BIONATERING OF BIOMATERIALÓW

Numer 58-60 Rok IX ISSN 1429-7248

PAŹDZIERNIK 2006

WYDAWCA:

Polskie Stowarzyszenie Biomateriałów w Krakowie

KOMITET REDAKCYJNY:

Redaktor naczelny Stanisław Błażewicz 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 Górniczo-Hutnicza al. Mickiewicza 30/A-3 30-059 Kraków

Nakład: 200 egz. Wydawnictwo Naukowe AKAPIT e-mail: wn@akapit.krakow.pl



BIOMATERIAŁÓW

SPIS TREŚCI

ADHESION, GROWTH AND DIFFERENTIATION MARKERS IN HUMAN OSTEOBLAST-LIKE CELLS CULTURED ON SURFACE-MODIFIED METALLIC 1 MATERIALS DESIGNED FOR BONE IMPLANTS L.BACAKOVA, J.KABATOVA, V.LISA, V.STARY, J.FENCL ADHESION AND GROWTH OF HUMAN OSTEO-**BLASTLIKE CELLS ON ALIPHATIC POLYESTERS** WITH DIFFERENT CHEMICAL COMPOSITION, SURFACE ROUGHNESS AND MODIFICATION WITH HYDROXYAPATITE 4 WITH HYDROXYAPATITE B.VAGASKA, L.BACAKOVA, E.PAMULA, V.LISA, P.DOBRZYŃSKI B.VAGASKA, L.BACAKOVA, E.PAMULA, V.LISA, P.DOBRZYŃSKI VASCULAR SMOOTH MUSCLE CELLS IN CULTURES ON SYNTHETIC POLYMERS WITH 7 ADHESIVE MICRODOMAINS **ADHESIVE MICRODOMAINS** M.PARIZEK, L.BACAKOVA, V.LISA, O.KUBOVA, V.SVORCIK, J.HEITZ J.HEITZ UMAN ENDOTHELIUM ON VASCULAR PROSTHESES MODIFIED BY EXTRACELLULAR 10 MATRIX PROTEINS IN A FLOW EXPERIMENT J.CHLUPAC, E.FILOVA, T.RIEDEL, E.BRYNDA, M.REMY-ZOLGHADRI, R.BAREILLE, P.FERNANDEZ, R.DACULSI, L.BORDENAVE, L.BACAKOVA **3D EVALUATION OF THE SURFACE ROUGHNESS** USING STEREO IMAGES MADE IN SEM -13 INFLUENCE ON OSTEOBLAST CELL GROWTH M. DOUDEROVA, V. STARY, Z. TOLDE, L. BACAKOVA **BIOLOGICAL EFFECTS OF POLYMERS MODIFIED** WITH CARBON NANOTUBES ON HUMAN 14 **OSTEOBLAST-LIKE MG 63 CELLS BLAST-LIKE MG 63 CELLS** L.GRAUSOVA, L.BACAKOVA, A.FRACZEK, S.BLAZEWICZ, M.BLAZEWICZ, M.PEPKA THE STUDY OF THE SURFACE PROPERTIES **OF C/C COMPOSITES** 16 **OF C/C COMPOSITES** Z.Tolde, V.Starý, M.Douděrová Z.Tolde, V.Starý, M.Douděrová

LASERACUPUNCTURE WITH NEW ACUPUNCTURE NEEDLE AS ESSENTIAL PART OF COMPLEX TREATMENT AFTER ALLOGENIC RHINOPLASTY 17 I.O.POHODENKO-CHUDAKOVA, O.P.CHUDAKOV, A.V.LASHIN

> STRESZCZANE W APPLIED MECHANICS REVIEWS Abstracted in Applied Mechanics Reviews

> >

.

CONTENTS

ADHESION, GROWTH AND DIFFERENTIATION MARKERS IN HUMAN OSTEOBLAST-LIKE CELLS CULTURED ON SURFACE-MODIFIED METALLIC MATERIALS DESIGNED FOR BONE IMPLANTS L.BACAKOVA, J.KABATOVA, V.LISA, V.STARY, J.FENCL

ADHESION AND GROWTH OF HUMAN OSTEO-**BLASTLIKE CELLS ON ALIPHATIC POLYESTERS** WITH DIFFERENT CHEMICAL COMPOSITION, SURFACE ROUGHNESS AND MODIFICATION

VASCULAR SMOOTH MUSCLE CELLS IN CULTURES ON SYNTHETIC POLYMERS WITH 7 M.PARIZEK, L.BACAKOVA, V.LISA, O.KUBOVA, V.SVORCIK,

HUMAN ENDOTHELIUM ON VASCULAR PROSTHESES MODIFIED BY EXTRACELLULAR 10 MATRIX PROTEINS IN A FLOW EXPERIMENT J.CHLUPAC, E.FILOVA, T.RIEDEL, E.BRYNDA, M.REMY-ZOLGHADRI, R.BAREILLE, P.FERNANDEZ, R.DACULSI, L.BORDENAVE, L.BACAKOVA

3D EVALUATION OF THE SURFACE ROUGHNESS USING STEREO IMAGES MADE IN SEM -13 INFLUENCE ON OSTEOBLAST CELL GROWTH M. DOUDEROVA, V. STARY, Z. TOLDE, L. BACAKOVA

BIOLOGICAL EFFECTS OF POLYMERS MODIFIED WITH CARBON NANOTUBES ON HUMAN OSTEO-14 L.GRAUSOVA, L.BACAKOVA, A.FRACZEK, S.BLAZEWICZ, M.BLAZEWICZ, M.PEPKA

THE STUDY OF THE SURFACE PROPERTIES

16

1

4

LASERACUPUNCTURE WITH NEW ACUPUNCTURE NEEDLE AS ESSENTIAL PART OF COMPLEX TREATMENT AFTER ALLOGENIC RHINOPLASTY 17 I.O.POHODENKO-CHUDAKOVA, O.P.CHUDAKOV, A.V.LASHIN

> Wydanie dofinansowane przez Ministra Nauki I SZKOLNICTWA WYŻSZEGO Edition financed by the Minister of Science AND HIGHER EDUCATION

