej biomateriału powinien mieścić się w przedziale 100 do 350 mm, jak również pory powinny być wzajemnie połączone [22]. Według Niesz i Tennery'ego [71] optymalna porowatość implantu powinna naśladować systemy Haversa i średnice porów powinny mieścić się w przedziale 50-250 mm. Turner i inni [104] w swoich badaniach zasugerowali, że pewien wpływ na wrastanie tkanki ma także struktura wewnętrzna warstwy porowatej. Wykazali oni, że włókniste metalowe pokrycie o średnim rozmiarze porów 247 mm lepiej warunkuje wrastanie tkanki kostnej niż kulkowa powłoka o średnim rozmiarze porów 297 mm. Wytrzymałość na ścinanie tkanki kostnej wrastającej zależy od głębokości wrastania do warstwy porowatej [64]. Wyniki badań biomateriałów Clemowa i współprac. [27] wykazują spadek trwałości i stabilności mocowania ze wzrostem wielkości porów od wielkości 175 do 325 mikrometrów. Aktualnie przyjmuje się, że optymalne przerastanie tkanką kostną wykazują materiały o wielkościach porów 100-500 mm [11].

Obszerne studium nad wrastaniem tkanki kostnej w przestrzeń porową pokrytych hydroksyapatytową ceramiką prowadził w latach dziewięćdziesiątych zespół Soballe [99]. Dokonał on porównania rezultatów integracji tkanki kostnej z przestrzeniami porowymi powłok metalicznych i ceramicznych. Wyniki badań jego zespołu wskazują, że w przypadku bardziej gładkich hydroksyapatytowych pokryć o mniejszych porach i w konsekwencji mniejszej potencjalnej powierzchni styku kości z implantem, połączenie kość-implant wykazuje zbliżone wartości wytrzymałości na ścinanie, otrzymane podczas badań wytrzymałościowych zrywania połączenia, do implantów z pokryciem metalicznym o bardziej dostępnej dla wrastania przestrzeni porowej. Wynika to z faktu, iż w przypadku porowatych implantów metalicznych połączenie ma charakter wyłącznie mechaniczny i, z biomechanicznego punktu widzenia, jest uwarunkowane głównie ukształtowaniem mikropowierzchni implantu, tzn. jej porodostępnnością dla wrastania tkanki kostnej. W przypadku warstwy porowatej bioceramiki hydroksyapatytowej, mamy do czynienia z połączeniem mechano-fizyko-biochemicznym uwarunkowanym również innymi czynnikami (jakość pokrycia: skład chemiczny, czystość, zawartość pierwiastków śladowych, stosunek Ca/P, krytaliczność, rozpuszczalność, gęstość, porowatość, etc. [75]). W bieżącym piśmiennictwie wciąż brakuje jednoznacznie sformułowanych wytycznych dla mikrostruktury porowatych pokryć implantów ortopedycznych. Zdaniem autorów jest tak dlatego, iż wciąż brakuje odpowiedniego opisu biomechanicznego mikrostrukturalnych właściwości porowatych implantów ortopedycznych opartego na teorii materiałów porowatych.

Podsumowanie

Zgodność strukturalno-adaptacyjna połączenia kość-porowaty implant określa zdolność porowatej warstwy wierzchniej implantu do wystąpienia efektywnego wrastania tkanki kostnej do jej przestrzeni porowej, tzn. wrastania pozwalającego na uformowanie w pełni zmineralizowanej tkanki kostnej. Zdolność tą charakteryzują strukturalne właściwości osteoindukcyjne porowatej warstwy wierzchniej implantu, które można opisać za pomocą odpowiednich parametrów porostruktury warstwy wierzchniej implantu [114].

Biodynamicznego procesu adaptacyjnej przebudowy tkanki kostnej nie da się wytłumaczyć bez dostrzeżenia biomechanicznej oraz bioelektrofizjologicznej roli fazy płynnej (właściwości biomechaniczne tkanki kostnej [105]). Pomimo wielu różnych rozwiązań konstrukcyjnych trzpieni bezcementowych istniejących na rynku, problem właściwe-

teon diameter of a healthy (nonosteoporotic) cortical bone. The bone tissue ingrowth cannot be observed if the pore size is less than 75 mm. The bone tissue ingrowth can be observed if the pore size is between 75 and 150 mm but it is hard to keep viable osteons [78]. Further investigations indicate the characteristic size of pores in porous coated biomaterial should range from 100 up to 350 mm and the pores should be interconnected [22]. According to Niesz and Tennery [71] the optimal porosity of implant should imitate the physiological Haversian's structure with the pore dimensions between 50 and 250 mm. Turner et al. [104] suggested in their study the bone tissue ingrowth is influenced also by other factors such as the configuration of surface geometry and surface topography. They proved the metal fiber wire coating with the average pore size of 247 mm conditions better the bone tissue ingrowth than the bead coating with the average pore size of 297 mm. The shear resistance of the bone-implant interface depends also on the depth of the ingrown bone [64]. Clemow et al. [27] show the fixation stability weakens with the growth of the pore size from 175 to 325 mm. Currently it is assumed the optimal bone ingrowth of the bone tissue into the porous implants can be observed when its pore size is between 100 and 500 mm [11].

Soballe et al. [99] performed a comprehensive study on bone tissue ingrowth into the composite biomaterial coated with hydroxyapatite ceramics. He compared the bone integration with metallic and ceramic coating and proves the smoother ceramic coating with smaller pores and smaller contact surface between the bone and the implant has the ultimate shear strength (obtained from push-out tests) similar to implants with metallic coating, which have more rough topography. It results from the fact, the bone-implant fixation in metallic porous implants is a mainly mechanical fixation. From a structural-biomechanical point of view, it is conditioned mainly by microporosity parameters, i.e. by the poroaccessibility of porous surface for bone ingrowth. However, in porous hydroxyapatite ceramic the fixation has mechano-physico-chemical character, which is conditioned also by other factors, e.g. calcium phosphate coating quality, i.e. its chemical composition, purity, trace elements content, Ca/P ratio, crystallinity, solubility, density, porosity, etc. [75]). In the current literature there is still lack of clearly defined microstructural requirements for porous coatings on the bone implants. In the authors opinion it is due the lack of the adequate biomechanical description of the microstructural properties of porous coatings based on the porous materials theory.

Conclusions

The structural-adaptive compatibility of bone-porous implant fixation deals with an ability of porous coating to induce the effective bone tissue ingrowth into its pores allowing bone mineralization. This ability is characterized by the structural osteoinductive properties of porous coating of implant and guarantees the proper bone-implant fixation. The osteoinductive properties of porous coating are determined by the proper parameters of its microstructure [114].

The biodynamic process of the adaptive bone ingrowth cannot be explained without the biomechanical and bioelectrophysiological role of the ionic fluid flowing in the pore space of bone tissue (the biomechanical properties of living bone) [105]. The proper coating microstructure is still a matter of research, though there are a lot of types of microstructures of porous coatings on the market. In this paper there is presented review of the literature concerning the implant surface microgeometry research that was based

go ukształtowania mikrostruktury powierzchni implantu pozostaje w dalszym ciągu nierozwiązany. Przedstawiony w pracy literaturowy przegląd badań nad zgodnością strukturalną połączenia kość-porowaty implant prowadzone były w oparciu o jednofazowy model biomechaniczny tkanki kostnej. Zdaniem autorów, przedział wartości rozmiarów pora przyjęty za optymalny dla wrastania tkanki kostnej (tj. 100-500 nm), jest zbyt szeroki. Ponadto kryterium to powinno zostać rozszerzone o wielkość lub wielkości, które byłyby związane z szybkością wypełniania przestrzeni porowej powierzchni implantu przez tkankę kostną. Wciąż brak w literaturze kryteriów zgodności strukturalno-adaptacyjnej połączenia kość-porowaty implant, które byłyby opracowane na podstawie współczesnego dwufazowego, porosprężystego modelu biomechanicznego tkanki kostnej. Wynika stąd konieczność identyfikacji parametrów mikrostruktury porowatych warstw wierzchnich istotnych ze względu na powstanie połączenia kość-porowaty implant. Rozwiązanie tego problemu umożliwi analizę wpływu zidentyfikowanych parametrów porostrukury warstwy wierzchniej implantu na wytrzymałość mechaniczną rozważanego połączenia na podstawie współczesnego dwufazowego porosprężystego modelu biomechanicznego tkanki kostnej. Analiza zgodności biomechanicznej pomiędzy tkanką kostną a wszczepem przeprowadzona na podstawie w/w modelu może także dostarczyć wiedzy niezbędnej do poprawienia niezawodności konstrukcji sztucznego stawu oraz wydłużenie jej trwałości. Zagadnienia zgodności strukturalno-adaptacyjnej i zgodności biomechanicznej połączenia kości z porowatym implantem na podstawie współczesnego dwufazowego porosprężystego modelu biomechanicznego tkanki kostnej są przedmiotem pracy [114].

Podziękowania

Praca finansowana przez Ministra Nauki i Informatyzacji w ramach projektu nr 4 T07C 056 29.

on the traditional one-phase biomechanical model of bone. In our opinion, the range of pore size (i.e. 100-500 nm), proposed in the current literature as an optimal to obtain bone tissue ingrowth, is too extensive. Moreover, the description of the porous coating microstructure should be extended with additional parameter(s) connected to the rate of bone ingrowth.

There are still no well-defined criteria of structural-adaptive compatibility of the bone-implant fixation on the basis of the two-phase poroelastic biomechanical model of bone tissue. Therefore the identification of the parameters characterizing the microstructure of porous coatings from the point of view of the formation proper bone-implant fixation is important and necessary. The solution of the problem of the structural-adaptive compatibility of the bone-implant fixation will make possible the mechanical strength analysis of the considered fixation on the basis of the modern two-phase poroelastic model of bone. Analysis of structural-biomechanical compatibility of bone tissue and porous coatings on implant on the basis of this model might also afford additional knowledge required for increasing of reliability of artificial joint and extension of its vitality. The problems of structural-adaptive compatibility and the biomechanical compatibility of bone with porous coated implants on the base of the modern two-phase poroelastic biomechanical model of bone tissue are presented in [114].

Acknowledgements

The work was supported by the Minister of Science and Information Society Technologies No 4 T07C 056 29

Piśmiennictwo

- [1] Albrektsson, T., Carlsson, L.V., Morberg, P., et al.: Directly Bone-Anchored Implants, In: Bone Implant Interface, Hurley, R., (Ed.), Mosby, St Luis, 1994, 97-120.
- [2] Aoki, H.: Medical Applications of Hydroxyapatite, Ishiyaku Euroamerica, Inc., Tokyo-St. Louis, 1994.
- [3] Barrack, R.L., Cook, S.D., Patrom, L.P.: Induction of Bone Ingrowth From an Acetabular Defect to a Porous Surface with Osteogenic Protein-1, Clin. Orthop., 2003; 417:41-9.
- [4] Ben-Nissan, B., Cai, C.S., Gross, K.A.: Effect of Solution Aging on Sol-Gel Hydroxyapatite Coatings, Bioceramics, 10 1997, 175-78.
- [5] Berry, J.L., Geiger, J.M., Moran, J.M., Skraba, J.S., Greenwald, A.S.: Use of Tricalcium Phosphate or Electrical Stimulation to Enhance the Bone-Porous Implant Interface, J. Biomech. Mater. Res., 1986; 20: 65-77.
- [6] Będziński, R., Bernakiewicz, M., Ścigała, K.: Biomechanical Aspects of Artificial Joint Implantation in Lower Limb, Journal Of Theoretical And Applied Mechanics, 3, 37, 1997, 455-479.
- [7] Będziński, R.: Biomechanika Inżynierska. Zagadnienia Wybrane, Oficyna Wyd. Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 1997.
- [8] Bierbaum, B.E., Nairus, J., Kuesis, D., Morrison, J.C., Ward, D.: Ceramic-On-Ceramic Bearings In Total Hip Arthroplasty., Clin. Orthop., 2002; 405, 158-63.
- [9] Bigliani, L.U., Flatow, E.L.: Shoulder Arthroplasty, Springer, 2005.
- [10] Blencke, B.A., Bromer, H., Deutcher, K.K.: Compatibility and Long-Term Stability Of Glass Ceramic Implants, J. Biomed. Mater. Res., 1978, 12, 307-316.

References

- [11] Błażewicz, S., (Ed.), Stoch, L., (Ed.): Problemy Biocybernetyki i Inżynierii Biomedycznej, Tom 4, Biomateriały, Akademicka Oficyna Wydawnicza Exit, Warszawa 2003.
- [12] Bobyn, J.D., Hacking S.A., Krygier J.J., Harvey E.J., Little D.G., Tanzer M.: Zoledronic Acid Causes Enhancement Of Bone Growth Into Porous Implants, J. Bone Joint Surg. 2005; 87-B: 416 -420.
- [13] Bobyn, J.D., Tok, K-K., Hacking, S.A., Tanzer, M., Krygier, J.J.: The Tissue Response to Porous Tantalum Acetabular Cups: A Canine Model, J. Arthroplasty, 1999;14: 347-54.
- [14] Bobyn, J.D., Pillar, R.M., Cameron, H.U., Weatherly, G.C.: The Optimum Pore Size For The Fixation Of Porous-Surfaced Metal Implants By The Ingrowth Of Bone, Clin. Orthop., 1980; 150: 263-270.
- [15] Brighton, C.T., Wang, W., Seldes, R., Zhang, G., Pollack S.R.: Signal Transduction in Electrically Stimulated Bone Cells, J. Bone Jt. Surg., 2001; 83A, 1514-1523.
- [16] Brooker, A.F., Collier, J.P.: Evidence Of Bone Ingrowth Into A Porous-Coated Prosthesis, J. Bone Joint Surg., 1984; 66A: 619-621.
- [17] Buch, F., Albrektsson, T., Herbst, E.: Direct Current Influence on Bone Formation In Titanium Implants, Biomaterials, 1984, 3, 341.
- [18] Bugbee, W.D., Engh, C.A.: Cementless Femoral Component: Extensively Coated, In: Callaghan J.J., Rosenberg A.G., (Ed), Rubash H.E., (Ed): The Adult Hip, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, New York, 1998, 1023-1040.

- [19] Callaghan, J.J., (Ed.), Rosenberg, A.G., (Ed.), Rubash, H.E., (Ed.): *The Adult Hip*, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, New York, 1998.
- [20] Callaghan, J.J.: The Clinical Results and Basic Science Of Total Hip Arthroplasty With Porous Coated Prostheses, *J. Bone Joint Surg.*, 1993; 75A, 299-312.
- [21] Cameron, H.U.: Smooth Metal-Bone Interface, In: Hurley, R., (Ed.), *Bone Implant Interface*, Mosby, St Luis, 1994, 121-144.
- [22] Cameron, H.U.: The Implant Bone Interface: Porous Metals, In: Hurley, R., (Ed.), *Bone Implant Interface*, Mosby, St Luis, 1994, 145-168.
- [23] Celeste, A.J., Iannazzi, J.A., Taylor, R.C., Hewick, R.M., Rosen, V., Wang, E.A., Wozney, J.M.: Identification Of Transforming Growth Factor Beta Family Members Present In Bone-Inductive Protein Purified From Bovine Bone, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1990; 87: 9843-7.
- [24] Charnley, J.: *Low Friction Arthroplasty Of The Hip*, Springer-Verlag, Berlin, 1979.
- [25] Charnley, J.: *Acrylic Cement in Orthopaedic Surgery*, Churchill, Livingstone, Edinburgh, 1970.
- [26] Chern Lin, J.H., Liu, M.L., Ju, C.P.: Structure And Properties Of Hydroxyapatite-Bioactive Glass Composites Plasma Sprayed On Ti6Al4V, *Journal Of Material Science: Materials In Medicine*, 5, 1994, 279-283.
- [27] Clemow, A.J.T., Wienstein, A.M., Klawitter, J.J., Koeneman, J., Anderson, J.: Interface Mechanics of Porous Titanium Implants, *J. Biomed. Mater. Res.*, 1981, 15, 73-82.
- [28] Cook, S.D., Salkeld, S.L., Patron, L.P., Barrack, R.L.: The Effect Of Demineralized Bone Matrix Gel On Bone Ingrowth And Fixation Of Porous Implants, *J. Arthroplasty*, 2002; 17: 402-8.
- [29] Cook, S.D., Thomas, K.A., Kay, J.F., Jarcho, M.: Hydroxyapatite-Coated Porous Titanium For Use As An Orthopedic Biologic Attachment System, *Clin. Orthop.*, 1988; 230: 303-12.
- [30] Cowin, S.C.: Bone Poroelasticity, In: Cowin, S.C., (Ed.): *Bone Biomechanics Handbook*, 2. Ed., Crc Press, Boca Raton, Fl USA, 2001.
- [31] Currey, J.D.: *Bones: Structure And Mechanics*, Princetown University Press, Princeton and Oxford, 2002.
- [32] Dai, K.R., Liu, Y.K., Park, J.B., Zhang, Z.K.: Bone Particle Impregnated Bone Cement: An In Vivo Weight-Bearing Study, *J. Biomed. Mater. Res.*, 1991, 25, 141-156.
- [33] D'Antonio, J.A., Capello, W.N., Manley, M.T., Bierbaum, B.: New Experience with Alumina-On-Alumina Ceramic Bearings for Total Hip Arthroplasty, *J. Arthroplasty*, 2002; 17: 390-7.
- [34] D'Antonio, J.A., Capello, W.N., Manley, M.T., Geesink, R.: Hydroxyapatite Femoral Stems For Total Hip Arthroplasty: 10 to 13 Year Follow Up, *Clin. Orthop.*, 2001; 393: 101-11.
- [35] de Groot K.: *Bioceramics Of Calcium Phosphate*, Crc Press, Boca Raton, Fl., 1983.
- [36] Ducheyne, P., Van Raemdonck, W., Heughebaert, J.C., Heughebaert, M.: Structural Analysis of Hydroxyapatite Coatings on Titanium, *Biomaterials*, 7 (2), 1986, 97-103.
- [37] Engh, C.A., Claus, A.M., Hopper, R.H.: Long-term Results Using the Anatomic Medullary Locking Hip Prosthesis, *Clin. Orthop.*, 2001; 393: 137-46.
- [38] Engh, C.A., Massin, P., Suthers, K.: Roentgenographic Assessment of the Biologic Fixation of Porous-Surface Femoral Components, *Clin Orthop.*, 1992; 284: 310-2.
- [39] Engh, C.A., Glassman, A.H., Suthers, K.E.: The Case for Porous-Coated Hip Implants, *Clin. Orthop.*, 1990, T. 261, 63-81.
- [40] Green, J.R., Muller, K., Jaeggi, K.A.: Preclinical Pharmacology of CGP42'446, A New Potent, Heterocyclic Bisphosphonate Compound., *J. Bone Miner. Res.*, 1994; 9: 745-751.
- [41] Grote, J.J.: Reconstruction of the Middle-Ear with Hydroxyapatite Implants: Long Term Results, *Ann. Otol. Rinol. Laryngol.*, 144, 12, 1990.
- [42] Gunzburg, R., (Ed.), Mayer, H.M., (Ed.), Szpalski, M., (Ed.), Aebi, M., (Ed.): *Arthroplasty of the Spine*, European Spine Journal, Vol. 11, Suppl. 2, Springer, 2004.
- [43] Harris, W.H.: Hybrid Total Hip Replacement, *Clin. Orthop.*, 1996, T. 333, 155-164.
- [44] Hart, R.T., Davy, D.T., Heigle, K.G.: Mathematical Modelling Of Stress Adaptation Process in Bone, *Calcif. Tiss. Int.*, 1984; 36, Suppl. 1, 104-109.
- [45] Hench, L.L., Paschall, H.A.: Direct Chemical Bond of Bioactive Glass-Ceramic Materials To Bone And Muscle, *J. Biomed. Mater. Res. Symp. No. 4*, 1973, 25-43.
- [46] Hench, L.L.: Bioactive Glasses, Ceramics and Composites, In: Hurley R. (Ed.), *Bone Implant Interface*, Mosby, St Luis, 1994, 181-190.
- [47] Henrich, D.E., Cram, A.E., Park, J.B., Liu, Y.K., Reddi, H.: Inorganic Bone and Bone Morphogenic Protein Impregnated Bone Cement: A Preliminary In Vivo Study, *J. Biomed. Mater. Res.* 1993, 27, 227-280.
- [48] Herman, H.: Plasma-Sprayed Coatings, *Scien. Am.*, 1988, 259: 78-88.
- [49] Hintermann, B.: *Total Ankle Arthroplasty*, Springer, Wien, New York, 2004.
- [50] Hirshhorn, J.S., Mcbeath, A.A., Dustoor, M.R.: Porous Titanium Surgical Implant Materials, *J. Biomed. Mater. Res. Symp.*, No. 2, 1972, 49-69.
- [51] Hirshhorn, J.S., Reynolds, J.T.: Powder Metallurgy Fabrication of Cobalt Alloy Surgical Implant Materials, In: Korostoff, E., (Ed.): *Research in Dental and Medical Materials*, Plenum Press, New York, 1969.
- [52] Homsy, C.A., Cain, T.E., Kessler, F.B., Anderson, M.S., King J.W.: Porous Implant Systems for Prosthetic Stabilization, *Clin. Orthop. Rel. Res.*, 1972, 89, 220-231.
- [53] Jasty, M., Rubash, H.E., Palement, G.D., Bragdon, C.R., Parr, J., Harris, W.H.: Porous Coated Uncemented Components in Experimental Total Hip Arthroplasty in Dogs. Effect of Plasma-Sprayed Calcium Phosphate Coatings on Bone In-Growth, *Clin. Orthop.*, 1992; 280: 300-9.
- [54] Jee, W.S.S.: Integrated Bone Tissue Physiology: Anatomy and Physiology, In: Cowin, S.C., (Ed.): *Bone Biomechanics Handbook*, 2. Ed., Crc Press, Boca Raton, Fl USA, 2001.
- [55] Kay, J.F.: Bioactive Surface Coatings; Cause for Encouragement and Caution, *J. Oral Implant*, 1988, 16, 43-54.
- [56] Kienapfel, H., Summer, D.R., Turner, T.M., Urban, R.M., Galante, J.O.: Efficacy of Autograft and Freeze-Dried Allograft to Enhance Fixation of Porous Coated Implants in The Presence of Interface Gaps, *J. Orthop. Res.*, 1992; 10: 423-33.
- [57] Klawitter, J.J., Hulbert, S.F.: Application of Porous Ceramics for the Attachment of Load Bearing Internal Orthopaedic Application, *Biomed. Mater. Res. Symp.*, No. 2, 1972, 161-229.
- [58] Kozinn, S.C., Hedley, A.K., Urist, M.R.: Augmentation Of Bone Ingrowth: I. Ingrowth Into Bone Morphogenic Protein (BMP) Impregnated Porous Implants, In: *Transactions, 28th Annual Meeting, Orthopaedic Research Society* 1982, 7, 181.
- [59] Kusz, D.: Rys historyczny i uwarunkowania endoprotezoplastyki stawu biodrowego, *Inżynieria Materiałowa*, 2 1998. 36-39.
- [60] Kusz, D.: Biomechaniczne aspekty endoprotezyk stawu biodrowego, *Inżynieria Materiałowa*, Nr 2/1997, 39-44.
- [61] Lewis, G.: *The Elbow Joint and Its Total Arthroplasty*, Bio-Med. Mater. Eng., 6, 353, 1996.
- [62] Liu, Y.K., Njus, G.O., Park, J.B., Stienstra, D.: Bone Particle Impregnated Bone Cement, I. In Vitro Study, *J. Biomed. Mater. Res.*, 1987, 21, 247-261.
- [63] Lord, G.A., Hardy, J.R., Kummer, F.J.: An Uncemented Total Hip Replacement, *Clin. Orthop.*, 1979, T. 141, 2-16.
- [64] Marciniak, J.: *Biomateriały*, Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice 2002.
- [65] McKoy, B.E., An, Y.H., Friedman, R.J.: Factors Affecting The Strength Of The Bone-Implant Interface, In: An, Y.H., (Ed.), *Draughn, R.A., (Ed.): Mechanical Testing Of Bone And The Bone-Implant Interface*, CRC Press, Boca Raton, London, New York Washington Dc, 2000.
- [66] Meuli, H.C.: Total Wrist Arthroplasty, Experience with Noncemented Prosthesis H.C.: Total Wrist Arthroplasty, Experience with Noncemented Prosthesis, *Clin. Orthop.*, 342, 77, 1997.
- [67] Misch, C.E.: *Dental Implant Prosthetics*, Mosby-Year Book, 2004.

- [68] Mittlemeier, H.: Anchoring Hip Endoprosthesis Without Bone Cement, In: Schaldach, M., (Ed.), Hohmann, D., (Ed.): *Advances In Artificial Hip And Knee Joint Technology*, Springer-Verlag, Berlin, 1976, 387-402.
- [69] Moore, A.T.: The Self-Locking Metal Hip Prosthesis, *J. Bone Joint Surg. Am.*, 1957, T. 39 - A (4), 811-827.
- [70] Mow, V.C., (Ed.), Hayes, W.C., (Ed.): *Basic Orthopedic Biomechanics*, Lippincott Williams & Wilkins, New York 1997.
- [71] Niesz, D.E., Tennery, V.J.: *Ceramics for Prosthetic Application - Orthopedic, Dental and Cardiovascular*, Mat. And Ceram. Inform. Center., MCIC - 74 - 21, 1974.
- [72] Niles, J.L., Lapitsky, M.: Biomechanical Investigation of Bone-Porous Carbon and Metal Interfaces, *Biomed. Mater. Res. Symp.*, 1975, 4, 63-84.
- [73] Ong, J.L., Lucas, L.C., Lacefield W.R., Rigney, E.D.: Structure, Solubility and Bond Strength of Thin Calcium Phosphate Coatings Produced By Beam Sputter Deposition, *Biomaterials*, 13 (4), 1992, 249-254.
- [74] Ostrowski, K., (Ed.): *Histologia*, PZWL, 1998.
- [75] Overgaard, S.: Calcium Phosphate Coatings For Fixation Of Bone Implants, *Acta Orthopaedica Scandinavica*, Suppl., No. 297, Vol. 71, 2000.
- [76] Park, J.B., Choi, W.W., Liu, Y.K., Haugen, T.W.: Bone Particle Impregnated Polymethylmethacrylate: In Vitro And In Vivo Study. In: Van Steenberge, D., (Ed.): *Tissue Integration in Oral And Facial Reconstruction*, Excerpta Medica, Amsterdam, 1986, 118-124.
- [77] Park, J.B., Kenner, G.H.: Effect of Electrical Stimulation on the Tensile Strength of the Porous Implant and Bone Interface, *Biomater. Med. Dev. Artif. Org.*, 1975, 3, 233-243.
- [78] Park, J.B., Bronzino, J.D.: *Biomaterials: Principles And Applications*, Boca Raton, London, New York, Washington, D.C., CRC Press, 2003.
- [79] Park, J.B.: Orthopedic Prosthesis Fixation, In: Bronzino, J.D., (Ed.): *Biomedical Engineering Handbook*, Boca Raton, CRC Press, 1995, 704-723.
- [80] Parthofer, R., Weinhart, R., Frehner, W.: 15 Years of Personal Experience with Cement-Free Primary Hip-Joint Endoprostheses, *Chir. Narz. Ruchu Orthop. Pol.*, 1994, T. 59 (Suppl. 3), 218-222.
- [81] Popoviol, A.F.: Polyvinyl Plastic Sponge In Experimental Orthopaedic Surgery: A Preliminary Report, *Bull Georgetown Univ. Med. Cent.*, 7: 177.
- [82] Predecki, P., Stephan, J.E., Auslander, B.E., Mooney, V.L., Kirland, K.: Kinetic of Bone Growth Into Cylindrical Channels in Aluminium Oxide and Titanium, *J. Biomed. Mater. Res.*, 1972, 6, 375-400.
- [83] Prendergast, P.J.: Bone Prostheses and Implants, In: Cowin, S.C., (Ed.): *Bone Biomechanics Handbook*, 2. Ed., CRC Press, Boca Raton, FL USA, 2001.
- [84] Rivero, D.P., Landon, G.C., Skipor, A.K., Urban, R.M., Galante, J.O.: Effect of Pulsing Electromagnetic Fields on Bone Ingrowth in a Porous Material (Abstract), *Trans. Orthop. Res. Soc.*, 1986; 11:492.
- [85] Robertson, D.M., Pierre, L., Chehal, F.: Preliminary Observations of Bone Ingrowth into Porous Material, *J. Biomed. Mater. Res.*, 10, 335, 1976.
- [86] Rogala P.: Patent europejski nr 072418 B1, pt.: "Endoprothesis" udzielony przez European Patent Office w 1999 r. oraz patent amerykański nr 5,91,759, pt.: "Acetabulum Endoprothesis And Head" udzielony w ramach porozumienia PCT, patent kanadyjski nr 2,200,064, pt.: "Method And Endoprothesis To Apply This Implantation" udzielony w ramach PCT.
- [87] Rogala, P., Uklejewski, R., Stryla, W.: Współczesny porosprężysty model biomechaniczny tkanki kostnej. Część 1 i 2, *Chir. Narz. Ruchu Orthop. Pol.*, 2002; Nr 67 (3), 309-316; 64 (4), 395-403.
- [88] Rogala, P., Uklejewski, R.: New Model and Biomechanical Concept of Total Hip Arthroplasty, In: *Proceedings of The International Conference "Bone 2003"*, Maastricht (NL) 9-11. Oct. 2003.
- [89] Russotti, G.M., Okada, Y., Fitzgerald, R.H. Jr, Chao, E.Y.S., Gorski, J.P.: Efficacy of Using a Bone Graft Substitute to Enhance Biological Fixation of a Porous Metal Femoral Component, In: Brand R.A., (Ed.): *The Hip. Proc. of 15th Open Science Meeting Of Hip Society*, St. Louis Mosby 1987:120-54.
- [90] Sauer, B.W., Weinstein, A.M., Klawitter, J.J., Hulbert, S.F., Leonard, R.B., Bagwell, J.G.: The Role of Porous Polymeric Materials in Prosthesis Attachment, *J. Biomed. Mater. Res. Symp.*, No. 5, 1974, 5, 145-156.
- [91] Sculco, T.P., (Ed.), Martucci, E.A., (Ed.): *Knee Arthroplasty*, Springer, 2002.
- [92] Shimizu, T., Zerwekh, J.E., Videman, T., et al.: Bone Ingrowth into Porous Calcium Phosphate: Influence of Pulsing Electromagnetic Field, *J. Orthop. Res.*, 1988, 6, 248.
- [93] Silva, M., Lee, K.H., Heisel, C., Dela Rosa, M.A., Schmalzried, T.P.: The Biomechanical Results of Total Hip Resurfacing Arthroplasty, *J. Bone Joint Surg. Am.*, 2004; 86a: 40-46.
- [94] Simmen, B.R., (Ed.), Allieu, Y., (Ed.), Lluch, A., (Ed.), Stanley, J., (Ed.): *Hand Arthroplasties*, Taylor & Francis Group, 2000
- [95] Sivash, K.M.: The Development of a Total Metal Prosthesis for the Hip Joint from a Partial Joint Replacement, *Reconstr. Surg. Traumat.*, 1969, T. 11, 53-62.
- [96] Smith, L.: Ceramic-Plastic Material as a Bone Substitute, *Arch. Surg.*, 1963, 87, 653-661.
- [97] Soballe, K., Hansen, E.S., Brockstedt-Rasmussen, H., Hjortdal, V.E., Juhl, G.I., Padersen, C.M., Hvid, I., Bunger, C.: Fixation of Titanium- And Hydroxyapatite Coated Implants in Arthritic Osteonic Bone, *J. Arthroplasty*, 1991, 6 (4), 307-316.
- [98] Soballe, K., Hansen, E.S., Brockstedt-Rasmussen, H., Pederesen, C.M., Bunger, C.: Bone Graft Incorporation Around Titanium-Alloy And Hydroxyapatite-Coated Implants in Dogs, *Clin. Orthop.*, 1992; 274; 282-93.
- [99] Soballe, K.: Hydroxyapatite Ceramic Coating for Bone Implant Fixation, *Acta Orthopaedica Scandinavica*, Suppl., 255, 64, 1993.
- [100] Stryla, W., Uklejewski, R., Rogala, P.: Modern two-phase biomechano-electrophysiological model of bone tissue. Implications for rehabilitation research and practice, 8th Congress of European Federation for Research in Rehabilitation, Ljubljana, Slovenia, 13-17 June 2004; extended summary in: *Int. Journal of Rehabilitation Research*, 2004, Vol. 27 Suppl.1, 175-177.
- [101] Tanzer, M., Harvey, E., Kay, A., Morton, P., Bobyn, J.D.: Effect of Noninvasive Low Intensity Ultrasound On Bone Growth Into Porous-Coated Implants, *J. Orthop. Res.*, 1996; 14: 901-906.
- [102] Teloken, M.A., Bissett, G., Hozack, W.J., Sharkey, P.F., Rothman, R.H.: Ten To Fifteen Year Follow-Up After Total Hip Arthroplasty With a Tapered Cobalt-Chromium Femoral Component (Tri-Lock) Inserted Without Cement., *J. Bone Joint Surg. (Am.)*, 2002; 84-A: 2140-4.
- [103] Trancik, T., Vinson, N.: The Effect Of Prostaglandin F2, Alpha On Bone Ingrowth Into A Porous-Coated Implant (Abstract), *Trans. Orthop. Res. Soc.*, 1990; 15: 167.
- [104] Turner, T.M., Sumner, D.R., Urban, R.M., Riviero, D.P., Galante, J.O.: A Comparative Study of Porous Coatings in a Weight-Bearing Total Hip Arthroplasty Model, *J. Bone Joint Surg. Am.*, 1986, 68, 1396-1409.
- [105] Uklejewski, R.: Living Bone As Biomechatronic System, *Machine Dynamics Problems*, Vol. 28, No 4, 2004, 165-169.
- [106] Uklejewski, R.: O efektach elektromechanicznych w porowatej kości zbitiej wypełnionej płynem fizjologicznym i efekcie akustoelektrycznym w trzonach kości długich mokrych, /rozprawa habilitacyjna/, Wydawnictwo Inst. Biocybern. i Inż. Biomed. PAN, Warszawa 1994.
- [107] Uklejewski, R., Winiecki, M., Rogala, P., Czapski, T.: On Mechanoelectric and Electroacoustic Properties of Bone. Part 1 & 2, *Materials Engineering*, Vol. 11, No.1, 2004, 173-182.
- [108] Urist, M.R., Lietze, A., Mizutani, H., et al.: A Bovine Low Molecular Weight Bone Morphogenic Protein (BMP) Fraction, *Clin. Orthop.*, 1982, 162, 219.
- [109] Villar, R.: Resurfacing Arthroplasty of The Hip, *J. Bone Joint Surg. Br.*, 2004, 86-B: 157-8.
- [110] Weish, R.P., Pilliar, R.M., Macnab, I.: *Surgical Implants. The Role of Surface Porosity in Fixation to Bone and Acrylic*, *J. Bone Joint Surg.*, 53A, 963, 1971.
- [111] Wienstein, A.M., Klawitter, J.J., Cleveland, T.W., Amoss, D.C.: Electrical Stimulation of Bone Growth Into Porous Al2O3, *J. Biomed. Mater. Res.*, 1976, 10, 231-247.
- [112] Williams, D.F., (Ed.): *Definition in Biomaterials*, Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo, Elsevier, 1987.
- [113] Williams, D.F., Roaf, R.: *Implants in Surgery*, W. B. Saunders, London, 1973.
- [114] Winiecki M.: Badanie i projektowanie cech konstrukcyjnych połączeń porowatych implantów ortopedycznych z kośćmi, /rozprawa doktorska - w opracowaniu.

[115] Winięcki, M.: Zagadnienie biomechanicznej biokompatybilności kości i materiałów konstrukcyjnych implantów ortopedycznych w świetle współczesnego dwufazowego porośniętego modelu tkanki kostnej, Maintenance and Reliability, Vol. 2 (22)/2004, 74-79.

[116] Wolff, J.: Das Gesetz der Transformation der Knochen, Springer-Verlag, Berlin, 1892.

STABILIZATORY DO ALLOGENNYCH PRZESZCZEPÓW KOSTNYCH W OPERACJACH REWIZYJNYCH I REKONSTRUKCYJNYCH STAWU BIODROWEGO

J. JASIŃSKI, B. STODOLNIK, B. WÓJCKI, L. JEZIOŃSKI,
M. LUBAS, T.SZ. GAŹDZIK

Streszczenie

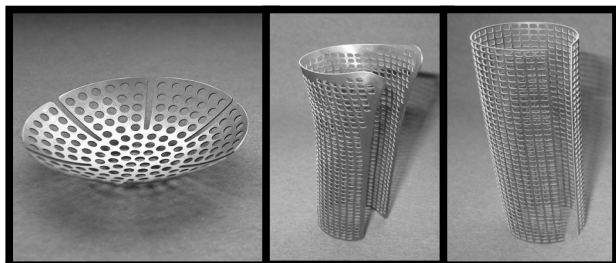
W ramach pracy przedstawiono nowe rozwiązania konstrukcyjne oraz przeprowadzono modernizację już istniejących zagranicznych stabilizatorów do przeszczepów allogennych przy wtórnej alloplastyce stawu biodrowego. Opracowano technologię ich wytwarzania wraz z wykonaniem serii prototypowych z biogodnego tytanu technicznego.

Słowa kluczowe: implanty, stabilizatory do przeszczepów allogennych, wtórna alloplastyka stawu biodrowego, siatki wzmacniające, koszyki mostkujące, tytan techniczny.

[Inżynieria Biomateriałów, 54-55,(2006),13-15]

Wprowadzenie

Wyniki całkowitych cementowych i bezcementowych protezoplastyk stawów biodrowych ulegają pogorszeniu w miarę upływu czasu z różnych przyczyn, głównie na skutek aseptycznego obluzowania. Zjawisko to powoduje powiększenie łożyska kostnego panewki oraz poszerzenie kształtu kości udowej. Narastanie zjawiska obluzowania w obszarze wszczepu powoduje znaczną dysfunkcję kończyny. W tych przypadkach najkorzystniejszą metodą naprawy jamistych i segmentalnych ubytków kości wokół obluzowanych wszczepów jest użycie ciasno ubitych, allogennych



RYS. 1. Koszyki mostkujące i wzmacniające panewkę endoprotezy oraz siatki wzmacniające trzpień endoprotezy.

FIG. 1. Bridging and strengthening baskets of the endoprosthesis acetabulum and net strengthening endoprosthesis shank.

STABILIZERS FOR BONE ALLOGENIC GRAFTS APPLIED IN REVISION OPERATIONS AND RECONSTRUCTION OF HIP JOINT

J. JASIŃSKI, B. STODOLNIK, B. WÓJCKI, L. JEZIOŃSKI,
M. LUBAS, T. SZ. GAŹDZIK

Abstract

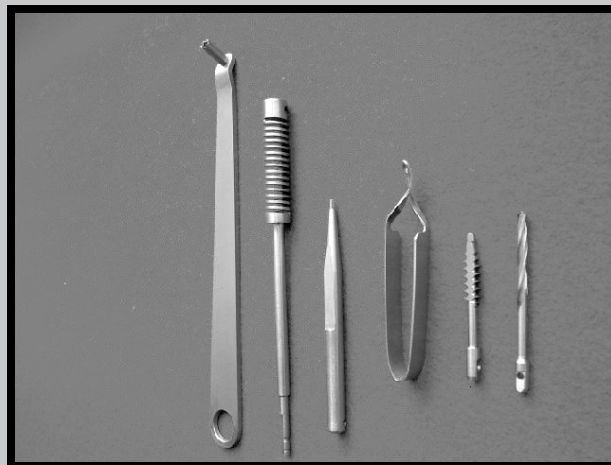
In this paper presented the new constructional solutions and modernization of the present foreign stabilizers, which are applied for allogenic grafts during the second hip alloplasty, were made. Production technology of the implants was elaborated. Moreover, a prototype batch from biocompatible commercially pure titanium was made.

Key words: Implants, stabilizers for bone allogenic grafts, bridging baskets, strengthening baskets, pure titanium.

[Engineering of Biomaterials, 54-55,(2006),13-15]

Introduction

There are different reasons for which the results of hip alloplasty (total cement and cementless endoprostheses) become worse with time. Aseptic slackening of endoprosthesis is the main reason affecting a growth in dysfunction of the limb. It affects an increase in the size of the bone bearing and widening of the femoral canal. In such cases the most effective method of repair the bone defects (cavity-like or partial defects) occurring in the vicinity of endoprosthesis is an application both tightly stuffed allogenic bone grafts and metallic stabilizers. The stabilizers in



RYS. 2. Wybrane instrumentarium chirurgiczne.

FIG. 2. Chosen surgical tools.

przeszczepów kostnych i metalowych stabilizatorów w postaci koszyków i siatek chroniących wszczep przed nadmiernym przeciążeniem występującym w tych obszarach [1].

Badania własne

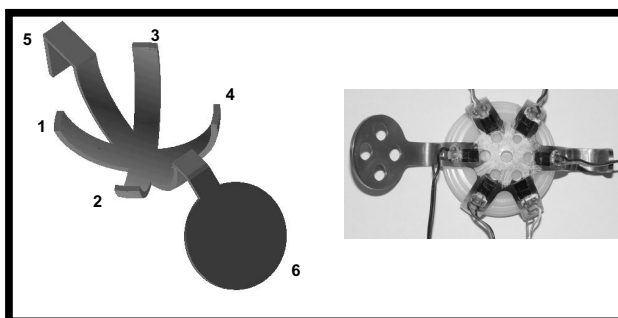
Dla uzupełnienia ubytków kostnych zaprojektowano, opracowano technologie i serie prototypowe koszyków mostkujących dwunastu typowymi wymiarami, koszyków wzmacniających o dwóch średnicach oraz siatek wzmacniających zwijanych i wytłaczanych. Koszyki mostkujące do stabilizacji panewek wykonano z blachy tytanowej o grubości 2 mm, a pozostałe z blachy o grubości 0,6 mm [2]. Jest to blacha z atestem biologicznym przeznaczona na implanty wg norm ISO 5832-2 i ASTM B263-99/1 firmy KOBE STEEL LTD. Japan. Wybrane koszyki i siatki przedstawiono na RYS.1.

Opracowana technologia zawiera dobór metody wycinania implantów przed wytłoczeniem, tak aby struktura warstwy wierzchniej w obszarze cięcia nie uległa silnemu umocnieniu [3]. Zastosowano cięcie strumieniem wody z dodatkiem proszku ściernego. Umocnienie warstwy wierzchniej w strefie cięcia krawędzi implantów powoduje duże zmiany energii wewnętrznej materiału i tworzenia się różnicy potencjałów między różnymi strefami, co może spowodować w obecności płynów ustrojowych występowanie mikroprądów zarodkujących miejscowe stany zapalne.

Do wytłaczania koszyków i siatek stabilizujących panewki i trzpienie endoprotez zaprojektowano i wykonano komplet tłoczników składających się z kilkunastu sztuk do wszystkich typowych wymiarów implantów.

Opracowano także technologię i wykonano kilka kompletów specjalistycznych narzędzi i przyrządów mających zastosowanie przy wtórnej alloplastyce biodra z zastosowaniem allogennych przeszczepów kostnych i stabilizatorów. Należą do nich: wiertła do wiercenia otworów w kości pod gwintowanie, gwintowniki, uchwyty z tulejką prowadzącą wiertła wkrętaki do śrub z otworem na sześciokąt, przedłużacze ze sprężystym giętkim wałkiem do wiercenia otworów pod kątem, przedłużacze przegubowe do gwintowania otworów pod kątem, wkrętaki i klucze do blokowania wiertła i gwintowników, chwytaki do wkrętów kostnych oraz przyrządy głębokości wiercenia otworów w kości. Wymienione instrumentarium wykonano ze stali nierdzewnej 2H13 i 3H13 oraz stali austenitycznej 00H17N14M2. Narzędzia były hartowane w próżni elektrolitycznie i pasywowane. Wybrane narzędzia przedstawiono na RYS.2.

Dla wybranych stabilizatorów - koszyka mostkującego panewkę sztucznego stawu biodrowego wyznaczono charakterystykę biomechaniczną kość - implant przy obciążeniach modelowych, a uzyskane wyniki badań odniesiono do rzeczywistych warunków obciążeniowych w stawie biodrowym



RYS. 3. Koszyk mostkujący panewkę sztucznego stawu biodrowego.

FIG. 3. Bridging baskets of the artificial acetabulum.

the form of baskets and meshes were described in [1]. Relief from an excessive load of the graft, which occurs in those places, is the main function of the stabilizers.

Experimental

In order to complete the bone defects a prototype batch of:

- the bridging baskets in 12 type dimensions,
- strengthening baskets in 2 diameters,
- strengthening meshes shaping by bending and stamping was designed and made.

The bridging baskets used for stabilization of the cups were made of titanium sheet with the thickness of 2 mm. The other implants were made of titanium sheet with the thickness of 0.6 mm [2]. Titanium sheet was made in Japan by the KOBE STEEL, Ltd. according to the ISO 5832-2 and ASTM B265-99/1. Moreover, the sheet has a biological certificate.

The baskets and meshes are shown in FIGURE 1 and 2. Within the confines of the elaborated production technology a method of blanking was chosen in such a way that hardening of the top layer in the cutting area was minimal [3]. Finally, cutting by water jet with abrasive dust was applied.

Hardening of the top layer in the cutting area (an edge of the implant) causes high changes in internal energy of the material and creation of the high potential difference between individual zones. So in the presence of tissue fluid microcurrents can arise and the local inflammatory states can be initiated.

In order to shape baskets and meshes, which stabilize both acetabular cups and stems of the endoprostheses, a set of stamping dies (consisting of several pieces for all type dimensions of the implants) has been designed and made. Moreover, a production technology of some specialist tools applying during the second alloplasty of the hip joint with using allogenic bone grafts and stabilizers has been elaborated. These tools are as follows:

- drills using for making the holes in the bone before threading,
- screw-taps,
- holders with drill guide,
- screwdrivers with a hexagonal hole,
- extension rods with an elastic and flexible shaft for drilling the holes under some angle,
- articulated extension rods for tapping under some angle,
- screwdrivers and keys for interlocking of the drill and screw-taps,
- gripping device of the bone screws,
- gauge for measuring the depth of the drilled hole in the bone.

The mentioned instrumentarium was made of 2H13 and 3H13 stainless steel and 00H17N14M2 austenitic steel. The tools were exposed to hardening in a vacuum and then electrolytic polishing and passivation. For the chosen stabilizers - the bridging basket of the acetabular cup - a biomechanical characteristics of the "bone - implant system" under the model load was determined (FIG.3). Test results were compared with the real load conditions in the hip joint after alloplasty operation.

For this reason an experimental analysis of strains and displacements was carried out [4]. The following methods were applied:

- resistance extensometry (for the chosen sections of the basket),
- electronic spot interferometry (for the chosen sections of the basket),

po jego alloplastyce (RYS.3). W tym zakresie przeprowadzono analizę doświadczalną odkształceń i przemieszczeń metodami: tensometrii oporowej w wybranych przekrojach, elektronicznej interferometrii plamkowej i interferometrii holograficznej w rejonie dna koszyka [4].

Na podstawie przeprowadzonej analizy stwierdzono, iż wartości przemieszczeń i odkształceń koszyka mostkującego są na poziomie akceptowanym zarówno ze względu na współpracę z podłożem kostnym jak i na symulację mechaniczną otaczających tkanek.

Uwagi końcowe

Zastosowano nowe rozwiązania konstrukcyjne oraz przeprowadzono modernizację już istniejących zagranicznych stabilizatorów do przeszczepów allogenicznych przy wtórnej alloplastyce stawu biodrowego. Opracowano technologię ich wytwarzania wraz z wykonaniem serii prototypowych

z biogodnego tytanu technicznego. Dla wybranych stabilizatorów - koszyków mostkujących przeprowadzono badania charakterystyki biomechanicznej układu sztuczna kość - implant przy obciążeniach modelowych oraz odniesiono wyniki badań do rzeczywistych warunków obciążeniowych w stawie biodrowym. Opracowano technologię i wykonano komplety instrumentarium specjalistycznych, mających zastosowanie przy wtórnej alloplastyce biodra z zastosowaniem przeszczepów kostnych i opracowanych stabilizatorów.

Podziękowania

Praca finansowana przez MNiI grant nr 23/PBZ-KBN-082/T08/2002

Piśmiennictwo

[1] Gaździk T., Wójcik B., Niedźwiecki L., Dec J.: Wymiana aseptycznie obłożonych panewek cementowych stawu biodrowego. Chir. Narz. Ruchu i ortop. 1997. 62. 123-129.

[2] Wójcik B., Jasiński J., Stodolnik B., Jezierski L., Lubas M., Gaździk T.: System stabilizacji przeszczepu kostnego allogenicznego w protezoplastyce rekonstrukcyjnej i rewizyjnej panewek endoprotez stawu biodrowego. Inżynieria Biomateriałów nr 28, VI. 2003.

BADANIA CYTOTOKSYCZNOŚCI WŁÓKNISTYCH TWORZYW KOMPOZYTOWYCH

EWA ZACZYŃSKA*, ANNA CZARNY*, BOGUMIŁA ŻYWICKA***,
EWA STODOLAK**, MARTA BŁĄŻEWICZ**

*INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ,
POLSKA AKADEMIA NAUK,
WEIGLA 12, 53-114 WROCŁAW

**KATEDRA BIOMATERIAŁÓW

WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI AGH,
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW

***ZAKŁAD CHIRURGII EKSPERYMENTALNEJ I BADAŃ BIOMATERIAŁÓW AM
PONIATOWSKIEGO 2, 50-326 WROCŁAW

Streszczenie

Badaniu poddano serie próbek kompozytowych o podstawie polimerowej (terpolimer PTFE-PVDF-PP),

- holographic interferometry (in the bottom area of the basket).

According to the analysis it was stated that the displacement and strain values in the bridging basket are on the acceptable level respecting both collaboration with the bone base and mechanical simulation of the surrounding tissue.

Conclusions

Both the new constructional solutions and modernization of the present foreign stabilizers, which are applied for allogenic grafts during the second hip alloplasty, were made. Production technology of the implants was elaborated. Moreover, a prototype batch from biocompatible commercially pure titanium was made. For the chosen stabilizers - bridging baskets - biomechanical characteristics of the "artificial bone - implant" system working under the model load were tested. The test results were compared with the real load occurring in the hip joint. Both production technology and sets of specialist instrumentarium, which is used during the second hip alloplasty with the application of allogenic bone grafts and stabilizers, have been made.

Acknowledgements

The authors wish to acknowledge the State Committee for the financial support. Project No 23/PBZ-KBN-082/T08/2002.

References

[3] Jasiński J., Stodolnik B., Jezierski L., Torbus R.: warstwa wierzchnia tytanu technicznego przeznaczonego na implanty. Inżynieria Biomateriałów nr 37 r. VII. 2004.

[4] Będziński R., Filipiak J., Marciniak J., Szostek S., Ścigała P.: Analiza doświadczalna odkształceń i przemieszczeń kosza stabilizującego panewki endoprotez stawu biodrowego. Prace Instytutu Konstrukcji i Eksploatacji Maszyn. Politechnika Wrocławska 2004.

THE STUDY OF CYTOTOXICITY OF FIBROUS COMPOSITE MATERIALS

EWA ZACZYŃSKA*, ANNA CZARNY*, BOGUMIŁA ŻYWICKA***,
EWA STODOLAK**, MARTA BŁĄŻEWICZ**

*INSTITUTE OF IMMUNOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPY,
POLISH ACADEMY OF SCIENCES,
WEIGLA 12, PL-53-114 WROCŁAW, POLAND

**DEPARTMENT OF BIOMATERIALS,

FACULTY OF MATERIAL SCIENCE AND CERAMICS,
AGH-UST, AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW, POLAND

***INSTITUTE OF EXPERIMENTAL SURGERY AND BIOMATERIALS
RESEARCH, MEDICAL UNIVERSITY,
PONIATOWSKIEGO 2, PL-50-326 WROCŁAW, POLAND

Abstract

The series of polymer matrix composites (terpolymer PTFE-PVDF-PP) containing carbon fibers

zawierającej włókna węglowe. Próbkę kompozytowe różniły się sposobem rozprządzenia włókien w osnowie. Badano cytotoksyczność polimeru oraz utworzonych z niego materiałów kompozytowych, na ludzkiej linii komórek nabłonkopodobnych raka płuc (ATCC CCL 185) - A549. Analizowano zmiany ilościowe i morfologiczne komórek. W celu określenia ilości martwych komórek zastosowano metodę barwienia błękitem trypanu. Wykazano, że zarówno polimer jak i jego kompozyty z włóknem węglowym, nie wykazują toksycznego wpływu na komórki linii A549.

[Inżynieria Biomateriałów, 54-55,(2006),15-18]

Wstęp

Postęp w dziedzinie inżynierii biomateriałów, związany jest z poszukiwaniem materiałów, które posiadają właściwości pozwalające na leczenie i uzupełnianie chorych tkanek. W leczeniu tkanki kostnej duże nadzieje wiąże się z coraz szerszym wprowadzaniem do praktyki klinicznej, tworzyw kompozytowych. Stosowane powszechnie w dziedzinie osteosyntezy stopy metali, oprócz szeregu dogodności uwalniają do tkanek toksyczne produkty degradacji, natomiast materiały ceramiczne, oprócz udokumentowanej biogodności z tkanką kostną charakteryzują się zbyt wysokim modułem sprężystości i niską odpornością na kruche pękanie [1].

Jak wiadomo, optymalne warunki do regeneracji kości występują jedynie w przypadku tworzyw implantacyjnych, które zapewniają komórkom kostnym, zbliżony do fizjologicznego, transfer naprężeń. Sytuacja taka ma miejsce, jedynie w przypadku tworzyw o parametrach mechanicznych, zbliżonych do tkanki kostnej oraz charakteryzujących się anizotropią parametrów mechanicznych podobną do kości. Dlatego w ostatnich latach, coraz większą wagę poświęca się materiałom kompozytowym, które projektowane są w oparciu o mikrostrukturę tkanki kostnej [1-2]. Tkanka kostna jest kompozytem o wysokiej hierarchii struktury, zbudowanym z fazy organicznej i nieorganicznej. Kompozyty polimerowo-włókniste wydają się być aktualnie najlepszymi kandydatami, wśród tworzyw stosowanych do leczenia tkanki kostnej. Architektura zbrojąca kompozytu, utworzona z włókien (np. węglowych), pozwala na daleko idącą modyfikację parametrów mechanicznych oraz na uzyskanie biomimetycznej anizotropii parametrów mechanicznych. Łączenie ze sobą dwóch faz, takich jak polimer i włókna prowadzi do otrzymania tworzywa o odmiennych parametrach fizycznych i chemicznych, w porównaniu z wyjściowym polimerem. Od rozprządzenia włókien w osnowie polimerowej zależą nie tylko parametry mechaniczne tworzywa ale również właściwości powierzchniowe, takie jak energia powierzchniowa, chropowatość i inne. Wydaje się zatem konieczne aby przed rozpoczęciem prac związanych z opracowywaniem nowych tworzyw kompozytowych dla zastosowań medycznych, poddać badaniom wpływ jaki włókno wywiera na osnowę polimerową i określić czy kompozyty tworzone z osnową polimerową są materiałami nie toksycznymi dla żywych komórek [3-5].

Celem pracy była analiza cytotoksyczności polimeru, oraz utworzonych z niego kompozytów z włóknem węglowym.

Materiały i metody

Materiały

Próbki do badań przygotowano stosując terpolimer PP-PVDF-PTFE (Aldrich Chemical Co., USA o gęstości $d=1600$ oraz włókna węglowe TORAYCA (1400) W celu otrzyma-

have been examined. Composite samples had different spatial distributions of carbon fibres in their matrices. The cytotoxicity of polymer and its composites was examined with use of human line of epithelium-like cells of lung cancer (ATCC CCL 185) - A549. Quantitative and morphological changes of cells have been analyzed. The number of deceased cells was determined using the trypan blue dyeing method. It has been shown that neither polymer nor its composites have any toxic effects on cells of A549 line.

[Engineering of Biomaterials, 54-55,(2006),15-18]

Introduction

The progress in biomaterials engineering is mostly related to research on new materials, with properties allowing for curing and replenishment of diseased cells. In bone tissue treatment serious expectations are connected to broader application of composite materials to clinical practices. Metal alloys commonly used in the field of osteosynthesis, besides many advantages, have also drawbacks like the release of toxic degradation products. Ceramic materials present well documented biocompatibility with osseous tissue, however they have excessively high modulus of elasticity, and low resistance to brittle fracture [1].

It is known now that optimal conditions for bone regeneration occur only in the case of application of implant materials which can provide osseous cells with load transfer capability close to physiological values. Such situation may appear only when using implant materials with mechanical parameters similar to bone tissue and characterized by anisotropy of mechanical parameters similar to that existing in the bone. For these reasons in recent years much attention is given to composite materials designed on the basis of microstructural pattern of osseous tissue [1-3]. Bone tissue is a highly structured composite material made of both organic and inorganic phases. Among all materials used in osseous tissue treatment, fibrous polymer composites currently appear to be the best candidates. The reinforcing architecture of the composite made of fibers (e.g. carbon) allows for broad modifications of mechanical parameters as well as for achieving the biomimetic anisotropy of these parameters. Joining such two phases as polymer and fibers leads to formation of a new material with chemical and physical parameters different from those of initial polymer. The distribution of fibers in polymer matrix affects not only its mechanical parameters, but also the surface properties, such as surface energy, roughness, etc. It seems necessary to examine the effects of fibers on polymer matrix before commencing works on design of composite materials for medical applications. It is also important to define whether composites based on polymer matrix would not be toxic for living cells [4-6].

The aim of this work was the analysis of cytotoxicity of polymer and of composites made on its basis with carbon fibers.

Materials and methods

Materials

Samples for this study were made using the terpolymer PP-PVDF-PTFE (Aldrich Chemical Co., USA with density $d=1600$, and carbon fibres TORAYCA (1400). In order to prepare the samples from initial polymer, the solution was made consisting of 5 g PTFE/PVDF/PP and 50 ml of acetone (POCh SA, Gliwice, Poland, cat. no 102480111), which was poured on Petri dishes and left for evaporation. The same solution was used for preparation of two types of

nia próbek z wyjściowego polimeru sporządzono roztwór: stosując 5 g PTFE/PVDF/PP na 50 ml acetonu (POCH SA. Gliwice, Polska, cat. no 102480111), który następnie wylano na szalkę Petriego i pozostawiono do odparowania. Taki sam roztwór wykorzystano do wytworzenia dwóch rodzajów kompozytów o różnicowanym ułożeniu włókien. W przypadku kompozytu oznaczonego jako CP5, połączono tkaninę węglową z roztworem polimeru. Druga z próbek kompozytowych powstała przez połączenie roztworu polimeru z tym samym rodzajem włókien węglowych, jednakże poddanych uprzednio fragmentacji (CP4).

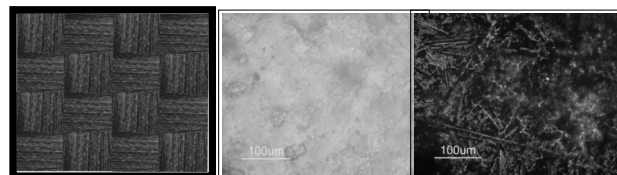
Metody

Próbki polimerowe oraz kompozyty poddano badaniom przy wykorzystaniu mikroskopu skaningowego, JSM - 5400, Jeol.

Badania cytotoxyczności wykonano w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej - PAN we Wrocławiu zgodnie z PN-EN ISO 10993-5 "Biologiczna (POCH SA. Gliwice, Polska, cat. no 102480111) ocena wyrobów medycznych - Część 5: "Badania cytotoxyczności: metody - in vitro". W tym celu wykorzystano linię komórkową A549 - linia komórek nabłonkopodobnych ludzkiego raka płuc (ATCC CCL 185). Hodowlę komórek prowadzono w płynie hodowlanym Dulbecco z dodatkiem 10% inaktywowanej (30min, 56°C) surowicy cielęcej oraz 100 j/ml penicyliny, 100 µg/ml streptomycyny i 2mM/ml L-glutaminy i inkubowano w temperaturze 37°C, w atmosferze 5% CO₂. Komórki przeszczepiano stosując roztwór 0,05% trypsyny z 0,02% EDTA w PBS, o pH 7,2. Badania przeprowadzono metodą bezpośredniego kontaktu biomateriałów z jednowarstwową hodowlą komórek A549 przez 24 oraz 72 godzinach. Na płytce 24-dółkowej firmy Costar zakładano hodowlę komórek A549 o gęstości 1x10⁶/ml i inkubowano 24 godzin w temperaturze 37°C, w atmosferze 5% CO₂. Po tym czasie usuwano supernatant, a jednowarstwową hodowlę komórek zalewano 1 ml płynem hodowlanym z dodatkiem 2% surowicy cielęcej. Na tak przygotowaną hodowlę komórek nałożono próbki badanych materiałów (w kształcie krążków o średnicy 9,6 mm) i inkubowano 24, oraz 72 godziny w temperaturze 37°C i atmosferze 5% CO₂. Każdy materiał oceniano w 3 powtórzeniach (po 3 na każdy czas).

Wyniki

Na RYS. 1. przedstawiono obrazy mikroskopowe powierzchni próbek. Próbką z czystego polimeru ma gładką powierzchnię, natomiast na powierzchniach materiałów kompozytowych wyraźnie widoczne są włókna węglowe, pokryte warstwą polimeru. Jednakże mikrostruktura każdej z próbek jest odmienna, w pierwszej (CP5) włókna tworzą regularny układ wiązek przenikających się pod kątem 90°, natomiast druga z nich (CP4) ma powierzchnię na której



RYS. 1. Mikrostruktura próbek poddanych badaniom cytotoxyczności K1-kompozyt tkanina węglowa/polimer, K2- kompozyt krótkie włókna węglowe/polimer, K0 folia polimerowa.

FIG. 1. Microstructure of composite samples: K1-carbon fabric/polymer, K2- short carbon fibrous/polymer, K0 - polymer foil.

composites with different spatial distribution of fibres. In the case of composite designated K-1, carbon fabric was combined with polymer solution. Second composite sample was made with short carbon fibres in polymer matrix (K-2)

Cell cultures: A549 cells (ATCC CCL185). The human adenocarcinoma lung cell line was maintained in Dulbecco's modified Eagle's medium essential medium (DMEM) supplemented with 10% C.S., antibiotics (100U/ml penicillin and 100 µg/ml streptomycin) and 2mM L-glutamine.

Methods

Polymer samples and composites were examined with use of scanning electron microscope Jeol JSM - 5400 (FIG.1). The morphologies of A549 cells after contact with biomaterials were observed in reversed phase-contrast microscope (FIG.2) and compared with A549 culture without materials tested.

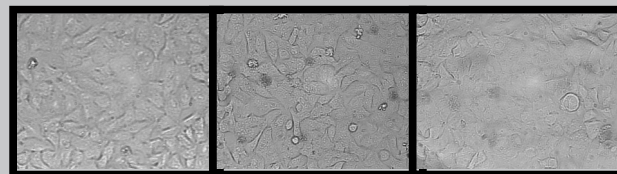
Cytotoxicity assay

Cytotoxicity of the samples was determined in the human cell line A549. For cytotoxicity test, the cells were seeded in the 24-well plate (Costar) 1 ml of 1x10⁶ cells/ml in the culture medium Dulbecco's with 2% calf serum, penicillin and streptomycin was deposited into each plate. Samples of the tested biomaterials were added to prepared cells, which were then incubated for 24h, 72h at 37°C in the atmosphere of 5% CO₂ in air. The degeneration of cells was assessed using inverted microscopy at 400x magnification.

Results

FIG. 1. shows photomicrographs of the surfaces of observed samples. The sample of pure polymer has smooth surface (K-0), whereas on the surfaces of composite materials carbon fibres coated with polymer layer can be clearly seen. The microstructure of each sample is different; in K-1 fibres form regular pattern of bundles crossing at 90°, while on K-2 surface randomly distributed fibres of varying length can be observed.

The results of changes in cell morphologies after contact with the examined samples, also the results of changes in number of cells, are collected in TABLE 1. TABLE 1A presents the results after 24 hours incubation of cells A549 with the examined materials, and Table 1B shows the results after 72 hours of cells contact with these biomaterials. Performed experiments and the evaluation of biomaterials cytotoxicity using the in vitro method show that none of these materials presents cytotoxic behavior. The number of deceased cells is very limited which, according to Standard PN-EN ISO 10993-5, indicates that these materials are suitable for further experiments with living bodies.



RYS. 2. Morfologia komórek na powierzchniach badanych materiałów: K1-kompozyt tkanina węglowa/polimer, K2- kompozyt krótkie włókna węglowe/polimer, K0 folia polimerowa.

FIG. 2. Morphology of cells contacted with biomaterial surface: K1-carbon fabric/polymer, K2- short carbon fibrous/polymer, K0 - polymer foil.

samples	Change of morphology	Number of dead cells [%]	Number of live cells [%]	Totalny number of cells	Toxic degree
a) Cytotoxicity assessment of biomaterials contact with cells A549 after 24 hour					
K0	no effect	1	99	$5,1 \times 10^6$	no effect
K1	no effect	0	100	$6,3 \times 10^6$	no effect
K2	no effect	0	100	$6,5 \times 10^6$	no effect
kontrola		0	100	$7,2 \times 10^6$	no effect
b) Cytotoxicity assessment of biomaterials contact with cells A549 after 72 hour					
K0	no effect	3	97	$5,4 \times 10^6$	no effect
K1	no effect	7	93	$4,9 \times 10^6$	no effect
K2	no effect	5	95	$5,8 \times 10^6$	no effect
kontrola		0	100	$7,5 \times 10^6$	no effect

widoczne są przypadkowo rozmieszczone włókna o zróżnicowanych długościach.

Wyniki zmian morfologii komórek po kontakcie z badanymi próbkami, a także wyniki zmian ilości komórek zebrano w TABELI 1. W TABELI 1A znajduje się zestawienie wyników po 24 godzinnej inkubacji komórek A549 z badanym materiałem, natomiast w tabeli nr 1B. po 72 godzinnym kontakcie komórek z tymi badanymi biomateriałami. Na podstawie przeprowadzonych badań, oceny cytotoxyczności biomateriałów metodą in vitro, wykazaliśmy, że każdy z tych materiałów nie wykazuje działania cytotoksycznego. Ilość martwych komórek jest bardzo mała, co wg normy PN-EN ISO 10993-5 wskazuje, że materiały te nadają się do dalszych badań kontaktu z żywymi organizmami. Morfologie komórek A549 po kontakcie z biomateriałami obserwowano w porównaniu do hodowli A549 (bez badanych materiałów) w odwróconym, kontrastowo-fazowym mikroskopie (RYS. 2).

Wnioski

Wszystkie próbki, zarówno polimer jak i utworzone z niego kompozyty z włóknem węglowym nie wykazują działania cytotoksycznego. Komórki linii A549 mają prawidłową morfologię (tzn. wrzecionowaty, wydłużony kształt oraz jednorodną cytoplazmę), przylegają do podłoża w postaci równomiernej warstwy.

TAB. 1. Zmiany morfologii komórek A549 na powierzchni materiałów kompozytowych (K1 i K2) oraz foli polimerowej (K0), po 24 godzinach (a) i po 72 godzinach (b).

TAB. 1. Performance of fibrous composite materials for humane cells A549.

Conclusions

None of the materials examined, neither polymer nor its composites with carbon fibers, show cytotoxic behavior. Cells of A549 line have correct morphology (extended fusiform and homogenous cyto-plasma), and they adhere to substrate surface as a uniform and even layer.

Piśmiennictwo

- [1] Gasser, B; About composite materials and their use in bone surgery Injury Volume: 31, Supplement 4, December, 2000, pp. D48-D53
- [2] S. Błażewicz, J. Chłopek, M. Błażewicz, E. Pamuła Biomateriały węglowe i kompozytowe, Biocybernetyka i Inżynieria Biomedyczna t. IV, Biomateriały, wyd. Exit W-wa 2003
- [3] M. Błażewicz; Węgiel jako biomateriał, Prace Komisji Nauk Ceramicznych PAN, 63, 2001
- [4] Szosland L., Pielka S., Paluch D., Staniszevska-Kuś J., Zywicka B., Solski L., Czarny A., Zaczynska E.: Biological properties of dibutylchitin and regenerated chitin. Agro Food Industry Hi-Tech., 2003, 14, 13-15.

References

- [5] Czarny A., Zaczynska E., Karpenko E., Vildalova R., Kołwzan B. Effect of Pseudomonas aeruginosa biosurfactants - alginate and rhamnolipids on human pulmonary cell line. Chemistry for Agriculture - vol. 5 pp 402-409. New Agrochemicals and Their Safe Use For Health and Environment. Edited by H. Górecki, Z. Dobrzański, P. Kafarski. 2004. Czech -Pol Trade, Prague, Brussels
- [6] Bet, M.R.; Goissis, G.; Vargas, S.; Selistre-de-Araujo, H.S. Cell adhesion and cytotoxicity studies over polyanionic collagen surfaces with variable negative charge and wettability Biomaterials Volume: 24, Issue: 1, January, 2003, pp. 131-137

WPŁYW PARAMETRÓW POWIERZCHNI KOMPOZY- TOWYCH MATERIAŁÓW WŁÓKNISTYCH NA ODPOWIEDŹ KOMÓRKOWĄ

E. STODOLAK*, B. CZAJKOWSKA**, T. MIKOŁAJCZYK***,
M. BŁĄŻEWICZ*, D. WOŁOWSKA-CZAPNIK***

*KATEDRA BIOMATERIAŁÓW,
WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI AGH KRAKÓW
**KATEDRA IMMUNOLOGII, COLLEGIUM MEDICUM
UNIwersytet Jagielloński, KRAKÓW
***KATEDRA WŁÓKIEN SZTUCZNYCH,
WYDZIAŁ INŻYNIERII I MARKETINGU TEKSTYLIÓW PŁ, ŁÓDŹ

Streszczenie

Przedmiotem badań są próbki różniące się parametrami mikrostrukturalnymi; (chropowatość, wielkość i kształt porów) oraz energią powierzchniową. Próbki wytworzono z polimeru, do którego wprowadzono włókna węglowe lub włókna alginianowe. Różnice odpowiedzi komórkowej na powierzchnie polimeru modyfikowanego faza włóknistą dotyczą zarówno przeżywalności komórek (fibroblasty, osteoblasty) jak poziomu wydzielanego przez nie kolagenu. W oparciu o wyniki przedstawione w pracy można stwierdzić że zastosowanie włókien do modyfikacji polimeru stanowić może przydatną metodę modyfikowania powierzchni wykorzystywaną w konstrukcji materiałów stosowanych dla sterowanej regeneracji tkanek.
[Inżynieria Biomateriałów, 54-55,(2006),19-23]

Wstęp

Polimerowe materiały implantacyjne są od wielu lat powszechnie stosowane w medycynie. Polimery określone jako biostabilne, stosowane są zarówno jako protezy naczyń nici chirurgiczne, elementy różnego rodzaju endoprotez, jako implanty stosowane w laryngologii stomatologii, kardiochirurgii lub neurologii. Ostatnio w coraz szerszym zakresie do praktyki klinicznej wprowadzane są kompozyty wytwarzane z polimerów łączonych z takimi materiałami jak bioaktywna ceramika, włókna ceramiczne lub węglowe. Kompozyty polimerowo-włókniste są tworzywem stanowiącym w inżynierii biomateriałów alternatywę dla implantów metalicznych. Obecność włókien w osnowie polimerowej pozwala na modyfikację parametrów mechanicznych polimeru, zarówno w obszarze wytrzymałości, modułu sprężystości jak i pozwala na otrzymanie implantów o biomimetycznej anizotropii właściwości mechanicznych. Rozprowadzenie fazy modyfikującej, w matrycy polimerowej wpływa zarówno na wytrzymałość kompozytu ale również na energię powierzchniową i mikrostrukturę materiału.

Szczególnym typem złożonego materiału kompozytowego są implanty wykorzystywane w technice GTR. Sterowana regeneracja tkanki kostnej (GBR) jest skuteczną techniką leczenia ubytków kości zwłaszcza ubytków kości żuchwy. Zasada metody polega na stworzeniu optymalnych warunków regeneracji tkanki kostnej i stosowana może być również wszędzie tam gdzie niezbędna jest szybka odbudowa tkanki kostnej. Membrany GTR muszą charakteryzować otwartą porowatością, pozwalającą na migrację

THE EFFECTS OF SURFACE PARAMETERS OF FIBROUS COMPOSITE MATERIALS ON CELLULAR RESPONSE

E. STODOLAK*, B. CZAJKOWSKA**, T. MIKOŁAJCZYK***,
M. BŁĄŻEWICZ*, D. WOŁOWSKA-CZAPNIK***

*DEPARTMENT OF BIOMATERIALS,
FACULTY MATERIALS ENG. AND CERAMICS, AGH-UST, CRACOW
**DEPARTMENT OF IMMUNOLOGY, COLLEGIUM MEDICUM,
JAGIELLONIAN UNIVERSITY, KRAKÓW
***INSTITUTE OF MAN MADE FIBERS, FACULTY OF TEXTILE
ENGINEERING AND MARKETING, TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ

Abstract

The aim of this study was to examine the samples with different surface topography and surface energy. Experimental materials were made of polymer, to which carbon or alginate fibres were introduced. Differences in cellular response to polymer surfaces modified with fibrous phase concern both viability (fibroblasts and osteoblasts) and the level of their collagen production. Based on obtained results it may be concluded that application of fibres for polymer modification may become a useful method of conferring functionality to the surface, suitable for construction of materials applicable in controlled tissue regeneration.

[Engineering of Biomaterials, 54-55,(2006),19-23]

Introduction

Polymer implant materials have been widely applied in medicine within the past several years. Polymers defined as biostable find use as vascular implants, surgical threads and elements of various types of endoprostheses. They are also useful as laryngological, dental, cardiosurgical and neurological implants. Recently, composites made of polymers combined with such materials as bioactive ceramics, ceramic or carbon fibres, are being increasingly used in clinical practises. Fibrous polymer implants become an alternative to metal implants in biomaterials engineering.

The presence of fibres in polymer matrix allows for modification of mechanical parameters of polymer (strength, modulus of elasticity), as well as it enables the formation of implants with biomimetic anisotropy of mechanical properties. The distribution of modifying phase within polymer matrix affects both composite strength and its surface energy, and also the microstructure of the material.

Implants applied in GTR technique are particular types of composite materials. Controlled regeneration of bone tissue (GBR) is an effective technique of healing bone deficits, in particular deficits in submaxilla bone. The principle of the method is based on creation of optimal conditions for regeneration of bone tissue and may be also applied everywhere, where the fast restoration of bone tissue is required. The GTR membranes must be characterised by open porosity allowing for migration of components necessary for appropriate cell functioning, and the presence (in surface layer) of the phase which supports restoration of bone tissue.

Composites made of biostable polymer matrix modified with carbon fibres were the object of this study. The experiments were also carried out on polymer membranes made

...19...

składników niezbędnych dla prawidłowego funkcjonowania komórek oraz obecnością w warstwach powierzchniowych fazy, która wspomagać będzie odbudowę tkanki kostnej.

Przedmiotem badań były kompozyty z osnową biostabilnego polimeru, do której wprowadzano fazę modyfikującą w formie włókien węglowych. Obok kompozytów badania dotyczyły membran polimerowych do wytworzenia których użyto kompozytów polimer/rozpuszczalne włókno alginianowe.

Celem pracy była analiza odpowiedzi komórkowej na funkcjonalizowaną przy pomocy włókien resorbowlanych (rozpuszczalnych) i biostabilnych matrycę polimerową. Materiały w formie membran i kompozytów polimerowo - włóknistych, różniące się mikrostrukturą i energią powierzchniową kontaktowano z dwoma typami komórek w warunkach in vitro.

Materiały i metody

Materiały

Do wytworzenia próbek wykorzystano terpolimer PTFE/PVDV/PP (Aldrich Chemical Co., USA nr katalogowy 45 458-3) o gęstości $d=1.6$ Rozpuszczalnikiem był aceton (POCh SA Gliwice nr katalogowy 102480111). Włókna węglowe AGH (otrzymane z prekursora PAN, karbonizowane w 1400°C) poddawano fragmentacji do postaci pojedynczych włókien o długości $1,2\pm 0,25$ mm. Włókna alginianowe wykonano w Katedrze Włókien Sztucznych, Politechniki Łódzkiej. Roztwór przędzalniczy wykonano z alginianu sodu (Biopolimer, AS Protanal LF 20/60 o przewodzie bloków kwasu guluronowego ok. 65%)

W celu otrzymania próbek polimerowych sporządzono roztwór terpolimeru: stosując 5 g PTFE/PVDF/PP na 50 ml acetonu. Naważkę włókien węglowych rozprowadzono w roztworze terpolimeru przy użyciu płuczki ultradźwiękowej i wylano na szalkę Petriego. Następnie podano swobodnemu odparowaniu przez 24 godziny. W ten sposób otrzymano lity kompozyt; włókno węglowe krótkie/polimer (oznaczony jako CP1). Membrany wykonano w analogiczny sposób dodając do polimeru włókna alginowe (oznaczenie CP2). Sam roztwór polimeru bez faz modyfikujących posłużył do wykonania próbek w postaci folii polimerowych (oznaczenie CP0). Materiały kompozytowe zawierające rozpuszczalny biopolimer w postaci włókien., poddano inkubacji w wodnym roztworze soli fizjologicznej. W wyniku inkubacji otrzymano porowate membrany, w których pory powstały w wyniku rozpuszczenia obecnego w materiale alginianu sodu. Membranę scharakteryzowano z punktu jej przepuszczalności, wyniki przedstawiono na RYS.5. Przepuszczalność badano w doświadczeniu w którym membranę umieszczano na granicy roztworu 0,1M NaCl i wody destylowanej. Mierzono wzrost przewodnictwa wody następujący w wyniku dyfuzji jonów Na^{+} i Cl^{-} poprzez badaną membranę.

Metody

Mikrostrukturę powierzchni materiałów kompozytowych obserwowano w skaningowym mikroskopie elektronowym JSM - 5400, Joel przy powiększeniu 20 i 50 razy. Na RYS.3 przedstawiono obrazy powierzchni czystej próbki polimerowej oraz kompozytu włókno węglowe / polimer. Na RYS.4 zebrano mikrofotografie powierzchni kompozytów z alginian /polimer oraz utworzonych (przez wypłukiwanie) z nich membran.

Charakterystykę stanu powierzchni badanych materiałów dokonano metodą dynamiczną pomiaru kąta zwilżenia, używając aparatu DSA 10 Kruss (Niemcy). Swobodną energię powierzchniową wyznaczono metodą Owens-Wend-

of polymer and soluble alginate fibres. The aim of the work was the analysis of cellular response to polymer matrix, functionalized with use of resorbable (soluble) and biostable fibres. Materials in form of membranes and fibre/polymer composites of different microstructures and surface energies, were put in contact with two types of cells under in vitro conditions.

Materials and methods

Terpolymer PTFE/PVDV/PP (Aldrich Chemical Co., USA) with density $d=1.6\text{g/cm}^3$ was used for sample manufacturing. Acetone (POCh SA Gliwice) was used as solvent. Carbon fibres were obtained from PAN precursor (Mavilon Hangary), carbonized at 1400°C . Alginate fibres were prepared by Man Made Fibres Institute, Lodz Technical University, Poland. Spinning solution was prepared from sodium alginate (Biopolymer, AS Protanal LF 20/60, with dominating blocs of guluron acid, $\sim 65\%$). The terpolymer solution: 5 g PTFE/PVDF/PP per 50 ml of acetone, was poured onto a Petri platter and was let to free evaporation during 24 hours. This way the samples of polymer foils were obtained (CP0). The weighed portion of defragmented carbon fibres was introduced to terpolymer solution using ultrasonic bath, and after the solvent evaporation the short carbon fibre/polymer composite (CP1) was obtained. Membranes were fabricated in two stages: firstly the short alginate fibre/polymer composite was prepared, and then this composite was subjected to incubation in distilled water, which caused pore formation due to dissolution of sodium alginate present in the material (CP2). The permeability of the membrane was characterised by placing it between the 0,1M NaCl solution and the distilled water. The conductivity increase was measured based on diffusion of Na^{+} i Cl^{-} ions through the membrane (FIG.5).

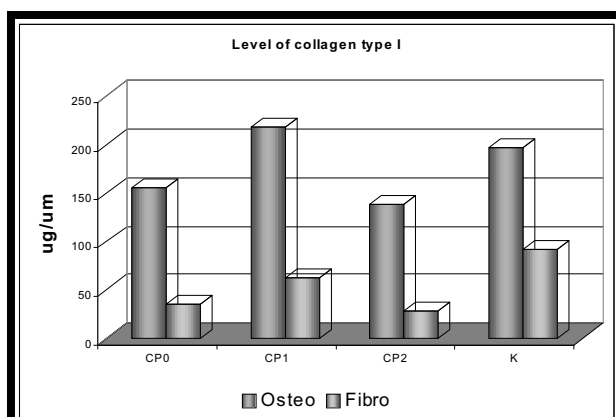
The surface morphology of composite materials was observed using scanning electron microscope Jeol, JSM-5400. FIG.3 show surface images of polymer sample (foil)(CP0), and carbon fibre/polymer composite (CP1). FIG.4 present the photomicrographs of membrane surfaces. The free surface energy was determined using Owens-Wendt method (DSA 10 Kruss). The vapour of measuring liquids consisted of double distilled water UHQ and the di-iodomethane (Aldrich Chemical Co., USA).

Biological examinations were performed on disc-shaped samples of diameter of 21 mm, sterilised on both sides using the UV radiation during 30 min. Human line of hFOB 1.19 osteoblasts and HS-5 fibroblasts were applied in the study. Cell cultures were developed in 12-well culture plates, where the samples were placed in well bottoms and cell suspension in culture liquid was added. Cultures were grown in the incubator with 5% CO_2 / 95% air atmosphere at the temperature of 37°C , during 7 days. Cell viability was determined by modified method, using the metabolism of MTT dye in mitochondria (activity of mitochondrial dehydrogenase). Type 1 collagen concentration for both cell lines (osteoblasts and fibroblasts) was determined using the ELISA test.

Results and discussion

SEM

The results of microscopic observations indicate differences in topography of the surfaces of all examined samples. The surface of solid polymer sample is smooth, while introduction of short carbon fibres to polymer matrix significantly modifies its surface. The composite sample shows exposed fibres, forming irregular arrays of randomly oriented



RYS. 1. Poziom kolagenu typu I produkowanego przez komórki tkanki łącznej: osteoblasty i fibroblasty na powierzchniach badanych materiałów.

FIG. 1. Level of collage type I produced by MG 63 on the surfach of materiale: CP0-polymer foli, CP1-short carbon fibre/polymer composite, CP2-membranes with short carbon fibre/polymer/alginate.

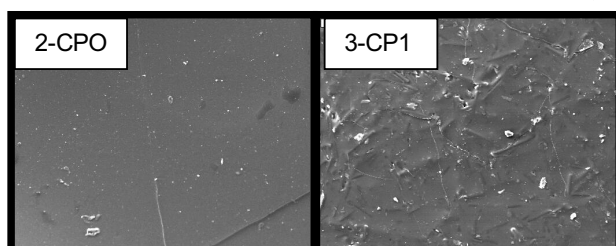
ta. Parą cieczy pomiarowych była woda podwójnie destylowana UHQ i dijdometan (Aldrich Chemical Co., USA, cat. no. 15-84-29).

Badania biologiczne wykonano na próbkach w kształcie krążków o średnicy 21 mm średnicy wyjałowionych obustronnie za pomocą promieniowania UV przez 30 minut. Do badań użyto ludzką linie osteoblastów hFOB 1.19 i ludzką linie fibroblastów HS-5. Hodowle komórkowe poprowadzono w 12 - dołkowych płytkach hodowlanych, w których na dnie umieszczano badane próbki i dodawano zawiesinę komórek w medium hodowlanym. Hodowle przeprowadzano w inkubatorze w atmosferze, 5% CO₂ / 95% powietrze w temperaturze 37°C (fibroblasty) lub 34°C (osteoblasty) przez 7 dni. Żywotność komórek oznaczono zmodyfikowaną metodą wykorzystującą metabolizm barwnika MTT w mitochondrach (aktywność dehydrogenazy mitochondrialnej)-RYS.2. Oznaczenie stężenia kolagenu typu I dla obu typów linii komórkowych: osteoblastycznej i fibroblastycznej oznaczono przy pomocy testu ELISA.

Wyniki i dyskusja

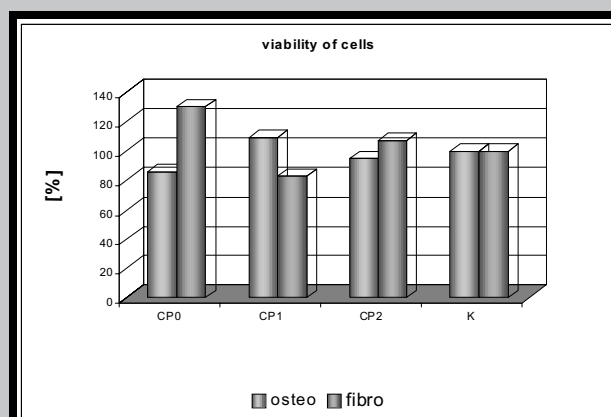
SEM

Wyniki badań mikroskopowych wskazują na różnice w topografii powierzchni wszystkich badanych próbek. Powierzchnia litej próbki polimerowej jest gładka natomiast wprowadzenie do polimeru krótkich włókien w znacznym



RYS. 3. Obraz SEM powierzchni próbek czystego polimeru (CP0) i kompozytu polimerowo-węglowego CP1.

FIG. 3. Surface microphotographs of terpolymer (2-CP0) and of the composite polymer with carbon fibers (3-CP1).



RYS. 2. Przeżywalność komórek tkanki łącznej: osteoblastów i fibroblastów na badanych materiałach.

FIG. 2. Cells viabilityLevel of collage type I produced by MG 63on the surfach of materiale: CP0-polymer foli, CP1-short carbon fibre/polymer composite, CP2-membranes with short carbon fibre/polymer/alginate.

fibres coated with polymer layer. Polymer membranes produced by washing out of alginate fibres have surfaces showing pores of irregular as well as spheroidal shape.

Surface energy

The results indicate that introduction of carbon fibres to polymer affects not only the surface topography, but also the value of surface energy. Higher surface energy value observed in the case of composite samples (carbon fibre/polymer) as compared to the angle for polymer matrix alone, may be related to changes of chemical composition of polymer introduced to the matrix by carbon fibre surface. On the other hand, the introduction of alginate fibres to polymer matrix as the pore-generating agent does not affect significantly the value of polymer's surface energy (TABLE 1).