-	-

0

• • • • • • •	THE INFEFFECTIVENESS OF ELECTRO- ACUPUNCTURE APPLICATION COMBINED WITH REHABILITATION PROCEDURES FOR THE PATIENTS WITH TRIGEMINAL NERVE NEURITIS DUE TO TRAUMA I.O. POHODENKO-CHUDAKOVA, E.A. AVDEEVA, A.I. PECHURSKY	18	EFFECTIVENESS APPLICATION CC PROCEDURES FO TRIGEMINAL NEF TO TRAUMA I.O. POHODENKO-CH A.I. PECHURSKY
	OSTEOINTEGRATION UNDER INFLUENCE OF MAGNETOACUPUNCTURE (EXPERIMENTAL CASE) I.O. Pohodenko-Chudakova, A.P. Pilipenko	20	OSTEOINTEGRA OF MAGNETOAC (EXPERIMENTAL I.O. Pohodenko-Ch
	SELF-DESCRIPTIVENESS OF DIFFERENT METHODS FOR PREDICTION OF PURULENT- INFLAMMATORY PROCESSES DEVELOPMENT FOR PATIENTS WITH PHLEGMON OF ORAL CAVITY I.O. POHODENKO-CHUDAKOVA, Y.M. KAZAKOVA	22	SELF-DESCRIPTI METHODS FOR P INFLAMMATORY FOR PATIENTS W OF ORAL CAVITY I.O. POHODENKO-CH
	MODYFIKACJA CHEMICZNA KOPOLIMERU GLIKOLIDU Z E-KAPROLAKTONEM I JEJ WPŁYW NA ADHEZJĘ I ŻYWOTNOŚĆ FIBROBLASTÓW IN VITRO E.Pamuła, A.Ścisłowska-Czarnecka, A.Szlęk, M.Chadzińska, P.Dobrzyński, B.Płytycz	24	CHEMICAL MODI ε-CAPROLACTON ON ADHESION AI IN VITRO E.Pamuła, A.nna Ś A.Szlęk, M.Chadzii
	OCENA WIELOFUNKCYJNEGO STABILIZATORA MIĘDZYWYROSTKOWEGO TYPU "NON-FUSION"; BADANIA NA ZWIERZĘTACH - KOZY J.Sterna, L.F. Ciupik, J. Chłopek, A. Dobkiewicz, A. Kierzkowska, J. Pieniążek	28	EVALUATION OF INTERSPINOUS S TYPE; TESTS ON J.Sterna, L.F. Ciuf A. Kierzkowska, J.
	OCENA BIOMECHANICZNA FUNKCJI KOREKCYJNO-STABILIZUJĄCEJ POLIMEROWO- POLIESTROWEGO STABILIZATORA MIĘDZYWYROSTKOWEGO L.F.CIUPIK, I.CĘCEK,R.GUNZBURG, A.KIERZKOWSKA, M.SZPALSKI	32	BIOMECHANICAI VE-STABILIZING LYESTER INTERS L.F.Ciupik, I.Cęcek, M.Szpalski
	PRZEMIANY HYDROKSYAPATYTU POCHODZENIA NATURALNEGO W PODWYŻSZONYCH TEMPERATURACH I WYBRANYCH ATMOSFERACH K.Haberko, M.M.Bucko, W.Mozgawa, M. Haberko, A.Pyda, J.Carpentier	35	TRANSFORMATIO APATITE AT ELEN AND IN SELECTE K.Haberko, M.M.B A.Pyda, J.Carpent
\mathbf{N}^{\vee}	SZTUCZNE MACIERZE POZAKOMÓRKOWE NA PODSTAWIE WŁÓKIEN KOLAGENA I PROTEOGLIKANÓW (PGS) T. Douglas, U. Hempel, C.Mietrach, S.Heinemann, C.Knieb, S.Bierbaum, D.Scharnweber, H.Worch	36	ARTIFICIAL EXTR BASED ON COLL OGLYCANS (PGS T. Douglas, U. Hen C.Knieb, S.Bierbau
AŁ Ó'	SPOSOBY IMMOBILIZACJI CEFTRIAKSONU NA PROTEZACH NACZYNIOWYCH M.Miazga-Karska, G.Ginalska, D.Kowalczuk	38	METHODS OF CE ON VASCULAR P M.Miazga-Karska,
Z Y N L L	OPTYMALIZACJA WARUNKÓW IMMOBILIZACJI CEFTRIAKSONU W CELU UZYSKANIA SKUTECZNEGO DZIAŁANIA PRZECIW- BAKTERYJNEGO PROTEZ NACZYNIOWYCH M.MIAZGA-KARSKA, G.GINALSKA, D.KOWALCZUK	41	OPTIMIZATION O CONDITIONS FOI ANTIBACTERIAL PROSTHESES M.MIAZGA-KARSKA,

OMBINED WITH REHABILITATION OR THE PATIENTS WITH RVE NEURITIS DUE 18 IUDAKOVA, E.A. AVDEEVA, TION UNDER INFLUENCE UPUNCTURE 20 CASE) IUDAKOVA, A.P. PILIPENKO VENESS OF DIFFERENT **REDICTION OF PURULENT-PROCESSES DEVELOPMENT /ITH PHLEGMON** 22 IUDAKOVA, Y.M. KAZAKOVA FICATION OF POLY(GLYCOLIDE-NE) AND ITS IMPACT ND VIABILITY OF FIBROBLASTS 24 CISŁOWSKA-CZARNECKA, ŃSKA, P.DOBRZYŃSKI4, B.PŁYTYCZ **MULTIFUNCTIONAL** STABILIZER "NON-FUSION" 28 **ANIMALS - GOATS** IK, J. CHŁOPEK, A. DOBKIEWICZ, PIENIĄŻEK **EVALUATION OF CORRECTI-FUNCTION OF POLYMERIC-PO-**32 SPINOUS STABILIZER ,R.GUNZBURG, A.KIERZKOWSKA, ONS OF BONE ORIGIN HYDROXY-VATED TEMPERATURES 35 ED ATMOSPHERES SUCKO, W.MOZGAWA, M. HABERKO, IER RACELLULAR MATRICES AGEN FIBRILS AND PROTE-36 MPEL, C.MIETRACH, S.HEINEMANN, JM, D.SCHARNWEBER, H.WORCH FTRIAXON IMMOBILIZATION ROSTHESES 38 G.GINALSKA, D.KOWALCZUK

OF ELECTRO-ACUPUNCTURE

OPTIMIZATION OF CEFTRIAXON IMMOBILIZATION CONDITIONS FOR OBTAINING THE EFFECTIVE ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF VASCULAR PROSTHESES 41 M.Miazga-Karska, G.Ginalska, D.Kowalczuk

REKONSTRUKCJA UBYTKÓW PRZEGRODY NOS MATERIAŁAMI SYNTETYCZNYMI – DONIESIENIE WSTĘPNE A.Polok, W.Ścierski, M.Błażewicz, G.Namysłowski	5A 44	RECONSTRUCTION OF SEPTAL NASAL PERFORATION BY SYNTHETIC MATERIALS – PRELIMINARY REPORT A.Polok, W.Ścierski, M.Błażewicz, G.Namysłowski	44
MINERALIZACJA WŁÓKIEN WĘGLOWYCH PROTEZY TCHAWICY PO 38-TYGODNIOWYM OKRESIE OBSERWACJI W.Ścierski, J.Nożyński, E.Zembala-Nożyńska, G.Namysłowski, M.Błażewicz, S.Błażewicz, J.Pilch, K.Helewski	46	MINERALIZATION OF TRACHEAL IMPLANT CARBON FIBERS AFTER 38 WEEKS OBSERVATION W.Ścierski, J.Nożyński, E.Zembala-Nożyńska, G.Namysłowski, M.Błażewicz, S.Błażewicz, J.Pilch, K.Helewski	46
ZACHOWANIE SIĘ WYMIARÓW GEOMETRYCZ- NYCH WŁÓKIEN WĘGLOWYCH W 38 TYGODNIOWYM OKRESIE OBSERWACJI PO WSZCZEPIENIU W TCHAWICĘ W.Ścierski, J.Nożyński, E.Zembala-Nożyńska, S.Błażewicz, G.Namysłowski, J.Pilch, K.Helewski	48	GEOMETRICAL PARAMETERS OF TRACHEAL IMPLANT CARBON FIBERS IN 38 WEEKS OF OBSERVATION W.Ścierski, J.Nożyński, E.Zembala-Nożyńska, S.Błażewicz, G.Namysłowski, J.Pilch, K.Helewski	48
GĘSTOŚĆ OPTYCZNA – UŻYTECZNY WSKAŹNIK OCENY BIOMORFOZY IMPLANTU WĘGLOWEGO TCHAWICY W.Ścierski, J.Nożyński, E.Zembala-Nożyńska, G.Namysłowski, M.Błażewicz, J.Pilch, K.Helewski	51	OPTICAL DENSITY – USEFUL FACTOR OF TRACHEAL CARBON IMPLANT BIOMORPHOSIS EVALUATION W.Ścierski, J.Nożyński, E.Zembala-Nożyńska, G.Namysłowski, M.Błażewicz, J.Pilch, K.Helewski	51
OCENA PORÓWNAWCZA WŁAŚCIWOŚCI BIOLO- GICZNYCH CZYSTEGO I WZMOCNIONEGO WŁÓKNAMI WĘGLOWYMI KOPOLIMERU P(LLA/GLA) PO WSZCZEPIENIU DO ŻUCHWY I TKANEK MIĘKKICH KRÓLIKÓW M.Cieślik, D.Sabat, A.Cieślik-bielecka, M.Adwent, G.Bajor, P.Kłapcińska, T.Cieślik	54	COMPARATIVE VALUATION OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF PURE AND REINFORCED BY CARBON FIBERS P(LLA/GLA) CO-POLYMER AFTER IMPLANTATION IN RABBITS MANDIBLE AND SOFT TISSUES M.Cieślik, D.Sabat, A.Cieślik-bielecka, M.Adwent, G.Bajor, P.Kłapcińska, T.Cieślik	54
PORÓWNANIE WŁAŚCIWOŚCI BIOLOGICZNYCH CZYSTEGO I NAPEŁNIONEGO HYDROKSY- APATYTEM KOPOLIMERU GLIKOLIDU Z LAKTYDEM M.Cieślik, A.Cieślik-Bielecka, M.Adwent, D.Sabat, G.Bajor, P.Kłapcińska, M.J.Winkler, T.Cieślik	57	THE COMPARISON OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF PURE AND FILLED BY HYDROXYAPATITE LACTIDE/GLYCOLIDE CO-POLYMER M.Cieślik, A.Cieślik-Bielecka, M.Adwent, D.Sabat, G.Bajor, P.Kłapcińska, M.J.Winkler, T.Cieślik	57
WPŁYW DOMIESZKI TYTANU NA WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE CEMENTU CHIRURGICZNEGO A.Balin, S.Ziemba, J.Myalski, J.Toborek	60	INFLUENCE OF A TITANIUM ADDITION ON THE PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF SURGICAL CEMENT A.Balin, S.Ziemba, J.Myalski, J.Toborek	60
BADANIA ZACHOWANIA KOROZYJNEGO BIOCERAMICZNYCH WARSTW SIO ₂ I SIO ₂ -TIO ₂ NA TYTANIE I STOPIE TI6AL4V DLA ZASTOSOWAŃ W STOMATOLOGII J.Bieniaś, A.Stoch, B.Surowska, M.Walczak	62	THE STUDY OF THE CORROSION BEHAVIOR OF SIO ₂ AND SIO ₂ -TIO ₂ BIOCERAMIC COATINGS ON TITANIUM AND TI6AL4V ALLOY IN DENTISTRY J.BIENIAŚ, A.STOCH, B.SUROWSKA, M.WALCZAK	62
WŁAŚCIWOŚCI KOROZYJNE STOPÓW BIOMEDYCZNYCH REX 734 I PANACEA P558 MODYFIKOWANYCH WARSTWAMI NANO- KRYSTALICZNEGO DIAMENTU T.BŁASZCZYK, B.BURNAT, A.LENIART, H.SCHOLL, L KUMEK W KACZOROWSKI	65	CORROSION FEATURES OF BIOMEDICAL ALLOYS REX 734 AND PANACEA P558 MODIFIED BY NANOCRYSTALLINE DIAMOND T.BŁASZCZYK, B.BURNAT, A.LENIART, H.SCHOLL, L.KLIMEK, W.KACZOROWSKI	65 ∝ 入
MECHANICZNE WŁAŚCIWOŚCI ZMĘCZENIOWE HYBRYDOWYCH MATERIAŁÓW KOMPOZYTO- WYCH DO ZASTOSOWAŃ MEDYCZNYCH B.Konieczna, W.Ścierski, S.BŁażewicz	69	FATIGUE MECHANICAL CHARACTERIZATION OF HYBRID COMPOSITE MATERIALS FOR MEDICAL PURPOSE B.Konieczna, W.Ścierski, S.Błażewicz	69
BADANIA REOLOGICZNE ROZTWORÓW PRZĘDZALNICZYCH I FORMOWANIE WŁÓKIEN Z POLIALKOHOLU WINYLOWEGO M.Boguń, T.Mikołajczyk, M.Olejnik	73	RHEOLOGICAL EXAMINATIONS OF SPINNING SOLUTIONS AND FIBRE FORMATION FROM POLY(VINYL ALCOHOL) M.Boguń, T.Mikołajczyk, M.Olejnik	

•

. . • . . BIOMATERIALOW

•

•••••	PRZĘDZALNICZEGO I WYCIĄGU FILIEROWEGO		
	NA WŁAŚCIWOŚCI SORPCYJNE I WYTRZYMAŁOŚCIOWE WŁÓKIEN Z PGLA M.Boguń, T.Mikołajczyk, M.Olejnik, A.Kurzak, S.Błażewicz , J.Buczyńska, E.Pamuła	76	
	ZAWIERAJĄCE WIELOŚCIENNE NANORURKI WĘGLOWE PREKURSOROWE WŁÓKNA PAN M.Boguń, T.Mikołajczyk, A.Kurzak, S.Błażewicz, A.Frączek	79	F C T
	MIKROSTRUKTURA WYBRANYCH STOMATO- LOGICZNYCH BIOMATERIAŁÓW METALICZNYCH PO INKUBACJI W SYNTETYCZNYM OSOCZU A.Brzeziak, J.Podporska	82	
	MODYFIKACJA HYDROKSYAPATYTEM WŁÓKIEN RESORBOWALNYCH J.Buczyńska, E.Pamuła, S.Błażewicz, T.Mikołajczyk, M.Boguń, P.Dobrzyński, K.Haberko	85	
	USZLACHETNIANIE NARZĘDZI MEDYCZNYCH M.Biel Gołaska, I.Kalemba	90	E
	BIOAKTYWNE KOMPOZYTY GRADIENTOWE J.Chłopek, B.Szaraniec, M.Michalska	94	E
	MECHANIZM REGENERACJI TKANKI KOSTNEJ PO IMPLANTACJI KOMPOZYTU Z POLIMERU RESORBOWALNEGO MODYFIKOWANEGO HYDROKSYAPATYTEM J.Chłopek, A.Morawska-Chochół, P.Rosół	98	
	POLIMEROWE KOMPOZYTY GRADIENTOWE O KONTROLOWANYM CZASIE RESORPCJI J.Chłopek, B.Szaraniec, A.Pitak, D.Wołowska-Czapnik, A.Sobczak	101	F \ I
	WPŁYW DODATKU MIEDZI NA WYBRANE WŁAŚCIWOŚCI SPIEKANYCH STALI IMPLANTACYJNYCH 316L B.Dąbrowski, M.Grądzka-Dahlke, J.R. Dąbrowski	106	
	BADANIA WŁAŚCIWOŚCI WYTRZYMAŁOŚCIO- WYCH POROWATEJ STALI 316L W WARUNKACH ŚCISKANIA I NISKOCYKLOWEGO ZMĘCZENIA M.Grądzka-Dahlke, B.Hościło, B.Dąbrowski, J.R.Dąbrowski	109	
	BADANIA WŁAŚCIWOŚCI MECHANICZNYCH REGENERATU KOSTNEGO OWCY J.Filipiak, P.Kuropka	112	 (
R ÓW A	MODYFIKOWANE IMPLANTY WŁÓKNISTE DO LECZENIA UBYTKÓW TKANEK I.Rajzer, A.Frączek, M.Błażewicz	115	
	WPŁYW RODZAJU MEDIUM SMAROWEGO NA WŁAŚCIWOŚCI TRIBOLOGICZNE POLIETYLENU UHWMPE STOSOWANEGO W ENDOPROTEZACH STAWU KOLANOWEGO M.Jałbrzykowski, A.Iwaniak, P.Wojciechowski, D.Kusz	117	
		• • • •	•••

EFFECT OF THE CONCENTRATION OF SPINNING SOLUTION AND AS-SPUN DRAW RATIO ON THE SORPTION AND STRENGTH PROPERTIES	
OF PGLA FIBRES M.Boguń, T.Mikołajczyk, M.Olejnik, A.Kurzak, S.Błażewicz , J.Buczyńska, E.Pamuła	76
PRECURSOR PAN FIBRES CONTAINING CARBON NANOTUBES M.Boguń, T.Mikołajczyk, A.Kurzak, S.Błażewicz, A.Frączek	79
MICROSTRUCTURE OF DENTAL METALLIC BIOMATERIALS AFTER INCUBATION IN SYNTHETIC BODY FLUID A.Brzeziak, J.Podporska	82
MODIFICATION OF RESORBABLE FIBRES WITH HYDROXYAPATITE J.Buczyńska, E.Pamuła, S.Błażewicz, T.Mikołajczyk, M.Boguń, P.Dobrzyński, K.Haberko	85
ENRICHMENT OF MEDICAL TOOLS M.Biel Gołaska, I.Kalemba	90
BIOACTIVE GRADED COMPOSITES J.Chłopek, B.Szaraniec, M.Michalska	94
THE MECHANISM OF BONE TISSUE REGENERATION AFTER IMPLANTATION OF RESORBABLE POLYMER COMPOSITE	
MODIFIED WITH HYDROXYAPATITE J.Chłopek, A.Morawska-Chochół, P.Rosół	98
POLYMER GRADED COMPOSITES WITH CONTROLLED RESORPTION TIME J.Chłopek, B.Szaraniec, A.Pitak, D.Wołowska-Czapnik, A.Sobczak	101
INFLUENCE OF COPPER ADDITION ON PROPERTIES OF SINTERED IMPLANT 316L STEEL B.Dąbrowski, M.Grądzka-Dahlke, J.R. Dąbrowski	106
RESEARCH OF MECHANICAL PROPERTIES OF POROUS 316L STEEL UNDER	
FATIGUE TESTS M.Grądzka-Dahlke, B.Hościło, B.Dąbrowski, J.R.Dąbrowski	109
INVESTIGATION OF MECHANICAL PROPERTIES OF SHEEP BONE REGENERATE J.FILIPIAK, P.KUROPKA	112
MODIFIED FIBROUS IMPLANTS FOR TISSUE REGENERATION I.Rajzer, A.Frączek, M.Błażewicz	115
INFLUENCE OF THE TYPE OF LUBRICATING MEDIUM ON TRIBOLOGICAL PROPERTIES OF UHWMPE USED IN KNEE-JOINT	
ENDOPROSTHESES M.Jałbrzykowski, A.Iwaniak, P.Wojciechowski, D.Kusz	117