The 'in vitro' examination

The biological studies indicate that cell viability (both fibroblasts and osteoblasts), in contact with examined materials is high, and sometime it exceeds the detection level. However, both viability and the level of collagen secretion (type I), is different for different samples. The osteoblasts survivability in contact with composite surface is high (around 130%), whereas the viability of fibroblasts is much lower as compared to pure polymer. Viability of osteoblasts in contacts with the membrane is close to survivability in contact with the surface of pure polymer, while fibroblasts viability is remarkably lower.

As it can be noted from FIG. 1, the modification of poly-

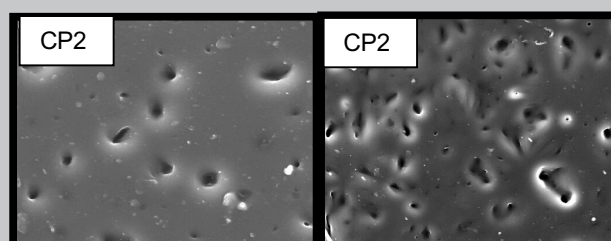


FIG. 4. Obraz SEM powierzchni próbek kompozytu membranowego CP2.

FIG. 4. Surface microphotographs of terpolymer based samples without alginate (membrane).

stopniu modyfikuje powierzchnię. Na powierzchni próbek kompozytowych widoczne są wyeksponowane włókna, które tworzą nieregularny układ przypadkowo zorientowanych włókien pokrytych warstwą polimeru. Membrany polimerowe powstałe w wyniku wypłukania włókien alginowych mają powierzchnię na których widoczne są pory zarówno o kształtach nieregularnych jak i kulistych.

Energia powierzchniowa

Wyniki wskazują, że wprowadzenie do polimeru włókien węglowych wpływa nie tylko na topografię powierzchni ale również modyfikuje stan chemiczny powierzchni. Wyższa wartość energii powierzchniowej, obserwowana w przypadku próbki kompozytowej (polimer/włókno węglowe) w porównaniu z wartością kąta dla osnowy polimerowej związana jest najprawdopodobniej ze zmianami w chemicznej budowie polimeru jakie wprowadza do osnowy powierzchnia włókna węglowego. Pomiedzy osnową polimerową a powierzchnią włókien węglowych zachodzi reakcja, w której angażowane są zarówno grupy funkcyjne z powierzchni włókien jak i grupy funkcyjne polimeru. Natomiast wprowadzenie do osnowy polimerowej włókien alginianowych jako środka porotwórczego nie wpływa w istotny sposób na wartość energii powierzchniowej polimeru (TABELA 1).

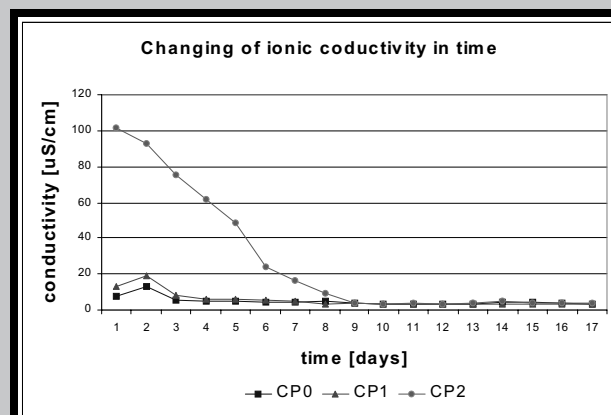
Badania in vitro

Badania biologiczne wskazują, że przeżywalność komórek zarówno fibro jak i osteo w kontakcie z materiałami badanymi jest wysoka a niekiedy przewyższa poziom kontroli. Jednakże, zarówno przeżywalność komórek jak i poziom wydzielanego przez nie kolagenu (typ I) jest różna dla poszczególnych próbek. Przeżywalność osteoblastów w kontakcie z kompozytem jest wysoka (ok. 130%), zaś przeżywalność fibroblastów jest dużo niższa w porównaniu z czystym polimerem. Przeżywalność osteoblastów w kontakcie z membraną jest zbliżona do przeżywalności w kontakcie z powierzchnią czystego polimeru. Natomiast przeżywalność fibroblastów jest wyraźnie niższa. Co podobnie jak w przypadku próbki kompozytowej zdaje się przemawiać za tym, że chropowatość powierzchni wpływa negatywnie na przeżywalność fibroblastów natomiast poprawia stopień przeżywalności osteoblastów.

Jak widać z RYS.2 modyfikacja polimeru wpływa na poziom kolagenu wydzielanego przez komórki kontaktowane z badanymi materiałami. Poziom kolagenu typu I, wydzielanego przez komórki (fibroblasty, osteoblasty) w kontakcie z badanymi próbkami jest najwyższy dla komórek kontaktowanych z kompozytem włókno węglowe/polimer w porównaniu z pozostałymi próbkami, natomiast najniższy dla komórek kontaktowanych z membraną.

Podsumowanie

Kompozytowe tworzywa, to przede wszystkim materiały otrzymywane w celu poprawy właściwości wytrzymałościowych. Zastosowanie w medycynie kompozytów polimer/włókno prowadzi do otrzymania implantów o z góry zaprojektowanych parametrach mechanicznych. Wyniki przedstawione w artykule wskazują na nowe możliwości w zakresie funkcjonalizowania materiałów dla celów medycznych, jakie stwarzają kompozyty włókniste. Wprowadzenie włókien do matrycy polimerowej prowadzi do zmian parametrów powierzchni materiału, istotnych z punktu widzenia reakcji komórek na sztuczne tworzywo. Zastosowanie włókien do konstrukcji implantów z osnową polimerową modyfikuje topografię powierzchni oraz wpływa na wielkość energii powierzchniowej a tym samym decyduje o odpowiedzi komórek na tworzywa kompozytowe.



RYŚ. 5. Zestawienie zmian przewodnictwa jonowego dla próbek kompozytowych inkubowanych 37°C/ 14 dni / H₂O.

FIG. 5. Curves of ionic conductivity for incubated samples (37°C degree / 14 days).

Próbka Sample's name	Kąt zwilżania Contact angle	Energia powierzchniowa Surface energy
Polymer CP0	99,7±2,5	20,31±1,62
Polymer-carbon fibers CP1	87,2±2,5	24,00±0,67
Polymer- alginate fibers (membrane) CP2	93,8±2,42	20,28±0,61

TABELA 1. Wyniki pomiarów kąta zwilżania.

TABLE 1. Results of the contacts angle measurements for the samples before and after modification.

mer affects the level of collagen released due to contact of cells with the examined materials. The collagen type I level, released by cells (osteoblasts and fibroblasts) in contact with the examined samples, is the highest for cells having contact with carbon fibre/polymer composite, as compared to other samples, whereas it is the lowest for cells having contact with the membrane material only.

Summary

Composite materials are being manufactured predominantly in order to improve their mechanical properties. The application of fibre/polymer composites in medicine opens the possibility of producing implants with designed mechanical parameters. Results of this study point out new possibilities which can be acquired by medicinal application materials in terms of functionality, presented by the abilities of fibre composites. Introduction of fibres to polymer matrix leads to variation of surface parameters of the material, which are important from the point of view of cell reaction to polymers. The surfaces, the topographies of which have been modified by carbon fibre, beneficially affect the viability of osteoblasts being in contact with them, while this phenomenon can not be observed on porous surfaces. In the case of fibroblasts, each type of modification leading to increase in surface roughness, causes the decrease of their survivability. The application of fibres for design and manufacturing of implants based on polymer matrix modifies the surface topography and affects the value of surface energy, thus determines the response of cells to composite materials.

Piśmiennictwo

- [1] M. Kikuchi, Y. Koyama, T. Yamada, Y. Imamura, T. Okada, N. Shirahama, Development of guided bone regeneration membrane composed of β -tricalcium phosphate and poly (L-lactide-co-glycolide-co- ϵ -caprolactone) composites, *Biomaterials* Volume: 25, Issue: 28, December, 2004, pp. 5979
- [2] K. Fujihara, M. Kotaki, S. Ramakrishna, Guided bone regeneration membrane made of polycaprolactone/calcium carbonate composite nano-fibers *Biomaterials* Volume: 26, Issue: 19, July, 2005, pp. 4139-4147
- [3] Zhang, Kai; Wu, Xiao Yu., Temperature and pH-responsive polymeric composite membranes for controlled delivery of proteins and peptides *Biomaterials* Volume: 25, Issue: 22, October, 2004, pp. 5281-5291
- [4] S. Gogolewski, L. Pineda, Michael Büsing, Bone regeneration in segmental defects with resorbable polymeric membranes: IV. Does the polymer chemical composition affect the healing process? *Biomaterials* Volume: 21, Issue: 24, December 15, 2000, pp. 2513-2520
- Aspects of Artificial Joint Implantation in Lower Limb, *Journal of Theoretical And Applied Mechanics*, 3, 37, 1997, 455-479.

References

- [5] Ye, Sang Ho; Watanabe, Junji; Takai, Madoka; Iwasaki, Yasuhiko; Ishihara, Kazuhiko, Design of functional hollow fiber membranes modified with phospholipid polymers for application in total hemopurification system, *Biomaterials* Volume: 26, Issue: 24, August, 2005, pp. 5032-5041.
- [6] Krasteva, Natalia; Seifert, Barbara; Albrecht, Wolfgang; Weigel, Thomas; Schossig, Michael; et. al., Influence of polymer membrane porosity on C3A hepatoblastoma cell adhesive interaction and function, *Biomaterials* Volume: 25, Issue: 13, June, 2004, pp. 2467-2476.
- [7] T. Mikołajczyk, J. Domagała, Water-soluble alginate fibers for medical applications, *Fibers and textiles in Eastern Europe*, June-September, 2001, pp. 20-23.
- [8] M.R. Bet, G. Goissis, S.Vargas, H.S.Selistre-de-Araujo, Cell adhesion and cytotoxicity studies over polyanionic collagen surfaces with variable negative charge and wettability *Biomaterials* Volume: 24, Issue: 1, January, 2003, pp. 131-137.
- [9] F. Rupp, L. Scheideler, D. Rehbein, D. Axmann, J. Geis-Gerstorfer, Roughness induced dynamic changes of wettability of acid etched titanium implant modifications *Biomaterials* Volume: 25, Issue: 7-8, March - April, 2004, pp. 1429-1438.

KONSTRUKCJA WKŁADKI PROTEZY STOPY Z MATERIAŁÓW KOMPOZYTOWYCH

JAN CHŁOPEK*, ARTUR PRZAŁA*, ARTUR BOGUCKI**

*AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA, WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI, KATEDRA BIOMATERIAŁÓW, AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW

**POLSKIE TOWARZYSTWO ORTOTYKI I PROTETYKI NARZĄDU RUCHU, PREZES PTO I PR.

Streszczenie

Celem pracy było wykonanie wkładek protezy stopy z materiałów kompozytowych o kontrolowanych właściwościach na podstawie wyników badań właściwości mechanicznych próbek kompozytowych. Użyto kompozytów o osnowie z żywicy epoksydowej modyfikowanych tkaniną węglową oraz hybrydową węglowo - aramidową.

Badania wykazały, że kompozyty zawierające tkaninę hybrydową charakteryzują się lepszymi właściwościami mechanicznymi w porównaniu do kompozytów z włóknami węglowymi, które są kruche i wcześniej ulegają zniszczeniu. Protezy wykonane z kompozytów modyfikowanych tkaniną hybrydową węglowo - aramidową powinny bezpiecznie spełniać swoje funkcje biomechaniczne, nie narażając pacjenta na ryzyko ich uszkodzenia podczas codziennej aktywności.

Słowa kluczowe: proteza stopy, kompozyty, włókna węglowe, tkanina hybrydowa
[*Inżynieria Biomateriałów*, 54-55,(2006),23-26]

Wprowadzenie

Amputacja jest poważnym zabiegiem chirurgicznym, który w wielu wypadkach przynosi ulgę w bólu, cierpieniu i chorobie, a często ratuje życie. Głównym powodem amputacji kończyny dolnej są choroby naczyń obwodowych oraz cukrzyca.

CONSTRUCTION OF FOOT PROSTHESIS INSERT MADE OF COMPOSITE MATERIALS

JAN CHŁOPEK*, ARTUR PRZAŁA*, ARTUR BOGUCKI**

*AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS, DEPARTMENT OF BIOMATERIALS

**POLISH SOCIETY FOR PROSTHETICS AND ORTHOTICS, PRESIDENT OF NATIONAL COMMITTEE

Abstract

The aim of this work was to prepare prosthetic inserts made of composite materials with controlled properties, based on results of examination of mechanical properties of composite samples. Composites with epoxy resin matrix modified with carbon fabric, as well as hybrid carbon-aramid fabric, have been used in this study.

The experiments proved that composites containing hybrid fabric have better mechanical properties than composites containing only carbon fibres, which are brittle and subjected to premature damage. Prostheses made of composites modified with hybrid carbon-aramid fabric should safely fulfil their mechanical functions, without exposing patients to risk of damage during every day's activity.

Keywords: foot prosthesis, composites, carbon fibres, hybrid fabric
[*Engineering of Biomaterials*, 54-55,(2006),23-26]

Introductions

Amputation is a serious surgical procedure, which in many cases relieves the pain, suffering and ailment, and very often saves the life. Major reasons for lower limb amputations are diseases of peripheral vessels and the diabetes.

For most people, particularly the young ones, the loss of limb is a tremendous drama, affecting strongly their psyche. For this reason, it is important to prepare the appropriate

Dla większości ludzi, zwłaszcza młodych, utrata kończyny jest ogromnym dramatem, wpływającym na ich psychikę. Dlatego bardzo ważne jest wytworzenie protezy, która dzięki swojej funkcjonalności, a także estetyce umożliwi szybsze dostosowanie się do nowych warunków oraz łatwiejszą akceptację protezy. Współczesna protetyka dzięki zastosowaniu nowych materiałów i rozwojowi technik wytwarzania elementów, oferuje protezy doskonale imitujące zdrową kończynę.

W konstrukcjach stopy protezowej wykorzystuje się element ruchomego stawu skokowego lub imitację ruchomej stopy dzięki miękkiej stopie typu SACH (solid ankle cushion heel). Jest to najczęściej stosowany typ stopy, który charakteryzuje się prostotą, małym ciężarem, trwałością i niską ceną. Miękka stopa protezowa zapewnia pewien komfort chodzenia, guma dobrze absorbuje siły uderzenia, oszczędzając tym samym kikut, biodro, kręgosłup. Stopy z ruchomym elementem kostki i stopy SACH, szczególnie w niskich amputacjach posiadają pewną wadę: zapadają się, nie sprężynują, nie oddają energii. Dlatego też nowoczesne materiały takie jak kompozyty węglowe lub hybrydowe, kiedyś stworzone dla przemysłu lotniczego i kosmicznego, coraz częściej znajdują zastosowanie w protetyce dzięki swoim właściwościom mechanicznym. W odróżnieniu od tradycyjnych materiałów kompozyty te mają wysoką wytrzymałość właściwą i wysoki moduł sprężystości. Opracowana przez Van Philips'a konstrukcja stopy oparta na sprężynie wykonanej z kompozytu wzmocnianego włóknami węglowymi została powszechnie uznana za najlepsze rozwiązanie z punktu widzenia biomechaniki, ponieważ podczas chodzenia stopa sprężynuje magazynując i oddając energię, przez co poruszanie się na protezie jest znacznie mniej męczące. Jest to szczególnie korzystne dla ludzi aktywnych, uprawiających fizyczną rekreację lub sport.

Wykonana wkładka protezy stopy pełni funkcje mechaniczne (sprężystość, wytrzymałość itp.), natomiast za estetykę odpowiedzialny jest specjalnie wykonany polimerowy profil, przypominający wyglądem stopę ludzką. Profil ten jest w środku pusty, a przestrzeń wewnątrz jest dokładnie wyprofilowana do zamontowania wkładki (RYS. 1).

Profil ten jest zbędny, jeśli mówimy o protezowaniu sportowców, gdzie najważniejszą kwestią jest odpowiednia wytrzymałość i sprężystość, natomiast względy estetyczne są

ate prosthesis, which due to its functionality and aesthetics, would enable faster adaptation to new conditions and easier acceptance of prosthesis. Today's prosthetics, due to application of new materials and development of new manufacturing technologies, offers prostheses perfectly imitating healthy limb.

Constructions of foot prosthesis apply the element of mobile ankle joint or imitation of mobile foot based on soft foot type SACH (solid ankle cushion heel). This is the most common type of artificial foot, which is characterized by simplicity, low weight, durability and low price. Soft prosthesis foot assures full comfort of walking, the rubber absorbs well the impact force, thus saving stump, hip and spine. Feet with mobile ankle element and feet SACH have specific drawbacks in cases of low amputations: they collapse, they do not spring-back, and do not render back the energy.

Therefore modern materials, such as carbon and hybrid composites, time ago developed for avionics and aerospace industries, now more often find use in prosthetics due to their excellent mechanical properties. As opposed to traditional materials, these composites have high specific strength and high modulus of elasticity. Foot construction designed by Van Philips is based on spring made of carbon fibre reinforced composite, and has been commonly recognized as the best solution from biomechanical point of view, since during walking the foot springs back, storing and releasing energy, which makes moving with use of this prosthesis much less tiring. This is particularly advantageous for active people, who practice physical recreation and/or sports.

Foot prosthesis insert fulfils mechanical functions (elasticity, strength, etc.), whereas a specially prepared polymer profile is responsible for aesthetics; it looks very similar to human foot. This profile is empty inside, and the inside space is precisely profiled for mounting the insert (FIG. 1).

This profile is of no importance as far as athlete's prostheses are concerned, where appropriate strength and elasticity are the key issues, and aesthetic considerations are rather negligible (FIG. 2).

The aim of the present work was the preparation of foot



RYS. 1. Przykłady wkładek i protez stóp.
FIG. 1. Examples of inserts and foot prostheses.



RYS. 2. Protezy stóp stosowane u sportowców.
FIG. 2. Foot prostheses used by athletes.

porównywane (RYS. 2).

Celem niniejszej pracy było wykonanie wkładki protezy stopy z materiałów kompozytowych o kontrolowanych właściwościach.

Materiały i metody

Do otrzymania próbek do badań, a następnie wkładki protezy stopy użyto żywicy epoksydowej LH 160, utwardzacza H 147 (Havel-Composites) oraz:

1. tkanin węglowych o gramaturach - 93g/m² i 160 g/m²
2. tkaniny hybrydowej (węglowo - aramidowej) o gramaturze 165 g/m² (Angeloni).

Opracowane wkładki przedstawiono na RYS.3.

W celu otrzymania kompozytu wykorzystano metodę laminowania ręcznego (metodę kontaktową). Próbki doświadczalne o określonej wielkości i kształcie, przesycały żywicą i układano w formie pokrytej separatorem, a następnie umieszczano w prasie połączonej z układem grzewczym. Proces utwardzania kompozytu następował w trzech etapach temperaturowych (50°C/1h; 60°C/1h; 70°C/5h). Do wykonania doświadczalnych próbek do badań wykorzystano podgrzewaną prasę znajdującą się w laboratorium Wydziału Inżynierii Materiałowej i Ceramiki Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie. Do wykonania ostatecznej wkładki protezy posłużyła forma wykonana ze stali.

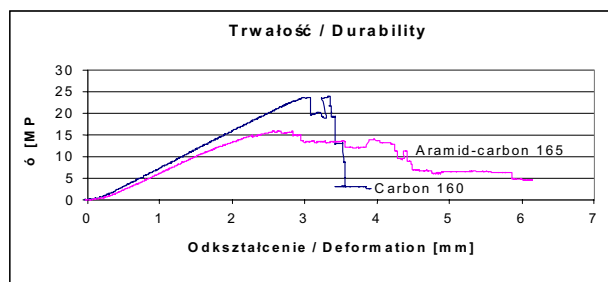
Wykonano wkładki różniące się długością tzw. profile krótkie i długie. Próbki kompozytowe oraz profile spełniające funkcję wkładki w protezie stopy poddano badaniom wytrzymałości na zginanie oraz badaniom zmęczeniowym obejmującym 2x10⁵ cykli przy stałym odkształceniu równym 4 mm.

Wyniki i dyskusja

Na RYS. 4 przedstawiono zależność wytrzymałości na zginanie od odkształcenia dla próbek wykonanych z kompozytów węglowych oraz węglowo-aramidowych. Jak wynika z rysunku, zależność ta dla próbki wykonanej z kompozytu żywica epoksydowa- tkanina węglowa (węgiel 160) ma charakterystyczny przebieg jak dla materiałów kruchych. Odmienne przebiegi, zbliżone do pseudoplastycznego, obserwuje się dla kompozytu wzmocnianego tkaniną hybrydową (aramid - węgiel 165). Różnice te wynikają z większej odkształcalności włókien typu Kevlar zawartych w tkaninie hybrydowej.

Proteza wykonana z tego materiału nawet po wystąpieniu pęknięcia będzie więc w stanie przenosić obciążenia, co zabezpiecza pacjenta przed jej nagłym uszkodzeniem lub zniszczeniem.

Kolejne wykresy (RYS. 5 i RYS. 6) przedstawiają zależności naprężenia od odkształcenia oznaczone w próbie trójpunktowego zginania dla opracowanych wkładek protezo-



RYS. 4. Zależność naprężenia od odkształcenia dla badanych próbek

FIG. 4. Stress-strain relationship for examined samples

prosthesis insert from composite materials with controlled gradient properties.

25

Materials and methods

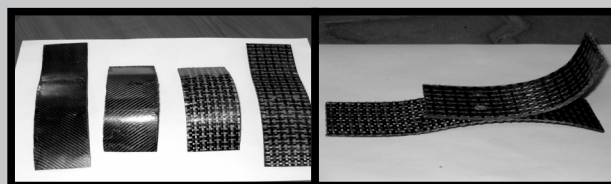
The epoxy resin LH 160 and the hardener H 147 (Havel-Composites) were used for fabrication of experimental samples, together with:

1. carbon fabric of specific weights: 93g/m² and 160 g/m²
2. hybrid fabric (carbon-aramid) of specific weight 165 g/m² (Angeloni).

Designed inserts are shown in FIG. 3.

The hand lamination method (otherwise - contact method) was applied for preparation of the composite. Experimental samples of specific size and shape were saturated with resin and they were laid inside the mould covered with a separator. In the next step, they were placed inside the press connected to heating system. The process of composite hardening took place in three temperature stages (50°C/1h; 60°C/1h; 70°C/5h). Experimental samples for testing were made at the laboratory of Faculty of Materials Science and Ceramics, AGH-UST. The final prosthesis inserts were made using steel mould.

This way inserts of different length were prepared, i.e. short and long profiles. Composite samples and profiles fulfilling foot prosthesis insert function were subjected to bending strength tests and fatigue tests, covering 2x10⁵ cycles at constant strain equal to 4 mm.



RYS. 3. Wkładki badane w pracy.

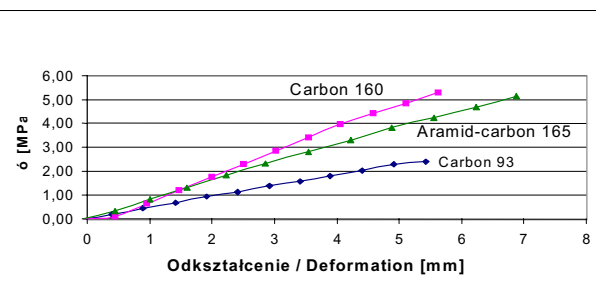
FIG. 3. Inserts examined in this study.

Results and discussion

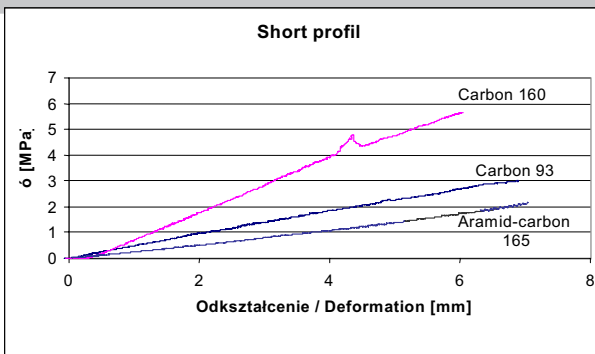
FIG. 4. shows "bending stress-strain" relationship for samples made of carbon and carbon-aramid hybrid composites. As it can be seen from this figure, the examined relationship for sample made of epoxy resin-carbon fabric (carbon 160) composite, has the shape characteristic of brittle materials. Different shape, similar to pseudo-plastic behaviour, can be observed in the case of composite reinforced with hybrid fabric (aramid-carbon 165). These differences result from higher deformability of Kevlar type fibres included in hybrid fabric.

Prosthesis made of this material, even after crack occurrence, will be able to transfer the loads, thus will protect the patient from its sudden damage or destruction. Next figures (FIG. 5 and FIG. 6) show the stress-strain relationship determined during the 3-point bending tests of prosthesis inserts designed.

In the case of prosthetic inserts containing aramid fibres the strain over 10% higher than in the case of pure carbon fibre composites can be observed. Additionally, from comparison of Figs. 5 and 6, it may be observed how the bending strength depends on profile shape. Shorter profile, at assumed strain of 7mm can bear much larger stresses than the longer profile. The fatigue tests performed on short and long profiles did not show any change of stress-strain characteristic within the examined cycles. This is confirmed by



RYS. 5. Zależność naprężenia od odkształcenia dla protez - krótszych profili.
FIG. 5. Stress-strain relationship for short-profile prostheses.



RYS. 7. Zależność siła - odkształcenie dla wkładek wyjściowych.
FIG. 7. Stress-strain relationship for initial inserts.

wych.

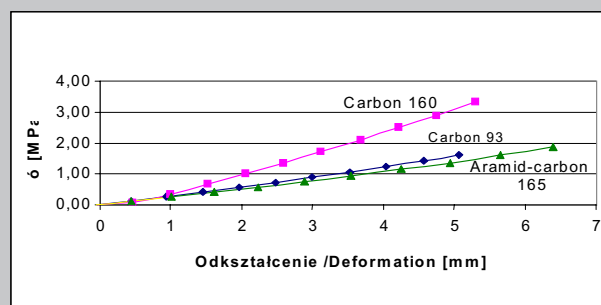
W przypadku wkładek protezowych zawierających włókna aramidowe obserwuje się kilkanaście procent wyższe odkształcenie niż w przypadku czystych kompozytów węglowych. Dodatkowo z porównania rysunków 5 i 6 można zaobserwować jak wytrzymałość na zginanie zależy od kształtu profili. Profil krótszy, przy założonym odkształceniu równym 7 mm jest w stanie przenosić o wiele większe obciążenie niż dłuższy profil. Badania zmęczeniowe przeprowadzone na krótkich i długich profilach w zakresie badanych cykli nie wykazały zmian charakterystyki naprężenie - odkształcenie. Potwierdzają to wyniki przedstawione na RYS. 7 i 8.

Wnioski

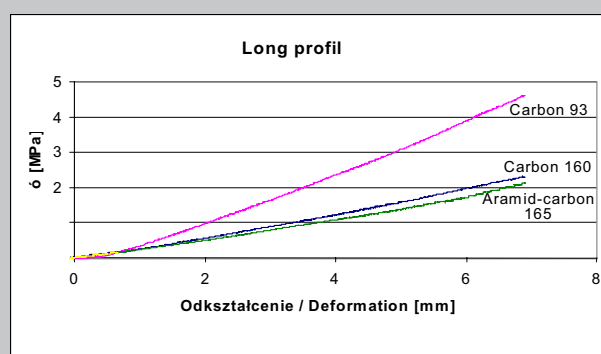
Kompozyty zawierające włókna węglowe są kruche i ulegają zniszczeniu wcześniej niż kompozyty z tkaniną hybrydową. Oba typy próbek wykazują stabilne właściwości mechaniczne w zakresie badanych cykli obciążeń. Ze względu na sposób pęknięcia i wyższe wartości odkształceń wydaje się, że wkładki zawierające tkaniny hybrydowe węglowo - aramidowe są korzystniejsze w konstrukcjach protezy stopy. Protezy wykonane z tego materiału powinny bezpiecznie spełniać swoje funkcje biomechaniczne, nie narażając pacjenta na ryzyko ich uszkodzenia podczas codziennej aktywności.

Podziękowanie

Praca finansowana z działalności statutowej AGH, nr umowy 11.11.160.116



RYS. 6. Zależność naprężenia od odkształcenia dla protez - dłuższych profili.
FIG. 6. Stress-strain relationship for long-profile prostheses.



RYS. 8. Zależność siła - odkształcenie dla wkładek po 2x105 cyklach.
FIG. 8. Stress-strain relationship for inserts after 2x105 cycles.

the results shown in FIGs. 7 and 8.

Conclusions

Composites containing carbon fibres are brittle and subjected to damage earlier than composites with hybrid fabric. Both types of samples show stable mechanical properties within the range of examined loading cycles. Seen the mode of fracture and higher strain values it appears that inserts containing hybrid carbon-aramid fabric are more suitable for foot prosthesis construction. Prostheses made of that material should safely fulfil their biomechanical functions, without exposing patient to risk of their damage during daily activities.

Acknowledgement

This work was financed from statutory activity of AGH-UST, contract No. 11.11.160.116.

Piśmiennictwo

References

- [1] "Biomechanika i Inżynieria Rehabilitacyjna", pod redakcją Romualda Będzińskiego, EXIT, Warszawa, 2004.
- [2] Lechosław B. Dworak: "N iektóre metody badawcze biomechaniki i ich zastosowanie w sporcie, medycynie i ergonomii".
- [3] Krzysztof Konsztowicz "Kompozyty wzmacniane włóknami. Podstawy Technologii", Wyd.AGH, Kraków, 1986.
- [4] Józef Ślęziona: "Podstawy technologii kompozytów", Wyd. Pol.Śląskiej, Gliwice, 1998.
- [5] Gruin Irma: "Materiały polimerowe", PWN, Warszawa, 2003.
- [6] Artur Bogucki: "Współczesne zasady protezowania kończyny dolnej", Konf. Mechanika w medycynie, Rzeszów 2002.
- [7] www.ossur.com

PERSPEKTYWY ZASTOSOWAŃ HYDROŻELI POLIMEROWYCH I ELASTOMERÓW TERMOPLA- STYCZNYCH JAKO MATERIAŁÓW CHRZĘSTNOPODOBNYCH

PAULINA ZDEBIAK, MIROŚLAWA EL FRAY

POLITECHNIKA SZCZECIŃSKA, INSTYTUT POLIMERÓW,
LABORATORIUM BIOMATERIAŁÓW I POLIMERÓW FUNKCJONALNYCH,
UL. PUŁASKIEGO 10, 70-322 SZCZECIN

Streszczenie

Ważnym problemem związanym z uszkodzeniami chrząstki stawowej jest jej rekonstrukcja. W pracy dokonano analizy problemów związanych z chrząstką stawową, jej budową, właściwościami oraz metodami rekonstrukcji. W pracy zostaną omówione materiały wykorzystywane w inżynierii tkankowej jako rusztowania dla regeneracji tkanki chrzęstnej. Jak dotąd jednak, idealne rusztowanie dla chrząstki nie zostało jeszcze zidentyfikowane. Dokonano przeglądu polimerowych materiałów hydrożelowych i elastomerowych rozwijanych i proponowanych jako materiały na sztuczną chrząstkę.

Słowa kluczowe: hydrożele, kopolimery multiblokowe, chrząstka

[Engineering of Biomaterials, 54-55,(2006),27-35]

Wprowadzenie

Degeneracja lub uszkodzenia stawów stanowią poważny problem medyczny. Szacuje się, że ok. 40 milionów Amerykanów cierpi z powodu chorób zwyrodnieniowych stawów lub urazów wypadkowych [1]. Obecnie jednym z najczęstszych sposobów terapii przy dolegliwościach odłamywania się chrząstek jest zastępowanie całych stawów. Inne metody leczenia ogniskowego uszkodzenia chrząstki obejmują zarówno usuwanie martwych tkanek, jak i transplantację osteochondralnych allograftów albo chondrocytów [1]. Alternatywnym podejściem, które potencjalnie może zredukować zachorowanie i czas wyzdrowienia jest artroskopowe zastępowanie uszkodzonej chrząstki syntetycznymi biomateriałami, które stymulują naturalne zachowanie tkanki [2]. Do najczęściej stosowanych biomateriałów należą hydrożele polimerowe, które należą do najszybciej rozwijających się materiałów polimerowych. Podobną dynamikę obserwuje się w odniesieniu do elastomerów termoplastycznych, a cechą łączącą te obydwie grupy materiałów jest ogromna różnorodność postaci i form oraz możliwość zmian właściwości fizykochemicznych w szerokich granicach (polimery te mogą być projektowane "na miarę").

Pojawienie się hydrożeli datowane jest na rok 1960, kiedy Wichterle i Lim [3] po raz pierwszy zaproponowali użycie sieci hydrofilowych z poli(2-hydroksyetylometakrylanu) (PHEMA) do otrzymania soczewek kontaktowych. Od tego czasu wzrosło zainteresowanie hydrożelami i ich wykorzystanie w zastosowaniach biomedycznych i farmaceutycznych stale rośnie [4].

Naturalne i syntetyczne hydrożele zatrzymują wodę w trójwymiarowej sieci łańcuchów polimerowych [2]. Ostatnie zainteresowania opracowaniem nowych syntetycznych hydrożeli i kompozytów hydrożelowych można przypisać ich

THE PERSPECTIVES OF POLYMERIC HYDROGELS AND THERMOPLASTIC ELASTOMERS AS CARTILAGE- LIKE MATERIALS

PAULINA ZDEBIAK, MIROŚLAWA EL FRAY

POLITECHNIKA SZCZECIŃSKA, INSTYTUT POLIMERÓW,
LABORATORIUM BIOMATERIAŁÓW I POLIMERÓW FUNKCJONALNYCH,
UL. PUŁASKIEGO 10, 70-322 SZCZECIN

Abstract

The most important problems to injured articular cartilage is the tissue reconstruction. Detailed analysis of problem associated with articular cartilage, its structure, properties and methods of reconstruction were reviewed in this work. Specifically, different materials used in tissue engineering as scaffolds for cartilage regeneration were discussed. The ideal scaffold for cartilage has not yet been identified. Polymeric hydrogels and elastomer materials are particularly interesting materials for artificial cartilage and these were also reviewed.

Key words: hydrogels, multiblock copolymers, cartilage

[Engineering of Biomaterials, 54-55,(2006),27-35]

Introduction

Articular degeneracy or injury is an important medical problem. It is estimated, that 40 millions of Americans suffer for articular degenerative diseases or injuries [1]. The replacement of the whole joints is one of the most frequent therapeutic methods within the cartilage repair. Another treatment method of the local damage of cartilage includes also transplantation of osteochondral allografts or chondrocytes [1]. Alternative approach which can potentially reduce the illness and recovery time is an arthroscopic replacement of damaged cartilage by synthetic biomaterials which stimulate the natural behaviour of tissue [2].

The most frequently used biomaterials are polymeric hydrogels. They belong to the most quickly developing polymeric materials. Similar dynamics is observed with respect to thermoplastic elastomers. Great variety of possible shapes and forms as well as physical-chemical properties in a wide composition range is characteristic feature for both groups of materials (they can be "tailor-made").

Development of hydrogels is dated for 1960, when Wichterle and Lim [3] proposed for the first time the use of hydrophilic net of poly(2-hydroxyethyl-methacrylate) (PHEMA) for contact lenses. From that time, significant interest on hydrogels and their utilization in biomedical and pharmaceutical applications has been observed [4].

Natural and synthetic hydrogels entrap water in a three-dimensional polymer net [2]. The latest studies of new synthetic hydrogels and hydrogel composites have originated from the great interest on unique combination of properties such as permeability, biocompatibility, hydrophilicity and small friction coefficient [5]. In comparison to other synthetic biomaterials, hydrogels have relatively high water content, softness and plasticity, possess physical properties similar to living tissue. The low interfacial tension inflicts that they show the minimum tendency to adsorption of proteins from

...27...

unikalnej kombinacji takich właściwości jak przenikalność, biokompatybilność, hydrofilowość, oraz mały współczynnik tarcia [5]. W porównaniu do innych syntetycznych biomateriałów, hydrożele dzięki relatywnie wysokiej zawartości wody, miękkości i plastyczności, posiadają zbliżone do żywej tkanki właściwości fizyczne. Niskie napięcie międzyfazowe sprawia, iż wykazują one minimalną tendencję do adsorpcji protein z płynów fizjologicznych [6].

Biomateriały hydrożelowe znalazły szerokie biomedyczne zastosowanie np. do transportu leków, jako soczewki kontaktowe, implanty rogówkowe i składniki skóry, ścięgna, więzadła, chrząstki i kości [6].

Krytyczną barierą ograniczającą ich użycie do zastosowań gdzie przenoszone są obciążenia, takich jak zastępowanie zniszczonych tkanek chondrotycznych, jest brak wystarczających właściwości mechanicznych powierzchni stawów (mała wytrzymałość) w narzuconych warunkach obciążeń [2,5,7]. Naturalne łączenia stawów są poddawane ścisłaniu i siłom ścinającym kilkakrotnie większym od wagi ciała przy milionach cykli odkształceń w trakcie ich "życia".

Właściwości hydrożeli są określane przez rodzaj monomerów w kompozycji, gęstość usieciowania i warunki polimerizacji [8]. Próbuąc udoskonalić właściwości hydrożeli nadających się do zastosowań biomedycznych jako materiały przenoszące obciążenia, wprowadzono materiały kompozytowe, stosując jako dodatki gumę czy szkło, użyto związki sieciujące takie jak aldehyd glutarowy oraz procedurę zamrażanie - topnienie w celu zainicjowania częściowej krystalizacji [9].

Natomiast wciąż wzrastające zainteresowanie, począwszy od lat 60-tych, elastomerami termoplastycznymi (TPE) związane jest z tym, że charakteryzują się one dobrymi właściwościami mechanicznymi oraz możliwością wielokrotnego, łatwego i ekonomicznego przetworstwa [8]. Elastomery termoplastyczne stosunkowo niedawno wyodrębniły się jako nowa grupa polimerów konstrukcyjnych, a ocena ich właściwości jest przedmiotem intensywnych badań wielu zespołów naukowych na świecie [8].

Elastomery termoplastyczne posiadają właściwości gumy [8,9], ale materiały te mogą być przetwarzane tradycyjną techniką, jaką stosuje się do tworzyw termoplastycznych. Ich przetworstwo można prowadzić metodą prasowania lub wytłaczania w temperaturach wyższych od temperatury zeszklenia lub temperatury topnienia krystalicznych domen segmentów sztywnych, co stwarza możliwość wielokrotnego przetworstwa elastomerów termoplastycznych [8]. Przez dobór odpowiedniego rodzaju surowców i ich stosunków ilościowych, można otrzymać wyroby o różnej twardości i elastyczności, bez potrzeby stosowania dodatku plastyfikatorów [9].

Wiele wyrobów produkowanych dotychczas z gumy można z powodzeniem wytwarzać z TPE ze względu na proste przetworstwo i recykling odpadów bez zmian właściwości materiału [8,9]. Rozwój m.in. sprzętu medycznego spowodował, że TPE o specyficznych właściwościach są materiałami coraz bardziej poszukiwanymi przez konstruktorów jak i odbiorców (pacjentów) [8]. Jest to grupa polimerów, która znalazła szereg zastosowań praktycznych, z medycznymi włącznie np.: polimery do rekonstrukcji tkanek miękkich czy systemy kontrolowanego uwalniania leków [9].

Budowa i właściwości chrząstki.

Powierzchnie stawowe są to idealnie gładkie zakończenia kości pokryte chrząstką stawową, będącą rodzajem amortyzatora w stawie [10]. Chrząstka stawowa jest zwartą tkanką łączną, równocześnie sztywną i elastyczną, która

physiological liquids [6].

Hydrogel biomaterials found wide biomedical applications as drug carriers, contact lenses, corneal implants and components of skin, tendon, ligament, cartilage and bone [6]. The critical barrier which restricted their application as materials for load transfer in tissue replacement is the lack of sufficient mechanical properties of joint surfaces (small stiffness) during physiological loading [2,5,7]. The natural joints are subjected to loads several times larger from the body weight at million cycles of deformations in their "life".

Hydrogel properties are determined by monomers composition, the cross-linking density and polymerization conditions [8]. Trying to improve hydrogel properties resulting as useful materials for load transfer, such additives as glutaraldehyde are added as cross-linking agents and procedure of freezing/thawing process for initiating the partial crystallization is used [9].

Increasing from the 60-ies, an interest on thermoplastic elastomers (TPE) is arising from their good mechanical properties and possibility of multiple, easy and economic processing [8]. Thermoplastic elastomers are categorized as new group of engineering polymers, and evaluation of their properties is an object of intensive investigations of many groups worldwide [8].

Thermoplastic elastomers possess properties of rubber-like materials (rubber-like elasticity) [8,9], but they can be processed by traditional processing techniques as thermoplastics. Their processing can be carried out in temperatures higher than glass temperature or melting-point, which creates the possibility of multiple processing of thermoplastic elastomers [8]. By selection of suitable monomers and their concentration, various products of different hardness and elasticity, without the need of usage of addition plasticizers can be prepared [9].

Many goods produced traditionally from rubber can be successfully produced from TPE with regard to simple processing and recycling of wastes without change in the material properties [8,9]. Development of medical equipment resulted in great demand for TPEs of specific properties coming out from designers and customers (patients) [9]. It is the group of polymers which already has found many practical applications in medicine including e.g.: polymers for soft tissues reconstruction or drug delivery systems [9].

Structure and propriety of cartilage

The articular surfaces are ideally smooth bone finishing coated with articular cartilage, being a kind of damper in joint [10]. Articular cartilage is compact connective tissue, simultaneously stiff and elastic, without nerves [10,11]. It is feed by diffusion of nutritious substances from the blood-vessels of perichondrium surrounding the cartilage. It shows the small intensity of metabolism.

Articular cartilage behaviour is determined by physical properties of tissue [10]. Physico-chemically, articular cartilage behaves as stiff biological hydrogel [12]. The behavior of articular cartilage is determined by physical properties of the tissue. Cartilage is a biphasic material consisting of a solid phase (about 15% - 32%) and a fluid phase (about 68% - 85%). The solid phase is mainly composed of collagen and proteoglycans. Collagen fibrils are responsible for the tensile and shear stiffness of cartilage. Proteoglycans are responsible for biomechanical properties of cartilage in compression. The fluid phase is mainly composed of water. Exudation of the fluid and the movements of the water through cartilage are dominant mechanisms controlling the compressibility of the tissue. The general properties of cartilage were shown in TABLE 1.

Cecha Property	Wartość Value
Grubość Thickness	0,5 – 7,1 mm
Uwodnienie kompozytu Water content	do 80%
Wytrzymałość na ściskanie Compression strength	0,1 – 2,0 MPa
Współczynnik Poissona Poisson coefficient	0,2
Przepuszczalność Permeability	$5,0 \times 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$
Wytrzymałość na rozciąganie Tensile strength	14 – 25 MPa
Wytrzymałość na sztywność poprzeczną Transverse Stiffness	6 – 130 MPa

TABELA 1. Właściwości chrząstki.
TABLE 1. Properties of cartilage.

nie posiada naczyń i zakończeń nerwowych [10,11]. Odżywiana jest drogą dyfuzji substancji odżywczych z naczyń krwionośnych ochrzęstnej otaczającej chrząstkę. Wykazuje małą intensywność przemiany materii.