IV

121	THE POSSIBILITY OF AN U TREATMENT TO IMPROVE OF THE TI6AL4V ALLOY M.Jażdżewska, A.Ziellński, A.
123	IN VITRO ASSESSMENT OF CARBON NANOHORNS – M POLYSULFONE A.Fraczek, M.Blazewicz, E.Z. L.Bacakova
127	NITRIDED LAYERS FOR NI ALLOY PROTECTION T.Goryczka, P.Pączkowski, J. T.Wierzchoń, H.Morawiec
129	BIODEGRADABLE POLYMI GLYCOLIDE, LACTIDE, E-C AND TMC FOR LONG – TEI DELIVERY OF CYCLOSPOI AND SIROLIMUS K.JELONEK, J.KASPERCZYK, P.
133	C:N:H AND SICxNy(H) LAYE TITANIUM AND TI-6AL-4V M.Januś, B.Stypuła
136	BIOACTIVITY IN VITRO OF BY BENDING ANODIC SUR ON T16AL4V ALLOY A.Kierzkowska, E.Krasicka-C
140	ESTIMATION OF THE RISK ABSORPTION IN ANODIC L TI6AL4V ELI DUE TO DEFO BY BENDING E.KRASICKA-CYDZIK, A.KIERZKO
143	RADIATION RESISTANCE (POLYURETHANES FOR ME APPLICATIONS E.Kornacka, J.Kozakiewicz, (
146	THE INFLUENCE OF CRYS ON RADIATION STABILITY E.M.Kornacka, G.Przybytnia
149	CORROSION RESISTANCE IN PECTUS EXCAVATUM TI A.Krauze, J.Marciniak, J.Dzie
152	EVALUATION OF CORROS OF NI-TI ALLOY INTENDED STENTS W.Kajzer, J.Marciniak
155	MECHANICAL PROPERTIE WIRES USED IN CRANIAL Z. Lekston, H. Morawiec, K. I M. Węgrzyn, J. Drugacz
	121 123 127 129 133 136 140 143 146 143 145

.

.

ISE OF LASER THE BEHAVIOR 121 Dziadoń F SINGLE WALL MODIFIED 123 aczynska, **A.C**zarny, TI SHAPE MEMORY 127 Lelątko, ERS BASED ON APROLACTONE RM CONTROLLED RINE A 129 Dobrzyński RS ON METALLIC ALLOY SURFACE 133 DEFORMED **RFACE LAYER** 136 YDZIK **OF HYDROGEN LAYER ON** RMATION 140 WSKA OF AROMATIC EDICAL 143 G.PRZYBYTNIAK TALLINITY OF UHMWPE 146 K, W.Święszkowski **OF PLATE USED** 149 REATMENT ELICKI ION RESISTANCE FOR UROLOGICAL 152 S OF WELDED NITI VAULT RESHAPING 155 Koвus,

V

VI	STRUKTURA I WŁAŚCIWOŚCI WARSTW TLENOAZOTOWANYCH NAKŁADANYCH NA STOP NI-TI T.Goryczka, P.Pączkowski, J.Lelątko, T.Wierzchoń, Z.Paszenda, H.Morawiec	159	STRUCTURE AND PROPERTIES OF NITRIDED OXIDIZED LAYERS COVERING A NI -TI SHAPE MEMORY ALLOY T.GORYCZKA, P.PĄCZKOWSKI, J.LELĄTKO, T.WIERZCHOŃ, Z.PASZENDA, H.MORAWIEC	159
	MODELOWANIE STANU NAPRĘŻEŃ PINCETY W ASPEKCIE POPRAWY JEJ ERGONOMII P.Lacki, J.Jasiński, L.Jeziorski, M.Lubas, M.Szota, M.Dyner	161	SIMULATION OF THE STRESS STATE IN THE FORCEPS IN ORDER TO IMPROVE ITS ERGONOMICS P.Lacki, J.Jasiński, L.Jeziorski, M.Lubas, M.Szota, M.Dyner	161
	OTRZYMYWANIE I WŁAŚCIWOŚCI RUREK POLIMEROWYCH Z PRZEZNACZENIEM DO REGENERACJI USZKODZONYCH NERWÓW J. Laska, A. Frączek, H. Yolsal, S. Błażewicz, D. Szarek, A. Sobczak, J. Chłopek	164	MANUFACTURING AND CHARACTERIZATION OF POLYMER TUBES DESIGNED FOR NERVE REGENERATION J. LASKA, A. FRĄCZEK, H. YOLSAL, S. BŁAŻEWICZ, D. SZAREK, A. SOBCZAK, J. CHŁOPEK	164
	BADANIA UWALNIANIA FLUORU ZE STAŁYCH WYPEŁNIEŃ STOMATOLOGICZNYCH J.Mystkowska, J.R. Dąbrowski, G.Marczuk-Kolada, E.Łuczaj-Cepowicz	166	FLUORIDE RELEASE FROM DENTAL MATERIALS J.Mystkowska, J.R. Dąbrowski, G.Marczuk-Kolada, E.Łuczaj-Cepowicz	166
	GENTAMYCYNY NA RÓŻNYCH TYPACH PROTEZ NACZYNIOWYCH M.Osińska-Jaroszuk, G.Ginalska	170	OPTIMIZATION OF CONDITIONS OF GENTAMICIN BONDING ON DIFFERENT TYPES OF VASCULAR PROSTHESES M.Osińska-Jaroszuk, G.Ginalska	170
	IMMOBILIZACJI AMIKACYNY NA MATERIAŁACH NACZYNIOWYCH M.Osińska-Jaroszuk, G.Ginalska	172	ESTIMATION OF OPTIMAL CONDITIONS FOR AMIKACIN IMMOBILIZATION ON VASCULAR BIOMATERIALS M.Osińska-Jaroszuk, G.Ginalska	172
	POROWATEJ CERAMIKI KORUNDOWEJ Z POLI(ALKOHOLEM WINYLU) I WANKOMYCYNĄ S.PIELKA, D.PALUCH, W.WoźNY, J.KARAŚ, L.SOLSKI	174	THE CYTOTOXICITY EVALUATION OF POLIVINYL ALCOHOL (PVOH) CORUNDUM POROUS COMPOSITE CERAMIC CONTAINING WANKOMYCINE S.Pielka, D.Paluch, W.Woźny, J.Karaś, L.Solski	174
	PROWADZĄCYCH STOSOWANYCH W PRZEZSKÓRNEJ NEFROLITOTRYPSJI J.Przondziono, J.Szala, J.Kawecki	178	CHARACTERISTICS OF GUIDEWIRE USED IN PERCUTANEOUS NEPHROLITHOTRIPSY J.Przondziono, J.Szala, J.Kawecki	178
	WŁAŚCIWOŚCI DRUTÓW STOSOWANYCH W URETERORENOSKOPII E.Grzegorczyk, B.Młocek, A.Sołtysek, A.Szuła, J.Przondziono	181	PROPERTIES OF WIRE USED IN URETERORENOSCOPY E.Grzegorczyk, B.Młocek, A.Sołtysek, A.Szuła, J.Przondziono	181
	BADANIA PROCESU DEGRADACJI KOPOLI- MERÓW GLIKOLIDU Z E-KAPROLAKTONEM PRZY POMOCY SPEKTROSKOPII NMR I SPEKTROMETRII MASOWEJ ESI-MS J.JAWORSKA, J.KASPERCZYK, P.DOBRZYŃSKI, S.LI, G.ADAMUS	183	DEGRADATION PROCESS OF GLYCOLIDE AND E-CAPROLACTONE COPOLYMERS INVESTIGATED BY HIGH RESOLUTION NMR AND ESI-MS J.JAWORSKA, J.KASPERCZYK, P.DOBRZYŃSKI, S.L. G. ADAMUS	183
AŁÓW	METODY NAKŁADANIA POWŁOK APATYTOWYCH NA STOPOWE PODŁOŻE TYTANOWE M.Rokita, A.Stoch, A.Adamczyk, E.Długoń, A.Brożek	187	APATITE LAYERS ON TI6AL4V BASE – TECHNIQUES OF COVERING M.Rokita, A.Stoch, A.Adamczyk, E.Długoń, A.Brożek	187
	BADANIA WPŁYWU DŁUGOTRWAŁEGO KONTAKTU Z TKANKĄ LUDZKĄ NA ZACHOWAN BIOMATERIAŁÓW AUSTENITYCZNYCH S.Rymkiewicz, B.Świeczko-Żurek, P.Tkaczyk	^{IE} 190	THE INFLUENCE OF DURABLE CONTACT ON HUMAN TISSUE ON AUSTENITIC BIOMATERIALS BEHAVIOUR S.Rymkiewicz, B.Świeczko-Żurek, P.Tkaczyk	190