Zachowanie się chrząstki stawowej determinowane jest przez fizyczne właściwości tkanki [10]. Fizykochemicznie, chrząstka stawowa zachowuje się jak sztywny biologiczny hydrożel [12]. Matryca chrząstki jest zbudowana z włókien kolagenowych (50 - 60% ciężaru w stanie suchym tkanki), proteoglikanów (30 - 50% ciężaru w stanie suchym tkanki) oraz białka kolagenowego i glikoproteidów [10]. Chrząstka jest dwufazowym materiałem składającym się z fazy stałej (około 15 - 32%) i fazy płynnej (około 68 - 85%). Faza stała jest przeważnie kompozytem kolagenu i proteoglikanów. Włókna kolagenowe są odpowiedzialne za rozciąganie i ścinanie sztywnej chrząstki. Proteoglikany są odpowiedzialne za właściwości biomechaniczne chrząstki przy ściskaniu. Faza płynna stanowi przede wszystkim wodę i dominują tu mechanizmy kontrolne ściśliwości tkanki [10]. Ogólne właściwości chrząstki zestawiono w TABELI 1.

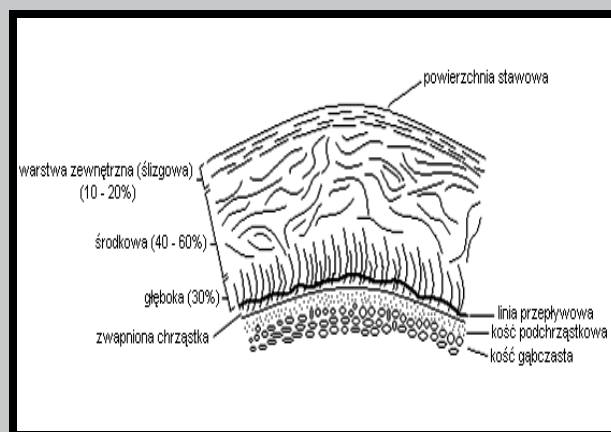
Kiedy chrząstka jest ściskana, woda jest z niej wyciskana, grubość chrząstki zmniejsza się i płyn przecieka na zewnątrz matrycy. Woda wyciskana jest tak długo, aż zostanie osiągnięta równowaga naprężenia. Kiedy obciążenie usuwa się, woda jest wciągana z powrotem do chrząstki.

Z innego punktu widzenia chrząstka stawowa jest strukturalnie niejednorodną i wielowarstwową tkanką z włóknami wzmacniającymi strukturę kompozytu. Ten kompozyt zbudowany jest z trzech warstw: powierzchniowej, środkowej i głębokiej. W każdej z trzech warstw włókna kolagenowe mają inną orientację [10], co przedstawia RYS. 1.

Przyczyny i sposoby rekonstrukcji chrząstki

Gdy możliwości przenoszenia obciążeń przez chrząstkę zostają przekroczone dochodzi do jej uszkodzenia i zwyrodnienia [10]. Wady stawowe chrząstki są głównym problemem w chirurgii ortopedycznej, ponieważ uszkodzona chrząstka ma ograniczoną zdolność do samoregeneracji z powodu nieobecności unaczynienia i zakończeń nerwowych w tkance [13,14]. Konsekwencje tych uszkodzeń mają ogromne znaczenie społeczne i ekonomiczne [15].

Operacyjna interwencja zależy od objawów u pacjenta, wieku, poziomu aktywności, wielkości uszkodzenia i obejmuje ona od klasycznego artroskopowego usunięcia martwych komórek z uszkodzonej tkanki do najbardziej pożądanego biologicznego podejścia procedury autologicznej transplantacji komórki [15].



RYS. 1. Budowa wewnętrzna chrząstki stawowej.
FIG. 1. Internal structure of articular cartilage.

When cartilage is compressed, the water moves aside, cartilage thickness decreases, and fluid leaks out of the matrix. Water is moving until stress equilibrium is obtained. When loading is removed, water is drawn back into the cartilage.

From another point of view, articular cartilage is structurally inhomogeneous and a multilayered tissue with a fiber-reinforced composite structure. This composite is composed of three structural zones: superficial, middle and deep. In each of these zones the collagen fibrils are oriented differently (FIG. 1).

Cartilage reconstruction

When the possibility of the load transfer by cartilage becomes crossed over, the severe injury and degeneracy can occur [10]. Defected articular cartilage is a main problem in orthopaedic surgery because injured cartilage has limited ability to self-aggregation because of absence of vascularization and peripheral nerves in the tissue [13,14]. Consequences of these damages are huge in term of social and economic impact [15].

Surgical intervention depends from patient symptoms, the age, the activity level, the size of damage and comprise classical arthroscopic removal of dead cells from damaged tissue as well as the most desirable biological approach of procedure utilizing the autologous transplantation of cells [15].

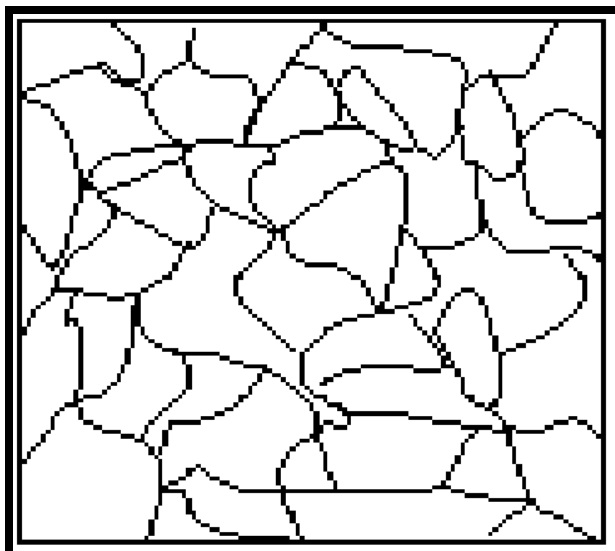
Traditional therapies to repair damaged cartilage include alloplastic and allogenic implants and more recently autologous chondrocyte transplantation. The former therapies are limited by donor tissue availability and donor site morbidity, while the latter therapy requires surgical removal of healthy cartilage and is limited by the size of the defect. As an alternative to these current therapies, efforts in tissue engineering of cartilage have led to the development of biocompatible, biodegradable scaffolds onto which cells are seeded.

Polymer materials in cartilage reconstruction

Polymer hydrogels

The polymer hydrogels are interesting materials in cartilage reconstruction. These substances consist of solid and liquid phase. Hydrophilic polymer is a solid phase, embedded in a liquid phase containing water molecules. Hydrogels are hydrophilic, three-dimensional nets which absorb large amount of water (it can even make up 95% mass) or bio-

Tradycyjne leczenie, mające na celu naprawienie uszkodzonej chrząstki obejmuje techniki alloplastyki i obcego pochodzenia implanty oraz bardziej pożądaną autologiczną transplantację chondrocytów. Ten pierwszy sposób leczenia ograniczony jest dostępnością tkanki dawcy i zachorowalnością miejsca dawcy, natomiast druga terapia wymaga chirurgicznego usunięcia zdrowej chrząstki i jest ograniczona wielkością uszkodzenia. Alternatywą dla wyżej wymienionych metod leczenia jest dążenie do rozwoju biokompatybilnych, biodegradowalnych rusztowań, na których namnaża się komórki [13].



RYS. 2. Sieć hydrożelowa.
FIG. 2. Hydrogel network.

Materiały polimerowe w rekonstrukcji chrząstki

Hydrożele polimerowe

Interesującymi materiałami do zastosowań w rekonstrukcji chrząstki są hydrożele polimerowe. Substancje te składają się z fazy stałej i płynnej. Faza stała, którą są polimery hydrofilowe, stanowi rusztowanie dla fazy płynnej, którą są cząsteczki wody. Hydrożele są hydrofilnymi, trójwymiarowymi sieciami, które wchłaniają duże ilości wody (może nawet stanowić 95% masy) lub biologicznych płynów (RYS.2). Jest to cecha porównująca je do biologicznych tkanek żywych [16]. Zdolność wchłaniania płynów, bez trwałej utraty kształtu i właściwości mechanicznych, jest bardzo istotną cechą hydrożeli spotykaną również w wielu organach naturalnych takich jak np.: mięśnie, ścięgna, chrząstki, jelita. Sorpcja wody przez hydrożele spowodowana jest ich hydratacją. Brak rozpuszczalności hydrożelu wynika najczęściej z istnienia wiązań kowalencyjnych pomiędzy poszczególnymi makrocząsteczkami (hydrożele chemiczne), choć mogą to być również wiązania wodorowe lub oddziaływania elektrostatyczne (hydrożele fizyczne, pseudożele). Ponieważ woda i polimer wzajemnie się przenikają, nie można w spęcznionych hydrożelach wyróżnić fazy zdyspergowanej, w takim sensie, jak ma to miejsce w przypadku zawiesin czy emulsji [17].

Hydrożele są hydrofilowymi sieciami polimerowymi mogącymi zaabsorbować wodę w ilości tysiąckrotnie przewyższającej ich suchą masę. Mogą być stabilne chemicznie, ale także biodegradować oraz rozpadać się. Mogą one także przybierać rozmaite fizyczne formy tj.: uformowane sta-

logical liquids (FIG. 2). This feature is comparing hydrogels to biological alive tissues [16]. Absorption ability of liquid, meringues of durable loss of shape and mechanical propriety is the very essential feature of hydrogels occurring also in many natural organs such as e. g.: muscles, tendon, ligament, intestine. In hydrogels, sorption of water is due by their hydration. The lack of dissolubility of hydrogel results more often from the existence of covalent bonds between individual macromolecules (chemical hydrogels), though they can be also hydrogen bonds or electrostatic interactions (physical hydrogels, pseudogel). Because water and polymer forms interpenetrating network, it is not possible to distinguish dispersed phase, in that sense as in suspensions or emulsions [17].

Hydrogels are hydrophilic polymer nets liable to absorb water in amount multiplied by thousands as compared to dry mass. They can be chemically stable, but also biodegradable as well as breaking up. They can also form various physical shapes i.e.: formed solid shapes (contact lenses), matrices from compressed powder (tablets or oral capsules), microbeads (bioadhesion carriers), backings (for implants or tablet capsules), membranes ("path" for drug transportation), capsule for liquids (heating- or cooling-sensitive gels) [18].

Poly(vinyl alcohol) PVA

One of the hydrogels is poly(vinyl alcohol) (PVA). PVA is a synthetic resin produced by polymerisation of vinyl acetate followed by hydrolysis of the poly(vinyl acetate) polymer. The degree of polymerisation determines the molecular weight and viscosity in solution. The degree of hydrolysis reflects the extent of conversion of the poly(vinyl acetate) to the poly(vinyl alcohol) [19].

PVA hydrogel possesses a three dimensional open cell structure. The material will withstand the action of dilute acids, strong alkalis and solution of common detergents [19], but excellent solubility in water. Although PVA-hydrogel has the above advantages, its strength is rather low. The mechanical properties of PVA-hydrogel can be improved from PVA solution by the procedure of repeated freezing-thawing and form so-called cryogels.

PVA cryogel can be prepared by the process of repeated freezing-thawing and dehydration in vacuum, and its elastic modulus is close to that of natural cartilage. PVA cryogel have low elastic modulus, good biocompatibility, excellent transparency. PVA molecules exist as a continuous phase and water molecules are dispersed in the continuous phase.

They possess high compatibility to blood. They are investigated for applications as artificial cartilage as well as special intervertebral discs. They make possible the diffusion and exchange of internal liquids, they are supportive and resistant to stresses. They can be used for patients with spine defects and pain discomfort [20].

Poly(ethylene glycol) - hydrogel

Poly(ethylene glycol)(PEG) is characterized by low molecular weight compared to poly(ethylene oxide)(PEO). PEG is used as hydrophilic copolymers component. Poly(ethylene glycol) is widely used in many biomedical applications because of its set of outstanding physico-chemical and biological properties such as hydrophilicity, lack of toxicity, antigenicity and immunogenicity [21].

High molecular weight poly(ethylene oxide) possesses a long history in biomedical uses [18]. It is non-toxic, water-soluble polymer, widely and mainly used in pharmaceutical industry. PEO hydrogel found use as dressings and drug delivery systems. The copolymers of ethylene oxide and propylene oxide can be used as injectable matrices for chondrocytes transplantation [21].

łe kształty (soczewki kontaktowe), matryce ze sprasowanego proszku (tabletki lub kapsułki doustne), mikrocząstki (bioadhezyjne nośniki), pokrycia (na implanty lub powłoki na kapsułki i tabletki), membrany ("ścieżka", przez którą następuje transport leków), kapsułki dla płynów (żele wrażliwe na podgrzewanie lub chłodzenie) [18].

Poli(alkohol winylowy) PVA

Jednym z przedstawicieli hydrożeli jest poli(alkohol winylowy) (PVA) otrzymywany w wyniku hydrolizy poli(octanu winylu). Właściwości fizyczne i chemiczne poli(alkoholu winylowego) zależą w znacznym stopniu od struktury wyjściowego poli(octanu winylu) oraz stopnia i warunków hydrolizy [19].

Hydrożele PVA posiadają trójwymiarową otwartą strukturę cząsteczkową. Są odporne na działanie rozcieńczonych kwasów, mocnych zasad i roztworów powszechnych detergentów [19], doskonale zaś rozpuszczają się w wodzie. Sieciowane chemicznie (głównie aldehydem glutarowym) nie są zbyt wytrzymałe. Jedną z metod poprawy właściwości mechanicznych PVA jest ich sieciowanie fizyczne i tworzenie tzw. kriożeli (cryogels).

Kriożele z PVA przygotowuje się przez wielokrotne powtarzanie procesu zamrażania - topnienia i dehydratację w próżni. Moduł elastyczności tak przygotowanych materiałów jest bliski wartości naturalnej chrząstki. Kriożele PVA mają niski moduł elastyczności, dobrą zgodność biologiczną, doskonałą przezroczystość. W hydrożelach z PVA, cząsteczki polimerowe stanowią fazę ciągłą, a cząsteczki wody są w niej rozproszone [7].

Posiadają wysoką kompatybilność do krwi. Stosowane są w badaniach nad rozwojem sztucznych chrząstek oraz jako specjalne dyski międzykręgowe. Umożliwiają one dyfuzję i wymianę płynów wewnątrzustrojowych, są odporne na obciążenia, dobrze podtrzymują ciężar. Stosowane są u pacjentów z wadami kręgosłupa i dolegliwościami bólowymi [20].

Hydrożele na bazie poli(glikolu etylenowego) PEG

Poli(glikol etylenowy)(PEG) charakteryzuje się niższym ciężarem cząsteczkowym w porównaniu do poli(tlenku etylenu) (PEO). PEG tworzy kopolimery, w których ma charakter hydrofilowy. Jest szeroko stosowany w wielu biomedycznych aplikacjach z powodu jego stałych, wyróżniających się fizyko-chemicznych i biologicznych właściwości takich jak hydrofilowość, brak toksyczności, antygeniczność i immunogeniczność [21].

Poli(tlenek etylenu) o wysokich ciężarach cząsteczkowych posiada już dość długą historię w zastosowaniach biomedycznych [18]. Jest nietoksycznym, rozpuszczalnym w wodzie polimerem szeroko stosowanym głównie w przemyśle farmaceutycznym. Hydrożelowy PEO znalazł zastosowanie jako opatrunki i systemy dozowania leków. Kopolimery tlenu etylenu i tlenu propylenu, mogą być stosowane jako wstrzykiwalne matryce w transplantacji chondrocytów [21].

Kopolimery poli(tlenku etylenu) i poli(tlenku propylenu)

Pluronic i Poloksamer są to nazwy handlowe trójblokowych kopolimerów typu ABA zbudowanych z poli(tlenku etylenu) (PEO) oraz poli(tlenku propylenu) (PPO) o wysokich ciężarach cząsteczkowych. Są to materiały, których interakcja z wodą może być kontrolowana przez ich skład oraz temperaturę [22].

Wodne roztwory tych kopolimerów wykazują interesujący fenomen agregacji pod wpływem temperatury, jako rezultat hydrofobowej natury bloków PPO. Przy niskiej temperaturze i stężeniu kopolimery blokowe na bazie PEO i PPO występują w roztworze w postaci rozpuszczonych monomerów. Mogą one jednak pod wpływem zwiększonej temperatury i ich stężenia organizować się w micelle zbudowa-

Copolymers of poly(ethylene oxide) and poly(propylene oxide)

Pluronic and Poloksamer are trade names of three block copolymers of ABA type. They are composed of poly(ethylene oxide)(PEG) and poly(propylene oxide)(PPO) of high molecular weight. The pluronics-water interaction can be controlled by their composition and temperature [22].

Water solutions of these copolymers show the interesting phenomenon of aggregation upon temperature change, as result of hydrophobic nature of PPO blocks. At low temperature and concentration, block copolymers based on PEO and PPO forms solutions of dissolved monomers. However, under increased temperature and concentration they can get organized in micells composed from copolymeric blocks.

The solutions of copolymers possess very good thermogelation and bioadhesion proprieties and are potentially good materials for use in medical and dental applications, e.g: as adhesive lining, or injectable drug carriers for mucous membrane surface [22].

The gelation time and their properties can depend from molecular weight, functional groups and degree of cross-linking during their synthesis. The kinetics of gelation can be controlled by monomers concentration, monomer type, concentration and type of initiator, pH and temperature. Some forms are hard and significantly swelled water and stable by longer time [22].

The three block copolymers PEO-PPO-PEO are widely used in different fields of industry such as: biotechnology or pharmaceutical industry due to their unique superficial proprieties, low toxicity and minimum immunological host response [23].

Bioresorbable polymers

The tissue engineering methods are based mainly on cells and growth factors manipulation as well as usage of different substrata being scaffold for new tissue formation or these methods are used for grafting of remodeled tissue [11].

Tissue cartilage can also be produced using tissue engineering approach, but ideal scaffold for cartilage has not been identified yet. Such scaffolds can be produced from biodegradable elastomeric polyurethanes, which were evidenced as materials of high cell and tissue compatibility [16]. The biodegradable porous polyurethane scaffolds are characterized by high stimulation of seeded cells, their growth and biosynthetic activity of joint chondrocytes and the maintenance the varied phenotypes. This is due to profitable mechanical proprieties, durability, elasticity, and the controlled surface hydrophobicity of polyurethane scaffolds. In addition, the biodegradable polyurethane shows the relatively low in vitro degradation rate, which follows the low rate of changes within chondral tissue [16]. Current research shows [16] that three-dimensional scaffolds prepared from linear, biodegradable polyurethanes can be used as chondrocytes carrier, however this is not an ideal scaffold.

The most frequently used biodegradable and resorbable synthetic polymers are poly(glycolic acid) (PGA), poly(lactic acid) (PLLA), their copolymers, such as poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) (PLGA), and naturally derived biodegradable polymers such as collagen. Mechanical proprieties of these polymers, such as their compression properties are similar to normal beef cartilage. PLLA is more water-repellent than PGA and this material is less crystalline as well as more slowly degrades. However, similarly to cartilage which is glassy, it is characterized by high crystallinity [16].

Hyaluronic acid (hyaluronan, HA) was immobilized onto the surface of macroporous biodegradable poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) [PLGA] scaffolds to enhance the attach-

ne z bloków kopolimerowych.

Roztwory kopolimerów posiadają bardzo dobre właściwości termożelujące i bioadhezyjne i są potencjalnie dobrymi materiałami w zastosowaniach medycznych i dentystrycznych, np.: jako tkanka adhezyjna, czy wstrzykiwany nośnik leków do powierzchni śluzówki [22].

Czas żelowania i właściwości żeli mogą zależeć od ciężaru cząsteczkowego, grup funkcyjnych i stopnia usieciowania podczas ich syntezy. Kinetyka żelowania może być kontrolowana przez stężenie monomerów, typy monomerów, koncentrację i typy inicjatorów, pH i temperaturę. Niektóre formy są twarde i silnie spiecznione w obecności wody oraz stabilne przez dłuższy czas [22].

Trójblokowe kopolimery PEO-PPO-PEO są szeroko stosowane w różnych dziedzinach przemysłu takich jak np. biotechnologiczny czy farmaceutyczny z powodu ich unikalnych właściwości powierzchniowych, niskiej toksyczności i minimalnej odpowiedzi immunologicznej organizmu [22].

Polimery bioresorbowalne

Metody inżynierii tkankowej opierają się głównie na manipulacji komórkami, czynnikami wzrostowymi oraz podłożami będącymi rusztowaniem dla nowopowstającej tkanki lub sposobem na ich wszczepienie w miejsce odtwarzanej tkanki [11].

Tkanka chrzęstna może być również otrzymywana przy zastosowaniu technik inżynierii tkankowej, ale idealne rusztowanie dla chrząstki nie zostało jeszcze zidentyfikowane. Potencjalnie, takie rusztowania można produkować z biodegradowalnych elastomerowych poliuretanów, których kompatybilność z różnymi tkankami i komórkami szeroko udokumentowano [16]. Biodegradowalne porowate rusztowania poliuretanowe charakteryzują się wysoką stymulacją osadzania się komórek na podłożu, ich wzrostu i biosyntetycznej aktywności stawowych chondrocytów i utrzymaniem różnorodnych fenotypów. Jest to spowodowane korzystnymi właściwościami mechanicznymi, trwałością, elastycznością, i skontrolowaną hydrofobowością powierzchni poliuretanowego rusztowania. W dodatku, biodegradowalny poliuretan wykazuje stosunkowo niskie tempo degradacji in vitro, które może być zgodne z niskim tempem zmian tkanki chrzęstnej [16].

Obecne badania dowodzą, że trójwymiarowe, porowate rusztowania przygotowane z liniowych, biodegradowalnych poliuretanów mogą mieć zastosowanie jako nośnik w chrząstkowej inżynierii tkankowej, chociaż nie jest to idealne rusztowanie [16].

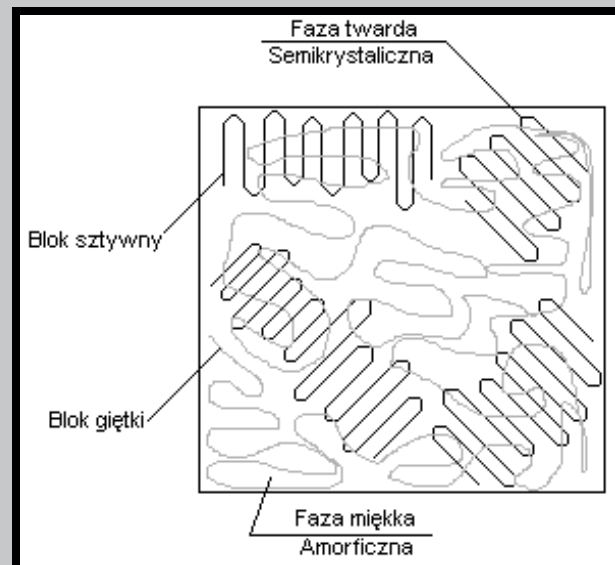
Wiele aktualnych badań skupia się na współdziałaniu chondrocytów z biodegradowalnymi i resorbowanymi polimerami, takimi jak poli(kwas glikolowy) (PGA), poli(L-kwas mlekowy) (PLLA) i ich kopolimery, np. poli(D,L-kwas mlekowy-co-kwas glikolowy) (PLGA). Mechaniczne właściwości tych polimerów, takie jak zdolność do ściskania są podobne do normalnej wołowej chrząstki. PLLA jest bardziej hydrofobowy niż PGA i materiał ten jest mniej krystaliczny oraz wolniej degraduje. Jednak podobnie do chrząstki, która jest szklista, charakteryzuje się wysoką krystalicznością [23].

Z doniesień literaturowych wynika, że kwas hialuronowy (HA) może być immobilizowany na powierzchni makroporów rusztowania PLGA. Unieruchomienie HA stwarza nie tylko optymalne środowisko dla wzrostu chondrocytów, ale też zapobiega odróżnicowaniu chondrocytów [24].

Opisano również charakterystykę materiałów, w których zastosowano mikrosfery PLGA. Charakterystyki chrzęstnopodobnej tkanki na bazie układu mikrosfery PLGA-chondrocyt in vitro wykazują właściwości bardzo zbliżone do naturalnej tkanki i mogą znaleźć zastosowanie w inżynierii

ment, proliferation, and differentiation of chondrocytes for cartilage tissue engineering [24].

Application of PLGA microspheres was also described. The characteristics of cartilage-like tissue being a result of PLG-microspheres-chondrocyte arrangement showed to be very similar in vitro to properties of natural tissue and they can find applications in tissue engineering for different types of tissues [25].



RYS. 3. Schemat budowy fazowej kopolimeru blokowego o właściwościach elastotermoplastycznych.

FIG. 3. The schematic structure of block copolymer with properties of thermoplastic elastomer.

Thermoplastic elastomers

Thermoplastic elastomers (TPE) are an interesting group of materials with unique properties. This name defines the polymers of specific properties being a consequence of the lack of miscibility between segments constituting hard phase and soft phase. The hard phase is responsible for good material properties like high mechanical strength and influences the processing conditions. The soft phase is responsible for elasticity and ability to large strains characteristic for elastomers [9].

The elastic properties and simultaneously thermoplastic character of TPE result from their molecular and submolecular structure, including morphology [26]. Due to the possibility of control the hard and soft phase concentration on the synthesis stage, it is possible to produce TPE changing in their properties from hard thermoplastics to rubber-like materials [9].

The characteristic feature of TPE copolymers is the ability of hard blocks to create the so-called "physical crosslinks" being a result of different intermolecular interactions [27, 28]. The scheme of phase structure of block copolymer with crystallizing hard segments is presented in FIG.3. The three block copolymers have linear or star (radial) structure. As the component of elastothermoplastic systems, grafted copolymers can be used. Multiblock copolymers can have linear or random structure.

Depending from the chemical nature of blocks, two amorphous phases, amorphous phase and crystalline (semicrystalline) or amorphous and pseudocrystalline phases can be present [29]. Hard blocks are crystallisable (PBT) or glassy (PS). Soft blocks impart to polymer an elastic character and are often amorphous [30].

tkankowej do innych typów tkanek [25].

Elastomery termoplastyczne

Interesującą grupą materiałów o ciekawych właściwościach są elastomery termoplastyczne (TPE). Nazwą tą określa się polimery o specyficznych właściwościach wynikających z braku współmieszalności pomiędzy segmentami budującymi fazę sztywną i fazę giętą. Faza sztywna nadaje materiałowi dużą wytrzymałość mechaniczną i wpływa na jego warunki przetwórcze, faza giętka natomiast wpływa na elastyczność i zdolność do dużych odkształceń względnych charakterystycznych dla elastomerów [9].

Właściwości elastyczne i jednocześnie termoplastyczne TPE wynikają z ich budowy molekularnej i specyficznej struktury nadmolekularnej, w tym morfologicznej [26]. Dzięki możliwościom regulacji udziału fazy sztywnej i giętkiej na etapie syntezy, polimery TPE można otrzymywać o właściwościach od sztywnych termoplastów do materiałów kauzuko-podobnych [9].

Charakterystyczną cechą budowy kopolimerów jest zdolność do tworzenia przez bloki sztywne, w wyniku różnego rodzaju oddziaływań międzycząsteczkowych, tzw. "fizycznych węzłów sieci" [27, 28]. Schemat budowy fazowej kopolimeru blokowego o zdolnościach do krystalizacji segmentów sztywnych przedstawia na RYS. 3. Kopolimery triblokowe mają budowę liniową lub gwiazdzistą (radialną). Jako składniki układów elastotermoplastycznych stosowane są często kopolimery szczepione. Kopolimery multiblokowe mogą mieć również budowę liniową lub rozgałęzioną.

W zależności od chemicznej natury bloków, w strukturze elastomerów blokowych mogą występować dwie fazy amorficzne, faza amorficzna i krystaliczna (semikrystaliczna) lub amorficzna i pseudokrystaliczna [29]. Bloki sztywne są zdolne do krystalizacji (PBT) lub są szkliste (PS). Natomiast bloki giętkie nadają polimerowi charakter elastyczny i są często bezpostaciowe (amorficzne) [30].

Jako segmenty giętkie, najczęściej stosuje się alifatyczne: polietery, poliestry, poliwęglany, oligomery dimeryzowanych kwasów tłuszczowych, poliolefiny i polidieny. Segmentami twardymi są najczęściej bloki aromatycznych poliestrów (PBT), polistyrenowe (PS), poliuretanowe (PU), poliamidowe (PA), itp. [30, 31].

Medyczne poliuretany

Zastosowanie materiałów polimerowych do rekonstrukcji i zastępowania tkanek miękkich przyciąga znaczną uwagę spowodowaną szeroką rozpiętością zmian struktury i budowy w polimerach takich jak poli(tetrafluoroetylen), multiblokowe poliuretany lub poli(siloksany). Syntetyczne polimery stanowią najobszerniejszą i najbardziej zróżnicowaną klasę dostępnych biomateriałów. Wiele czynników przemawia za stosowaniem ich w medycynie.

Najstarszymi opisanymi przedstawicielami TPE są multiblokowe poliuretany, które znalazły szereg zastosowań w medycynie. Otrzymuje się je w wyniku prostej reakcji poliaddycji. Są materiałami o doskonałej zgodności do tkanek i krwi. Charakteryzują się dobrą elastycznością, trwałością i wytrzymałością zmęczeniową. Nadają się na implanty, które mogą przebywać w ciele przez kilka lat [9].

Multiblokowe poli(alifatyczno/aromatyczne-estry) (PED)

Kopolimery PED są elastomerami termoplastycznymi, w których skład wchodzi segment sztywny zbudowany z PBT oraz segment giętki tworzony przez dimeryzowany kwas tłuszczowy (DFA), jakim jest kwas dilinoleinowy [8]. Segmenty te są ułożone naprzemiennie tak jak ilustruje to RYS. 4.

Poliestry te są "fizycznie usieciowane" i mogą być projektowane "na miarę" dzięki możliwości zmiany zawartości segmentów giętkich i sztywnych (od 26 do 74 % wag.) pro-

The most often used components of soft segments are aliphatic: polyethers, polyesters, polycarbonates, oligomers of dimerized fatty acids, polyolefines and polydienes. The most often used components of hard segments are aromatic polyesters (PBT), polystyrene (PS), polyurethane (PU), polyamide (PA), etc. [30, 31].

Medical polyurethanes

The use of polymeric materials for soft tissues reconstruction and repair attracts considerable attention because of wide range of structure and properties within such polymers as poly(tetrafluoroethylene), multiblock polyurethanes or poly(siloxanes). Synthetic polymers constitute the most extensive and diverse class of accessible biomaterials. Many factors are arguing for their usage in medicine.

The most well described representatives of TPE are multiblock polyurethanes, which already found wide medical applications. Polyurethane TPEs are prepared by polyaddition reaction. They are materials of perfect compatibility to tissues and blood. They are characterized by good elasticity, durability and endurance fatigue. They are suitable for implants which can be stable in body for several years [9].

Multiblock poly(aliphatic/aromatic-esters)(PED)

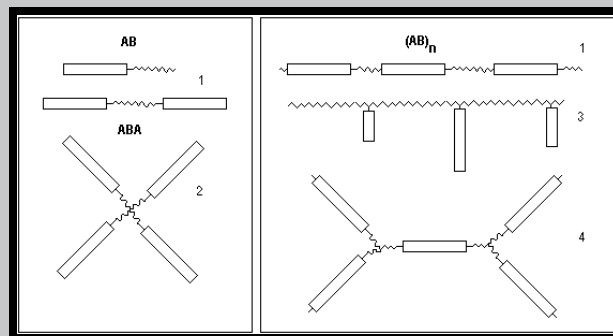
PED copolymers are thermoplastic elastomers composed from hard segments of PBT and soft segment created by dimeryzed fatty acid DFA, namely dilinoleic acid [8]. These segments are randomly arranged as shown in FIG.4.

These polyesters are "physically crosslinked" and they can be "tailor-made" within the wide compositional range (from 26% to 74 wt % of hard segments) leading to materials from semi-hard plastics to rubber-like materials (74 wt % of soft segment).

In the solid state, PED copolymers are composed of two phases: crystalline and amorphous. Hard segments constitute a (semi)crystalline phase. Soft segments are exclusively amorphous areas responsible for elastic properties.

Poly(aliphatic/aromatic-esters) are synthesised in two-stage process of transesterification and polycondensation from the melt [8, 9, 32].

PED belong to thermoplastic polyester elastomers of good thermal resistance because of the use of DFA and they are hydrophobic. The newest investigations show that they are biocompatible to living tissues, and appropriately modified they also show bioactivity [9].



RYS. 4. Schemat budowy kopolimerów di-(AB), tri-(ABA) i multiblokowych (AB)_n; 1 - makrocząsteczki liniowe, 2 - gwiazdziste, 3 - szczepione i 4 - rozgałęzione

FIG. 4. Schematic structure of di-(AB), tri-(ABA) and multiblock (AB)_n copolymers 1 - linear, 2 - star-shape, 3 - grafted, 4 - branched macromolecules.

wadząc do otrzymywania materiałów od półsztywnych do kauczuko-podobnych (74% wag. segmentu giętkiego).

W stanie stałym kopolimery PED zbudowane są z dwu faz: krystalicznej i amorficznej. Segmenty sztywne są zbudowane przede wszystkim z fazy semikrystalicznej. Giętkie segmenty są wyłącznie obszarami amorficznymi odpowiedzialnymi za właściwości elastyczne.

Poli(alifatyczno/aromatyczne - estry) otrzymuje się na drodze dwuetapowego procesu transestryfikacji i polikondensacji w fazie stopionej [8, 9, 32].

PED należą do termoplastycznych elastomerów poliestrowych o wysokiej odporności termicznej dzięki zastosowaniu DFA i są hydrofobowe. Najnowsze badania wykazały, że są to materiały biogodne z żywymi tkankami, a odpowiednio modyfikowane wykazują również bioaktywność [9].

Podsumowanie

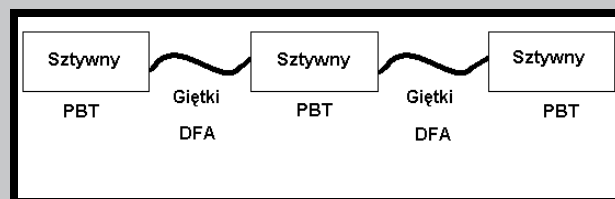
Stosowane obecnie metody rekonstrukcji tkanek, oparte głównie na przeszczepianiu dojrzałych komórek w procesie rekonstrukcji chrząstki stawowej, wymagające stosowania odróżnicowania i następnie ponownego różnicowania komórek, wiążą się z wieloma ograniczeniami i nie zapewniają zawsze idealnej odbudowy naturalnej tkanki.

Mechaniczne właściwości hydrożeli są generalnie słabe. W kilku pracach porównywano hydrożele do tkanek biologicznych i określano parametry krytyczne dla modyfikacji właściwości mechanicznych. Ciekawą grupą materiałów wykorzystywaną w biomedycznych zastosowaniach są elastomery. Ich zaletą jest możliwość projektowania właściwości już na etapie syntezy.

Jak dotąd nie znaleziono materiału, który mógłby w pełni zastąpić chrząstkę stawową. Problem stanowi również przyczepność tych materiałów. Przyczepność materiału do kości i tkanek chrząstki będzie przełomową kwestią i daleko idące badania odkrywające architektoniczny efekt modyfikacji powierzchni na adhezję komórek i integrację z żywą tkanką mogą się stać przełomowe. Naturalna tkanka chrzęstna jest trójwarstwowa dlatego kolejne badania powinny iść w kierunku utworzenia sztucznej chrząstki o takiej budowie.

Piśmiennictwo

- [1] Buckwalter J. A., Lohmander S. Current review: operative treatment of osteoarthritis. *J Bone Joint Surg*; 74 - A 9 (1994) 1405 - 18.
- [2] Corkhill P. H., Trevett A. S., Tighe B. J. The potential of hydrogels as synthetic articular cartilage. *Proc. Inst. Mech. Engrs* 204 (1990) 147 - 55.
- [3] Gupta P., Vermani K., Garg S., Hydrogels: from controlled release to pH - responsive drug delivery. *DDT* 10 (2002) 569 - 578
- [4] Hoffman A. S. Hydrogels for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*; 43 (2002) 3 - 12.
- [5] Stammen J. A., Williams S., Ku D. N., Guldberg R. E. Mechanical properties of a novel PVA hydrogel in shear and unconfined compression. *Biomaterials* 22 (2001) 799 - 806.
- [6] Pluta J., Karolewicz B. Hydrożele: właściwości i zastosowanie w technologii postaci leku. *Charakterystyka hydrożeli. Polimery w medycynie* 2 (2004) 3 - 16
- [7] Zheng - Qin G., Jin - Mei X., Xiang - Hong Z. The development of artificial articular cartilage - PVA - hydrogel. *Biomed. Mater. Engng* 8 (1998) 75 - 81.
- [8] El Fray M. Wpływ budowy segmentów giętkich na wybrane właściwości segmentowych kopolimerów blokowych, *Praca Doktorska*, Szczecin (1996)
- [9] El Fray M. Nanostructured elastomeric biomaterials for soft tissue reconstruction. *Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej*, Warszawa (2003) 1-144
- [10] Mow V. C., Ratcliffe A. Structure and function of articular cartilage and meniscus. In Mow V. C., Hayes W. C., eds. *Basic orthopaedic biomechanics*. Philadelphia: Lippincott-Raven, (1997) 113-177



RYS. 5. Schemat budowy kopolimerów PED.
FIG. 5. Schematic structure of PED copolymers.

Conclusions

Currently used tissues reconstruction methods, utilizing mainly the surgery of mature cells in process of cartilage reconstruction, demanding the usage of dedifferentiation and then renewed differentiation of cells, can meet many limitations and does not assure the always ideal reconstruction of natural tissue.

The mechanical proprieties of hydrogels are generally weak. Their properties were compared to biological tissues and critical parameters for modification of mechanical proprieties were defined. Thermoplastic elastomers are interesting group of materials used in biomedical application. The possibility to "tailor-made" their proprieties at the synthesis stage is their great advantage.

Material which could fully replace damaged cartilage was not found so far. Another problem is associated with material's adhesion to bone and cartilage. It is believed that investigation of the architecture of modified surface at cell adhesion and integration with living tissue will play an important role. The natural chondral tissue is composed of three layers therefore the future investigations should go into direction of layered composites.

References

- [11] Mercier N. R., Costantino H. R., Tracy M. A., Bonassar L. J. Poly(lactide - co - glycolide) microspheres as a moldable scaffold for cartilage tissue engineering *Biomaterials* 26 (2005) 1945 - 52.
- [12] Miyata S., Furukawa K. S., Ushida T., Nitta Y., Tateishi T. Static and dynamic mechanical properties of extracellular matrix synthesized by cultured chondrocytes. *Materials Science and Engineering* 24 (2004) 425 - 29.
- [13] Broom N. D., Oloyede A. The importance of physicochemical swelling in cartilage illustrated with a model hydrogel system. *Biomaterials* 19 (1998) 1179 - 88.
- [14] Bryant S. J., Anseth K. S. The effects of scaffold thickness on tissue engineered cartilage in photocrosslinked poly(ethylene oxide) hydrogels. *Biomaterials* 22 (2001) 619 - 626.
- [15] Sato T., Chen G., Ushida T., Ishii T., Ochiai N., Tateishi T. Tissue - engineered cartilage by in vivo culturing of chondrocytes in PLGA - collagen hybrid sponge. *Materials Science and Engineering* 17 (2001) 83 - 89.
- [16] Grad S., Kupsik L., Gorna K., Gogolewski S., Alini M. The use of biodegradable polyurethane scaffolds for cartilage tissue engineering: Potential and limitations. *Biomaterials* 24 (2003) 5163 - 71
- [17] Rosiak J. M., Czechowska-Biskup R., Filipczak K., Henke A., Kadłubowski S., Kozicki M., Ulański P. Radiacyjna inżynieria biomedyczna. 47 (2004) Z. 1
- [18] Savas H., Guven O. Gelation, swelling and water vapor permeability behavior of radiation synthesized poly(ethylene oxide) hydrogels. *Radiation Physics and Chemistry* 64 (2002) 35 - 40.

- [20] Hassan C. M., Ward J. H., Peppas N. A.: Modeling of crystal dissolution of poly(vinyl alcohol) gels produced by freezing/thawing processes. *Polymer* 41 (2000) 6729 - 29
- [21] Mincheva R., Manolova N., Sabov R., Kjurkchiev G., Rashkov I. Hydrogels from chitosan crosslinked with poly(ethylene glycol) diacid as bone regeneration materials. *e-Polymers* 058 (2004)
- [22] Krakovský, Ilavský M., Posil H., Pletli J. Structure of pluronics - based networks. Department of Macromolecular Physics, Faculty of Mathematics and Physics, Charles University, V Holešovičkách 2, 180 00 Praha 8, Czech Republic
- [23] Sato T., Chen G., Ushida T., Ishii T., Ochiai N., Tateishi T., Tanaka J.: Evaluation of PLLA - collagen hybrid sponge as scaffold for cartilage tissue engineering. *Materials Science and Engineering* 24 (2004) 365 - 372
- [24] Yoo H. S., Lee E. A., Yoon J. J., Park T. G. Hyaluronic acid modified biodegradable scaffolds for cartilage tissue engineering *Biomaterials* 26 (2005) 1925 - 33.
- [25] Mercier N. R., Costantino H. R., Tracy M. A., Bonassar L. J. Poly(lactide - co - glycolide) microspheres as a moldable scaffold for cartilage tissue engineering *Biomaterials* 26 (2005) 1945 - 52.