BIC MATERIA! ÓW

•

BADANIA OBSZARÓW ZAGROŻONYCH ZNISZCZENIEM W BIOMATERIAŁACH KORON STOMATOLOGICZNYCH S.Rymkiewicz, Z.Bereznowski	192	EXAMII TO DAM OF DEM S.RYMKI
CHARAKTERYSTYKA POWIERZCHNI KOMPOZYTÓW CERAMICZNO– POLIMEROWYCH W SRODOWISKACH WODNYCH O RÓŻNYCH PH J.Siejka–Kulczyk, M.Lewandowska, K.J.Kurzydłowski	194	SURFA THE DE COMPO TO WAT J.SIEJKA K.J.KUR
OSZACOWANIE MAKSYMALNEGO NAPRĘŻENIA KONTAKTOWEGO NA POWIERZCHNI PANEWKI ENDOPROTEZY STAWU BIODROWEGO PRZY UŻYCIU ROZMYTEGO SYSTEMU WNIOSKOWANIA S.Sobieszczyk	198	MAXIM ON ACE REPLA SYSTEI S.Sobies
WPŁYW STERYLIZACJI NA WŁAŚCIWOŚCI BIOLOGICZNE WARSTW AZOTOWANYCH WYTWORZONYCH NA STOPIE TYTANU TI6AL4V W WARUNKACH WYŁADOWANIA JARZENIOWEGO A.Sowińska, A.Zajączkowska, B.Cukrowska, M.M.Godlewski, T.Wierzchoń, E.Czarnowska	200	THE EF BIOLOO SURFA THE THE DISCHA A.Sownin M.M.Go
RÓŻNE PROFILE UWALNIANIA ANTRACYKLIN JAKO WYNIK ODDZIAŁYWAŃ MIĘDZY LEKIEM I BIODEGRADOWALNĄ POLIMEROWĄ MATRYCĄ K.Stokłosa, J.Kasperczyk, P.Dobrzyński, B.Kaczmarczyk	203	VARIOU ANTHR INTERA BIODEO K.Stoke B.Kacza
POLISILOKSANOWE POWŁOKI IMPLANTÓW MEDYCZNYCH. WPŁYW PLAZMY FLUOROWEJ NA SKŁAD CHEMICZNY I WŁAŚCIWOŚCI POLISILOKSANU D.Szmigiel, K.Domański, P.Prokaryn, P.rabiec, E.Pamuła, A.Ścisłowska-Czarnecka, B.Płytycz	206	PLASM FOR ME D.Szmigi E.Pamue BIOMEC
CHARAKTERYSTYKA BIOMECHANICZNA STENTU WIEŃCOWEGO Z TECHNOLOGIĄ OCC W.Walke, Z.Paszenda, W.Jurkiewicz	209	CROWN W.WALK BIOCOL
BIOZGODNOŚĆ WARSTWY KOMPOZYTOWEJ TYPU TI3P+TI-NI Z POWŁOKĄ HYDROKSY- APATYTU A.Zajączkowska, A.Sowińska, B.Cukrowska, M.M.Godlewski, E.Skołek, W.Mróz, T.Wierzchoń,	212	HYDRO A.Zając M.M.Go E.Czarn
E.Czarnowska WPŁYW MODYFIKACJI BIAŁKOWEJ NA WŁAŚCIWOŚCI HYDROKSYAPATYTU JAKO NOŚNIKA GENTAMYCYNY J.Zalewska, G.Ginalska, A.Ślósarczyk, P.Godlewski	214	THE INI ON HYE AS GEN J.ZALEW ESTIMA
WPŁYW OCZEKIWANYCH EFEKTÓW RÓŻNYCH MODYFIKACJI POWIERZCHNI NA WŁASNOŚCI MECHANICZNE, CHEMICZNE I BIOLOGICZNE ENDOPROTEZ A.Zieliński, B.Świeczko-żurek, S.Sobieszczyk	217	DF DIFI MECHA BEHAV A.Zieliń:

.

VII NATION OF AREAS EXPOSED MAGE IN BIOMATERIALS 192 **ITAL CROWNS** EWICZ, Z.BEREZNOWSKI **CE CHARACTERIZATION OF** NTAL CERAMIC – POLYMER **DSITES AFTER AN EXPOSURE** FER ENVIRONMENTS WITH VARIOUS PH 194 -Kulczyk, M.Lewandowska, ZYDŁOWSKI UM CONTACT STRESS ESTIMATION ETABULAR SURFACE IN TOTAL HIP CEMENT USING FUZZY REASONING 198 M SZCZYK FECT OF STERILIZATION ON GICAL PROPERTIES OF NITRIDED CE LAYERS PRODUCED ON AL4V ALLOY UNDER GLOW 200 ARGE CONDITIONS ISKA, A.ZAJĄCZKOWSKA, B.CUKROWSKA, DLEWSKI, T.WIERZCHOŃ, E.CZARNOWSKA JS RELEASE PROFILES OF **ACYLINES AS A RESULT OF** CTIONS BETWEEN DRUG AND 203 GRADABLE POLYMER MATRIX OSA, J.KASPERCZYK, P.DOBRZYŃSKI, ARCZYK A TREATED POLYSILOXANE COATING 206 EDICAL IMPLANTS IEL, K.DOMAŃSKI, P.PROKARYN, P.RABIEC, A, A.Ścisłowska-Czarnecka, B.Płytycz CHANICAL CHARACTERISTIC OF IARY STENT DESIGN WITH OFFSET 209 N CONNECTION TECHNOLOGY E, Z.PASZENDA, W.JURKIEWICZ MPATIBILITY OF COMPOSITE LAYER -NI WITH COATING OF 212 XYAPATITE ZKOWSKA, A.SOWIŃSKA, B.CUKROWSKA, DLEWSKI, E.SKOŁEK, W.MRÓZ, T.WIERZCHOŃ, IOWSKA FLUENCE OF PROTEIN MODIFICATION DROKSYAPATITE PROPERTIES 214 **TAMICIN CARRIER** SKA, G.GINALSKA, A.ŚLÓSARCZYK, P.GODLEWSKI **ATION OF THE EXPECTED EFFECTS** FERENT SURFACE MODIFICATIONS ON NICAL, CHEMICAL AND BIOLOGICAL IOUR OF ENDOPROSTHESES 217 SKI, B.ŚWIECZKO-ŻUREK, S.SOBIESZCZYK