- [26] Słonecki J. *Prace Naukowe Politechniki Szczecińskiej* 479 (1992) 9 - 15
- [27] Pietkiewicz D. Synteza i właściwości ciekłokrystalicznych elastomerów eterowo- estrowych, *Praca Doktorska*, Szczecin 1999
- [28] Rosłaniec Z., Pękala S. *Prace Naukowe Politechniki Szczecińskiej* 443 (1991) 17, 51
- [29] Rosłaniec Z. *Prace Naukowe Politechniki Szczecińskiej* 503 (1993) 39-47
- [30] El Fray M., Słonecki J., Broza G. Melt-crystallized segmented aromatic-aliphatic copoly-(ester-ester)s based on poly(butylene terephthalate) and a dimerized fatty acid *Polimery* 42 (1) (1997) 35-39
- [31] Szymczak A. Synteza i właściwości jonomerowych elastomerów eterowo- estrowych; *Praca Doktorska*, Szczecin 1999
- [32] Prowans P., El Fray M., Słonecki J. Biocompatibility studies of new multiblock poly(ester - ester)s composed of poly(butylene terephthalate) and dimerized fatty acid. *Biomaterials* 23 (2002) 2973-2978

OCENA PARAMETRÓW KINEMATYCZNYCH CHODU I EFEKTÓW FIZJOTERAPII PACJENTA PO REKONSTRUKCJI ZERWANEGO ŚCIĘGNA ACHILLESA NIĆMI WĘGLOWYMI NA PODSTAWIE TRÓJWYMIAROWEJ ANALIZY RUCHU

W. CHWAŁA*, T. RUCHLEWICZ*, E. STASZKÓW**,
R. WALASZEK***, S. BŁAŻEWICZ****

*ZAKŁAD BIOMECHANIKI

AWF, KRAKÓW

**SZPITAL IM. G. NARUTOWICZA, KRAKÓW

***ZAKŁAD ODNOWY BIOLOGICZNEJ

AWF, KRAKÓW

****AGH, WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI

KRAKÓW

E-MAIL: BLAZEW@UCI.AGH.EDU.PL

Streszczenie

Mimo stosowania wielu materiałów pochodzenia naturalnego i syntetycznego w rekonstrukcji ścięgna, żaden ze sposobów leczenia nie prowadzi do pełnego odtworzenia jego funkcji. Celem badania była ocena wybranych parametrów lokomocyjnych i efektów fizjoterapeutycznych pacjenta po rekonstrukcji uszkodzonego ścięgna Achillesa za pomocą nici węglowych. Pacjent po rekonstrukcji zerwanego ścięgna Achillesa nićmi węglowymi. Przeprowadzono analizę trójwymiarową stosując system Vicon 250. Badania zostały wykonane bezpośrednio po usunięciu opatrunku gipsowego i w okresie po intensywnej fizjoterapii. Analizowano zmiany kątowne głównych stawów kończyn dolnych. Parametry normalizowano względem pojedynczego cyklu krokowego i odnoszono do fizjologicznych parametrów fizjologicznego chodu osób zdrowych. Obserwowano znaczącą dysfunkcję układu kostno-mięśniowego w okresie bezpośrednio po usunięciu opatrunku i wyraźną poprawę lokomocji po in-

ASSESSMENT OF KINEMATICS PARAMETERS OF LOCOMOTION AND PHYSIOTHERAPIC EFFECTS IN SUBJECT AFTER RECONSTRUCTION OF RUPTURED ACHILLES TENDON WITH CARBON SUTURES BASED ON THREE DIMENSIONAL-MOTION ANALYSIS

W. CHWAŁA*, T. RUCHLEWICZ*, E. STASZKÓW**,
R. WALASZEK***, S. BŁAŻEWICZ****

*BIOMECHANICS DEPARTMENT, ACADEMY OF PHYSICAL EDUCATION, CRACOW, POLAND

**G. NARUTOWICZ MUNICIPAL HOSPITAL, CRACOW, POLAND

***DEPARTMENT OF BIOLOGICAL RENOVATION, ACADEMY OF PHYSICAL EDUCATION, CRACOW, POLAND

****AGH-UST, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS

CRACOW, POLAND

E-MAIL: BLAZEW@UCI.AGH.EDU.PL

Abstract

Despite the variety of natural and synthetic materials used in tendon reconstruction, no treatment restores its functions to normal conditions. The purpose of this study was to assess selected locomotion parameters and physiotherapy effects of patient following reconstruction of injured Achilles tendon with carbon prosthesis. A patient after reconstruction of ruptured Achilles tendon with the use of carbon - based surgical sutures. The three-dimensional analysis was carried out in a patient using Vicon 250 system. Examinations were performed directly after removing a plaster dressing and later after a period of intensive physiotherapy. Angular changes of main lower limbs joints were analyzed. All this was normalised per gait cycle and showed at the background of physiological gait parameters in healthy people. Significant dysfunction of musculoskeletal system was observed in a

tensywnej terapii. Po intensywnej rehabilitacji kinematyczne parametry pracy stawu skokowego i kolannego były porównywalne z normą biomechaniczną. Odpowiednia procedura chirurgiczna i intensywny program leczenia poprzez terapię ruchową prowadzące do szybkiego przewrócenia funkcji kończyn i uniknięcie pogłębienia się patologicznego charakteru chodu powinny być podstawą w leczeniu zerwanego ścięgna Achillesa.

Słowa kluczowe: Ścięgno Achillesa, trójwymiarowa analiza ruchowa, nić węglowa, fizjoterapia [Inżynieria Biomateriałów, 54-55,(2006),35-42]

Wprowadzenie

Mimo, że ścięgno Achillesa należy do najsilniejszych ścięgien w organizmie człowieka, przypadki jego zerwania są stosunkowo częste. Ulega zerwaniu przy rozciąganiu w zakresie obciążeń od 2000N do 3500N. Całkowicie zerwane ścięgno Achillesa wymaga zszycia przy użyciu materiałów syntetycznych lub naturalnych. Zerwane ścięgno definiuje się jako uraz, który trwa od kilku dni do tygodni i dla odtworzenia jego naturalnych funkcji jego końce nie można bezpośrednio ponownie złączyć w jedną całość złączyć bez użycia przeszczepów (allograft, autograft) lub materiałów syntetycznych (siatka Marlex, Kolagen, Węgiel, Polilaktyd, Dakron, Nylon it.p.) [1, 2].

Wykorzystanie przeszczepów naturalnych wiąże się z szeregiem ograniczeń, do których należy nadmierna rozciągliwość, niewystarczające cechy wytrzymałościowe, osłabienie zdolności ruchowych w innym stawie [3, 4]. Protezy syntetyczne wytwarzane z resorbowalnych i nieresorbowanych materiałów są także często stosowane do odtworzenia funkcji chorego lub zerwanego ścięgna. Mimo bogactwa materiałów pochodzenia naturalnego i syntetycznego w rekonstrukcji ścięgna, żaden sposób nie prowadzi do odtworzenia pierwotnych funkcji tzn. do stanu, w którym nowopowstała tkanka zachowuje się jak pierwotna [3, 4, 5, 7]. Nowsze sposoby w naprawie lub zastępowaniu uszkodzonego ścięgna związane są z użyciem materiału protetycznego jako podłoża, które aktywnie reaguje z żywym otoczeniem w odbudowie wysoko-anizotropowej tkanki kolagenowej. Metody takie wykorzystują zarówno materiały biologiczne jak i syntetyczne, które mogą działać jako stałe lub tymczasowe (bioresorbowalne) podłoża. Inżynieria tkankowa w odniesieniu do zastępowania lub naprawy ścięgna wykorzystuje różnorodne matryce podłożowe zasiedlone odpowiednimi komórkami w celu ułatwienia procesów regeneracyjnych [8, 9].

Wiele różnorodnych materiałów i technik wykorzystano w chirurgii ścięgna, a dotychczasowe wyniki publikowanych badań wskazują na różny stopień sukcesu [10, 11, 12]. Włókna węglowe w formie protez zostały po raz pierwszy zastosowane w roku 1977 do rekonstrukcji ścięgna u zwierząt eksperymentalnych [13, 14]. Doświadczenia te wykazały, że włókna węglowe w formie wstążek działały jako podłoża, w obrębie których narastała gęsta włóknista tkanka, mająca zbliżoną charakterystykę do ścięgna w pełni rozwiniętego. Od tej pory wielu pacjentów poddano operacjom rekonstrukcji i zastąpienia więzadeł przyśrodkowych, pobocznych, kruczo-obojęzycznych i obojęzycznych za pomocą protez wykonanych z włókien węglowych w formie plecionek [15, 16].

W Katedrze Biomateriałów Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie opracowano włókna węglowe dla medycyny w formie nici i protez, które zostały wprowadzone w ograniczonej skali do praktyki klinicznej począwszy w 1982 roku. Po raz pierwszy wykorzystano je do rekonstrukcji ścięgien Achillesa i więzadeł [17].

period directly after removing a plaster dressing and more better locomotion after an intensive physiotherapy period. After intensive rehabilitation, kinematic parameters of work of the ankle and knee joints came close to the biomechanical norm. A surgical procedure and intensive motion therapy treatment programme leading to a quick restoration of functions of the operated extremity and avoidance of strengthening the pathological gait pattern should be implemented in the therapy of a ruptured Achilles tendon.

Key words: Achilles tendon, three-dimensional motion analysis, carbon suture, physiotherapy [Engineering of Biomaterials, 54-55,(2006),35-42]

Introduction

Achilles tendon belongs to the strongest tendons in human body, however the cases its rupture are relatively frequent. Its tensile force to rupture is in the range from 2000 N to 3500N. A completely ruptured Achilles tendon requires surgical repair with the use synthetic or natural substances. The tendon rupture is defined as an injury which existed from days to weeks, and its viable ends do not lend themselves to be primary reconstructed. In such cases, tendon augmentation with biologic grafts (autografts, allografts), or synthetic grafts (Marlex mesh, Collagen, Carbon, Polylactic acid, Dacron, Nylon, etc.) is often required to provide adequate tendon functions [1, 2].

There are several limitations with the use of biological graft including possible expendability, insufficient mechanical strength functions, weakening of motion across another joint [3,4]. Synthetic prostheses prepared from resorbable and non-resorbable materials are also used to restore the functions of the diseased or ruptured tendon. However, despite the variety of natural and synthetic materials used in tendon reconstruction, no treatment restores its functions to normal conditions, i.e., to the state that the newly formed tissue is indistinguishable from the original tissue [3, 5, 6, 7]. Newer approaches in repair or replace of injured tendon are connected with the use of prosthetic material as a kind of scaffold which actively reacts with living tissue in regrowth of highly anisotropic collagenous tissue. These methods utilize both biological and synthetic materials which may act as permanent as temporary (bioresorbable) scaffolds. Tissue engineering applied to tendon repair or replace allows for developing a scaffold matrices seeded with appropriate cells to facilitate regeneration processes [8, 9].

Different materials and operative procedures have been applied in tendon surgery, and numerous reports in the literature demonstrate varying degrees of success [10, 11, 12]. The first use of carbon prostheses in replacement of tendons in experimental animals has been reported in 1977 [13, 14]. These experiments revealed that carbon fibers in the form of ribbons were capable to be a kind of scaffolds within of which dense fibrous tissue was produced which achieved the characteristics of a fully developed tendon. Many patients have been subjected to implantation of carbon fibers prostheses in the form of braids at reconstructions and replacements the medial, lateral collateral ligaments, and acromioclavicular and clavicular joints [15, 16].

Specially prepared carbon fibers for medicine were elaborated in the form of surgical sutures and prostheses the Department of Biomaterials (Cracow, Poland) and have been introduced into clinical practice in 1982 in reconstructions of Achilles tendons and ligaments [17].

This paper presents the results of analysis of kinematics parameters of locomotion and physiotherapeutic effects following reconstruction of injured Achilles tendon with carbon sutures.

Praca niniejsza przedstawia wyniki badań dotyczące parametrów kinematycznych chodu i efektów fizjoterapii pacjenta po rekonstrukcji zerwanego ścięgna Achillesa niciami węglowymi na podstawie trójwymiarowej analizy ruchu 3D.

Material i metoda

Badania przeprowadzono u pacjenta operowanego dwukrotnie w wyniku zerwania ścięgna Achillesa. Przyczyną pierwszego zerwania ścięgna dolnej prawej kończyny było uderzenie w metalową zaporę parkingową, natomiast kolejne nastąpiło w wyniku upadku spowodowanego zasłabnięciem. Zerwane ścięgno zostało zszyte za pomocą włókien węglowych przygotowanych w formie nici. Dwa rozdzielone końce zerwanego ścięgna zostały połączone za pomocą 12 równoległych wszystkich fragmentów nici węglowej wzdłuż osi ścięgna. Taka technika operacyjna zastosowana u 37 pacjentów. Charakterystyka mechaniczna zastosowanych nici węglowych podana jest w TABELI 1.

Badanie wykonano dwukrotnie. Pierwszy eksperyment przeprowadzono po 6 tygodniach od operacji, a następny po zakończeniu 10-tygodniowego cyklu rehabilitacyjnego. Pierwszy miał na celu stwierdzenie aktualnego stanu funkcjonalnego kończyny operowanej i nieoperowanej i poszukiwanie wyraźnych różnic pomiędzy wartościami parametrów biomechanicznych - charakteryzujących obie kończyny - a średnimi wartościami tych parametrów, zarejestrowanymi w grupie osób zdrowych w podobnym wieku. Założono bowiem, że można się spodziewać w ruchu kończyny zdrowej wystąpienia zjawiska kompensacji dysfunkcji kończyny operowanej. Dokonano także oceny wpływu pracy wspomnianego układu biomechanicznego na funkcjonowanie pozostałych części łańcuchów biokinematycznych kończyn dolnych (staw kolanowy).

Osoba badana szła z naturalną prędkością (pierwsze badanie 1,16 m/s, drugie badanie 1,39 m/s). Wyniki badań uzyskano za pomocą systemu do trójwymiarowej analizy ruchu 3D "Vicon 250" [18]. Do analizy wykorzystano średnie wartości parametrów z kilku cykli chodu z ustabilizowaną prędkością [19]. Wyniki pacjenta przedstawiono na tle normy biomechanicznej chodu, zarejestrowanej w grupie 50 zdrowych osób (średnia wieku $x=30$ lat), bez schorzeń neurologicznych i urazów ortopedycznych. Normę przedstawiono w postaci średnich wartości parametrów i wstęgi podwójnego odchylenia standardowego (double standard deviation), charakteryzującej zmienność wyników w tej grupie.

Po uwzględnieniu indywidualnych parametrów antropometrycznych badanej osoby obliczono parametry kinematyczne ruchu w stawach skokowym i kolanowym [20].

Pierwszy etap usprawniania rozpoczęto bezpośrednio po operacji i unieruchomieniu kończyny w gipsie udowym na 4 tygodnie, przy ustawieniu stopy pod kątem 0° wg SFTR [21] i zgiętym stawie kolanowym pod kątem 15° - 30° . Celem terapii było zapobieganie zanikom masy mięśniowej i osłabieniu siły mięśnia czworogłowego uda oraz mięśnia pośladkowego większego.

Wyniki

Wyniki pacjenta przedstawiono na tle przebiegów wartości średnich i wstęgi rozproszenia wyników w grupie osób zdrowych. Jeśli wykresy indywidualnych przebiegów zmian kątowych znajdują się poza obszarem wstęgi $\pm 2s$, to świadczy o patologii ruchu [22].

Na RYS. 1 i 2 zamieszczono zmiany kątowe w stawach skokowych obu kończyn w płaszczyźnie strzałkowej, uzyskane w pierwszym i drugim badaniu.

W pierwszym badaniu zaobserwowano wyraźne wydłu-

Material and methods

The research was carried out in a subject operated on twice due to the ruptures of the Achilles tendon. The first rupture was caused by the subject's hitting his right lower extremity on a metal car park barrier, and the other one resulted from the subject's feeling faint and fall. The ruptured Achilles tendon was reconstructed by means of carbon fibers in the form of suture. Two separated ends of ruptured tendon have been joined together by means of 12 parallel sewed segments of carbon sutures along the tendon axis. Such a technique was applied to 37 patients. The mechanical characteristic of carbon sutures used in this surgery is given in the TABLE 1.

The research was performed twice; the first gait test was done 6 weeks after the operation, and the other one after a 10-week cycle of rehabilitative improvement. The first record aimed at determining the present state of functioning of the operated and non-operated extremities. It was assumed that the healthy extremity would compensate the defects of motion in the operated one. The other examination targeted at the assessment of the functional state of lower extremities after rehabilitation.

The subject walked at a normal walking speed (examination one - 1.16 m/s, examination two - 1.39 m/s). The results of the above examinations were obtained by means of "Vicon 250", a system of three-dimensional analysis of motion [18]. The average values of parameters from the gait cycles with stable speed were implemented in the analysis [19]. The subject's results were shown against the background of biomechanical norm of gait, registered in the group of 50 healthy people (the average age $x = 30$ years) with no neurological chronic illnesses or orthopaedic injuries.

Having considered individual anthropometric parameters of the subject, there were calculated values of kinetic variables of motion in the ankle and knee joints [20].

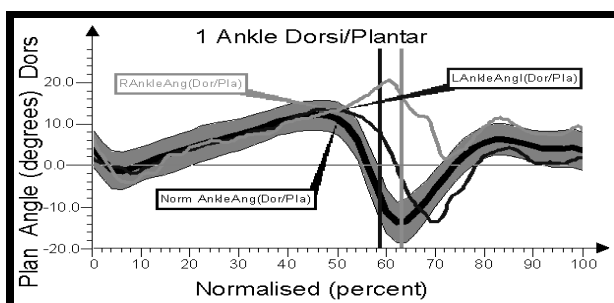
The subject's rehabilitation commenced immediately after the second tenosuture and immobilization of his lower extremity in a long plaster cast for 4 weeks in which the foot was positioned at 0° according to SFTR [21], while the knee joint was flexed at 15° - 30° . The therapy aimed at preventing muscular atrophy and debilitating the strength of the quadriceps muscle of thigh and the greatest gluteal muscle, quick assuming of erect position by the subject and eliminating contractures of soft elements, and later on increasing the weight and strength of the triceps muscle of calf.

Results

The results of examinations were presented against the background of the course of average values and the dispersion band of the results in the group of healthy people. If the curves of individual courses of angular changes are outside the area of the band $\pm 2s$, it proves the pathology of motion [22].

FIGURES 1 and 2 show angular changes in the ankle joints of both extremities in the sagittal plane from examination one and two respectively.

In examination one, there was observed distinct lengthening of amortization of the operated extremity with a simultaneous lack of plantar flexion in toe off. The range of angular changes in the sagittal plane was smaller by approximately 11° than the average value in the control group. The compensation work of the non-operated extremity resulted in lengthening its stance phase (delay of toe off) by approximately 10% (FIG.1). The subject clearly shortened the swing phase (single support phase) because of poor



RYS. 1. Zmiany kątowe w stawie skokowym w płaszczyźnie strzałkowej w badaniu przed usprawnianiem na tle wyników grupy kontrolnej.
FIG. 1. Angular changes in ankle joints within the range of dors-plantar flexion in the sagittal plane, in first of research.

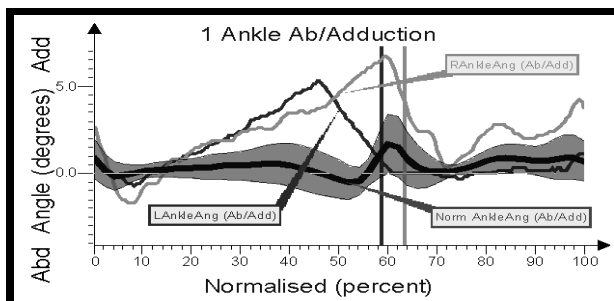
żenie fazy amortyzacji kończyny operowanej z jednoczesnym brakiem zgięcia podeszwowego stopy w fazie odbicia. Zakres zmian kątowych w płaszczyźnie strzałkowej był mniejszy o ok. 11° od średniej wartości w grupie kontrolnej. Efektem kompensacyjnej pracy kończyny nieoperowanej było wydłużenie jej fazy podporu (opóźnienie fazy odbicia) o ok. 10% (RYS. 1). Pacjent wyraźnie skracał fazę wymachu (faza jednopodporowa) ze względu na słabą stabilizację stawu skokowego po zdjęciu opatrunku gipsowego.

Po intensywnej rehabilitacji wykonano drugie badanie, w którym stwierdzono już tylko nieznaczne wydłużenie fazy amortyzacji kończyny operowanej. Pojawiło się wyraźne zgięcie podeszwowe stopy kończyny operowanej w fazie odbicia (ok. 16°), co świadczy o powrocie podstawowej funkcji mięśnia triceps surae. Pozostała nieznacznie wydłużona faza podporu obu kończyn o ok. 4% w stosunku do normy biomechanicznej (RYS. 2).

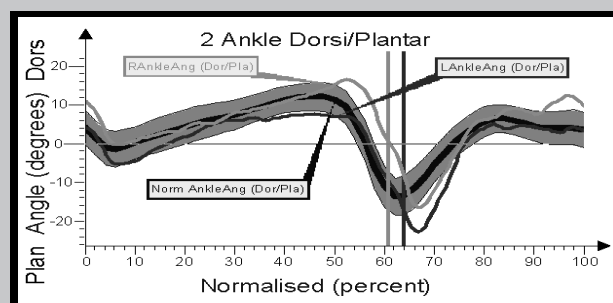
W płaszczyźnie czołowej w pierwszym badaniu zwrócono uwagę na przywiedzeniowe ustawienie stopy kończyny operowanej w chwili postawienia pięty na podłożu oraz ponadnormatywne wartości zmian kątowych w kierunku przywiedzenia stóp w fazie podporu (znacznie wyraźniejsze w kończynie operowanej).

W drugim badaniu utrzymywało się przywiedzeniowe ustawienie stopy kończyny operowanej w momencie postawienia pięty na podłożu, jednak zmniejszyło się ono z 6° do 2,5°. Porównując RYSUNKI 3 i 4, zauważono zbliżenie do normy krzywej zmian kątowych w kończynie operowanej, z bardzo wyraźnie zarysowanym ponadnormatywnym drugim szczytem przywiedzeniowym, który wystąpił w fazie przenoszenia kończyny.

Kompensacyjny charakter pracy kończyny nieoperowa-



RYS. 3. Zmiany kątowe w stawie skokowym w płaszczyźnie czołowej w badaniu przed usprawnianiem na tle wyników grupy kontrolnej: Add - przywiedzenie, Ab - odwiedzenie.
FIG. 3. Angular changes in ankle joints within the range of adduction-abduction in the frontal plane, in first of research.



RYS. 2. Zmiany kątowe w stawie skokowym w płaszczyźnie strzałkowej w badaniu po usprawnianiu na tle wyników grupy kontrolnej.
FIG. 2. Angular changes in ankle joints within the range of dors plantar flexion in the sagittal plane, in second of research.

stabilization of the ankle joint after the removal of plaster dressing.

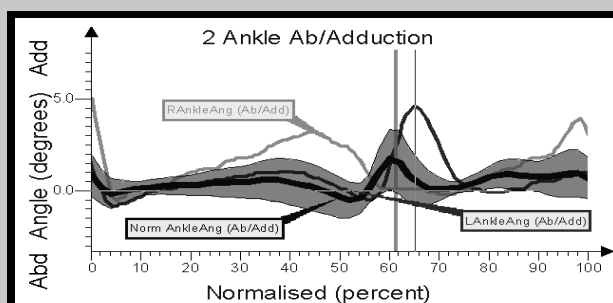
The other examination, carried out after intensive rehabilitation, revealed only insignificant lengthening of the amortization phase of the operated extremity. Distinct plantar flexion of the operated extremity appeared in toe off (about 16°) which proved the recovery of the basic function of the triceps surae. The stance phase of both extremities remained slightly longer by approximately 4% in relation to the biomechanical norm (FIG. 2).

In examination one, in the frontal plane, there was noticed the adduction position of the foot of the operated extremity in heel strike and the values of angular changes towards adduction of feet in the stance phase were higher than normal (considerably distinct in the operated extremity).

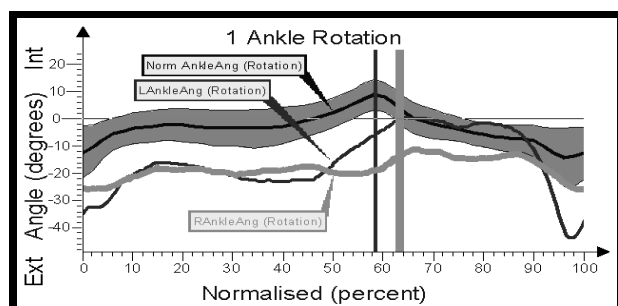
In examination two, the adduction position of the foot of the operated extremity in heel strike maintained, however, it decreased from 6° to 2.5°. While comparing FIGURES 3 and 4, it was noticed that the curve of angular changes in the operated extremity came near the norm, with a very distinct, higher than normal second full adduction apex which occurred in the swing phase.

A compensatory character of the non-operated extremity was maintained and it was manifested by a considerable adduction of the foot in toe off equalling about 7° (the average value in the control group equalled approximately 1.5°).

In examination one, in the transverse plane, the angular changes in the lower ankle joint showed characteristic shift of the range of motion in both feet towards a valgus position in the whole gait cycle by approximately 15° as compared to the average value in the control group. A distinct pronation of the non-operated foot in the final swing phase was also noticeable.



RYS. 4. Zmiany kątowe w stawie skokowym w płaszczyźnie czołowej w badaniu po usprawnianiu na tle wyników grupy kontrolnej.
FIG. 4. Angular changes in ankle joints within the range of adduction-abduction in the frontal plane, in second of research.



RYS. 5. Zmiany kątowe w stawie skokowym w płaszczyźnie poprzecznej w badaniu przed usprawnianiem na tle wyników grupy kontrolnej.
FIG. 5. Angular changes in ankle joints within the range of rotation in the transverse plane, in first of research.

nej został zachowany, co uwidoczniło się dużym przywiedzeniem stopy w fazie odbicia, które wyniosło ok. 7° (średnia w grupie kontrolnej ok. 1,5°).

W płaszczyźnie poprzecznej w stawie skokowym dolnym, w pierwszym badaniu zmiany kątowe charakteryzowały się przesunięciem zakresu w obu stopach w kierunku nawrócenia w całym cyklu chodu o ok. 15° w stosunku do średniej wartości w grupie kontrolnej oraz wyraźną pronacją stopy kończyny nieoperowanej w końcowej fazie przeniesienia (RYS.5).

W drugim badaniu nadal widoczna była ponadnormatywna pronacja stopy kończyny operowanej, głównie w fazie podporu oraz w końcowej fazie przeniesienia - maksymalny kąt rotacji wyniósł 43°. Kończyna nieoperowana wykazywała normatywny charakter zmian kątowych w fazie kontaktu stopy z podłożem (RYS.6).

Widoczne były również obszary dysfunkcji w stawach kolanowych w płaszczyźnie strzałkowej. W pierwszym badaniu (RYS.7) stwierdzono zaburzony aktywny ruch prostowania stawu kolanowego w fazie odbicia, mniejsze i opóźnione zgięcie obu kolan w fazie przeniesienia oraz niewielkie przesunięcie zakresu zmian kątowych w kolanie kończyny nieoperowanej w kierunku wyprostu w całym cyklu chodu.

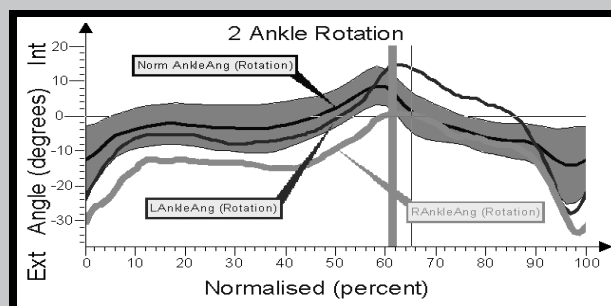
W ponownym badaniu po rehabilitacji zaobserwowano brak wyraźnych odchyśleń od normy w obrębie stawów kolanowych obu kończyn, tj. minimalną asymetrię w poszczególnych fazach cyklu chodu w obu kończynach (RYS.8).

Dyskusja

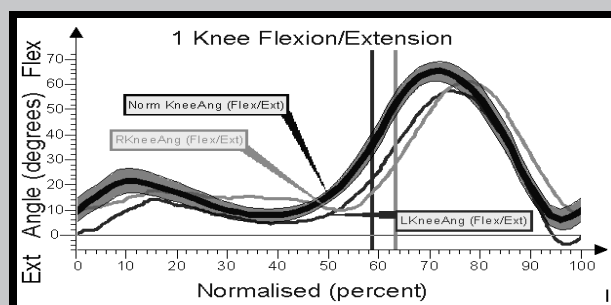
W pierwszym badaniu po operacji pacjenta zidentyfikowano wyraźne patologiczne wzorce chodu. Polegały one na ograniczeniu zgięcia podeszwowego stopy w fazie odbicia o ok. 11° w stosunku do średniej wartości w grupie kontrolnej, znacznym wydłużeniu fazy amortyzacji kończyny operowanej, ponadnormatywnym przywiedzeniowym i pronacyjnym ustawieniu stopy kończyny operowanej w całym cyklu chodu. Takie ustawienie stopy jest konsekwencją osłabienia mięśni odpowiadających za stabilizację stawu skokowego w czasie chodu we wszystkich płaszczyznach ruchu.

W stawie kolanowym kończyny operowanej odnotowano ograniczenie zakresu ruchu prostowania w fazie odbicia oraz zgięcia w fazie wymachu.

Patologiczna chwiejność ruchów była również widoczna w pracy kończyny nieoperowanej, która wykonywała pracę kompensacyjną. Przejawiała się ona głównie wydłużeniem fazy podporu (ok. 10%) oraz wystąpieniem podobnych ruchów stopy w płaszczyźnie czołowej i poprzecznej jak w kończynie operowanej (ponadnormatywne przywie-



RYS. 6. Zmiany kątowe w stawie skokowym w płaszczyźnie poprzecznej w badaniu po usprawnianiu na tle wyników grupy kontrolnej.
FIG. 6. Angular changes in ankle joints within the range of rotation in the transverse plane, in second of research.

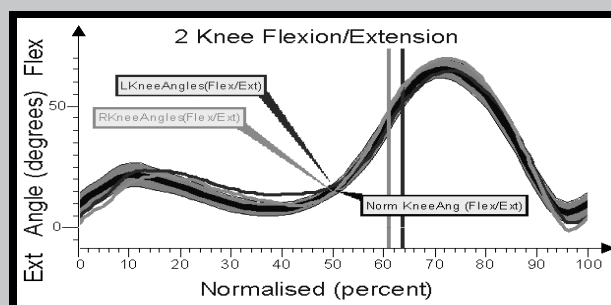


RYS. 7. Zmiany kątowe w stawie kolanowym w płaszczyźnie strzałkowej w badaniu przed usprawnianiem na tle wyników grupy kontrolnej.
FIG. 7. Angular changes in knee joints within the range of flexion and extension in the sagittal plane, in first of research.

In examination two, there was still visible higher than normal pronation of the foot of the operated extremity, mainly in the stance and the final swing phases - the maximum angle of rotation equalled 43°. The non-operated extremity showed normal character of angular changes in heel strike.

There were also observed areas of dysfunction in the knee joints in the sagittal plane. Examination one (FIG. 7) saw a disturbed active extension of the knee joint in toe off, smaller and delayed flexion of both knees in the swing phase and a little shift of the range of angular changes in the knee of the non-operated extremity towards extension in the whole gait cycle.

In post-rehabilitative examination the lack of distinct deviations from the norm within the knee joints of both extremities, i.e. only a minimum asymmetry in individual phases of the gait cycle in both extremities was observed (FIG.8).



RYS. 8. Zmiany kątowe w stawie kolanowym w płaszczyźnie strzałkowej w badaniu po usprawnianiu na tle wyników grupy kontrolnej.
FIG. 8. Angular changes in knee joints within the range of flexion and extension in the sagittal plane, in second of research.

dzenie i pronacja stopy). Ograniczony był też zakres ruchu stawu kolanowego w fazie przeniesienia.

Po okresie intensywnej fizjoterapii zaobserwowano zbliżenie wartości parametrów kinematycznych pracy stawów skokowego i kolanowego do normy biomechanicznej. Stwierdzono wyraźne zwiększenie zgięcia podszewowego stopy kończyny operowanej o ok. 16° , co świadczy o poprawieniu funkcji mięśni zginających podszewowo stopę, współpracujących ze ścięgnem Achillesa. Jest to szczególnie ważne w kontekście odciążenia w pracy mięśnia soleus przez przejmujące powoli swoje funkcje głowy mięśnia gastrocnemius.

Na korzyść zmienił się stosunek fazy podporu do fazy wymachu w całym cyklu chodu. Faza podporu uległa skróceniu, zaś faza wymachu wydłużeniu.

Wraz z powrotem do prawidłowej pracy stawów skokowego i kolanowego kończyny operowanej zmniejszyło się również kompensacyjne obciążenie kończyny nieoperowanej. Wartości parametrów kątowych powróciły w obszar wstęgi podwójnego odchylenia standardowego.

Przedstawione powyżej wyniki badań pozwalają na stwierdzenie, że pomimo 2-krotnego zerwania ścięgna Achillesa kończyny dolnej prawej u osobnika w wieku 37 lat z ponad - przeciętną - jak na ten wiek - masą ciała (105 kg) i tym samym 2-krotnego zespolenia ścięgna włóknami węglowymi w niedługim odstępie czasu (2 miesiące), da się zauważyć, że po zastosowaniu u badanego modelu usprawniania zaproponowanego przez autorów niniejszej publikacji, wszystkie badane parametry chodu, oceniane na tle parametrów charakteryzujących chód fizjologiczny zdrowych osób, wróciły do normy. Wydaje się, że przyczyną tego stanu rzeczy było szybkie wdrożenie leczenia operacyjnego materiałem węglowym z relatywnie krótkim czasem unieruchomienia (5 tygodni) i wczesne rozpoczęcie właściwie ukierunkowanej rehabilitacji.

Niniejsze opracowanie jest kontynuacją cyklu badawczego autorów, który datuje się na rok 2000. Chwała i wsp. [23], dokonując analizy aktywności bioelektrycznej mięśni trójędrowych łydki po rekonstrukcji włóknami węglowymi przerwanego ścięgna Achillesa, podczas ruchów lokomocyjnych na bieżni o zmiennej prędkości i kącie nachylenia stwierdzili podobne zależności. Wyniki badań przeprowadzonych tuż po zdjęciu po 5 tygodniach gipsu wskazywały na istnienie istotnych statystycznie różnic pomiędzy średnimi wartościami badanych parametrów w mięśniach kończyn operowanych i nieoperowanych. W miarę upływu czasu od momentu zdjęcia opatrunku gipsowego można było zauważyć występowanie istotnych związków pomiędzy aktywnością ruchową podejmowaną przez pacjentów a wartościami zmierzonych biopotencjałów (notowano coraz lepszą ekonomikę pracy mięśni).

W roku 2001 Chwała i wsp. [24] dokonali kolejnej analizy biomechanicznej u pacjentów po chirurgicznym zszyciu włóknami węglowymi przerwanego ścięgna Achillesa. Tym razem przeprowadzali pomiary: maksymalnych momentów sił mięśniowych mięśni trójędrowych łydki w warunkach statyki z wykorzystaniem pozycji standardowych, szybkości rekrutacji jednostek motorycznych mięśni trójędrowych łydki do pracy w próbie skurczu izometrycznego i odporności na zmęczenie wymienionych wyżej mięśni w próbie 20-sekundowego skurczu izometrycznego o maksymalnej intensywności.

Istotne statystycznie różnice pomiędzy średnimi wartościami parametrów w mięśniach kończyn operowanych i nieoperowanych ww. autorzy odnotowali w przypadku zmiennych charakteryzujących poziom możliwości siłowych i prędkości skurczu, nieistotne natomiast okazały się różnice w odporności na zmęczenie.

Discussion

Distinct pathological gait patterns were identified in the first examination after the subject's operation. They consisted in the restriction of plantar flexion in take off by approximately 11° in relation to the average value in the control group, considerable lengthening of the amortization phase of the operated extremity, and higher than normal adduction and pronation of the foot of the operated extremity in the whole gait cycle. Such a position of the foot results from the weakening of the muscles responsible for the stabilization of the ankle joint during the gait in all planes of motion.

Restriction of the range of extension in toe off and flexion in the swing phase were noticed in the knee joint of the operated extremity.

A pathological instability of motion was also visible in the non-operated extremity which performed compensatory work. It was mainly manifested by the lengthening of the stance phase (by approximately 10%) and occurrence of similar motions of the foot in the frontal and transverse planes as in the operated extremity (higher than normal adduction and pronation of the foot). The range of motion of the knee joint was also restricted in the swing phase.

After intensive rehabilitation, kinematic parameters of work of the ankle and knee joints came close to the biomechanical norm. There was also stated distinct increase of plantar flexion of the operated extremity by approximately 16° , which shows the improvement of the muscles flexing the foot and collaborating with the Achilles tendon. It is particularly important for the soleus muscle whose workload is slowly relieved by the heads of the gastrocnemius muscle.

The ratio of the stance phase towards the swing phase changed for the better in the whole gait cycle. The stance phase shortened and the swing phase got longer.

When the ankle and knee joints of the operated extremity returned to their normal work, the compensatory load of the non-operated extremity also decreased. The values of angular parameters returned to the area of the band of double standard deviation.

The results of the research presented above allow us to state that despite a two time rupture of the Achilles tendon in the right lower extremity in a person aged 37, with greater than average body mass at his age (105 kg), and a two time tenosuture by means of carbon fibers carried out within a short period of time (2 months), it can be noticed that after implementing a physical therapy treatment programmes suggested by the authors of this paper, all the gait parameters under research, assessed against the background of parameters characteristic of physiological gait of healthy people, returned to the norm. It seems that the above resulted from a quick surgical procedure, suture of the tendon by means of carbon fibres, a relatively short period of immobilization (5 weeks) and early implementation of properly directed rehabilitation.

On the other hand, it should be mentioned that there have been no vital reports on postoperative biomechanical observations of the Achilles tendon ruptures for a substantial period of time. Leaning on animals' investigations reports exist only. This paper is a continuation of the authors' research cycle from the year 2000. Chwała et al. [23], stated significant differences between the operated and non-operated extremities during their analysis of bioelectric activity of the triceps muscles of calf after the reconstruction of the Achilles tendon rupture by means of carbon fibres, carried out during the subject's walk on a moving track with changeable speed and slope. The results of the research performed immediately after removing the plaster cast, i.e.

W miarę upływu czasu od operacji i coraz większego stopniowanego obciążania pacjentów wysiłkami stwierdzili wyrównywanie różnic pomiędzy kończynami operowanymi a nieoperowanymi w zakresie możliwości siłowych. Cały czas notowali dysproporcje w zakresie maksymalnej prędkości skurczu mięśni, co mogło być przejawem zmniejszenia się sprężystości ścięgna w strefie zespolenia.

Na podstawie powyższych rozważań i analiz można w sposób oczywisty stwierdzić, że zszycie zerwanego ścięgna Achillesa jest obecnie metodą z wyboru. Warunkiem skuteczności leczenia operacyjnego jest właściwy dobór metody zespolenia, zależny od rodzaju uszkodzenia ścięgna oraz uzyskanie wartościowej mechanicznie blizny.

Konieczne jest objęcie dalszymi badaniami większej liczby osób w celu uzyskania wyników bardziej reprezentatywnych dla grupy osób po urazie zerwania ścięgna Achillesa i zespoleniu za pomocą różnych metod i materiałów.

Jedną z wiodących dziedzin, rozwijającą się dynamicznie w ostatnich latach, jest analiza biomechaniczna, wykorzystująca metodę trójwymiarowej analizy ruchu - zwaną analizą 3D.

Wyniki uzyskane za pomocą analizy 3D mogą być wykorzystane do różnych celów: do planowania pracy z pacjentem w kompensacji niekorzystnych zmian zdiagnozowanych w obrębie układu ruchu, a także dokumentowania postępów na etapie przywracania pacjentowi pełnej sprawności. Oprócz oceny aspektów biomechanicznych stanu funkcjonalnego aparatu ruchu, dokonanej przez ekspertów, mogą być one również wykorzystane do dokumentowania efektów pracy lekarza, czy fizjoterapeuty.

Jednym z wielu przykładów możliwego wykorzystania kinematycznej analizy trójwymiarowej stała się ocena stanu funkcjonalnego układu ruchu po zerwaniu i zespoleniu ścięgna Achillesa materiałem węglowym.

Wnioski

1. Przerwanie ciągłości struktury ścięgna Achillesa jest urazem, który wpływa w znacznym stopniu na występowanie dysfunkcji w pracy mięśni gastrocnemius, zarówno po stronie operowanej, jak i nieoperowanej kończyny.
2. Największe odstępstwa od normy biomechanicznej chodu odnotowano w zakresie zmian kątowych w stawach skokowych i kolanowych w płaszczyźnie strzałkowej.
3. Wyraźnie zarysował się brak zgięcia podszwowego stopy kończyny operowanej w fazie odbicia, co świadczy o znacznym ograniczeniu funkcji zespołu ścięgna piętowego gastrocnemius.
4. Po okresie intensywnej fizjoterapii obraz biomechaniczny pracy kończyny operowanej znacznie się poprawił (wartości analizowanych parametrów zbliżyły się do normy).
5. W leczeniu zerwanego ścięgna Achillesa powinno się stosować jego operacyjne zespolenie oraz intensywną fizjoterapię, zmierzającą do szybkiego przywrócenia funkcji operowanej kończyny i uniknięcia utrwalenia patologicznego wzorca chodu.

Podziękowania

Praca niniejsza została częściowo sfinansowana z funduszków badań statutowych prowadzonych na Wydziale Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, Akademii Górniczo-Hutniczej, projekt numer 11.11.160.116.

after the lapse of 5 weeks, showed the existence of statistically significant differences between the average values of parameters under research in the muscles of the operated and non-operated extremities. In time, counting from the moment of removing the plaster cast, it was possible to notice the occurrence of significant connections between motor activity undertaken by the subjects and the values of biopotentials measured (improved economics of the muscle work was noticed).

In 2001, Chwała et al. [24] carried out another biomechanical analysis in the subjects after a surgical suture of the Achilles tendon by means of carbon fibers prostheses. This time they measured maximum moments of muscular strength of the triceps of calf in static conditions and standard position, the recruitment speed of motor units of the triceps of calf for the isometric contraction test and resistance to fatigue of the above mentioned muscles in the test of a 20-second isometric contraction with maximum intensity.

The above mentioned authors noticed vital statistical differences between the average values of parameters in the muscles of the operated and non-operated extremities in the case of variables characterizing the level of strength possibilities and the contraction speed, whereas differences in resistance to fatigue turned out to be irrelevant.

After some time and when the subjects' gradual workload increased, the authors of this paper noticed compensation of differences between operated and non-operated extremities as for the strength possibilities. All the time there were registered disproportions within the maximum speed of muscle contraction which could have been a manifestation of decreasing the tendon elasticity within the area of suture.

Based on the above dissertation and analyses, one can obviously state that the suture of a ruptured Achilles tendon is nowadays a method of choice. A proper selection of the method conditions the effectiveness of operative treatment and depends on the type of tendon injury and achievement of a mechanically significant scar.

It is imperative to include a greater number of subjects in further research in order to obtain more objective results for a group of patients after the Achilles tendon rupture and its suture by means of different methods and materials.

Conclusions

1. The rupture of the Achilles tendon is an injury considerably affecting the occurrence of dysfunction at the work of the gastrocnemius muscles, both in the operated and non-operated extremities.
2. The greatest deviations from the biomechanical norm of gait were seen within the angular changes in the ankle and knee joints in the sagittal plane.
3. The lack of plantar flexion was visible in the operated extremity in take off proving a considerable restriction of functions in the calcaneal tendon and gastrocnemius muscle syndrome.
4. The biomechanical picture of work of the operated extremity considerably improved after intensive rehabilitation (the values of the parameters analyzed came close to the norm).
5. A surgical procedure and intensive physical therapy treatment program leading to a quick restoration of functions of the operated extremity and avoidance of strengthening the pathological gait pattern should be implemented in the therapy of a ruptured Achilles tendon.

Acknowledgements

This work was partly supported by Statute Resources of the Faculty of Materials Science and Ceramics, AGH University of Science and Technology, project no 11.11.160.116.