VIII	SYSTEM EKSPERCKI JAKO METODA		EXPERT SYSTEM AS A CLASSIFICATION	
	WYBORU LECZENIA W CHOROBIE		PERTHES DISEASE TREATMENT	219
	LEGG-CALVE-PERTHES	219	S.Sobieszczyk, B.Świeczko-żurek, M.Krzemiński	
	S.Sobieszczyk, B.Świeczko-żurek, M.Krzemiński SKŁAD FAZOWY WARSTWY WIERZCHNIEJ BIOSTOPU TI-6AL-4V PRZETOPIONEJ LASEREM B.Świeczko-Żurek, M.Jażdżewska, A.Zieliński ADHEZJA I WZROST LUDZKICH CHONDROCYTÓW NA POWIERZCHNI BIORESORBOWALNYCH MATERIAŁÓW POLIMEROWYCH A.Orchel, A.Dylla, K.Jelonek, J.Kasperczyk, P.Dobrzyński, A.Owczarek, I.Bielecki, Z.Dzierżewicz	221 223	THE PHASE COMPOSTION OF THE SURFACE LAYER OF LASER MELTED TI-6AL-4V BIOALLOY B.Świeczko-Żurek, M.Jaźdźewska, A.Zieliński GROWTH OF HUMAN CHONDROCYTES ON BIODEGRADABLE SYNTHETIC POLYMERS A.ORCHEL, A.DYLLA, K.JELONEK, J.KASPERCZYK, P.DOBRZYŃSKI, A.OWCZAREK, I.BIELECKI, Z.DZIERŻEWICZ THE ACTIVITY OF MACROPHAGES, AND BONE MORPHOGENETIC PROTEINS	221 223
	AKTYWNOŚĆ MAKROFAGÓW I ZMIANY DYSTRYBUCJI I KONCENTRACJI BIAŁEK MORFOGENETYCZNYCH KOŚCI (BMP-4) ORAZ KOLAGENU TYPU II W SĄSIEDZTWIE WSZCZEPÓW BIOAKTYWNEGO SZKŁA SZ2. DONIESIENIE WSTĘPNE K.Niedzielski, R.Koktysz, W.Bandurka, J.Woźniak, M.Łączka, K.Cholewa Kowalska, E.Menaszek	227	(BMP-4) AND COLLAGEN TYPE II CHANGES OF DISTRIBUTION AND CONCENTRATION IN NEIGHBOURHOOD OF BIOACTIVE SZ2 GLASS IMPLANTS. PRELIMINARY STUDIES K.Niedzielski, R.Koktysz, W.Bandurka, J.Woźniak, M.Łączka, K.Cholewa Kowalska, E.Menaszek PRELIMINARY EVALUATION OF A NEW GENERATION BIO-CERAMICS BLEND	227
	WSTĘPNA OCENA MIESZANINY BIOCERAMIKI NOWEJ GENERACJI Z ALLOGENNYMI PRZESZCZEPAMI KOSTNYMI W BADANIACH RADIOLOGICZNYCH, DENSYTOMETRYCZNYCH I WYTRZYMAŁOŚCIOWYCH. BADANIA IN VIVO K.Niedzielski, R.Koktysz, J.Woźniak.	231	WITH ALLOGENOUS BONE GRAFTS IN RADIOGRAPHIC, DENSITOMETRIC AND STRENGTH TESTS. AN IN VIVO STUDY K.Niedzielski, R.Koktysz, J.Woźniak, M.Mazurkiewicz, K.Cholewa-Kowalska, M.Łączka, M.Domżalski	231
	M.Mazurkiewicz, K.Cholewa-Kowalska, M.Łączka, M.Domżalski WSPÓŁCZESNE KIEUNKI ROZWOJU KONSTRUKCJI ENDOPROTEZ STAWU		PRESENT-DAY DIRECTIONS IN DEVELOPMENT OF THE HIP ENDOPROSTHESIS CONSTRUCTION M.GIERZYŃSKA-DOLNA, P.LACKI, J.SZYPROWSKI, H.WIŚNIEWSKA-WEINERT	236
	BIODROWEGO M.Gierzyńska-Dolna, P.Lacki, J.Szyprowski, H.Wiśniewska-Weinert	236	INFLUENCE OF LIQUIDS USED IN MIXING ATCP-DCPD POWDER ON PHYSICAL PROPERTIES AND BIOCOMPATIBILITY	
	WPŁYW ZASTOSOWANYCH PŁYNÓW DO ZARABIANIA PROSZKU O SKŁADZIE: ATCP-DCPD NA WŁAŚCIWOŚCI FIZYCZNE		OF THE OBTAINED BONE CEMENTS J.Karaś, S.Pielka, D.Paluch, LLCiołek, S.Traczyk	241
	I BIOZGODNOŚĆ OTRZYMYWANYCH CEMENTÓW KOSTNYCH J.Karaś, S.Pielka, D.Paluch, LlCiołek, S.Traczyk	241	PRELIMINARY STUDY ON POLYACRYLONITRILE BASED FIBRES MODIFIED WITH MAGNETITE NANOPARTICLES FOR BIOMATERIALS ENGINEERING	- 246
	WSTĘPNE BADANIA NAD WŁÓKNAMI POLIAKRYLONITRYLOWYMI MODYFIKOWANYM NANOCZĄSTECZKAMI MAGNETYTU DO		M.Wójcik, K.Nowicka, T.Mikołajczyk, J.Chmist, H.Figiel, S.Błażewicz	
< >	ZASTOSOWAŃ W INŻYNIERII BIOMATERIAŁÓW M.Wójcik, K.Nowicka, T.Mikołajczyk, J.Chmist, H.Figiel, S.Błażewicz	246	SURFACE CHARGE INDUCED ON BIOACTIVE COMPOSITE S.Szarska, S.Niemczyk	248
ĽÔ M	ŁADUNEK POWIERZCHNIOWY INDUKOWANY NA BIOAKTYWNYCH KOMPOZYTACH S.Szarska, S.Niemczyk	248	WHAT DRIVES BONE GROWTH? S.A.M.Tofail, M.Wojcik	251
ERIA	WHAT DRIVES BONE GROWTH? S.A.M.Tofail, M.Wojcik	251		
2 × 1			Wersja angielska zamieszczonych artykułów j zgodna z dostarczoną przez autorów.	est
z °		• • • • • •		

ADHESION, GROWTH AND DIFFERENTIATION MARKERS IN HUMAN OSTEOBLAST-LIKE CELLS CULTURED ON SURFACE-MODIFIED METALLIC MATERIALS DESIGNED FOR BONE IMPLANTS

Lucie Bacakova*, Jitka Kabatova**, Vera Lisa*, Vladimir Stary**, Jaroslav Fencl***

*Institute of Physiology, Acad. Sci. CR, Videnska 1083, 142 20 Prague 4-Krc, Czech Republic; **Faculty of Mechanical Engineering, Czech Technical University, Karlovo nam. 13, 121 35 Prague 2 ***Beznoska Ltd., Delnicka 2727, 272 01 Kladno, Czech Republic E-mail: Lucy@biomed.cas.cz

Abstract

A series of metallic materials with different surface treatments were prepared: pure machined titanium (T), titanium polished by diamond paste (TL), machined Ti6Al4V alloy (TS), Ti6Al4V alloy polished by diamond paste (TSL), Ti5Al2.5Fe alloy treated by electro-erosion (A) and Ti5Al2.5Fe plasma-sprayed with Ti (PL). The materials were seeded with human osteoblast-like cells MG 63. One day after seeding, the highest cell numbers were obtained on the samples of medium surface roughness (T and TS; R_a 0.63±0.30 um and 0.89±0.57 um, respectively). From day 1 to 4, the cell proliferation was the quickest on the samples with the lowest surface roughness (TL and TSL; R_a 0.17±0.13 for both materials). The cells on TL also contained the highest concentration of integrin adhesion molecules with alpha V chain, i.e. receptors for vitronectin and fibronectin. On day 8 after seeding, the cells on all metallic samples as well as tissue culture polystyrene reached similar population densities. The cells on electro-eroded Ti5Al2.5Fe (samples A; Ra 15.27±0.74 um) contained the highest concentration of osteocalcin and osteopontin, i.e. markers of osteoblastic differentiation. Thus, the latter newly developed material could be considered as promising for construction of bone implants well anchored in the surrounding bone tissue.