- [1] Athanasiou K.A., Niederauer G.C., Agrawal C.M., Sterilization, toxicity, biocompatibility and clinical applications of polylactic/polyglycolic acid copolymers, *Biomaterials* 1996;17:93-102
- [2] Parsons J.R., Rosario A., Weiss A.B., Alexander H. Repair of Achilles tendon with an absorbable polymer - carbon fiber composite. *Foot Ankle*, 1984;5:49-53
- [3] DeFranco M.J., Derwin K., Iannotti J.P., New therapies in tendon reconstruction, *Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*, Vol.12, No.5, 2004
- [4] Liem MD, Zegel HG, Balduini FC, Turner ML, Becker JM, Caballero-Saez A Repair of Achilles tendon ruptures with a polylactic acid implant: assessment with MR imaging. *AJR Am J Roentgenol*. 1991 Apr;156(4):769-73.
- [5] Goldstein-JD; Tria-AJ; Zawadsky-JP; Kato-YP; Christiansen-D; Silver-FH Development of a reconstituted collagen tendon prosthesis. A preliminary implantation study, *J-Bone-Joint-Surg-Am*. 1989 Sep; 71(8): 1183-91.
- [6] Amadio P.C., Tendon and ligament, In *Wound Healing. Biochemical and Clinical Aspects*, I.K.Cohen, R.F.Diegemann, W.J., Lindbad, ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia, PA.
- [7] Cao Y.J., Vacanti X., Ma K.T., Upton Z., Chowanski B., Schloo R. L., Generation of neo-tendon using synthetic polymers seeded with tenocytes. *Transplant.Proc.*26:3390-3391,1994
- [8] Louie L.K., Schultz - Torres L., Sullivan I.V., Spector M., Behavior of fibroblasts cultured in porous collagen - GAG copolymer matrices. In *Trans.Soc. for Biomat.*, New Orleans, L.A.
- [9] Parsons J.R., Weiss AB, Schenk RS, Alexander H, Pavlisko F. Long-term follow-up of achilles tendon repair with an absorbable polymer carbon fiber composite. *Foot Ankle*. 1989 Feb;9(4):179-84.
- [10] Assal M., Jung M., Setern R., Rippstein P., Delmi M., Hoffmeyer P., Limited open repair of Achilles tendon ruptures, *Journal of Bone and Joint Surgery*, 2002, vol.84-A no.2, 161.
- [11] Leppilä J., Orava S., Total Achilles tendon rupture. A review. *Sport Med.*, 1998, 21:791-9.
- [12] Carter T.R., Fowler P.J., Blokker C., Functional postoperative treatment of Achilles tendon repair. *Am J Sports med*. 1992;20:459-62.

- [13] Jenkins D.H.R., McKibbin B., Foster J.W., Ralis Z.A., *J.Bone Surgery*, 59-B,53,1997.
- [14] Forster I.W., Ralis Z.A., McKibbin B., Jenkins D.H.R., *Clinical Orthop.*, 131,299-3407, 1978.
- [15] Vallana F., Pasquino E., Rinaldi S., Galloni M., Gatti A.M., Modica F., Benech A., Carbofilm; Present and future applications in biological Devices, *Ceramics International*, 19,169, 1993
- [16] Gorecki A., Kus W., Pykalo R., Pampuch R., Blazewicz S., Chlopek J., Powroznik A., *Engineering of biomaterials, Polish journal*, 1, 12, 1997.
- [17] Blazewicz M., Blazewicz S., Wajler C., *Ceramics International*, 20,99,1994.
- [18] Allard P., Cappozzo A., Lundberg A., Vaughan C.L., *Three - dimensional Analysis of Human Locomotion*, Wiley et Sons New York 1997.
- [19] Vaughan C.L., Davis B.L., O'Connor J.C., *Dynamics of Human Gait*, Kiboho Publishers Cape Town South Africa, (1999).
- [20] Palmes D., Spiegel H.U., Schneider T.O., Langer M., Stratmann U., Budny T., and Probst A., Achilles tendon healing: Long-term biomechanical effects of postoperative mobilization and immobilization in a new mouse model, *Journal of Orthopaedic Research*, Volume 20, Issue 5, September 2002, Pages 939-946.
- [21] Russe O. A. Gerhardt J.J.: *International SFTR method of measuring and recording motion*. Bern, Stuttgart, Wien, H.Hubert Publishers, 1975.
- [22] Winter D. *The biomechanics and motor control of human gait: normal elderly and pathological*. University of Waterloo Press, Ontario, Canada 1991.
- [23] Chwała W., Staszków E., Walaszek R.: Analysis of bioelectrical activity of triceps surae after reconstruction of ruptured Achilles tendon. *Engineering of Biomaterials, Polish Journal*, 2000,18-23.
- [24] Chwała W., Staszków E., Walaszek R.: Analysis of kinematic parameters of locomotion and physiotherapeutic effect in subject after rupture and reconstruction of Achilles Tendon, *Engineering of Biomaterials, Polish Journal*, 2001, 21.

WPŁYW WYPEŁNIACZY NA WYBRANE FIZYCZNE WŁAŚCIWOŚCI STOMATOLOGICZNYCH MATERIAŁÓW KOMPOZYTOWYCH

JOANNA KARAŚ, LIDIA CIOŁEK

INSTYTUT SZKŁA I CERAMIKI,
UL. POSTĘPU 9, 02-676 WARSZAWA
E-MAIL: BIOCERAMIKA@NEOSTRADA.PL

słowa kluczowe: stomatologia odtwórcza, materiały kompozytowe, matryca polimerowa, wypełniacze, szkło, krzemionka koloidalna, wytrzymałość na zginanie, współczynnik nieprzezroczystości
[Inżynieria Biomateriałów, 54-55,(2006),42-45]

Wprowadzenie

Stomatologiczne materiały kompozytowe stanowią ważną grupę materiałów do odbudowy ubytków w stomatologii. Ich formuła opiera się na fakcie, że dodanie wypełniaczy do żywicy znacząco poprawia pewne właściwości kompozytów. Te materiały składają się z ciągłej fazy polimerowej z rozproszonymi w niej wypełniaczami.

THE EFFECT OF FILLERS ON PHYSICAL PROPERTIES OF DENTAL COMPOSITE MATERIALS

JOANNA KARAŚ, LIDIA CIOŁEK

INSTITUTE GLASS AND CERAMICS,
POSTĘPU ST. 9, 02-676 WARSZAWA
E-MAIL: BIOCERAMIKA@NEOSTRADA.PL

key words: restorative dentistry, composite materials, resin matrix, fillers, glass, colloidal silica, flexural strength, opacity coefficient
[Engineering of Biomaterials, 54-55,(2006),42-45]

Introduction

Dental composite materials are an important group of materials applied in restorative dentistry. Their formulation is based on the fact that the addition of inert fillers to resins can significantly improve certain properties. The materials consist of continuous resin matrix with dispersed fillers. The resin matrix usually comprises a blend of monomers of high molecular weight with at least two non saturated carbon-carbon bonds in the molecule and small quantities of initiator, activator, inhibitor, stabilizer and pigments.

Matryca polimerowa zwykle składa się z mieszaniny monomerów o względnie dużym ciężarze cząsteczkowym zawierających co najmniej dwa wiązania nienasycone węgiel-węgiel w cząsteczce i małych ilości inicjatora, aktywatora, inhibitora, stabilizatora oraz barwników.

Nieorganiczne wypełniacze modyfikowane środkami sprzęgającymi dodawane są do matrycy dla zmniejszenia skurczu polimeryzacyjnego kompozytu i nadania produktowi pożądanych właściwości użytkowych.

Celem obecnych badań była ocena wpływu mikro- i nanometrowych cząstek jako wypełniaczy na wybrane właściwości fizyczne opracowanych kompozytów przeznaczonych na stałe wypełnienia stomatologiczne.

Zakres pracy obejmował badania wytrzymałości na zginanie i porównanie współczynnika nieprzezroczystości $C_{0,70}$ badanych kompozytów z wartościami otrzymanymi dla cementów szkło-jonomerowych.

Materiały

Wytworzone kompozyty składały się z mieszaniny światłoutwardzalnych monomerów bis-GMA, TEG DMA z BHT, CQ, DEA EMA. Jako mikrowypełniacz zastosowano otrzymane w ISiC szkło o wysokim kontraście radiologicznym i średnim ziarnie $3\ \mu\text{m}$ natomiast jako nanowypełniacza użyto krzemionki koloidalnej o wielkości ziarn $7\ \text{nm}$. Wypełniacze poddano silanizacji stosując 3-metakryloksypropyltrimetoksylan (MPTMS) jako czynnik sprzęgający oraz n-propylaminę jako katalizator.

Metody badań

Wytrzymałość na zginanie

Z wytworzonych kompozytów przygotowano w formie ze stali nierdzewnej belki o wymiarach ($3 \times 3 \times 25$) mm. Na metalowej płytce przykrytej folią poliestrową umieszczano formę, napełniano kompozytem i przykrywano drugim arkuszem folii oraz drugą metalową płytką. Całość umieszczono w zacisku, aby usunąć nadmiar materiału. Następnie górną metalową płytkę zastąpiono szkiełkiem nakrywkowym i naświetlano przy użyciu lampy Heliolux II firmy Vivadent. Okienko wyjściowe źródła światła umieszczano naprzeciw szklanej płytki. Naświetlanie rozpoczynano od środka próbki. Po czasie ekspozycji przesuwano okienko o pół średnicy w kierunku brzegu próbki, tak aby naświetlany obszar nakładał się częściowo z wcześniej naświetlaną częścią. Następnie w ten sam sposób naświetlano część po drugiej stronie środka. Procedurę naświetlania powtarzano po odwróceniu formy. Po utwardzeniu obydwu stron, formę wraz z próbką wkładano do naczynia z wodą umieszczonego w suszarce utrzymującej temperaturę $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. Po 15 minutach delikatnie szlifowano papierem ściernym o ziarnie 320, aby usunąć nadmiar kompozytu i wyjmowano próbkę z formy. Wyjęte próbki zanurzano w wodzie i kondycjonowano przez 24h w temperaturze $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. Trójpunktowe zginanie wykonano przy użyciu maszyny wytrzymałościowej Lloyd Instruments LR 10K z prędkością posuwu trawersy $0,5\ \text{mm/min}$.

Wytrzymałość na zginanie, σ , obliczono w megapaskalach, z równania:

$$\sigma = \frac{3Fl}{2bh^2}$$

w którym:

F jest maksymalnym obciążeniem działającym na próbkę, w niutonach;

l jest odległością między podporami, w milimetrach,

b jest szerokością próbki zmierzona bezpośrednio przed badaniem, w milimetrach;

Lp.	Udział Weight fraction [wt%]		
	Matryca Matrix	Szkło Glass	Krzemionka Silica
1	54,3	45,7	-
2	41,1	58,9	-
3	33,5	66,5	-
4	49,3	45,7	5,0
5	36,1	58,9	5,0
6	28,5	66,5	5,0
7	44,8	45,7	9,5
8	31,6	58,9	9,5
9	24,0	66,5	9,5
10	53,8	45,5	15,0
11	28,86	58,9	12,2

TABELA 1. Składy badanych kompozytów.
TABLE 1. Compositions of the composites.

Non organic fillers modified with coupling agent were added to the matrix in order to decrease contraction of polymerisation and to reach desirable properties of the product.

The aim of the present study was to assess the influence of micrometric and nanometric particles used as fillers on selected physical properties of composites for dental restoratives.

The scope of study included flexural strength tests and comparison of opacity coefficient $C_{0,70}$ of tested composites and the values obtained for glass ionomer cements.

Materials

The experimental composites were composed of visible light curing monomer mixture: bis-GMA, TEG DMA with BHT, CQ, DEA EMA. Glass obtained in ISiC - of high radio opacity and mean particle size of $3\ \mu\text{m}$ was used as micrometric filler, and colloidal silica of particle size of $7\ \text{nm}$ was used and as nanometric filler. The fillers were modified by silanisation with the use of 3-metacryloxypropyltrimetoxysilane (MPTMS) as a coupling agent and n-propylamine as a catalyst.

Test methods

Flexural strength

Test samples of composite materials ($25 \times 2 \times 2\ \text{mm}$) were prepared in stainless steel mould. The composite material was placed in a mould positioned on a metal plate covered by a polyester film. The second piece of polyester film was placed on to the material in the mould and covered with the second metal plate. The mass in the mould was pressured in order to remove the excess of the material. One of the metal plates was replaced with a glass slide and the sample was cured with the blue light lamp Heliolux II (Vivadent). The exit window of the light source was placed against the glass plate. The irradiation started in the centre of the sample. After the recommended exposure time the exit window of the lamp was moved to the section adjacent to the centre in the way in which light overlapped the previous section by half the diameter of the exit window. Next the section on the other side of the centre was irradiated in the same way. The irradiation procedure was repeated on the other side of the sample. The sample was placed into the cabinet where the temperature of $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ was maintained. After 15 minutes the samples were removed from the mould and gently abraded with the 320 grit abrasive paper. Then they were stored in distilled water at $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ for 24 hours. The three point loading test was carried out with the use of testing machine Lloyd Instruments LR 10K with a constant

h jest wysokością próbki zmierzona bezpośrednio przed badaniem, w milimetrach

Nieprzezroczystość $C_{0,70}$

Oznaczenie nieprzezroczystości $C_{0,70}$ dla wytworzonych kompozytów wykonano przy pomocy spektrofotometru LabScan XE o geometrii 45°/0 z zastosowaniem szczeliny pomiarowej 0,25" w oświetleniu D_{65} i w warunkach obserwacji 10°. Próbki w formie krążków o średnicy 15mm i wysokości 1mm przygotowywano w formie z PTFE umieszczonej na metalowej płytce przykrytej folią poliesterową. Przygotowaną formę napełniano kompozytem i przykrywano drugim arkuszem folii oraz drugą metalową płytką. Całość umieszczano w zacisku, aby usunąć nadmiar materiału. Następnie górną metalową płytkę zastąpiono szkiełkiem nakrywkowym i naświetlano przy użyciu lampy Heliolux II firmy Vivadent. Naświetlanie rozpoczynano od środka próbki umieszczając okienko wyjściowe źródła światła naprzeciw szklanej płytki. Po czasie ekspozycji przesuwano okienko wzdłuż obwodu próbki o pół średnicy dopóki cała próbka nie została naświetlona. Drugą stronę próbki naświetlano w taki sam sposób jak pierwszą. Niezwłocznie po zakończeniu ekspozycji formę wraz z próbką przenoszono do suszarki utrzymującej temperaturę $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. Po upływie 15 minut próbki wyjmowano z formy, wkładano do wody destylowanej i kondycjonowano w $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ przez 7 dni. Nieprzezroczystość $C_{0,70}$ obliczono z równania:

$$C_{0,70} = \frac{R_B}{R_{0,70}}$$

w którym:

R_B - współczynnik odbicia na czarnym tle

$R_{0,70}$ - współczynnik odbicia na białym tle o współczynniku odbicia 70%

Wyniki badań

Wytrzymałości na zginanie otrzymanych kompozytów przy udziale od 45,7%wag. do 66,5%wag. szkła o symbolu K4M oraz przy udziale od 0,0% do 15% wag. krzemionki koloidalnej przedstawia RYS. 1.

Na podstawie otrzymanych wyników można stwierdzić, że wprowadzenie mikrowypełniacza jak i nanowypełniacza wywiera istotny wpływ na właściwości mechaniczne kompozytów. Wraz ze wzrostem udziału wagowego mikrowypełniacza można otrzymać kompozyty o wyższej wytrzymałości na zginanie. Wprowadzenie 5,0 % wag. krzemionki koloidalnej wydaje się być optymalne, ponieważ wszystkie kompozyty z takim jej udziałem niezależnie od ilości szkła posiadają najwyższą wytrzymałość na zginanie. Większa niż 5,0 % wag. ilość krzemionki koloidalnej powoduje obniżenie wytrzymałości na zginanie kompozytów prawdopodobnie z powodu powstawania aglomeratów.

Najwyższą wytrzymałość na zginanie (104,5 MPa) zanotowano dla kompozytu z udziałem 66,5% szkła i 5,0 % wag. krzemionki koloidalnej, co znacznie przekracza ustanowione odpowiednią normą wymaganie (80 MPa) dla kompozytów odpowiednich do odbudowy ubytków na powierzchni zwarciowej. To oznacza, że otrzymane kompozyty mogą być stosowane w warunkach ekstremalnych.

Oznaczone wartości nieprzezroczystości $C_{0,70}$ opracowanych kompozytów przedstawia TABELA 2.

Z przedstawionych danych wynika, że wartość współczynnika nieprzezroczystości $C_{0,70}$ zależy od udziału wypełniaczy. Uzyskane wartości dla kompozytów o maksymalnej zawartości wypełniaczy są porównywalne z wartościami w zakresie od 0,704 do 0,766 dla cementów szkło-jono-

crosshead speed of 0,5 mm/min.

The flexural strength σ was calculated in megapascals, from the following equation:

$$\sigma = \frac{3Fl}{2bh^2}$$

where:

F is the maximum load applied to the sample, in newtons;

l is the distance between the supports, in millimetres;

b is the width of the sample measured prior to testing, in millimetres;

h is the height of the sample measured prior to testing, in millimetres.

Opacity $C_{0,70}$

The opacity test was carried out for fabricated composite materials using the photometric instrument LabScan XE with geometry 45°/0 and measuring gap 0,25" with lighting D_{65} and observation conditions 10°. The samples in the shape of roundels of diameter of 15 mm and height of 1 mm were fabricated in the PTFE mould positioned on the metal plate covered by a polyester film. The composite material was placed into the mould and covered with the second piece of polyester film and with the second metal plate. Sample was pressured in order to remove the excess of the material. One of the metal plates was replaced with a glass slide and cured using the blue light lamp Heliolux II (Vivadent). The irradiation started at the centre of the sample. The exit window of the source light was placed against the glass plate. After the recommended exposure time the exit window of lamp was moved to the next section overlapping the previous section by half the diameter of the exit window. The second side of the specimen was irradiated in the same way as the first side.

Immediately after irradiation the mould with specimen was placed into the cabinet where the temperature of $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ was maintained. After 15 minutes the sample was removed from the mould and stored in distilled water at $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ for 7 days.

The opacity $C_{0,70}$ was calculated, from the equation:

$$C_{0,70} = \frac{R_B}{R_{0,70}}$$

where:

R_B - the reflectance of the black background

$R_{0,70}$ - the reflectance of the white background with the reflectance 70%

Results

The flexural strength of the obtained composites containing from 45,7wt% to 66,5wt% glass with symbol K4M and from 0,0wt% to 15,0wt% colloidal silica is shown on FIG.1.

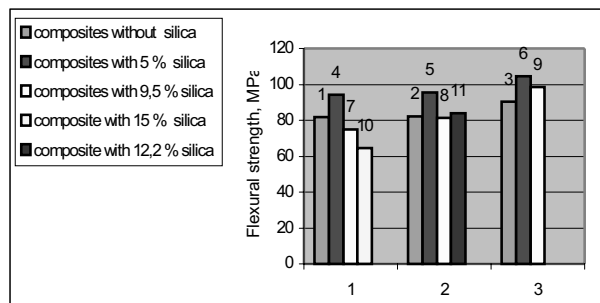
On the base of our studies it is possible to ascertain that the addition of microfiller and nanofiller improves mechanical properties of composites. With the increase of microfiller weight fraction composites with higher flexural strength can be obtained. Addition of 5,0wt% of colloidal silica seems to be optimal because all the composites samples containing it, independently from the amount of glass applied, had the highest flexural strength. But the proportion of more than 5,0wt% colloidal silica reduced the flexural strength of composites probably due to the formation of agglomerates.

The extreme flexural strength (104,5 MPa) was noted for composite with fraction of 66,5wt% glass and 5,0wt% colloidal silica, that considerably exceed the established

Ilość szkła, [%wag] Weight fraction of glass, [wt%]	Ilość krzemionki, [%wag] Weight fraction of silica, [wt%]	Nieprzezroczystość $C_{0,70}$ Opacity $C_{0,70}$
-	-	0,01
45,7	-	0,520
45,7	9,5	0,640
45,5	15,0	0,682
58,9	-	0,636
58,9	9,5	0,723
58,9	12,2	0,725
66,5	-	0,671
66,5	5,0	0,743

TABELA 2. Współczynniki nieprzezroczystości $C_{0,70}$ opracowanych kompozytów.

TABLE 2. The opacity coefficient $C_{0,70}$ of obtained composites.



RYS. 1. Wytrzymałość na zginanie kompozytów przy różnej ilości wypełniaczy.

FIG. 1. The flexural strength of composites containing different amounts of fillers.

merowych GJW Chemadent. Z tego też punktu widzenia można wyciągnąć wniosek, że optymalny udział makro- i mikrowypełniaczy nie powinien przekroczyć 71,5% wag.

Najniższy współczynnik nieprzezroczystości $C_{0,70}$ zanotowano dla próbki zawierającej 45,7% wag. szkła, podczas gdy najwyższa wartość została oznaczona dla próbek zawierających 66,5% wag szkła i 5,0 % wag. krzemionki kolooidalnej.

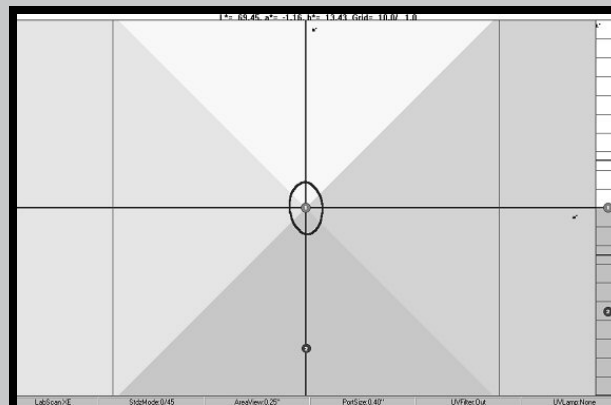
Próbka o najwyższym współczynniku nieprzezroczystości $C_{0,70}$ wykazała ciemniejszą barwę w porównaniu z próbką o najniższym współczynniku $C_{0,70}$ co należałoby brać pod uwagę przy opracowywaniu kolornika materiałów kompozytowych wg skali Vita.

Wnioski

1. Przez optymalizację wagowego udziału mikro- i nanowypełniaczy uzyskano kompozyty posiadające wysoką wytrzymałość na zginanie. Dlatego mogą być stosowane jako stomatologiczne materiały odpowiednie do odbudowy ubytków zębów położonych na powierzchni zwarciowej.
2. Wzrost udziału wagowego wypełniaczy w kompozytach wpływa na podwyższanie ich współczynnika nieprzezroczystości $C_{0,70}$.
3. Kompozyt o optymalnych właściwościach takich jak wytrzymałość na zginanie jak i nieprzezroczystość powinien zawierać maksymalnie 66,5 % wag. mikrowypełniacza i 5,0 % wag. nanowypełniacza.
4. Współczynnik nieprzezroczystości $C_{0,70}$ koreluje z barwą kompozytu w układzie $L^*a^*b^*$.

Podziękowania

Badania finansowane przez Ministerstwo Nauki i Informatyzacji w ramach 21/PBZ KBN 082/T08 2002



RYS. 2. Położenie kompozytów o najniższym i najwyższym współczynniku $C_{0,70}$ w układzie $L^*a^*b^*$ (próbka 1- $C_{0,70}=0,520$; próbka 2- $C_{0,70}=0,743$).

FIG. 2. The position of composites with lowest and highest values of opacity coefficient $C_{0,70}$ in the $L^*a^*b^*$ system (Sample 1- $C_{0,70}=0,520$; Sample 2- $C_{0,70}=0,743$).

norm requirement (80 MPa) for composites suitable for the restoration of occlusal surfaces. It means that the obtained composite could be used in extreme conditions.

The determined values of opacity $C_{0,70}$ of obtained composites are shown in the TABLE 2.

The results show that the value of opacity coefficient $C_{0,70}$ depends on the fraction of fillers. The obtained values of composites with the maximal amount of fillers are comparable with the values ranging from 0,704 to 0,766 obtained for the glass-ionomer cements GJW Chemadent.

At that point it is possible to conclude that the optimal amount of micro- and nanofiller can not be higher than 71,5%wt.

The lowest value of opacity coefficient $C_{0,70}$ was noted for samples that contained 45,7%wt. glass, whereas the highest value was noted for the samples containing 66,5%wt. glass and 5,0%wt. colloidal silica.

The sample with the highest value of the opacity coefficient $C_{0,70}$ demonstrated a darker colour in comparison with the sample which has the lowest opacity coefficient $C_{0,70}$. Elaboration of the colour scale of composite materials in accordance with the Vita scale should be taken in consideration.

Conclusions

1. By optimization of the weight fraction of micro- and nanofiller, composite materials of high flexural strength were obtained. Therefore, they can be applied as restorative dental materials suitable for restorations of cavities in the teeth involving occlusal surface.
2. The weight fraction of fillers in composite materials influences on the material's opacity coefficient $C_{0,70}$.
3. The composite material with optimal properties such as flexural strength and opacity should consist of maximum 66,5wt% of microfiller and 5,0wt% of nanofiller.
4. The opacity coefficient $C_{0,70}$ correlates with colour of the composite in $L^*a^*b^*$ system.

Acknowledgements

This research was supported by Ministry of Scientific Research and Information Technology (21/PBZ KBN 082/T08 2002).

ANTYBAKTERYJNE DZIAŁANIE ŻELU BOGATOPŁYTKOWEGO - BADANIA IN VITRO

TOMASZ BIELECKI*, TADEUSZ SZYMON GAŹDZIK*,
GRZEGORZ ZIÓŁKOWSKI**, MONIKA POMORSKA-WESOŁOWSKA**

*KATEDRA I ODDZIAŁ KLINICZNY ORTOPEDII,
ŚLĄSKA AKADEMIA MEDYCZNA, SOSNOWIEC

**ZAKŁAD MIKROBIOLOGII KLINICZNEJ,
WOJEWÓDZKI SZPITAL SPECJALISTYCZNY NR 5, SOSNOWIEC

Streszczenie

Mnogość substancji znajdująca się w płytkach, które biorą udział w procesie krzepnięcia, gojenia tkanek i odpowiedzi immunologicznej świadczy o wielkiej roli tych elementów morfotycznych krwi w fizjologii i patologii człowieka. W dostępnej literaturze nie ma publikacji na temat biomateriałów łączących zdolności pobudzenia procesów gojenia z właściwościami antybakteryjnymi.

Celem niniejszej pracy było wykazanie antybakteryjnych właściwości żelu bogatopłytkowego. Po okresie inkubacji odczytano wyniki. Średni obszar zahamowania wzrostu w zależności od rodzaju bakterii wahał się między 6,0 a 20,8 mm.

Zastosowanie wyżej wymienionego biomateriału, który posiada właściwości bakteriostatyczne i bakteriobójcze może stać się przełomem w leczeniu infekcji tkanek miękkich i ran pourazowych nie tylko w ortopedii, ale również na oddziałach chirurgii ogólnej, naczyniowej, szczękowo-twarzowej, plastycznej oraz torakochirurgii i neurochirurgii.

Słowa kluczowe: żel bogatopłytkowy, zakażenie, gronkowiec złocisty, MSSA

[Inżynieria Biomateriałów, 54-55, (2006), 46-49]

Wstęp

W płytkach krwi odkryto do tej pory ponad 30 czynników wzrostu, spośród których najważniejsze znaczenie mają PDGF (Platelet Derived Growth Factor), TGF (Transforming Growth Factor), oraz EGF (Epidermal Growth Factor) i IGF (Insulin Growth Factors). PDGF i TGF β są znanymi czynnikami niezbędnymi do regeneracji tkanek. PDGF m.in. stymuluje mitogenezę komórek macierzystych (STEM) i osteoblastów oraz angiogenezę. Poza czynnikami wzrostu płytki w swoich ziarnistościach posiadają czynniki biologicznie czynne np. serotoninę, katecholaminy oraz inne substancje. Mnogość substancji znajdująca się w płytkach, które biorą udział w procesie krzepnięcia, gojenia tkanek i odpowiedzi immunologicznej świadczy o wielkiej roli tych elementów morfotycznych krwi w fizjologii i patologii człowieka [1, 5].

Pod koniec lat 90 - tych XX wieku zaczęto zastanawiać się nad wykorzystaniem biologicznego potencjału tych elementów morfotycznych krwi w leczeniu uszkodzonych tkanek. Poprzez odwirowanie pełnej autogennej krwi otrzymano koncentrat płytek krwi tzw. surowicę bogatopłytkową (PRP). Zagęszczanie trombocytów powoduje, że wzrasta stężenie PDGF i TGF β , integryn i innych cząsteczek adhezyjnych w otrzymanym preparacie PRP. Po dodaniu trombin powstaje galaretowata masa tzw. żel bogatopłytkowy [5,9].

Aktualnie na rynku medycznym nie występują autogene materiały stosowane do leczenia zaburzeń gojenia ko-

ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF PLATELET GEL - IN VITRO STUDY

TOMASZ BIELECKI*, TADEUSZ SZYMON GAŹDZIK*,
GRZEGORZ ZIÓŁKOWSKI**, MONIKA POMORSKA-WESOŁOWSKA**

*DEPARTMENT AND CLINIC OF ORTHOPAEDICS,
MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA, SOSNOWIEC, POLAND

** DEPARTMENT OF MEDICAL MICROBIOLOGY,
DISTRICT HOSPITAL, SOSNOWIEC, POLAND

Abstract

A lot of biological substances which are contained in platelets take a part in coagulation process, tissues healing and in immunological answer, witnesses about huge role these blood elements in physiology and pathology. In literature there are no publications about biomaterials which are able to stimulate healing process and which have antibacterial features.

The aim of this experiment is to examine antimicrobial effects of platelet gel. During incubation period results were read. Average area of growth restrain in dependence on bacteria kind between 6,0 and 20,8 mm.

Using this biomaterial which own bactericidal and bacteriostatic properties can become a breakthrough in treatment tissue infections and posttraumatic wounds not only in orthopaedics but also surgery vascular, thoracic surgery maxillofacial surgery, plastics surgery and neurosurgery words.

Key words: platelet rich plasma, infection, Staphylococcus aureus, MSSA

[Engineering of Biomaterials, 54-55, (2006), 46-49]

Introduction

Until now in platelets 30 growth factors were discovered among which, the most important are PDGF, TGF, EGF and IGF. PDGF and TGF β are well known factors. The indispensable to tissue regeneration process. PDGF stimulates stem cells, osteoblasts mitogenesis and angiogenesis process. Apart from growth factors platelets in its granules have serotonin, catecholamins and other biological active substances. A lot of biological substances which are contained in platelets take part in coagulation process, tissues healing and in immunological answer, witnesses about huge role these blood elements in physiology and pathology [1,5]. In the end of 90s XX ones started to wonder about biological potential of these blood elements in damage tissues treatment. Though centrifugation autogenous blood platelet concentrate was obtained - PRP platelet- rich plasma. Platelets condensation causes that concentration of PDGF and TGF beta and other adhesive substances in received PRP is growing. Nowadays on Polish medical market there are no autogenous biomaterials for healing bone and tissue disorders. In accessible literature there are no publications about biomaterials which are able to stimulate healing process and which have antibacterial features. PRP microbiological examinations are based on CLSI advices (Clinical and Laboratory Standards Institute). Which are connected with signing tenderness by diffusion method from disc on agar gel [5, 9].

The aim

The aim of this experiment is to examine antimicrobial

ści i tkanek miękkich [3]. Również w dostępnej literaturze nie ma publikacji na temat biomateriałów łączących zdolności pobudzenia procesów gojenia z właściwościami antybakteryjnymi.

Badania mikrobiologiczne żelu bogatopłytkowego oparto na wytycznych CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) dotyczących oznaczania wrażliwości metodą dyfuzji z krążka w żelu agarowym.

Cel pracy

Celem niniejszej pracy było wykazanie antybakteryjnych właściwości żelu bogatopłytkowego.

Materiał i metody

Badania wykonywano w Katedrze i Oddziale Klinicznym Ortopedii w Sosnowcu Śląskiej Akademii Medycznej oraz Dziale Diagnostyki Laboratoryjnej Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego Nr 5 w Sosnowcu. W okresie od kwietnia do czerwca 2005 roku wykonano 11 oznaczeń właściwości bakteriobójczych żelu bogatopłytkowego. Na prowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach (zezwolenie nr NN-013-196/II/63 z dnia 02.07.2003).

Metodykę badania oparto na wytycznych CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) - dawniej NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) dotyczących oznaczania wrażliwości metodą dyfuzji z krążka w żelu agarowym (wg. Kirby-Bauer).

Do badania użyto gotowych, wystandaryzowanych podłoży Mueller-Hinton II Agar firmy Becton Dickinson. Podstawą inokulum było api® NaCl 0,85% Medium firmy bioMérieux. Właściwości bakteriobójcze badanych preparatów sprawdzano na szczepach:

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 - szczep MSSA
- *Escherichia coli* ATCC 35218 - szczep produkujący beta-laktamazę o rozszerzonym profilu substratowym (ESBL)
- *Escherichia coli* ATCC 25922
- *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 - szczep produkujący beta-laktamazę o rozszerzonym profilu substratowym (ESBL)
- *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

"ATCC" i "American Type Culture Collection" są znakami zastrzeżonymi dla American Type Culture Collection.

Wyżej wymienione szczepy (oprócz *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603) są zalecane przez CLSI do przeprowadzenia kontroli jakości krążków nasyconych preparatami przeciwbakteryjnymi używanych w metodzie dyfuzyjno-krążkowej. W pracy użyto jałowe krążki bibułowe firmy Becton Dickinson nasączone żel bogatopłytkowym. Materiał inkubowano 20 godzin w cieplarni o temp 35°C w warunkach tlenowych.

Do przygotowania żelu bogatopłytkowego z czynnikami wzrostu posłużył zestaw do izolacji płytek krwi firmy BioMet. Po pobraniu od pacjenta 54 ml krwi pełnej do strzykawki przed zabiegiem, w której znajdował się antykoagulant: 6 ml cytrynianu sodu i wstrzyknięciu jej do specjalnego zbiornika, poddano zbiornik wirowaniu przez 12 minut przy 3200 obrotów/min. Otrzymano 3 warstwy - między warstwą 1 i 2 widoczny był biały korzuszek, który stanowiły płytki krwi. Następnie za pomocą 30 ml strzykawki pobierano surowicę ubogopłytkową (PPP) ze zbiornika. Przez 30 sekund ruchami okrężnymi wstrząsano zbiornikiem i 10 ml strzykawką izolowano 6 ml surowicy bogatej w płytki (PRP). Do specjalnej dwukaniulowej igły podłączano dwie strzy-

effects of platelet gel.

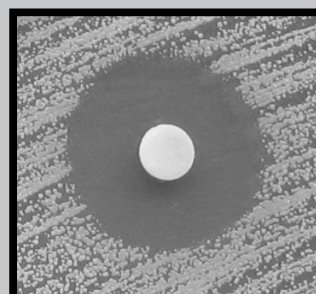
Material and methods

Experiments were performed at Department and Clinic Orthopaedics Silesian Medical University in Sosnowiec and in Diagnostic Laboratory Section in District Hospital in Sosnowiec. Since April until June 2005 11 marks of bactericidal PRP properties were performed. To realize experiments, permission of Bioethical Commission was obtained. Experimental method was based on CLSI advices which consider tenderness signing by diffuse method from agar disc (Kirby-Bauer method).

Baseline antimicrobial activity was assessed by measuring the zones of inhibition. Agar plates were coated with one of the following strain: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (MSSA), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (ESBL), *Escherichia coli* ATCC (25922), *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. These strains (apart from *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603) are advised by CLSI to perform control of quality discs with antimicrobial substances which are used in disc-diffusion method. In this experiment sterile discs Becton Dickinson Firm with PRP were used. Specimens were incubated for 20 hours in 35 degree temperature in oxygen presence.

The PRP was prepared by extracting blood from the patient before operation and by using a cell separator to sequester and concentrate the platelets.

Venous blood was obtained from 9 patients. 54 ml of whole blood was drawn from the patient into syringe with 6 ml sodium citrate to achieve anticoagulation. Next the blood was drawn into sterile tube and centrifuged. Whole blood was placed at a rate of 12 minutes, with a centrifuged speed of 3600 RPM (Biomet separator). The blood was centrifuged into its three basic components: red blood cells, platelet rich plasma (PRP) sometimes referred to as "buffy coat", and platelet poor plasma (PPP). Because of differential densities, the red blood cell layer forms at the lowest level, the PRP layer in the middle and PPP layer at the top. The cell separator separates each layer from the less dense to the more dense; therefore, it separates PPP first and PRP



RYS. 1. Strefa zahamowania wzrostu *Staphylococcus aureus* przez żel bogatopłytkowy.

FIG. 1. Zone of inhibition produced by PG to *Staphylococcus aureus*.

SZCZEPY (STRAINS)	ŻEL (PG)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	20,8
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	12,1
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	11,0
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	6,0
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	6,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	6,0

TABELA 1. Strefy zahamowania wzrostu badanych substancji przy użyciu szczepów wzorcowych (wartości średnie).

TABLE 1. Inhibition zones of growth of the substances by using basic strains (average values).

kawki, jedną z PRP, drugą z chlorkiem wapnia i trombiną. Tak przygotowaną podwójną strzykawkę z podwójną ka- niułą używano w doświadczeniu.

Wyniki

Po okresie inkubacji odczytano wyniki. Średni obszar zahamowania wzrostu w zależności od rodzaju bakterii wahał się między 6,0 a 20,8 mm (RYS. 1, TABELA 1). W przypadku *Pseudomonas aeruginosa* na krążku nasączo- nym żel bogatopłytkowym rozwijały się kolonie tej bak- terii.

Dyskusja

Surowica bogatopłytkowa dzięki swoim właściwościom hamowania krwawienia jest wykorzystywana w kardio- i torakochirurgii, szczególnie w zabiegach przeszczepów płuc i serca, a także w operacjach w przypadku zmniejszonej krzepliwości krwi [2,4].

PRP jest często wykorzystywana na oddziałach opa- rzeniowych oraz zajmujących się leczeniem trudno goją- cych się ran [3]. Czynniki wzrostu pochodzące z odwirowa- nej krwi po raz pierwszy zostały zastosowane przez Knighton'a u chorych z przewlekłymi owrzodzeniami skóry. Sto- sując dwa razy dziennie surowicę z czynnikami wzrostu za- obserwowano na wygojenie ran u 17 z 21 leczonych pacjen- tów [8].

Glover i współpracownicy wykonali badania retrospek- tywne u 3830 pacjentów z trudno gojącymi się ranami w przebiegu cukrzycy, niewydolności naczyń żylnych i tętni- czych oraz schorzeń autoimmunologicznych [6]. W grupie kontrolnej uzyskali oni wygojenie ran u 50,8% natomiast w doświadczałnej, gdzie zastosowano PRP w 65,7% przypad- ków. U chorych z trudno gojącymi się ranami w przebiegu cukrzycy odsetek wygojeń wynosił bez i po zastosowaniu PRP odpowiednio w 46,6 i 66,8%. U osób z ranami po- wstałymi na tle schorzeń grupy autoimmunoagresji autorzy uzyskali w grupie kontrolnej 64%, a po podaniu PRP 67% dobrych wyników klinicznych.

Żel bogatopłytkowy jest coraz częściej stosowany na oddziałach ortopedii do leczenia zaburzeń wzrostu kości. Sta- nowią one powikłanie około 5-10 % wszystkich złamań. W złamaniach otwartych powikłanych zakażeniem ich odse- tek zwiększa się do 40-50%. Leczenie zakażonych stawów rzekomych stanowi jedno z największych wyzwań dla leka- rza ortopedy [3]. Po wszczepieniu biomateriałów mających pobudzić procesy regeneracji tkanki kostnej do miejsca in- fekcji, istnieje ogromne ryzyko zaostrzenia procesów za- palnych, ponieważ przeszczepy stają się doskonałą pożywką dla rozwoju bakterii. Z tego powodu firmy farmaceutycz- ne zaczęły produkować biomateriały o właściwościach osteo- kondukcyjnych połączonych z antybiotykiem np. teikoplaniną [3, 7, 10].

W dostępnej literaturze nie ma doniesień na temat za- stosowania PRP oraz innych biomateriałów osteoindukcyj- nych, które posiadałyby właściwości bakteriostatyczne czy bakteriobójcze.

Przedstawione wyniki badań mają charakter doniesie- nia wstępnego. Zastosowana metoda CLSI do oceny wła- ściwości antibakteryjnych żelu bogatopłytkowego jest po- wszechnie uznaną techniką oceny wrażliwości danego szczepu na badane preparaty przeciwbakteryjne (antybio- tyki i chemioterapeutyki), w której zachodzi dyfuzja substan- cji z krążka bibułowego do podłoża stałego, na które nanie- siono zawieszinę bakteryjną o określonej gęstości. Miara wrażliwości badanego szczepu jest wielkość średnicy strefy zahamowania wzrostu wokół krążka nasyczonego bada-

second, leaving the residual red blood cells.

Then the top yellow serum component PPP was removed into 30 ml syringe. Next the tube was shaken vigorously for 30 seconds to suspend platelets and then 10 ml syringe was connected to the tube to extract PRP.

The PRP application requires initiating the coagulation pro- cess with a mixture of 10 ml 10% calcium chloride mixed with 10 000 units of bovine thrombin. For PRP application an individual 10 ml sterile syringe for each mix was used (Biomet). Each mix draws in order: 6 ml of PRP, 1 ml of calcium chloride/ thrombin mix, and 1 ml of air to act as a mixing bubble. The syringe was gently agitated to initiate clotting (gelling). The PRP was stored in the operating room at room temperature until we were ready for its use.

Then, the platelet rich plasma was placed on the surgical field into a sterile syringe.

Results

During incubation period results were read. Average area of growth restrain in dependence on bacteria kind between 6,0 and 20,8 mm (FIG. 1, TABLE 1). In a case of *Pseu- domonas aeruginosa* on disc with platelet platelet-rich plasma, bacteria were developed.

Discussion

Platelet rich plasma due to its features of blood restrain- ing is used in cardio and thoracic surgery especially in lungs and heart transplantations and in operations connected with increase of blood coagulation. PRP is used very often on burn words with difficult healing wounds [2,3,4]. Growth fac- tors derived from centrifuged blood for the first time were used by Knighton in patients with chronic skin ulcerations. Using twice a day platelet- rich plasma with growth factors he observed healing wounds in 17 from 21 treated patients [8].

Glover et al made retrospective examinations in 3830 patients with difficult wounds healing in patients with diabe- tes, veins and arteries insufficiency and autoimmunological diseases. They received in control group healing wounds in 50,8% cases and in experimental group where PRP was used in 65□7,7% cases. In patients with difficult wounds healing with diabetes percentage of healing amount to with- out and with using PRP appropriate 46,6% and 66,8%. In patients with wounds which appeared on a background of the autoimmunological diseases the authors received in con- trol group 64% and after PRP application 67% good clinical results [6].

Platelet rich plasma is now often and often used on or- thopaedics words in treating disturbances in bone healing. These diseases represent complications in 5-10% fractures. In open fractures which are complicated by infection its per- centage growth until 40%-50% [3]. Treatment of infected non unions is one of the biggest challenge for orthopaed- ics. After biomaterial implantation, which can stimulate bone regeneration process to infection place, there is a huge risk of exacerbation inflammatory process, because transplants become excellent culture medium for bacteria growth. That is why pharmaceutical companies start produce biomaterials about osteoconductive properties which are connected with antibiotics, for example with teikoplanin [3,7,10].

In accessible literature there are no informations about using PRP and other osteoconductive biomaterials which could own bactericidal and bacteriostatic properties. Pre- sented results are preliminary report. CLSI method used to estimate PRP antibacterial properties is popular technique for estimation of sensitive strain on examined antibacterial

ną substancją i/lub preparatem.

Wyniki badań wskazują, iż żel bogatopłytkowy ma działanie bakteriobójcze w stosunku do *Staphylococcus aureus*. Strefy zahamowania wzrostu mieściły się w granicach "wrażliwy" dla większości antybiotyków stosowanych w leczeniu zakażeń tymi drobnoustrojami, co może sugerować terapeutyczne użycie tego preparatu nawet w klinicznie rozpoznanych zakażeniach wywołanych przez szczepy *Staphylococcus aureus* MSSA. Strefy zahamowania wzrostu dla *Escherichii coli* były na granicy "wrażliwy" i "średniowrażliwy". Nie zaobserwowano żadnego działania w stosunku do *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* oraz *Pseudomonas aeruginosa*. Wydaje się, iż w zakażeniach z udziałem tych bakterii żel bogatopłytkowy nie powinien być stosowany. W przypadku *Pseudomonas aeruginosa* widoczny był rozwój kolonii tej bakterii na krążku nasączonym żelem bogatopłytkowym. Może to świadczyć, że żel bogatopłytkowy jest pożywką dla tych bakterii.

Nie znamy mechanizmów antybakteryjnego działania żelu bogatopłytkowego. Stwierdziliśmy w nim znacznie podwyższony poziom laktoferyny, który pośrednio świadczy o liczbie neutrofi. Ponadto zaobserwowaliśmy, iż liczba leukocytów w preparacie była średnio 7,1 razy wyższa niż w krwi obwodowej [3]. Być może za działanie przeciwbakteryjne żelu bogatopłytkowego odpowiedzialne są leukocyty. Potwierdzenie tej tezy wymaga dalszych badań.

Zastosowanie wyżej wymienionego biomateriału, który posiada właściwości bakteriostatyczne i bakteriobójcze może stać się przełomem w leczeniu infekcji tkanek miękkich i ran pourazowych nie tylko w ortopedii, ale również na oddziałach chirurgii ogólnej, naczyniowej, szczególnie-twarzowej, plastycznej oraz torakochirurgii i neurochirurgii. Naszym zdaniem ten kierunek badań rokuje duże nadzieje i powinien być kontynuowany.

Wnioski

1. Żel bogatopłytkowy wykazuje działanie bakteriobójcze w stosunku do *Staphylococcus aureus* oraz *Escherichia coli*.
2. Strefy zahamowania wzrostu dla *Staphylococcus aureus* MSSA mieszczą się w granicach "wrażliwy" dla większości antybiotyków stosowanych w leczeniu zakażeń tymi drobnoustrojami.
3. Żel bogatopłytkowy nie wykazuje działania antybakteryjnego w stosunku do *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* oraz *Pseudomonas aeruginosa*.

Piśmiennictwo

- [1] Anitua E., Adria I., Sanchez M., Azofra J., Zalduendo M., Fuente M., Nurden P., Nurden A.: Autologous preparations rich in growth factors promote proliferation and induce VEGF and HGF production by human tendon cells in culture. *J Orthop Res.* 2005, 23: 281-286.
- [2] Aspenberg P., Virchenko O.: Platelet concentrate injection improves Achilles tendon repair in rats. *Acta Orthop Scand.* 2004, 75: 93-99.
- [3] Bielecki T., Gaździk T.Sz., Cieślak-Bielecka A., Cieślak T.: Using the platelet rich plasma in treatment of nonunions and cystes - preliminary report. *Acta Chirurg Orthop Traum Cechosl.* 2004, 1: 55-56.
- [4] Della Valle A., Sammartino G., Marenzi G., Tia M., Espedito di Lauro A., Ferrari F., Lo Muzio L.: Prevention of postoperative bleeding in anticoagulated patients undergoing oral surgery: use of platelet-rich plasma gel. *J Oral Maxillofac Surg.* 2003, 61: 1275-1278.
- [5] Dugrillon A., Eichler H., Kluter K.H.: Autologous concentrated platelet - rich plasma (cPRP) for local application in bone regeneration. *J Oral Maxillofac Surg.* 2002, 31: 615-619. on Sol-Gel Hydroxyapatite Coatings, *Bioceramics*, 10 1997, 175-78.

specimens (antibiotics and chemioterapeutics) in which occurs substances diffusion from filter paper disc vehicle on which bacterial suspension about defined density was put. Sensitivity measure of examined strain is size of diameter restrain zone around disc which is saturate by examined substance or/and with specimen.

Results point on the fact that PRP has antibacterial activity towards *Staphylococcus aureus*. Growth restrain zones were contained in "sensitivity" for most antibiotics which were used in treatment of these bacterial infections, what can suggest therapeutic using this specimen even in clinical recognized infections caused by *Staphylococcus aureus* strain MSSA. Growth restrain zones for *Escherichia coli* were on limit "sensitivity" and "middle sensitivity". Activity towards *Klebsiella pneumoniae* was not observed. It seems that in infections with participations of these bacteria PRP should not be used. In case of *Pseudomonas aeruginosa* development of this bacterial colony on disc with PRP was visible. It can testify that platelet gel can be culture medium for these bacteria. We do not know mechanisms of antibacterial activity PRP. We ascertained in it considerably elevated level of lactoferrin, which indirectly testifies about number of neutrophils. We also have observed that number of leukocytes in specimen was average 7,1 higher than in peripheral blood. Perhaps leukocytes are responsible for antibacterial function of PRP [3]. It demands more experiments. Using this biomaterial which own bactericidal and bacteriostatic properties can become a breakthrough in treatment tissue infections and posttraumatic wounds not only in orthopaedics but also surgery vascular, thoracic surgery maxillofacial surgery, plastics surgery and neurosurgery words. In our opinion this course of experiments should be continued.

Conclusions

1. Platelet gel acts bactericidal on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.
2. Growth inhibition zones for *Staphylococcus aureus* MSSA are on limit "sensitivity" for most antibiotics which are used in treatment infections caused by these bacteria.
3. Platelet-rich plasma does not act antibacterial on *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* and *Pseudomonas aeruginosa*.

References

- [6] Glover J.L., Weingarten M.S., Buchbinder D.S., Poucher R.L.: A 4-year outcome-based retrospective study of wound healing and limb salvage in patients with chronic wounds. *Adv Wound Care.* 1999, 10: 33-38.
- [7] Hauser C., Zhou X., Joshi P., Cuchens M.: The immune environment of human fracture, soft tissue hematomas and its relationship to systemic immunity. *J Trauma.* 1997, 42: 895-904.
- [8] Knighton D.R., Fiegel V.D., Austin L.L., Ciresi K.F., Butler E.L.: Classification and treatment of chronic nonhealing wounds. *Ann Surg.* 1986, 3: 322-330.
- [9] Marx R.E., Carlson E.R., Eichstaedt R.M., Schimmele S.R., Strauss J.E., Goergeff K.R.: Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998, 85: 638-646.
- [10] Romin M., Delecun J., Heyman D., Deschamps C., Passuti N.: Usefulness of combining platelets with bone marrow cells on ceramic bone substitutes. *J Bone Joint Surg.* 2004, 86: 47-48.

WPLYW AUTOGENNYCH CZYNNIKÓW WZROSTU Z PŁYTEK KRWI NA PROCESY GOJENIA TKANKI KOSTNEJ - DONIESIENIE WSTĘPNE

AGATA CIEŚLIK-BIELECKA*, TOMASZ BIELECKI**,
TADEUSZ SZYMON GAŹDZIK**, TADEUSZ CIEŚLIK*

*I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ W ZABRZU, ŚLĄSKA AKADEMIA MEDYCZNA W KATOWICACH

**KATEDRA I ODDZIAŁ KLINICZNY ORTOPEDII W SOSNOWCU, ŚLĄSKA AKADEMIA MEDYCZNA W KATOWICACH

Streszczenie

Płytki krwi są elementami morfotycznymi krwi, które w dużych stężeniach zawierają naturalne czynniki wzrostu, z których dwa: PDGF i TGF beta odgrywają kluczową rolę w procesach regeneracji. Do tej pory w płytkach krwi odkryto ponad 30 czynników wzrostu, z których najważniejszymi są: PDGF (Platelet Derived Growth Factor), TGF (Transforming Growth Factor), EGF (Epidermal Growth Factor) oraz IGF (Insulin-like Growth Factor). Płytki krwi uwalniają ze swoich ziarnistości i lizosomów m.in. czynniki wzrostu stymulując w ten sposób procesy gojenia tkanki kostnej. Celem pracy była ocena wpływu żelu bogatopłytkowego na procesy gojenia tkanki kostnej.

Na podstawie uzyskanych obrazów radiologicznych oraz wyników badań densytometrycznych u pacjentów z torbielami w żuchwie zaobserwowano przyspieszenie procesu przebudowy tkanki kostnej w grupie z zastosowanym żelem bogatopłytkowym w porównaniu do grupy kontrolnej. U pacjentów z torbielami kości długich obserwowano stały proces przebudowy tkanki kostnej.

Słowa kluczowe: żel bogatopłytkowy, tkanka kostna, gojenie kości, czynniki wzrostu

[Inżynieria Biomateriałów, 54-55,(2006),50-53]

Wstęp

Procesy regeneracji tkanek są możliwe dzięki aktywacji kaskady czynników wzrostu. Płytki krwi są elementami morfotycznego krwi, które w dużych stężeniach zawierają naturalne czynniki wzrostu, z których dwa: PDGF i TGF beta odgrywają kluczową rolę w procesach regeneracji [1, 8].

Do tej pory w płytkach krwi odkryto ponad 30 czynników wzrostu, z których najważniejszymi są: PDGF (Platelet Derived Growth Factor), TGF (Transforming Growth Factor), EGF (Epidermal Growth Factor) oraz IGF (Insulin-like Growth Factor). PDGF jest glikoproteiną produkowaną przez trombocyty, ale syntetyzowaną i wydzielaną również przez makrofagi i komórki śródbłónki. Jest istotnym czynnikiem wzrostowym regulującym i rozpoczynającym wszystkie procesy gojenia, a przede wszystkim pierwszym czynnikiem wzrostu w ranie, pobudzającym rewaskularyzację, syntezę kolagenu oraz regenerację kości. Jego główną funkcją jest stymulacja mitozy, podziału komórek śródbłónki, a także regulacja działania innych czynników wzrostu i komórek. PDGF występuje w trzech formach: PDGF aa, bb, ab [1,9]. TGF jest czynnikiem wzrostu występującym w dwóch formach tj. jako TGF beta1 oraz beta2. Są to glikoproteiny produkowane przez płytki krwi, ale znajdujące się również

INFLUENCE OF AUTOGENOUS GROWTH FACTORS FROM TROMBOCYTES ON BONE HEALING PROCESSES - PRELIMINARY REPORT

AGATA CIEŚLIK-BIELECKA*, TOMASZ BIELECKI**,
TADEUSZ SZYMON GAŹDZIK**, TADEUSZ CIEŚLIK*

*I DEPARTMENT AND CLINIC OF ORAL AND MAXILLOFACIAL SURGERY IN ZABRZE, MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA, KATOWICE

**DEPARTMENT AND CLINIC OF ORTHOPEDICS IN SOSNOWIEC, MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA, KATOWICE

Abstract

Platelets are blood elements, which contain natural growth factors, from which PDGF i TGF beta play important role in regeneration processes. In platelets untill now 30 growth factors are described, from which the most important are: PDGF (Platelet Derived Growth Factor), TGF (Transforming Growth Factor), EGF (Epidermal Growth Factor) oraz IGF (Insulin-like Growth Factor). Thrombocytes growth factors release from granules and lysosoms and stimulate bone healing processes. The aim of this experiment was estimation of influence platelet rich plasma on bone healing processes.

On a base of X - rays and dual X - rays in patients with mandibular cysts it was observed that platelet rich plasma stimulates bone healing processes in experimental group. In patients with long bone cysts constant bone remodeling was observed.

Key words: platelet rich plasma, bone tissue, bone healing, growth factors

[Engineering of Biomaterials, 54-55,(2006),50-53]

Introduction

Tissues regeneration process is possible thanks to activation growth factors cascade. Platelets are cells which in high concentrations contain natural growth factors. The most important are TGF beta and PDGF which play important role in regeneration process [1, 8]. Until now over 30 growth factors were discovered from which the most important are: PDGF (Platelet Derived Growth Factor), TGF (Transforming Growth Factor), EGF (Epidermal Growth Factor) oraz IGF (Insulin-like Growth Factor). PDGF is a glycoprotein which is produced by platelets and synthesized and released also by macrophags and endothelial cells. This growth factor starts and regulates al healing processes and first of all stimulates revascularization, collagen synthesis and bone regeneration process. Its main function is mitosis and endothelial cells division stimulation, and regulation of other growth factors and cells activity. There are three types of PDGF: aa, ab, bb [1, 9].

TGF occurs in two forms: beta1 and beta2. These glycoproteins are produced by platelets and also are situated in macrophags, osteoblasts and other cells. TGF regulates multiplying and differentiation different cell types. Its main function is chemotaxis and mitogenesis of preosteoblasts and ability of collagen deposition stimulation in connective tissue healing process and bone tissue forming. TGF inhibits osteoclast forming and bone resorption [11,14]. EGF and IGF stimulate cell differentiation and en-

w makrofagach, osteoblastach, czy innych komórkach. TGF reguluje namnażanie i różnicowanie różnych typów komórek. Jego najważniejszą funkcją jest chemotaksja i mitogeneza prekursorów osteoblastów oraz zdolność pobudzania odkładania kolagenu w procesie gojenia tkanki łącznej i powstawania tkanki kostnej. TGF hamuje równocześnie procesy tworzenia osteoklastów oraz resorpcję kości [11, 14]. EGF jest czynnikiem odpowiedzialnym za różnicowanie komórek. Stymuluje on procesy powstawania nabłonka oraz angiogenezę. VEGF oraz IGF są równie ważnymi czynnikami wzrostu odpowiedzialnymi za różnicowanie komórek oraz stymulację powstawania nabłonka i angiogenezę [9].

Początkowym etapem gojenia uszkodzonej tkanki kostnej jest krwawienie, które zostaje zahamowane w wyniku przylegania płytek krwi oraz włókniaka z surowicy, w miejscu uszkodzenia naczyń krwionośnych. Płytki krwi uwalniają ze swoich ziarnistości i lizosomów m.in. czynniki wzrostu stymulując w ten sposób procesy gojenia tkanki kostnej [9, 14].

Cel pracy

Celem pracy była ocena wpływu autogennych czynników wzrostu z żelu bogatopłytkowego na procesy gojenia tkanki kostnej.

Material i metody

W I Katedrze i Klinice Chirurgii Szczękowo-Twarzowej w Zabrze oraz w Klinice Ortopedii w Sosnowcu w ramach projektu badawczego 2 PO5C 001 26 finansowanego przez KBN w okresie od października 2003 roku do listopada 2004 roku u 26 pacjentów w wieku 16-81 lat, w znieczuleniu ogólnym wykonywano zabiegi cystektomii. Pacjentów z torbielami żuchwy podzielono na 2 grupy. Grupę kontrolną stanowiło 5 pacjentów, u których wykonywano zabieg cystektomii metodą osteoplastyczną. Grupa doświadczalna obejmowała 19 pacjentów, u których w znieczuleniu ogólnym wykonywano zabiegi cystektomii metodą osteoplastyczną, z podaniem żelu bogatopłytkowego w miejsce powstałego po wyluszczeniu torbieni ubytku kostnego. Grupę trzecią stanowili 2 pacjenci, z torbielami nasady bliższej kości udowej, u których w znieczuleniu dołędźwiowym wykonywano operacje z podaniem żelu bogatopłytkowego i kości allogennej do powstałego ubytku kostnego po wyluszczeniu torbieni. Żel bogatopłytkowy uzyskiwano przy pomocy zestawu do separacji płytek firmy Biomet.

Do przygotowania żelu bogatopłytkowego służy jednorazowy zestaw do izolacji płytek krwi. Po pobraniu od pacjenta 54 ml krwi pełnej do strzykawki przed zabiegiem, w której znajduje się antykoagulant: 6 ml cytrynianu sodu i wstrzyknięciu jej do specjalnego zbiornika, poddaje się zbiornik wirowaniu przez 12 minut przy 3200 obrotów/min. Otrzymuje się 3 warstwy - między warstwą 1 i 2 widoczny jest biały kożuszek, który stanowią płytki krwi. Następnie ze zbiornika za pomocą 30 ml strzykawki pobiera się surowicę ubogopłytkową (PPP). Przez 30 sekund ruchami okrężnymi wstrząsa się zbiornikiem i 10 ml strzykawką izoluje się 6 ml surowicy bogatej w płytki (PRP). Do specjalnej dwukaniulowej igły załącza się dwie strzykawki, jedną z PRP, drugą z chlorkiem wapnia i trombiną. Tak przygotowaną podwójną strzykawkę z podwójną kaniulą używa się do doświadczenia.

W 3 dobie oraz w 3, 5, 8, 12, 18 i 24 tygodniu doświadczenia wykonywano pacjentom badania radiologiczne oraz densytometryczne. W wyznaczonych okresach badawczych pobierano pacjentom krew do oceny laboratoryjnej. W wyznaczonych okresach badawczych oznaczano liczbę leukocytów z podziałem na limfocyty, monocyty, neutrofile,

endothelium forming and angiogenesis process [11]. First stage of damaged tissue healing is bleeding which is inhibited by adhesion of platelets and fibrin from the serum in a place where blood vessels are injured. Platelets release from its granules and lysosomes growth factors and that way stimulate bone tissue healing [1, 2].

Aim

The aim of the experiment was estimation an influence of platelet rich plasma on bone healing processes.

Material and methods

From October 2003 to November 2004, 29 patients from I Department and Clinic Oral and Maxillofacial Surgery in Zabrze, Silesian Medical University, Poland and from Department and Clinic of Orthopedics in Sosnowiec Silesian Medical University, Poland were selected for the study. Patient ages ranged from 16 to 85 years. The following criteria qualified patients for the study: mandible and long bones cysts diagnosed on the basis of clinical and radiological examinations.

Patients were divided into 3 groups:

I - 5 patients with mandible cysts treated operatively without PRP - control group,

II - 19 patients with mandible cysts treated operatively with PRP - (after cyst removing PRP filled bone hole) - experimental group,

III - 2 patients with long bone cysts treated operatively with allografts and with PRP (after cyst removing PRP with auto or allograft filled bone hole).

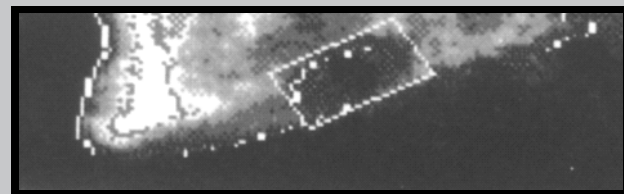
The PRP was prepared by extracting blood from the patient before operation and by using a cell separator to sequester and concentrate the platelets.

Venous blood was obtained from 9 patients. 54 ml of whole blood was drawn from the patient into syringe with 6 ml sodium citrate to achieve anticoagulation. Next the blood was drawn into sterile tube and centrifuged. Whole blood was drawn at a rate of 12 minutes, with a centrifuged speed of 3600 RPM (Biomet separator). The blood was centri-



RYS. 1. Rentgenogram torbieni zębopochodnej trzonu żuchwy. 3 doba po operacji.

FIG. 1. X-ray of dental cyst in mandible. 3 days after operation.



RYS. 2. Badanie densytometryczne żuchwy. 3 doba po operacji.

FIG. 2. Densitometrical examination of mandible. 3 days after operation.

bazofile i eozynofile, skład morfotyczny krwi oraz poziom wapnia i fosforu w surowicy krwi. Dla oceny procesów kościotworzenia i kościogubienia, przed zabiegiem operacyjnym, a także w 3, 5, 8, 12, 18 oraz 24 tygodniu po operacji, pobierano krew do oznaczania poziomów IL-1, IL-6, M-CSF, osteoprotegeryny oraz ligandu RANK metodą ELISA - badania w toku. Wyniki przeprowadzonych zostaną poddane analizie statystycznej.

Wyniki

Pacjenci byli hospitalizowani po operacji w czasie od 4-10 dni. Po zabiegach operacyjnych czuli się dobrze, rany pooperacyjne goiły się bez powikłań.

Na zdjęciach pantomograficznych żuchwy zaobserwowano, iż proces mineralizacji tkanki kostnej w 5 tygodniu obserwacji w grupie doświadczalnej był bardziej zaawansowany w porównaniu do grupy kontrolnej (RYS.1). W późniejszych okresach badawczych różnice między grupami były niewidoczne.

Wyniki badań densytometrycznych u chorych po zabiegach cystektomii w żuchwie wskazują na stały, wysoki przyrost gęstości tkanki kostnej w grupie doświadczalnej w porównaniu z grupą kontrolną (RYS.2). Począwszy od 5 tygodnia różnica między grupami była znamienista statystycznie.

U chorych z torbielami kości długich również stwierdzono stały przyrost gęstości tkanki kostnej.

Dyskusja

Proces gojenia i regeneracji tkanki kostnej nie został jeszcze w pełni poznany. Główne założenie inżynierii genetycznej stwierdza, iż aby zainicjować sterowaną regenerację tkanek i/lub sterowaną regenerację kości, wszczepione rusztowanie musi być fizycznie lub chemicznie wzbogacone w czynniki wzrostu, cytokiny, komórki autogenne [1,13].

Triadę czynników warunkujących regenerację tkanek zaproponował w 1998 roku Lynch. Zakłada ona, iż do prawidłowego i wydajnego przebiegu procesu regeneracji tkanek niezbędne są trzy składowe. Pierwszym elementem jest rusztowanie lub nośnik, którym może być materiał kostny pochodzenia autogenego lub obcego, syntetyczny materiał zarówno resorbowalny jak i nie resorbowalny oraz żel. Drugą składową stanowią cząsteczki przenoszące sygnał procesu gojenia. Przykładem takich cząsteczek są BMPs, TGFs, adhezyny, hormony, witaminy oraz zlokalizowane w ziarnistościach trombocytów czynniki wzrostu. Trzecim czynnikiem dopełniającym triadę Lyncha są komórki, na które oddziałują czynniki wzrostu, są nimi komórki niezróżnicowane - macierzyste STEM, komórki zdeterminowane np.: preosteoblasty, fibroblasty, chondroblasty, oraz komórki zróżnicowane takie jak fibrocyty i osteocyty [8].

Lynch wraz z Marxem po raz pierwszy zaproponowali również możliwość zastosowania żelu bogatopłytkowego jako autogenego biomateriału odgrywającego zasadniczą rolę w procesach przyspieszania i stymulacji gojenia tkanki kostnej [8,9]. Cechy czynników wzrostu zlokalizowanych w żelu bogatopłytkowym, w odróżnieniu od czynników rekombinowanych są biologicznie zdeterminowane. Ponieważ czynniki wzrostu stymulują procesy proliferacji komórek, można by się zastanawiać czy nie będą one stymulować procesu karcinogenezy. Obecnie wiadomo jednak, że czynniki te wykazują bezpośrednie działanie na błony komórkowe a nie na jądra, nie mają więc wpływu na procesy nowotworzenia [1,9,10].

Wytworzenie i zastosowanie żelu bogatopłytkowego stało się momentem przełomowym w badaniach nad procesa-

fuged into its three basic components: red blood cells, platelet rich plasma (PRP) sometimes referred to as "buffy coat", and platelet poor plasma (PPP). Because of differential densities, the red blood cell layer forms at the lowest level, the PRP layer in the middle and PPP layer at the top. The cell separator separates each layer from the less dense to the more dense; therefore it separates PPP first and PRP second, leaving the residual red blood cells.

Then the top yellow serum component PPP was removed into 30 ml syringe. Next the tube was shaken vigorously for 30 seconds to suspend platelets and then 10 ml syringe was connected to the tube to extract PRP.

The PRP application requires initiating the coagulation process with a mixture of 10 ml 10% calcium chloride mixed with 10 000 units of bovine thrombin. For PRP application an individual 10 ml sterile syringe for each mix was used (Biomet). Each mix draws in order: 6 ml of PRP, 1 ml of calcium chloride/ thrombin mix, and 1 ml of air to act as a mixing bubble. The syringe was gently agitated to initiate clotting (gelling). The PRP was stored in the operating room at room temperature until we were ready for its use.

The patients in the trial were examined 3 days and 3, 5, 8, 12, 18 and 24 weeks after operation. X ray and dual X ray examinations and laboratory examinations were performed.

In these periods clinical examinations were taken and the blood of the patients was taken to biochemical analysis. Levels of OB and leukocytes divided into lymphocytes, monocytes, basophiles, neutrophils, eosinophiles were measured.

Results

Patients were in the hospital since 4-10 days after surgery. After operation patients felt good, wounds healed without complications. On X-ray it was observed that bone mineralization process was faster in 5 week of observation in experimental group in comparison with control group (FIG.1) In later experimental periods differences between groups were invisible. In patients with cysts in long bones regeneration process is finished. Dual X-ray results in patients after mandible cyst removing show constant high increase of bone density in experimental group in comparison with control group (FIG.2). Since 5 week differences between groups were statistically significant. In patients with long bone cysts constant increase of bone density was observed.

Discussion

Bone regeneration and healing process is not known yet to the end. Main theory of genetics points to the fact, that in order to initiate control tissue and/or bone regeneration, implanted scaffolding has to be physically or chemically rich in growth factors, cytokines and autologous cells [12,13]. Three factors which are indispensable to tissue regeneration offered by Lynch in 1998. It establishes that to correct and efficient tissues healing course three factors are indispensable. First element is scaffolding or carrier, which can be autogenous or allogeneous bone synthetic resorptive or nonresorptive material and gel. The second elements are particles which carry on healing process signal. The example that kind of particles are: BMPs, TGFs, vitamins, hormones and growth factors which are localized in platelets granules. Third factor are cells on which growth factors influence. There are undifferentiated - native cells, determined cells: preosteoblasts, fibroblasts, chondroblasts and determined cells like fibrocyts and osteocyts [6,15].

Lynch and Marx proposed for the first time, possibility of

mi stymulacji i przyspieszania gojenia tkanek, a w szczególności tkanki kostnej. W literaturze w ostatnich latach pojawiło się szereg doniesień na temat stosowania żelu bogatopłytkowego [2, 3, 4, 10, 12, 15].

W dostępnej literaturze w badaniach prowadzonych z wykorzystaniem PRP, ocenia się wpływ tego biomateriału na procesy gojenia tkanki kostnej na podstawie wyników badań radiologicznych, densytometrycznych oraz histopatologicznych, nie ma natomiast doniesień na temat oceny wpływu PRP na podstawie analizy poziomów markerów kościotworzenia [4, 5, 6, 7].

Wnioski

Przedstawiona praca ma charakter doniesienia wstępnego. Na podstawie uzyskanych obrazów radiologicznych oraz wyników badań densytometrycznych u pacjentów z torbielami w żuchwie zaobserwowano przyspieszenie procesu przebudowy tkanki kostnej w grupie z zastosowanym żelem bogatopłytkowym w porównaniu do grupy kontrolnej. U pacjentów z torbielami kości długich obserwowano stały proces przebudowy tkanki kostnej.

Piśmiennictwo

- [1] Bielecki T., Gaździk T.Sz., Cieślík-Bielecka A., Cieślík T.: Zastosowanie żelu bogatopłytkowego jako biomateriału stymulującego procesy regeneracji i reparacji tkanek. Inżynieria Biomateriałów, 2004, 34, 22-26.
- [2] Bielecki T., Gaździk T.Sz., Cieślík-Bielecka A., Cieślík T.: Using the platelet rich plasma in treatment of nonunions and cystes - preliminary report. Acta Chirurgiae Orthopaedicae et Traumatologiae Cechoslovaca, 2004, 1, 55.
- [3] Cmolik B.: Redo cardiac surgery: Leed bleeding complications from topical thrombin-induced factor five deficiency. Thoracic and Cardiovascular Surgery, 1993, 105, 222.
- [4] Dugrillon A., Eichler H., Kern S.: Autologous concentrated platelet rich plasma (cPRP) for local application in bone regeneration. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 2002, 31, 615-619.
- [5] Jensen T.B., Rahbek O., Overgaard S., Soballe K.: Platelet rich plasma and fresh frozen bone allograft as enhancement of implant fixation an experimental study in dogs. Journal of Othopaedic Research, 2004, 22, 653-658.
- [6] Kassolis J.D.: Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft case series. Journal of Periodontology, 2000, 71, 1654-61.
- [7] Landsberg R.: Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 2000, 58, 297-300.
- [8] Lynch S.E.: The effects of short-term application of a combination of platelet-derived and insulin-like growth factors on periodontal wound healing. Journal of Periodontology, 1991, 62, 458-467.

using platelet gel as autogenous biomaterial which plays important role in stimulation bone healing process [4,10]. Growth factors features in platelets are biological determined in comparison with recombined factors. Because growth factors stimulate cell proliferation processes they could stimulate carcinogenic processes. But it is well known, that these factors influences on cell membranes not for nucleus, that is why they do no influences on neoplasia processes [3]. Forming and using platelet gel become a breakthrough in experiments on stimulation bone healing processes. Last time on literature there are many reports about using platelet gel [5, 8].

Conclusion

This is preliminary report. We observed that platelet gel enhances bone healing processes. Platelet-rich plasma can be used also with autogenous bone transplants in cysts treatment.

References

- [9] Marx R.E.: Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, 1998, 85, 638-646.
- [10] Robiony M.: Osteogenesis Distraction and Platelet-Rich Plasma for Bone Restoration of the Severely Athrophic Mandible: Preliminary Results. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 2002, 60, 630-635.
- [11] Smolik B.: Redo cardiac surgery: Leed bleeding complications from topical thrombin-induced factor five deficiency. Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery, 1993, 105, 222.
- [12] Spero J.A., Thor A.: Reconstruction of the anterior maxilla with platelet gel, autogenous bone, and titanium mesh: case report. Clinical Implant and Dental Research, 2002, 4, 150-155.
- [13] Whitman D.H., Berry R.L., Green D.M.: Platelet Gel: an autologous alternative to fibrin glue with application in oral and maxillofacial surgery. J Oral Maxillofac Surg., 1997, 55, 1294-99.
- [14] Wojtówicz A., Szostak D., Malejczyk J.: Inżynieria tkankowa w chirurgii stomatologicznej-przegląd nowych materiałów i technik. Nowa stomatologia, 2002, 19, 15-21.
- [15] Zechner W., Tangl S., Tepper G., Furst G., Bernhart T., Hass R., Mailath G., Watzek G.: Influence of platelet rich plasma on osseous healing of dental implants: a histologic and histomorphometric study in minipigs. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 2003, 18, 15-22.

OCENA WPŁYWU AUTOGENNYCH CZYNNIKÓW WZROSTU ZAWARTYCH W ŻELU BOGATOPŁYTKOWYM NA PROCESY GOJENIA TKANEK U PACJENTÓW PO PRZEBYTYCH ZABIEGACH CYSTEKTOMII W ŻUCHWIE

AGATA CIEŚLIK - BIELECKA*, TOMASZ BIELECKI**,
TADEUSZ SZYMON GAŹDZIK**, TADEUSZ CIEŚLIK*

*I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ W
ZABRZU, ŚLĄSKA AKADEMIA MEDYCZNA W KATOWICACH

**KATEDRA I ODDZIAŁ KLINICZNY ORTOPEDII W SOSNOWCU,
ŚLĄSKA AKADEMIA MEDYCZNA W KATOWICACH

Streszczenie

Proces gojenia tkanek jest ściśle związany z występowaniem bodźców uszkodzających i składa się z trzech następujących po sobie faz: fazy zapalenia, tworzenia nowej tkanki, przebudowy tkanki nowopowstałej. Szczególną rolę w procesie gojenia tkanek przypisuje się czynnikom wzrostu zawartym w ziarnistościach płytek krwi. Celem pracy była ocena wpływu czynników wzrostu zawartych w żelu bogatopłytkowym na proces gojenia tkanek u pacjentów po przebytych zabiegach cystektomii w żuchwie. Na podstawie przeprowadzonych obserwacji klinicznych stwierdzono przyspieszenie procesu gojenia błony śluzowej jamy ustnej u pacjentów z zastosowanym żelem bogatopłytkowym. U wszystkich pacjentów z zastosowanym PRP zaobserwowano zmniejszenie krwawienia śród- i pooperacyjnego.

Słowa kluczowe: żel bogatopłytkowy, czynniki wzrostu, gojenie tkanek miękkich
[Inżynieria Biomateriałów, 54-55,(2006),54-57]

Wstęp

Proces gojenia tkanek jest ściśle związany z występowaniem bodźców uszkodzających i składa się z trzech następujących po sobie faz: fazy zapalenia, tworzenia nowej tkanki, przebudowy tkanki nowopowstałej.

Pierwsza faza gojenia rozpoczyna się w ciągu godziny od uszkodzenia tkanki i trwa do 3 dni z równoczesnym tworzeniem tkanki ziarninowej. W drugim tygodniu pojawia się przebudowa czyli remodeling tkanki bliznowatej trwająca do 4 tygodni [5]. Rozróżnia się dwa typy gojenia tkanek. Proces regeneracji polega na zastąpieniu uszkodzonych komórek, komórkami tego samego typu i dotyczy kości. Proces włóknienia polega na zastępowaniu uszkodzonej tkanki, tkanką łączną. Podczas gdy proces regeneracji przebiega praktycznie bez pozostawienia śladu, wynikiem gojenia poprzez włóknienie jest blizna łącznotkankowa w miejscu uszkodzonej tkanki. Nieliczne komórki mają zdolność regeneracji uszkodzonej tkanki, w większości przypadków gojenie kończy się wytworzeniem blizny [5].

Szczególną rolę w procesie gojenia tkanek przypisuje się czynnikom wzrostu. Do tej pory w płytkach krwi odkryto ponad 30 czynników wzrostu, z czego kluczową rolę w procesach gojenia odgrywają dwa z nich TGF beta oraz PDGF [6, 8, 14].

ESTIMATION OF INFLUENCE OF GROWTH FACTORS CONTAINED IN PLATELET GEL ON TISSUES HEALING PROCESSES IN PATIENTS AFTER MANDIBLE CYST REMOVING

AGATA CIEŚLIK - BIELECKA*, TOMASZ BIELECKI**,
TADEUSZ SZYMON GAŹDZIK**, TADEUSZ CIEŚLIK*

*I DEPARTMENT AND CLINIC OF ORAL AND MAXILLOFACIAL
SURGERY IN ZABRZE, MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA, KATOWICE

**DEPARTMENT AND CLINIC OF ORTHOPEDICS IN SOSNOWIEC,
MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA, KATOWICE

Abstract

Soft tissue healing process is strongly connected with injury and consists of 3 phases: inflammatory, new tissue formation, remodeling. Main role in tissue healing processes play growth factors. Until now in thrombocytes 30 growth factors are described from which TGF beta and PDGF are the most important. The aim of this experiment was estimation of influence growth factors from platelet gel on soft tissues healing in patients after mandibular cysts removing. On a base of clinical examinations stimulation of oral mucosa healing was observed in patients with experimental group. In patients in experimental group decrease of intra and postoperation bleeding was observed.

Key words: platelet rich plasma, growth factors, soft tissue healing
[Engineering of Biomaterials, 54-55,(2006),54-57]

Introduction

Tissue healing process is strongly connected with occurring damaged impulse and consists of three phases: inflammation, new tissue formation and remodeling. First phase starts from one hour since tissue damage and lasts until three days with granulation forming. In second week cicatricial tissue remodeling appear and lasts until fourth week [5]. Two types of tissues healing are distinguished. Regeneration process which consist in replacing damaged tissue by the same cells type. Fibrillar process which consist of replacing damaged tissue by connective tissue. Some cells are able to regenerate damaged tissue, but mostly healing process is finishing by cicatrix formation [5]. Growth factors play very important role in tissues healing process. Until now in platelets over 30 growth factors were discovered, from which the most important role in healing process play: TGF beta and PDGF [6, 8, 14].

TGF is synthesized by epithelial, endothelial, connective tissue and cancer cells and also by monocytes, macrophages and platelets. It is storage by alpha granules in platelets and is released after its activation. Platelets in consequence of degranulation release TGF beta to tissue which is damaged. It functions by chemotaxis towards leukocytes and monocytes, activates angiogenesis process and stimulates other cytokines and production of inflammatory mediators. It influences on cicatrix formation [9, 15]. PDGF plays important role on different stages of embryogenesis and evolution process in healing of damaged tissues and in regeneration process [12, 13].

TGF beta syntetyzowany jest przez komórki nabłonka, śródbłonka, monocyty, makrofagi, limfocyty, komórki tkanki łącznej, komórki nowotworowe oraz przez płytki krwi. Jest on magazynowany w ziarnistościach płytek krwi i uwalniany po ich aktywacji. Płytki krwi w wyniku degranulacji alfa ziarnistości uwalniają TGF beta do uszkodzonej tkanki. Działa on chemotaktycznie w stosunku do leukocytów i monocytów, pobudza angiogenezę, stymuluje produkcję innych cytokin i mediatorów reakcji zapalnej. Wpływa na wszystkie etapy tworzenia się blizny [9, 15]. PDGF odgrywa zasadniczą rolę na różnych etapach embriogenezy i rozwoju organizmu w gojeniu się uszkodzonych tkanek oraz innych procesach naprawczych [12, 13].

Cel pracy

Celem pracy była ocena wpływu czynników wzrostu zawartych w żelu bogatopłytkowym na proces gojenia tkanek u pacjentów po przebytych zabiegach cystektomii w żuchwie.

Material i metody

W I Katedrze i Klinice Chirurgii Szcękowo-Twarzowej w Zabrze w ramach projektu badawczego 2 PO5C 001 26 finansowanego przez MNiI w okresie od października 2003 roku do listopada 2004 roku u 24 pacjentów w wieku 19-81 lat, w znieczuleniu ogólnym wykonywano zabiegi cystektomii. Pacjentów z torbielami żuchwy podzielono na 2 grupy. Grupę kontrolną stanowiło 5 pacjentów, u których wykonywano zabieg cystektomii metodą osteoplastyczną. Grupa doświadczalna obejmowała 19 pacjentów, u których w znieczuleniu ogólnym wykonano zabiegi cystektomii z podaniem żelu bogatopłytkowego w miejsce powstałego po wyluszczeniu torbieli ubytku kostnego. Żel bogatopłytkowy używano przy pomocy zestawu do separacji płytek firmy Biomet.

Po pobraniu od pacjenta 54 ml krwi pełnej do strzykawki przed zabiegiem, w której znajduje się antykoagulant: 6 ml cytrynianu sodu i wstrzyknięciu jej do specjalnego zbiornika, poddaje się zbiornik wirowaniu przez 12 minut przy 3200 obrotów/min. Otrzymuje się 3 warstwy - między warstwą 1 i 2 widoczny jest biały kożuszek, który stanowią płytki krwi. Następnie ze zbiornika za pomocą 30 ml strzykawki pobiera się surowicę ubogopłytkową (PPP). Przez 30 sekund ruchami okrężnymi wstrząsa się zbiornikiem i 10 ml strzykawką izoluje się 5-6 ml surowicy bogatej w płytki (PRP). Do specjalnej dwukaniulowej igły łączy się dwie strzykawki, jedną z PRP, drugą z chlorkiem wapnia i trombiną.

Proces gojenia błony śluzowej jamy ustnej oraz tkanek miękkich oceniano za pomocą obserwacji klinicznych.

Wyniki

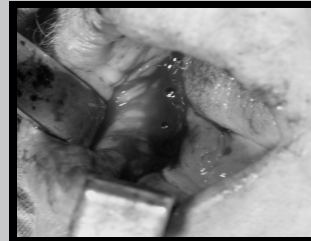
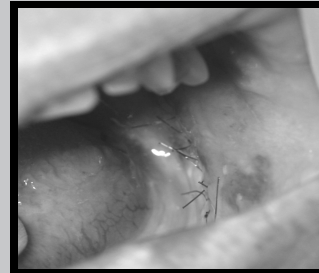
Pacjenci byli hospitalizowani po operacji w czasie 4-10 dni. Po zabiegach operacyjnych pacjenci czuli się dobrze, rany pooperacyjne goiły się bez powikłań. U pacjentów z zastosowanym żelem bogatopłytkowym w grupie doświadczalnej zaobserwowano przyspieszenie procesu gojenia błony śluzowej jamy ustnej w porównaniu do grupy kontrolnej (RYS.1). U pacjentów, u których zastosowano żel bogatopłytkowy zaobserwowano zmniejszenie krwawienia śród- i pooperacyjnego (RYS.2).

Dyskusja

Proces gojenia i regeneracji tkanek nie został jeszcze w pełni poznany, choć w czasach współczesnych dzięki

RYS. 1. Gojąca się rana po cystektomii. 6 doba po operacji z użyciem żelu bogatopłytkowego.

FIG. 1. Healing process of the wound. 6 days after operation with using platelet gel.



RYS.2.Śródoperacyjny obraz po wypełnieniu jamy torbieli żuchwy żelem bogatopłytkowym.

FIG. 2. Using platelet gel in cyst of mandible -intraoperative picture.

Aim

The aim of the experiment was estimation of influence growth factors contained in platelet rich plasma on tissues healing processes in patients after mandible cyst removing.

Material and methods

From October 2003 to November 2004, 24 patients from I Department and Clinic Oral and Maxillofacial Surgery in Zabrze, Silesian Medical University, Poland were selected for the study. Patient ages ranged from 19 to 85 years. The following criteria qualified patients for the study mandible cysts diagnosed on the basis of clinical and radiological examinations.

Patients were divided into 2 groups:

I - 5 patients with mandible cysts treated operatively without PRP - control group

II - 19 patients with mandible cysts treated operatively with PRP - (after cyst removing PRP filled bone hole) - experimental group

The PRP was prepared by extracting blood from the patient before operation and by using a cell separator to sequester and concentrate the platelets.

54 ml of whole blood was drawn from the patient into syringe with 6 ml sodium citrate to achieve anticoagulation. Next the blood was drawn into sterile tube and centrifuged. Whole blood was drawn at a rate of 12 minutes, with a centrifuged speed of 3600 RPM (Biomet separator). The blood was centrifuged into its three basic components: red blood cells, platelet rich plasma (PRP) sometimes referred to as "buffy coat", and platelet poor plasma (PPP). Because of differential densities, the red blood cell layer forms at the lowest level, the PRP layer in the middle and PPP layer at the top. The cell separator separates each layer from the less dense to the more dense; therefore it separates PPP first and PRP second, leaving the residual red blood cells.

Then the top yellow serum component PPP was removed into 30 ml syringe. Next the tube was shaken vigorously for 30 seconds to suspend platelets and then 10 ml syringe was connected to the tube to extract PRP.

The PRP application requires initiating the coagulation process with a mixture of 10 ml 10% calcium chloride mixed with 10 000 units of bovine thrombin. For PRP application an individual 10 ml sterile syringe for each mix was used (Biomet). Each mix draws in order: 6 ml of PRP, 1 ml of calcium chloride/ thrombin mix, and 1 ml of air to act as a mixing bubble. The syringe was gently agitated to initiate

szybkemu rozwojowi inżynierii genetycznej, poczyniono w tej dziedzinie znaczne postępy [16].

Gojenie tkanek jest złożonym procesem, w który zaangażowane są liczne komórki oraz czynniki humoralne. Płytki krwi poprzez uwalnianie przez nie cytokiny i czynniki wzrostu odgrywają kluczową rolę w procesach regeneracji. Proces gojenia tkanki rozpoczyna reakcja zapalna, po której dochodzi do syntezy białek macierzy zewnątrzkomórkowej. Końcowym etapem tego procesu jest przebudowa i dojrzewanie wytworzonej blizny łącznotkankowej. W tym procesie kluczową rolę odgrywają dwa czynniki wzrostu: TGF beta, PDF oraz EGF, VEGF i IGF [11].