Key Words: titanium, Ti6Al4V, Ti5Al2.5Fe, surface roughness, surface chemistry, bone cells, adhesion, integrins, proliferation, osteocalcin, osteopontin [Engineering of Biomaterials,58-60,(2006),1-3]

Introduction

Alloys of titanium, aluminium, vanadium, iron and other metals are traditional materials used in hard tissue surgery, e.g. for fabrication of screws, splints and other devices for bone fixation, or for construction of joint prostheses, mainly their bone-anchored stems (Boden *et al.* 2006, Cobb and Schmalzreid 2006, Levine *et al.* 2006). The anchorage of the metallic materials into the surrounding tissue depends of their mechanical and other physical and chemical properties. Unfortunately, the metals are generally very rigid and heavy in comparison with the bone tissue. For example, the modulus of elasticity and specific weight of metals commonly used for implantation into the bone (if they are in solid non-porous form) is higher by 1 to 2 orders than the values measured for the osseous tissue (Blazewizc et al. 1997, Levine et al. 2006). These disproportions often lead to damage and aseptic loosening of the bone adjacent to the implant. In addition, also the chemical composition of the metallic materials does not often support the viability and function of the surrounding as well as remote cells - several metals, for example cobalt, nickel or chromium, have been found to be cytotoxic or immunogenic, which is due to the release of metallic ions from the implant (Ibris and Rosca 2002, Cobb and Schmalzreid 2006; for a review see also Bacakova et al. 2001). On the other hand, the metallic prostheses are usually mechanically resistant and durable; their life span in the patient's organism can exceed 10 years (Boden et al. 2006, Reikeras and Gunderson 2006). In addition, the integration of metallic material with the surrounding tissue can be markedly improved by appropriate physicochemical surface properties of the material, such as roughness, topography, wettability or presence of certain chemical functional groups (Bacakova et al. 2000, 2001, 2004, Stary et al. 2003, Sul et al. 2005, Boden et al. 2006, Reikeras and Gunderson 2006).

Therefore, in the present study, the surface roughness of samples of pure Ti or Ti6Al4V alloy was modified by machining or subsequent polishing by diamond paste in order to influence the adhesion, growth and presence of bone differentiation markers (osteocalcin, osteopontin) in human osteoblast-like MG 63 cells. In addition, we investigated the interaction of these cells with a newly developed material for construction of bone-anchoring parts of hip joint replacements, i.e. Ti5Al2.5Fe alloy treated either with electro-erosion or plasma-spraying with Ti. Earlier, the Ti5Al2.5Fe alloy has been found to have high corrosion resistance, due to the presence of non-titanium atoms, particularly iron, which enhance the formation of the oxide film on the material surface (Ibris and Rosca 2002). Moreover, the Ti5Al2.5Fe alloy has been reported to carry low risk for patients of ferromagnetically induced secondary loosening caused by magnetic resonance scanning (Thomsen et al. 2001).

Material and methods

The metallic materials were provided the company Beznoska Ltd., Kladno, Czech Republic, a company producing and trading instruments and implants for orthopedics, traumatology and maxillofacial surgery (http://www.beznoska. cz). The materials were of cylindrical shape (diameter 2.4 or 2.9 cm, thickness 2 mm). The following groups of samples were prepared:

T: titanium, machined

.

TL: titanium, mechanically grinded and finally polished by diamond paste (grain size $2 \mu m$),

- TS: Ti6Al4V alloy, machined
- TSL: Ti6Al4V alloy, mechanically grinded and finally polished by diamond paste (grain size $2 \mu m$),
- A: Ti5Al2.5Fe, electro-eroded
- PL: Ti5Al2.5Fe, plasma-sprayed with Ti

PS: conventional tissue culture polystyrene dish (TPP, Trasadingen, Switzerland) as a control reference material.

The surface roughness was measured using a profilometer Hommel-Tester T 1000 with T1E and T3E scanners (Hommelwerke GmbH, VS-Schwenningen, Germany) and also by TALYSURF6 profilometer (Taylor-Hobson Ltd, Leicester, UK). The parameters R_a (arithmetic mean of the departures of the roughness profile from the mean line) and S_m (mean spacing of adjacent local peaks) were evaluated according the norm ISO 4287.

For cell culture, the samples were cleaned in ethanol, rinsed with distilled and deionized water, sterilized for 2 hours at 160°C in hot air sterilizer, inserted into 6-well plates (TPP, Trasadingen, Switzerland; diameter 3.4 cm). They were seeded with human osteoblast-like cells of the line MG 63, derived from osteosarcoma of a 13-year-old boy (European Collection of Cell Cultures, Salisbury, UK). Each dish contained 120 000 cells (i.e., 13 230 cells/cm² and 6 ml of Dulbecco Minimum Essential Medium supplemented with 10% of fetal bovine serum and 40 µg/ml of gentamicin). Cells were cultured for 1-8 days at 37°C in humidified air atmosphere containing 5% of CO₂. For evaluation of the morphology of cells and their distribution over the material surface, the cells were fixed with 70% cold ethanol and stained with propidium iodide (this compound stains nucleic acids, i.e. preferentially the nuclei, but the cytoplasmic part of the cell is, at least partly, also visible). For evaluation of cell number, the cells were detached with a trypsin-EDTA solution (Sigma, U.S.A, Cat. Nº T4174) in phosphate buffered saline (PBS) for 10 min at 37°C, resuspended in cell culture medium (see above) and analyzed in a ViCell XR analyzer (Beckman Coulter, U.S.A).

The concentration of alpha V integrins, i.e. molecules participating in cell adhesion, as well as osteocalcin and osteopontin, i.e. extracellular matrix proteins typical for the bone and indicators of osteoblastic differentiation, was determined semi-quantitatively by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in cell homogenates obtained by sonication (Bacakova et al. 2000). The following primary polyclonal rabbit anti-human antibodies were used: anti-integrin alpha V (Chemicon Int., Cat. Nº AB1930), anti-osteocalcin (Chemicon Int., cat. Nº Cat. No.ALX-210-309). Dilution of all antibodies was 1:500, incubation time 1 hour at room temperature. As the secondary antibody, goat anti-rabbit IgG (whole molecule) conjugated with peroxidase (Sigma, St. Louis, MO, U.S.A.; Cat. Nº A0545) was applied (dilution 1:5000, incubation 1 hour at room temperature). Alpha V integrins, osteocalcin and osteopontin were also visualized by immunofluorescence staining using the above mentioned primary antibodies (similar dilution, incubation at 4°C overnight). The secondary antibody was represented by F(ab')2 fragment of Goat Anti-Rabbit IgG conjugated with Alexa Fluor 488 (Molecular Probes, OR, U.S.A., Cat. Nº A11070; dilution 1:500, incubation 1 hour at room temperature).

Results and discussion

On day 1 after seeding, the highest numbers of adhering cells were found on machined samples of Ti and Ti6Al4V (T and TS, respectively), i.e. surfaces of the medium surface roughness (R_a less than 1 µm, TAB.1, FIG.2A). On Ti6Al4V, this number vas even significantly higher in comparison with that on control tissue culture polystyrene. The cells were usually spindle-shaped, and their longitudinal axis was

2

Sample Parameter	т	TL	TS	TSL	А	PL	PS	
R _a (µm)	0.63±	0.17±	0.89±	0.17±	15.27±	39.72±	0.02±	
	0.30	0.13	0.57	0.13	0.74	9.58	0.006	
S _m (µm)	54.13±	31.52±	73.25±	33.25±	332.85±	519.5±	8.47±	
	23.09	22.86	53.62	21.26	22.62	101.26	1.33	
$R_{\rm g}$; arithmetic mean of the departures of the roughness profile from the mean line $S_{\rm m}$; mean spacing of crossing of the mean line, i.e between profile peaks Means \pm SD from 3 measurements on each of 14 samples of every experimental group.								

TABLE 1. Parameters of the surface roughness in metallic materials with different surface treatments (see Materials and methods) designed for construction of bone implants.



FIG.1. The population density of human osteoblast-like MG 63 cells on day 1, 4 and 8 (A, B and C, respectively) after seeding on metallic materials with different surface treatments (see Materials and methods), and their growth curves from day 0 to 8 (D).

Means \pm SEM from 4 to 10 samples for each experimental group. One Way Analysis of Variance (ANOVA), Holm-Sidak test. T, TS, PS etc.: significantly different (p \leq 0.05) compared to samples the abbreviations of which are explained in the Material and methods).