TGF beta jest czynnikiem biorącym aktywny udział w procesach naprawczych i regeneracyjnych po uszkodzeniu tkanek [11]. Zaburzenia mechanizmów kończących procesy naprawcze tkanek, prowadzi do ich nieodwracalnego włóknienia. Odkryto, że w przebiegu idiopatycznego włóknienia płuc u ludzi oraz w wywołanym bleomycyną włóknieniu płuc u zwierząt TGF beta wytwarzany jest w dużych ilościach. Zwiększone wytwarzanie tego czynnika stwierdzono również w przebiegu retinopatii i neuropatii cukrzycowej oraz w powstawaniu zmian miażdżycowych [3,5].

Marx w swoich badaniach zastosował żel bogatopłytkowy jako autogeny biomateriał do stymulacji procesów gojenia tkanki kostnej [11]. Wytworzenie i zastosowanie żelu bogatopłytkowego stało się przełomem w badaniach nad procesami stymulacji i przyspieszania gojenia tkanek. W literaturze w ostatnich latach pojawiło się szereg doniesień na temat stosowania żelu bogatopłytkowego. Jest on stosowany w różnych dziedzinach medycyny: w kardiologii w trakcie przeszczepów płuc i serca, w neurochirurgii zwłaszcza w operacjach kręgosłupa, na oddziałach trudno gojących się ran w szczególności u pacjentów z cukrzycą, a także na oddziałach chirurgii plastycznej i rekonstrukcyjnej [3]. W stomatologii najszersze zastosowanie żel bogatopłytkowy znalazł w periodontologii oraz w implantologii [10,17].

W dostępnej literaturze w badaniach prowadzonych z wykorzystaniem PRP, ocenia się wpływ tego biomateriału na procesy gojenia tkanki kostnej, natomiast niewiele jest doniesień na temat wpływu PRP na procesy gojenia tkanek miękkich. Autorzy zgodnie podkreślają, że zastosowanie żelu bogatopłytkowego wpływa na zmniejszenie krwawienia śródoperacyjnego oraz przyspieszenie gojenia tkanek, co również udało nam się zaobserwować w naszych badaniach [1,2,4,7].

Dokładne poznanie mechanizmów związanych z procesami regeneracji i gojenia tkanek, działania czynników biorących udział w tych procesach oraz ich wzajemnego związku stanowi podstawę ewentualnych terapeutycznych modyfikacji tych procesów.

Wnioski

Na postawie przeprowadzonych obserwacji klinicznych stwierdzono przyspieszenie procesu gojenia błony śluzowej jamy ustnej u pacjentów z zastosowanym żelem bogatopłytkowym. U wszystkich pacjentów z zastosowanym PRP zaobserwowano zmniejszenie krwawienia śród- i pooperacyjnego.

clotting (gelling). The PRP was stored in the operating room at room temperature until we were ready for its use.

The patients in the trial were examined each day after operation.

Results

Patients were hospitalized after operation during 4-10 days. After operation patients felt well, wounds healed without complications. In patients with cysts in mandible in experimental group, acceleration of oral mucous healing in comparison with control group was observed (FIG. 1). In patients with PRP intra and postoperative bleeding decrease was noted (FIG.2).

Discussion

Tissue regeneration and healing process is not known finally yet, although nowadays thanks to fast development of genetics huge progress in this matter has been made [16].

Tissues healing is complex process in which many cells and humoral factors are engaged. Platelets by released cytokins and growth factors play important role in regeneration process. Tissue healing process starts since inflammatory reaction after which extracellular matrix proteins are synthesized. Final stage in this process is remodeling and maturation of connective cicatrix. In this process the most important role play two growth factors: TGF beta and PDGF [11]. TGF beta is taking part in repairing and regeneration processes after tissue damage [11]. Disturbances in repairing tissue mechanisms lead to irreversible fibrosis. It was discovered that in course of idiopathic lungs fibrosis in human and in lungs fibrosis after bleomycin treatment in animals, TGF beta is released in huge quantities. Increase of its production was also observed in course of diabetes mellitus and in atherosclerosis [3, 5].

Marx in his experiments used platelet gel as autogenous biomaterial for bone regeneration [11]. Creation and using PRP become a breakthrough in experiments on stimulation and tissue healing. In literature in last years appeared many publications about using PRP. PRP is used in cardiosurgery in heart and pulmonary transplantations, in neurosurgery especially in spinal operations, on wards with difficult healing wounds and on plastic and reconstructive surgery wards [3]. Although there are publications about using PRP in orthopedics in animal model, this biomaterial was not used in human [2, 7]. In dentistry is commonly used in periodontology and implantology [10, 17]. In accessible literature in experiments about using PRP, influence of PRP on bone healing is estimated. There are few articles about soft tissue healing. Most authors emphasize that PRP influences on intraoperative bleeding reduction stimulation tissue healing process what we have also observed in our experiments [1, 2, 4].

Making the acquaintance of processes which are connected with tissue regeneration and healing processes, acting factors which take a part in this process and its relations is a base of possible therapeutic modifications.

Conclusions

On a base of performed experiments we concluded that, platelet gel accelerates soft tissue healing process. We also observed that platelet gel decreases bleeding from the wound.

- [1] Bielecki T., Gaździk T.Sz., Cieślík-Bielecka A., Cieślík T.: Using the platelet rich plasma in treatment of nonunions and cysts - preliminary report. *Acta Chirurgiae Orthopaedicae et Traumatologiae Cechoslovaca*. 2004, 1, 55.
- [2] Bielecki T., Gaździk T.Sz., Cieślík-Bielecka A., Cieślík T.: Zastosowanie żelu bogatopłytkowego jako biomateriału stymulującego procesy regeneracji i reparacji tkanek. *Inżynieria Biomateriałów*. 2004, 34, 22-26.
- [3] Blobel G.C., Schiemann W.P., Lodish H.F.: Role of transforming growth factor beta in human disease. *N Engl J Med*. 2000, 342, 1350.
- [4] Cmolik B.: Redo cardiac surgery: Leed bleeding complications from topical thrombin-induced factor five deficiency. *Thor Cardiovasc Surg*. 1993, 105, 222.
- [5] Czarkowska-Pączek B., Przybylski J.: Mechanizmy gojenia uszkodzonych tkanek. *Przeg Lek*. 2004, 61, 39-42.
- [6] Dugrillon A., Eichler H., Kern S.: Autologous concentrated platelet rich plasma (cPRP) for local application in bone regeneration. *J Oral Maxillofac Surg*. 2002, 31, 615-619.
- [7] Jensen T.B., Rahbek O., Overgaard S., Soballe K.: Platelet rich plasma and fresh frozen bone allograft as enhancement of implant fixation an experimental study in dogs. *J Orthop Res*. 2004, 22, 653-658.
- [8] Kassolis J.D.: Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft case series. *J Periodont*. 2000, 71, 1654-61.

- [11] Błażewicz, S., (Ed.), Stoch[9]. Landsberg R.: Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation. *J Oral Maxillofac Surg*. 2000, 58, 297-300.
- [10]. Lynch S.E.: The effects of short-term application of a combination of platelet-derived and insulin-like growth factors on periodontal wound healing. *J Periodont*. 1991, 62, 458-467.
- [11]. Marx R.E.: Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1998, 85, 638-646.
- [12]. Robiony M.: Osteogenesis Distraction and Platelet-Rich Plasma for Bone Restoration of the Severely Atrophic Mandible: Preliminary Results. *J Oral Maxillofac Surg*. 2002, 60, 630-635.
- [13]. Smolik B.: Redo cardiac surgery: Leed bleeding complications from topical thrombin-induced factor five deficiency. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1993, 105, 222.
- [14]. Spero J.A., Thor A.: Reconstruction of the anterior maxilla with platelet gel, autogenous bone, and titanium mesh: case report. *Clin Impl Dent Res*. 2002, 4, 150-155.
- [15]. Whitman D.H., Berry R.L., Green D.M.: Platelet Gel: an autologous alternative to fibrin glue with application in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg*. 1997, 55, 1294-99.
- [16]. Wojtowicz A., Szostak D., Malejczyk J.: Inżynieria tkankowa w chirurgii stomatologicznej-przegląd nowych materiałów i technik. *Nowa stomatologia*, 2002, 19, 15-21.
- [17]. Zechner W., Tangl S., Tepper G., Furst G., Bernhart T., Hass R., Mailath G., Watzek G.: Influence of platelet rich plasma on osseous healing of dental implants: a histologic and histomorphometric study in minipigs. *J Oral Maxillofac Surg*. 2003, 18, 15-22.

PORÓWNANIE WGAJANIA MATERIAŁU TKANKOWEGO I PROTEZY NACZYNIOWEJ DAKRONOWEJ IMPREGNOWANEJ SOLAMI SREBRA W ZAKAŻONYM ŚRODOWISKU

ARTUR PUPKA, PAWEŁ CHUDOBA, JAN SKÓRA,
DARIUSZ JANCZAK, STANISŁAW PAWŁOWSKI, PIOTR SZYBER

KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII NACZYNIOWEJ, OGÓLNEJ I TRANSPLANTACYJNEJ AM WE WROCŁAWIU
PONIATOWSKIEGO 2, 50-326 WROCŁAW
APUPKA@CHIRN.AM.WROC.PL

Streszczenie

Celem pracy była ocena wgajania materiału tkankowego (allograftu tętniczego) i protezy impregnowanej srebrem w maszynym zakażeniu protezy naczyniowej.

W pracy przedstawiono zastosowanie przeszczepu tętniczego pobranego ze zwłok w czasie pobrania wielonarządowego (50 chorych) i impregnowanej solami srebra protezy naczyniowej (27 chorych w wieku). Badania wykonywano w Katedrze i Klinice Chirurgii Naczyniowej, Ogólnej i Transplantacyjnej Akademii Medycznej we Wrocławiu w latach 1999-2004. U wszystkich chorych wykonywano przed zabiegiem operacyjnym i w obserwacji pooperacyjnej badania obrazowe: ultrasonografię duplex-doppler i scyntyografię leukocytami znakowanymi Technetem-99.

Badaniem scyntygraficznym z użyciem leukocytów znakowanych Technetem-99m potwierdzono ustępowanie zakażenia po wymianie zainfekowanej protezy naczyniowej na homograf tętniczy i protezę impregnowaną solami srebra.

COMPARISON OF HEALING OF ARTERIAL ALLOGRAFTS AND SILVER - COATED VASCULAR PROSTHESIS IN INFECTED ENVIRONMENT

ARTUR PUPKA, PAWEŁ CHUDOBA, JAN SKÓRA,
DARIUSZ JANCZAK, STANISŁAW PAWŁOWSKI, PIOTR SZYBER

DEPARTMENT OF VASCULAR, GENERAL AND TRANSPLANTATION SURGERY WROCLAW UNIVERSITY OF MEDICINE
PONIATOWSKIEGO 2, 50-326 WROCŁAW
APUPKA@CHIRN.AM.WROC.PL

Abstract

The purpose of this study is to evaluate the use of arterial homograft and silver-coated medical prosthesis in cases of the massive vascular graft infection. In this paper the use of arterial homograft (50 patients) silver-coated medical prosthesis (27 patients) of massive dacron graft infection is presented. The study was made in the department of Vascular, General and Transplantation Surgery in Wroclaw University of Medicine in the period of years from 1999 to 2003. For lack of tissue material and because of the exclusion of extraanatomic bypass application, in situ replacement was attempted using silver-coated dacron vascular prosthesis more resistant to infection. Before and after the surgery in all patients imaging studies were performed. Duplex Doppler Ultrasound demonstrated perigraft fluid collections and the scintigraphy with use of Technetium-labeled leukocytes revealed vast migration to the infected prosthesis.

The remission of the symptoms of infection was obtained. In the postoperative follow up no perigraft fluid

Wynik badania scyntygraficznego, który wykazuje zwiększoną migrację znakowanych technetem leukocytów w kierunku zastosowanej protezy impregnowanej solami srebra, każe stosować taką protezę w zakażeniach z dużą ostrożnością i wyłącznie w stanach zagrożenia życia.

Słowa kluczowe: proteza naczyniowa impregnowana solami srebra, allograft tętniczy, infekcja protezy naczyniowej, scyntygrafia znakowanymi Tc-99 leukocytami.

[Inżynieria Biomateriałów, 54-55,(2006),57-61]

Wstęp

Infekcja po operacjach naczyniowych, w szczególności po wszczepieniu protez z materiałów sztucznych stanowi jeden z największych problemów terapeutycznych w chirurgii naczyniowej [1]. Rutynowe stosowanie protez naczyniowych spowodowało wzrost ilości leczonych operacyjnie chorych, a jednocześnie zwiększenie liczby powikłań infekcyjnych. Infekcja protezy naczyniowej jest często przyczyną kalectwa lub śmierci chorego [1-3]. Podstawą postępowania terapeutycznego jest usunięcie zakażonej protezy naczyniowej z odtworzeniem ukrwienia kończyny [1-8]. Do rekonstrukcji naczyń używa się zarówno własnych tętnic jak i żył chorego, a także materiału homologicznego - żył lub tętnic pobranych od dawcy narządów [1-3]. Zastosowanie materiału tkankowego w miejsce substancji syntetycznej ułatwia proces gojenia ogniska zapalnego. W szczególnych wypadkach, kiedy nie ma możliwości użycia materiału tkankowego auto- lub homologicznego, można zakażoną protezę naczyniową wymienić na protezę nasączaną antybiotykami lub impregnowaną solami srebra [4-7].

Materiał i metoda

Przeprowadzono badanie prospektywne, nierandomizowane. W latach 1999 - 2003 operowano w Klinice 77 chorych z ciężkim zakażeniem protezy naczyniowej, których leczenie polegało na wymianie protezy naczyniowej na homologiczny materiał tętniczy przechowywany sposobem zimnego niedokrwienia (50 chorych w wieku od 42 do 71 lat) lub na protezę o zwiększonej odporności na infekcję - proteza poliestrowa impregnowana solami srebra i uszczelniana kolagenem (27 chorych od 52 do 65 lat).

Chorych kwalifikowano do trzech grup:

- I grupa licząca 24 chorych leczonych z zastosowaniem świeżych homografów tętniczych i immunosupresją;
- II grupa licząca 26 chorych leczonych z użyciem świeżych homografów tętniczych, ale bez protekcji immunosupresji;
- III grupa obejmująca 27 chorych, których zakażoną protezę naczyniową wymieniono na protezę dakronową impregnowaną solami srebra i uszczelnianą kolagenem.

Wyniki badań opisywano posługując się badaniami obrazowymi: przede wszystkim scyntygrafia i badanie w transmisyjnym mikroskopie elektronowym, a także tomografia komputerowa, ultrasonografia z podwójnym obrazowaniem i angiografia, wykonywanymi przed i po wymianie zainfekowanej protezy na homograf tętniczy lub protezę impregnowaną solami srebra. W każdym przypadku wykonywano badania mikrobiologiczne. Kwalifikując chorych z zakażeniem protezy do przeszczepu tętniczego wykonywano u biorcy i dawcy badania grup głównych krwi, układu zgodności tkankowej HLA i wykonywano próbę krzyżową. U dawcy przeszczepu tętniczego wykonywano również badania wirusologiczne i serologiczne. Przed zabiegiem operacyjnym i obserwacji pooperacyjnej wykonywano u wszystkich chorych badania laboratoryjne, badania mikrobiologiczne

collections were observed. In the most cases positive clinical effect was obtained, the scintigraphy of implanted graft revealed its infection.

Because the scintigraphy disclosed Technetium-labeled leukocytes vast migration to the implanted graft, the application of silver coated medical prosthesis should be very cautious and limited to the critical states.

Key words: silver-coated vascular prosthesis, arterial allograft, prosthetic grafts infections, scintigraphy with use of Technetium-labeled leukocytes
[Engineering of Biomaterials, 54-55,(2006),57-61]

Introduction

The infection after vascular operations, particularly after synthetic prosthetic graft implantation, remains grave complication of vascular surgery [1]. The use of vascular prosthetic grafts caused considerable development of vascular surgery. Their routine application resulted in the increase of number of surgically treated patients as well as the enlargement of number of the infectious complications. Despite the progress of therapeutic abilities, vascular graft infection is the frequent reason of patient's invalidism or death [1-3]. Surgical treatment consists of complete removal of the infected vascular graft with the preservation of the limb circulation [1-8]. To the reconstruction of the vessels venous and arterial autografts as well as venous and arterial homografts harvested from multiorgan procurement is used [1-3]. The application of tissue material instead of synthetic substance makes healing of inflammation easier. In special cases when there is no opportunity of use of autologous or homologous material there is still possibility of use of antibiotic-bonded or silver-coated vascular prosthesis [4-7].

Material and method

Over the period of years 1999-2003 there were operated 77 patients as a result of the massive aorto-ilio-femoral graft infection. The treatment was made by replacement of infected prosthesis with the arterial homograft or polyester prosthesis impregnated with silver salts. 50 patients 42-71 old were treated with the use of fresh homograft kept by the method of cold ischemia, where as 27 patients 52-65 old were surgered with synthetic prostheses.

The patients were divided into three groups:

- 24 patients (I group) after graft implantation received 1-2 mg/kg of Cyclosporin A daily (under control of its blood levels);
- 26 patients (II group) were without immunosuppression;
- 27 patients (group III) with the use silver prostheses.

Imaging and bacteriological examinations confirmed vascular graft infection. The Duplex-Doppler Ultrasound revealed the perigraft fluid collections and the scintigraphy displayed Technetium-labeled leukocytes migration to the infected prosthesis. The infection was intraoperatively confirmed by revealing the perigraft purulent discharge. Bacteriological study of the prosthesis' surroundings from inguinal region and retroperitoneal space disclosed in all cases AB0, cross-match between donor and recipient, HLA, serology and virusology were obligatory.

Results

In all patients clinical investigations revealed massive vascular prosthesis infection with purulent fistulas in both inguinal regions and the rupture of anastomoses between

ne i badania obrazowe: USG Duplex-Doppler, scyntygrafię znakowanymi Technetem-99 leukocytami.

Wyniki

U wszystkich chorych rozpoznano badaniem klinicznym masywną infekcję protezy naczyniowej z przetokami ropnymi w obu pachwinach i krwawieniem spowodowanym nieuszczelnnością zespolenia ramienia protezy naczyniowej z tętnicą udową wspólną. Zakażenie potwierdzono badaniem Duplex-Doppler, w którym stwierdzono przestrzenie płynowe wokół protezy naczyniowej oraz przede wszystkim badaniem scyntygraficznym, z użyciem znakowanych technetem leukocytów, wykazującym ich masywną migrację do zainfekowanej protezy. Badaniem bakteriologicznym treści ropnej z przetok w pachwinach wykryto we wszystkich przypadkach bakterię *Staphylococcus aureus* MRSA (Methicillin-resistant). We wszystkich przypadkach potwierdzono obecność treści ropnej wokół protezy naczyniowej. W posiewach pobranych z okolicy protezy wykazano infekcję *Staphylococcus aureus* MRSA, identycznie jak w okolicy zespołów obwodowych. W każdym z tych przypadków usunięto zakażoną protezę naczyniową i wykonano płukanie przestrzeni zaotrzewnowej, kanałów ramion protezy i miejsc zespołów w pachwinach rozwiązaniem Betadyny. U 50 chorych zastosowano materiał tkankowy - homograft tętniczy pobrany ze zwłok w czasie pobrania wielonarządowego. Z powodu braku materiału do przeszczepu tkankowego oraz wykluczenia możliwości zastosowania przeszłowania pozaanatomicznego zdecydowano się u 27 chorych na zastosowanie protez naczyniowych dakronowych, impregnowanych srebrem. Allografty i protezy te wszyto w miejsce poprzednich zespołów. Miejsca zespołów naczyniowych obłożono gąbkami nasączonymi Gentamycyną. W leczeniu przed- i pooperacyjnym stosowano antybiotyki zgodne z otrzymanym antybiogramem (Vancomycin, Ciprofloxacin).

W badaniach obrazowych wykonywanych w kontroli pooperacyjnej do 27 miesiąca po zabiegu nie wykazano przestrzeni płynowych wokół protezy. W posiewach krwi nie stwierdzono bakteriemii. Utrzymuje się natomiast zmniejszona migracja leukocytów znakowanych Tc 99 do protezy naczyniowej w badaniu scyntygraficznym i nieznacznie podwyższony poziom białka CRP w surowicy krwi (10-20 mg/l) /3/. W innych badaniach laboratoryjnych stwierdzono spadek fibrynogenu i leukocytów do prawidłowego poziomu.

Wykazano istotne statystycznie różnice w ustępowaniu migracji leukocytów znakowanych Tc-99m w obrębie poszczególnych grup. Grupa I - Chi kwadrat ANOVA (N=12, df=6) = 69,14286 $p < ,00000$; grupa II - Chi kwadrat ANOVA (N=14, df=6) = 82,77551 $p < ,00000$; grupa III - Chi kwadrat ANOVA (N=17, df=6) = 98,34454 $p < ,00000$. W analizie scyntygramów w programie AREA TRACER wykazano zdecydowany spadek gromadzenia się leukocytów wokół homograftu tętniczego i protezy impregnowanej solami srebra (mniejsze pole powierzchni) w 6 miesiącu po zabiegu operacyjnym. Tendencja zmniejszania się pola powierzchni gromadzenia leukocytów znakowanych Tc-99m utrzymywała się we wszystkich grupach chorych do końca obserwacji (do 27 miesiąca). Największe tempo spadku obserwowano w grupie I z zastosowaniem allograftów bez immunosupresji, a najmniejsze w grupie II gdzie stosowano protekację homograftów w postaci leku obniżającego odporność (Cyklosporyna A). Powierzchnia ta była znacznie mniejsza w porównaniu z badaniami wykonanymi przed operacją. Zmniejszenie pola migracji znakowanych leukocytów w stosunku do badania przed przeszczepem tętnicy lub zastosowaniem protezy z solami srebra wynosiło ostatecznie w grupie I 36,62% (w 27 miesiącu wynosiło: mediana $77,3\text{cm}^2 \pm 5,5$, średnia $76,76\text{cm}^2 \pm 8,46$; przed zabiegiem:

the prosthesis' branch and common femoral artery that resulted with hemorrhage. The Duplex-Doppler Ultrasound demonstrating perigraft fluid collections and above all the scintigraphy displaying Technetium-labeled leukocytes vast migration to the infected prosthesis confirmed the contamination. Bacteriological examination of the purulent discharge from fistulas in inguinal regions revealed Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). All patients were prepared to in situ replacement of the infected vascular prosthesis with the arterial homograft harvested from multiorgan procurement preserved with use of cold ischemia method (50 patients) or with the silver/coated prosthesis. In all cases perigraft purulent discharge was confirmed -bacteriological study of the prosthesis surroundings disclosed Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection, analogous to the distal anastomoses. Therefore the complete removal of the infected graft, followed by lavage with use of Betadine solution of the retroperitoneal space, subcutaneous tunnels remaining after graft's branches and regions of anastomoses in groins was performed in all cases. Because biological grafts were not available and the possibility of use of extraanatomic by-passes was rejected (occlusion of the superficial femoral arteries and general disadvantages of their use), the decision was made to implant silver-coated dacron medical prosthesis. After their implantation to the primary location the gentamicin-containing collagen sponges were locally applied. In pre- and postoperative treatment the antibiotics according to the antibiogramme were used (Vancomycin, Ciprofloxacin).

In the postoperative follow up neither blood flow disturbances in the lower extremities nor clinical manifestations of infection were observed Duplex Doppler Ultrasound revealed normal flow of blood through the branches of bifurcated prosthesis and through the deep femoral arteries. In all patients primary intention healing of the surgical wounds was obtained. The imaging examinations displayed no perigraft fluid collections in the postoperative follow up to the 27th month after the surgery. Blood cultures disclosed no bacteremia. However, the symptoms of the vascular graft infection in scintigraphy and the increase level of CRP (10-20 mg/l) in patients' plasma were still present. The other laboratory tests showed decrease in the number of white blood cells and in the fibrinogen level. Grupa I - Chi kwadrat ANOVA (N=12, df=6)=69,14286 $p < ,00000$; grupa II - Chi kwadrat ANOVA (N=14, df=6)=82,77551 $p < ,00000$; grupa III - Chi kwadrat ANOVA (N=17, df=6)=98,34454 $p < ,00000$. The remission of the Tc-99 leucocytes was obtained in the group I 36,62% (in the 27 month: median $77,3\text{cm}^2 \pm 5,5$, mean $76,76\text{cm}^2 \pm 8,46$; before the surgery: $124,7\text{cm}^2 \pm 7,05$, mean $120,0\text{cm}^2 \pm 24,44$), in the group III 40,13% (in the 27 month: median $74,1\text{cm}^2 \pm 10,45$, mean $67,13\text{cm}^2 \pm 14,34$; before the surgery: $120,1\text{cm}^2 \pm 24,0$, mean $112,53\text{cm}^2 \pm 28,06$), in the group II - 44,26% (in the 27 month: median $70\text{cm}^2 \pm 6,3$, mean $66,9\text{cm}^2 \pm 14,55$; before the surgery: $127,8\text{cm}^2 \pm 7,4$, mean $120,02\text{cm}^2 \pm 22,76$). The migration of the TC-99 leucocytes was statistically significant in the group I and II in the 18 month in the observation period ($p \geq 0,015649$, test U Manna-Whitneya).

Discussion

According to the classification of infectious complications in vascular surgery after vascular prosthesis implantation all cases were established to be the III degree of Szilagys scale [1-4]. In every patient the whole prosthesis was infected and the purulent fistulas with hemorrhage from anastomoses were observed. In such massive synthetic prosthesis infection in situ replacement should be attempted using tissue graft [1-3, 8-16]. Also the prosthetic grafts more

124,7 cm²±7,05, średnia 120,0 cm²±24,44), w grupie III 40,13% (w 27 miesiącu wynosiło: mediana 74,1 cm²±10,45, średnia 67,13 cm²±14,34; przed zabiegiem: 120,1 cm²±24,0, średnia 112,53 cm²±28,06), a największe było w grupie II - 44,26% (w 27 miesiącu wynosiło: mediana 70 cm²±6,3, średnia 66,9 cm²±14,55; przed zabiegiem: 127,8 cm²±7,4, średnia 120,02 cm²±22,76). Istotnie statystycznie różnice w ustępowaniu migracji znakowanych Tc-99m leukocytów obserwowano między grupami I i II w 18 miesiącu od zabiegu operacyjnego ($p \geq 0,015649$, test U Manna-Whitneya). Nie obserwowano różnic statystycznie istotnych w zmniejszaniu się gromadzenia leukocytów znakowanych Tc-99m między grupami I i III oraz II i III. W każdym przypadku braku zmniejszenia się lub zwiększenia się pola powierzchni gromadzenia znakowanych leukocytów w stosunku do badania wykonywanego wcześniej stosowano w leczeniu antybiotyki o potwierdzonej skuteczności w antybiogramie wykonanym z zakażonej protezy naczyniowej.

Dyskusja

Według stosowanej klasyfikacji infekcyjnych powikłań w chirurgii naczyniowej po zastosowaniu protez naczyniowych, zakażenia protez w omawianych przez nas przypadkach określone zostało jako stopień III według Szilagya [1-4]. Byli to chorzy z zakażeniem całej protezy naczyniowej, z przetokami ropnymi i krwawieniem z zespołów naczyniowych. Przy tak masywnym zakażeniu istnieją przede wszystkim wskazania do użycia przeszczepów tkankowych w miejsce usuniętej protezy [1-3, 8-16]. Alternatywą jest użycie protez naczyniowych o zwiększonej odporności na zakażenie - najczęściej nasączanych antybiotykami (np. Ryphampicin) [4, 6, 7]. W ostatnich latach podejmowane są próby stosowania protez naczyniowych impregnowanych srebrem w leczeniu zakażeń naczyniowych. Pozytywne wyniki przeprowadzanych badań in vitro nad skutecznością tego materiału nie zawsze uzyskują potwierdzenie w badaniach klinicznych [4, 5, 7]. Dyskusyjne jest działanie soli srebra w protezach naczyniowych jednocześnie impregnowanych srebrem i nasączanych antybiotykami [7]. Wskazują na to badania doświadczalne in vivo [7]. Jednak szerokie zastosowanie w medycynie biomateriałów impregnowanych srebrem stanowi również wskazanie do ich użycia w chirurgii naczyniowej [3]. Ze względu na wymienione wcześniej zastrzeżenia, co do użycia protez naczyniowych impregnowanych srebrem należy je stosować w wybranych przypadkach zakażeń w chirurgii naczyniowej.

Wnioski

1. Postępowaniem z wyboru w leczeniu zakażeń naczyniowych jest stosowanie homologicznego materiału tkankowego.
2. W przypadkach ciężkiego zakażenia protezy naczyniowej z towarzyszącym masywnym krwotokiem wymiana za-infekowanej protezy na impregnowaną solami srebra może być jedynym właściwym postępowaniem ratującym życie chorego.
3. Zastosowanie protezy dakronowej impregnowanej srebrem należy traktować jako pomost w wymianie zakażonej protezy naczyniowej na żyły własne chorego lub homografitętniczy.
4. Zastosowanie srebrnej protezy naczyniowej w zakażeniach protez w chirurgii naczyniowej wymaga dalszej, wnikliwej obserwacji.

resistant to infection (most often antibiotic (e.g. Rifampicin)-bonded) in place of removed prostheses there are used [4, 6, 7]. During the last years there were made attempts of the use of silver-coated medical prostheses in treatment of grafts infections. Positive results of in vitro examinations are not always confirmed in clinical studies [4, 5, 7]. In vivo examinations show that the effectiveness of silver salts in antibiotic-bonded vascular prostheses is controversial [7]. However the general application of silver-coated synthetic materials at the present in medicine is also an indication of their use in vascular surgery [3]. We found no cases of implantation of silver-coated medical prostheses including aorto-ilio-femoral segment in treatment of prosthetic grafts infections described in references. Because of the objections listed above the silver-coated prostheses are to be used only in special cases of the infections in vascular surgery.

Conclusions

1. The treatment of choice in the cases shown here should be the application of autologous or homologous tissue material.
2. In situ replacement with use of silver-coated prosthesis can be the only proper treatment. In the cases of massive vascular graft infection followed by hemorrhage in situ replacement with the use of silver-coated prosthesis can be the only proper treatment saving the patient's life.
3. Application of silver-coated dacron prosthesis should be regarded as an intermediate step between the replacement of infected graft with patients own veins or arterial homograft.
4. The use of silver-coated vascular prosthesis in treatment of prosthetic grafts infections requires further scrupulous observation.

- [1] Szilagyi DE, Smith RF, Elliott JP, Vrandeć MP.: Infection in arterial reconstruction with synthetic grafts. *Ann Surg*, 1972, 176, 321-323.
- [2] Nevelesten A, Lacroix H, Suy R.: Autogenous reconstruction with lower extremity deep veins: an alternative treatment of prosthetic infection after reconstructive surgery for aortoiliac disease. *J Vasc Surg*, 1995, 22, 129-134.
- [3] Pupka A, Frydecka I, Polak W, Skóra J, Kosmaczewska A, Szyber P: Zastosowanie allogeniczných przeszczepów tętniczych w leczeniu infekcji protez naczyniowych w zależności od sposobu przechowywania allograftu i leczenia immunosupresyjnego. *Adv Clin Exp Med*. 2003, 12, 6, 703-710.
- [4] Goeau-Brissoniere O.A., Fabre D., Leflon-Guibout V., et al.: Comparison of the resistance to infection of rifampin-bonded gelatin-sealed and silver/collagen-coated polyester prostheses. *J Vasc Surg* (2002), 35, 1260-1263.
- [5] Pupka A, Skóra J, Janczak D, Pawłowski S, Kałuża G, Dawiski-ba T, Szyber P: Zastosowanie dakronowej protezy naczyniowej impregnowanej solami srebra w leczeniu infekcji protez naczyniowych. *Pol Przegl Chir* 2003, 75, 9, 837-842.
- [6] Bandyk D.F., Novotney M.L., Johnson B.L., et al.: Use of rifampin-soaked gelatin-sealed polyester grafts for in situ treatment of primary aortic and vascular prosthetic infections. *J Surg Res* (2001), 95, 44-49.
- [7] Kinney E.V., Bandyk D.F., Seabrook G.A., et al.: Antibiotic-bonded PTFE vascular grafts: the effect of silver antibiotic on bioactivity following implantation. *J Surg Res* (1991), 50, 430-435.
- [8] Chiesa R, Astore D, Piccolo G, Melissano G, Jannello A, Frigerio D, Agrifoglio G, Bonalumi F, Corsi G, Costantini Brancadoro S, Novali C, Locati P, Odero A, Pirrelli S, Cugnasca M., Biglioli P, Sala A, Polvani G, Guarino A, Biasi GM, Mingazzini P, Scalomagna M., Mantero S, Spina G, Prestipino F.: Fresh and cryopreserved arterial homografts in the treatment of prosthetic graft infections: experience of the Italian Collaborative Vascular Homograft Group. *Ann Vasc Surg* 1998, 12, 457-462.

- [9] Bahnini A, Ruotolo C, Koskas F, Kieffer E.: In situ fresh allograft replacement of an infected aortic prosthetic graft: Eighteen months follow-up. *J Vasc Surg* 1991, 14, 98-102.
- [10] da Gama AD, Sarmento C, Vieira T, do Carmo GX.: The use of arterial allografts for vascular reconstruction in patients receiving immunosuppression for organ transplantation. *J Vasc Surg* 1994, 20, 271-278.
- [11] Wagner E, Roy R, Marois Y, Guidoin R.: Fresh venous allografts in peripheral arterial reconstruction in dogs. Effects of histocompatibility and of short-term immunosuppression with cyclosporin A and mycophenolate mofetil. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995, 110, 1732-1744.
- [12] Posner MP, Makhoul RG, Altman M.: Early results of infragleniculate arterial reconstruction using cryopreserved homograft saphenous conduit (CADVEIN) and combination low-dose systemic immunosuppression. *J Am Coll Surg* 1996, 183, 208-216.
- [13] Prager M, Hölzenbein Th, Aslim E, Domenig Ch, Muhlbacher F, Kretschmer G.: Fresh Arterial Homograft Transplantation: A Novel Concept for Critical Limb Ischaemia. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2002, 24, 314-321.
- [14] Ziaja K, Urbanek T, Bursig H, Dyląg S.: Homograft w leczeniu infekcji protez naczyniowych - wyniki wczesne i odległe. *Pol Przegl Chir* 2003, 75, 460-473.
- [15] Pukacki F, Gabriel M., Chęciński P, Oszkinis G, Dzieciuchowicz Ł, Zapalski S.: Sześćoletnie doświadczenia w zastosowaniu mrożonych tętniczych przeszczepów alogeniczných w leczeniu chorych z zakażeniem dużych protez naczyniowych. *Pol Przegl Chir* 2003, 75, 579-595.
- [16] Pupka A., Kałuża G., Skóra J., Rynowiecka M., Szyber P: Ocena gromadzenia leukocytów znakowanych technetem-99m w leczeniu zakażeń protez naczyniowych. *Problemy Medycyny Nuklearnej* 2003, 17, 33, 33-39.



AKADEMIA GÓRNICZO - HUTNICZA

im. Stanisława Staszica w Krakowie

WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI

KATEDRA BIOMATERIAŁÓW

STUDIUM PODYPLOMOWE

Biomateriały-materiały dla medycyny

Kierownik Studium prof. Marta Błażewicz



Studia obejmują podstawowe zagadnienia z dziedziny inżynierii biomateriałów

Czas trwania: 1 semestr obejmujący 140 godzin dydaktycznych (dwa weekendowe zjazdy w ciągu miesiąca)

Główne tematy:

1. Charakterystyka tworzyw implantacyjnych (metale, polimery, ceramika, tworzywa kompozytowe)
2. Zasady projektowania biomateriałów
3. Implanty do sterowanej regeneracji tkanek
4. Metody badań biogodności, przegląd metod in vitro, metody in vivo
5. Degradacja sztucznych tworzyw w żywym organizmie - metody badań
6. Inżynieria tkankowa
7. Regulacje prawne, standardy europejskie, ocena ryzyka

Charakterystyka studium:

Zajęcia obejmujące; wykłady i seminaria, dotyczyć będą kluczowych zagadnień z dziedziny inżynierii biomateriałów. Program studiów obejmować będzie charakterystykę tworzyw wykorzystywanych w medycynie; metali ich stopów, polimerów, ceramiki i oraz węgla syntetycznego i kompozytów. Omówione zostaną przykłady zastosowań tworzyw syntetycznych w różnych dziedzinach medycyny a mianowicie ortopedii, chirurgii kostnej, laryngologii, kardiologii, okulistyce i stomatologii i innych. Przedstawione zostaną metody projektowania i wytwarzania materiałów spełniających wymagania stawiane przez medycynę. Słuchaczom studium zaprezentowane zostaną metody fizykochemiczne stosowane, zarówno do charakterystyki materiału jak i przebiegu jego degradacji (w sztucznym i naturalnym środowisku biologicznym) oraz metody biologiczne do analizy zjawisk zachodzących na powierzchni tworzyw implantacyjnych w kontakcie z żywą komórką i tkanką. Na zajęciach prezentowane będą (w oparciu o konkretne przykłady) metody; FTIR, SEM, mikroskopii optycznej i mikroskopii AFM oraz badania mechaniczne z uwzględnieniem badań parametrów mechanicznych naturalnych tkanek oraz metody analizy fizycznych parametrów powierzchni (energia powierzchniowa, twardość, chropowatość).

Wykłady dotyczyć będą badania biogodności w warunkach in vitro i in vivo, omówienia normy ISO 10993 (Biologiczna ocena wyrobów medycznych) oraz regulacji prawnych i aspektów etycznych związanych z badaniami na zwierzętach. Dodatkowo omówione zostaną sposoby organizacji, nadzoru i monitorowania badań klinicznych.

Słuchacze studium zapoznani zostaną z najnowszymi osiągnięciami inżynierii tkankowej, metodami wytwarzania podłoży tkankowych i konstrukcją bioreaktorów.

Kandydaci powinni mieć wykształcenie wyższe: medyczne, przyrodnicze lub techniczne

Ostateczny termin zgłoszeń 05 luty 2006.

Koszt studium 1 650 PLN

Szczegółowe informacje i zgłoszenia: pn. - pt. godz. 10.00 - 14.00,

Katedra Biomateriałów, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki AGH.

Al. Mickiewicza 30, 30 059 Kraków, paw. A3 II piętro pok. 228a.

Nr telefonu: (12) 617 47 38

e-mail: mblazew@agh.edu.pl

Wskazówki dla autorów

Prace do opublikowania w czasopiśmie "Inżynieria Biomateriałów" będą przyjmowane wyłącznie z tłumaczeniem na język angielski.

Prosimy je nadsyłać na dyskietkach wyłącznie w formacie Word 6.x (lub wyższy) wraz z jednym egzemplarzem kontrolnego wydruku i kompletem rysunków i zdjęć.

Możliwe jest również dołączanie ilustracji w różnych formatach grafiki typu .eps, .jpg, .tif, .cdr, .cpt, .gif.

Rozmiar artykułu:

- przeglądowego i pracy oryginalnej - do 10 stron standardowego maszynopisu,
 - komunikatu - do 5 stron,
 - noty technicznej - do 3 stron
- Obowiązuje układ jednostek SI.
 Rysunki, tabele i równania powinny być kolejno ponumerowane.

Struktura artykułu:

- streszczenie (do 200 słów),
- słowa kluczowe (3-10 słów),
- wprowadzenie,
- materiał i metodyka,
- wyniki,
- dyskusja,
- wnioski,
- piśmiennictwo (wg systemu Harvard).

Odnośniki literaturowe w tekście należy podawać jako kolejne liczby arabskie w nawiasach kwadratowych.

Piśmiennictwo (zawierające nazwiska autorów i skróty ich imion, tytuł artykułu, tytuł czasopisma, tom, rok w na wiasach okrągłych i strony) powinno być zamieszczone na końcu artykułu. Skróków tytułów czasopism należy unikać bądź podawać zgodnie z Chemical Abstract. Cytując książki należy podawać numery odpowiednich rozdziałów.

Nie przewiduje się wypłacania honorariów autorskich.

Prace należy nadsyłać na adres:

Redakcja "Inżynieria Biomateriałów"
 Akademia Górniczo - Hutnicza
 Katedra Biomateriałów
 30-059 Kraków, al. Mickiewicza 30/A-3
 fax. (48-12) 617-33-71
 tel. (48-12) 617-22-39
 e-mail: apowroz@uci.agh.edu.pl

Warunki prenumeraty

Wydawnictwo Polskie Stowarzyszenie Biomateriałów w Krakowie przyjmuje zamówienia na prenumeratę, która może obejmować dowolny okres, w którym wydawane są kolejne zeszyty. Zamawiający otrzyma zaprenumerowane zeszyty poczynawszy od daty dokonania wpłaty. Zamówienia wstecz będą realizowane w miarę posiadanych zapasów.

Realizacja zamówienia

Warunkiem realizacji zamówienia jest otrzymanie z banku potwierdzenia dokonania wpłaty przez prenumeratora.

Konto

Polskie Stowarzyszenie Biomateriałów
 30-059 Kraków, al. Mickiewicza 30/A-3
 Bank Śląski S.A. O/Kraków,
 nr rachunku 63 1050 1445 1000 0012 0085 6001

Należy podać swój adres, tytuł czasopisma, okres prenumeraty i liczbę zamawianych egzemplarzy.

Opłata

Cena numeru 54-55: 40,00 PLN

Instructions to authors

Contributions in English language version should be submitted to:

Editorial Office

"Engineering of Biomaterials"

AGH University of Science and Technology

Department of Biomaterials,

Al. Mickiewicza 30/A-3, 30-059 Kraków, Poland

fax. (48-12) 617-33-71, tel. (48-12) 617-22-39

e-mail: apowroz@uci.agh.edu.pl

Texts should be delivered on a 3.5-inch diskette, accompanied by a printout (with a double spacing) including drawings, photographs, tables etc. Recommended is IBM-compatible MS format, e.g. Word 6.x (or higher). Illustrations can be enclosed on diskettes in the formats: .eps, .jpg, .tif, .cdr, .cpt, .gif.

Advised paper length is:

- review papers and accounts of original unpublished research - up to 10 pages (standard manuscript pages);
 - short communications - up to 5 pages;
 - technical notes - up to 3 pages.
- SI units should be used in the text.

Figures, Tables and Equations should be numbered in corresponding consecutive series of the Arabic numbers.

Layout of the paper should be the following:

- Abstract (up to 200 words)
- Key words (3-10 words)
- Introduction
- Materials and Methods
- Results
- Discussion
- Conclusions
- References

References should be made in the text by using consecutive Arabic numbers in brackets. Full references (including author's surname and abbreviated names, title of the paper, title of the journal, volume, year in parenthesis and pages) should be given in a list at the end of the paper. Abbreviations of journal titles should be avoided or used in accordance with those listed in Chemical Abstracts. Whenever a book is cited, the number of the relevant chapter should be given.

The journal makes no page charges.

Subscription terms

Subscription orders should be addressed to the Polish Society for Biomaterials in Kraków.

The ordered issues will be delivered consecutively starting from the date of payment, acknowledged by the bank.

Earlier issues will be supplied if available.

Subscription rates:

Cost of number 54-55: 20.00 PLN

Payment should be made to:

Polish Society for Biomaterials,

Al. Mickiewicza 30/A-3,

30-059 Kraków, Poland

Bank Śląski S.A. O/Kraków,

account no. 63 1050 1445 1000 0012 0085 6001

It is requested to quote the subscriber's name, title of the journal, desired subscription period and number of the ordered copies.