FIG.2. Morphology of human osteoblast-like cells MG 63 on machined pure titanium (A), titanium polished using diamond paste (B), machined Ti6Al4V alloy (C) Ti6Al4V alloy polished by diamond paste (D), Ti5Al2.5Fe alloy treated by electro-erosion (E) or plasma-spraying with Ti (F) and polystyrene tissue culture dish TPP (G). Day 1 after seeding, ethanol-fixed cells stained with propidium iodide, inverted fluorescence microscope Olympus IX 50.

found on both polished Ti and Ti6Al4V, i.e. surfaces with the lowest roughness (R_a less than 200 nm; TAB.1, FIG.2A). On these smooth surfaces, the cells were homogeneously distributed like on the control tissue culture polystyrene (FIG.2B,D,G). However, from day 1 to day 2, the cells on the smoothest surfaces had the shortest population doubling

time (TAB.2), so that on day 4, their population densities exceeded the values on the corresponding non-polished samples (FIG.1B). These results are in accordance with our previous findings of a more active cell proliferation on polished carbon-fibre reinforced carbon composites (Bacakova *et al.* 2001). On polished materials, the cells are usually better spread and forming multiple cell-material contacts, which could be positively correlated with their growth activity (for a review see Bacakova *et al.* 2000, 2001, 2004). More intensive cell-material contacts were suggested by a higher concentration of integrin adhesion molecules with



FIG.3. The concentration of alpha V integrins (A), osteocalcin (B) and osteopontin (C) in human osteoblast-like MG 63 cells grown for 8 days on metallic materials with different surface treatments (see Materials and methods). Measured by ELISA per mg of protein. D, E, F: Immunofluorescence staining of alpha V integrins, osteocalcin and osteopontin, respectively, in MG 63 cells on tissue culture polystyrene. Arrows indicate alpha V integrin-containing focal adhesion plaques, i.e. sites on the cell membrane with close cell-material contact.

Absorbance expressed in % of the value obtained from cells grown on tissue culture polystyrene. Means \pm SEM from 4 measurements for each experimental group. Means \pm SEM from 4 to 10 samples for each experimental group. One Way Analysis of Variance (ANOVA), Holm-Sidak test. T, TSL, A, PS etc.: significantly different (p≤0.05) compared to samples the abbreviations of which are explained in the Material and methods.

alpha V chain in cells grown on polished Ti in comparison with cells on the corresponding machined sample as well as polystyrene dish (FIG.3A). The alpha V integrins bind mainly vitronectin and fibronectin, which can be adsorbed on the materials surface from the serum of the culture medium.

On day 8 after seeding, the cells on all tested samples reached similar population densities (FIG.1A), although the density on both Ti5Al2.5Fe samples, especially those electro-eroded (referred as "A"), tended to be the highest. Moreover, these cells contained the highest concentration

Sample Parameter	Т	TL	TS	TSL	А	PL	PS	
DT (h)	25.5	20.8	21.9	18.6	28.5	29.2	17.4	
DT = (t-t_o)log 2/(log Nt-log Nt_), where Nt_o and Nt were the numbers of cells in 1- and 4-day-old cultures, respectively.								

TABLE 2. The population doubling time (DT) in human osteoblast-like MG 63 cells grown on metallic materials with different surface treatments (see Materials and methods).

of osteocalcin and osteopontin, which suggested the highest differentiation potential of MG 63 cells on these materials towards the osteoblastic phenotype. The relatively good performance of MG 63 cells on the Ti5Al2.5Fe alloy could be due to a well-developed oxygen film on the surface of this material (Ibris and Rosca 2002). Oxygen-containing groups have been reported to support colonization of various artificial materials with cells (Bacakova *et al.* 2000, 2001, 2004, Stary *et al.* 2003). Therefore, it can be concluded that the Ti5Al2.5Fe alloy treated by electro-erosion might be promising material for construction of bone implants well-integrating with the surrounding bone tissue and permissive for bone tissue formation at the bone-material interface.

Acknowledgements

Supported by the Grant Agency of the Czech Republic (grant No. 101/06/0226). We also thank to Mrs. Ivana Zajanova for her excellent technical assistance. Mr. Robin Healey (Czech Technical University, Prague) gratefully is acknowledged for the language revision of the manuscript.

References

[1] Bacakova L, Mares V, Lisa V, Svorcik V: Biomaterials 21: 1173-1179, 2000.

[2] Bacakova L, Stary V, Kofronova O, Lisa V: J Biomed Mater Res 54: 567-578, 2001a

[3] Bacakova L, Filova E, Rypacek F, Svorcik V, Stary V: Physiol Res 53 Suppl 1: S35-45, 2004.

[4] Blazewicz S, Chlopek J, Litak A, Wajler C, Staszkow E: Biomaterials18: 437-439, 1997

[5] Boden H, Salemyr M, Skoldenberg O, Ahl T, Adolphson P: J Orthop Sci 11: 175-179, 2006

[6] Cobb AG, Schmalzreid TP: Proc Inst Mech Eng [H] 220: 385-398, 2006

 [7] Ibris N, Rosca JCM: J Electroanalyt Chem 526: 53-62, 2002
[8] Levine BR, Sporer S, Poggie RA, Della Valle CJ, Jacobs JJ: Biomaterials 2006, in press

[9] Reikeras O, Gunderson RB: Acta Orthop 77: 98-103, 2006. [10] Sul YT, Johansson C, Wennerberg A, Cho LR, Chang BS,

Albrektsson T: Int J Oral Maxillofac Implants 20: 349-359, 2005 [11] Starý V, Bačáková L, Horník J, Chmelík V: Thin Solid Films,

433: 191-198, 2003 [12] Thomson M. Schneider I.J. Breusch S.J. Hansmann, J. Freun

[12] Thomsen M, Schneider U, Breusch SJ, Hansmann J, Freund M: Orthopade 30: 540-544, 2001.

ADHESION AND GROWTH OF HUMAN OSTEOBLAST-LIKE CELLS ON ALIPHATIC POLYESTERS WITH DIFFERENT CHEMICAL COMPOSITION, SURFACE ROUGHNESS AND MODIFICATION WITH HYDROXYAPATITE

BARBORA VAGASKA*, LUCIE BACAKOVA*, ELZBIETA PAMULA**, VERA LISA*, PIOTR DOBRZYŃSKI***

*IINSTITUTE OF PHYSIOLOGY, ACAD. SCI. CR, VIDENSKA 1083, 142 20 PRAGUE 4-KRC, CZECH REPUBLIC **AGH-UST, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS, DEPARTMENT OF BIOMATERIALS, AL MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW, POLAND ***CENTRE FOR POLYMER CHEMISTRY, POLISH ACADEMY OF SCIENCES, UL. CURIE-SKŁODOWSKIEJ 34/20, 41-819 ZABRZE, POLAND E-MAIL: LUCY@BIOMED.CAS.CZ

Abstract

4

In this study we have investigated the effect of three groups of polymeric foils on the behavior of MG 63 osteoblast-like cells. These included (1) poly(Llactide) (PLLA) compared with newly synthesized copolymer of L-lactide and trimethylene carbonate (PLTMC 50:50), (2) three samples made of glycolide and ε-caprolactone copolymer (PGCap) with different surface roughness and topography, and finally (3) copolymer of glycolide with L-lactide (PGLA) compared with its modification with hydroxyapatite deposits. On the 1st and 4th day of cultivation the cell number on all of the samples was lower than on control polystyrene culture dish. However, on day 8 after seeding, the values on the tested samples caught up with the control polystyrene. In the first group the cell number on PLTMC was higher than on polystyrene or PLLA. In the second group, the number of cells on PGCap samples of the lower surface roughness (RRMS 130 and 180 nm) was significantly higher than that on the control polystyrene, whereas on the PGCap samples with the roughness in micrometers, it was comparable to the value on the polystyrene. Moreover, the surface roughness influenced the cell adhesion area. The cells on the sample with the highest roughness index were roundly shaped and their adhesion area was significantly lower, because the cells were restricted in their spreading by the surface structure of the material. In the last group, the number of cells on day 8 on the polymer with hydroxyapatite deposits was significantly higher than on standard tissue culture polystyrene dish, as well as on unmodified PGLA foil, which suggests that hydroxyapatite supports cell proliferation.

Key Words: Glycolide, L-lactide, ε -caprolactone, trimethylene carbonate, polyethylene glycol, hydroxyapatite, wettability, roughness, bone cells, cell adhesion, cell proliferation

[Engineering of Biomaterials, 58-60, (2006), 4-7]

Introduction

Aliphatic polyesters such as polylactides, polyglycolides, poly-epsilon-caprolactone, and their copolymers are perspective and widely used materials for various advanced biomedical applications because of their advantageous properties such as biocompatibility, non-toxicity and biodegradability. The perspective fields for application of these materials are controlled drug release (Lysaght and Hazlehurst 2004), cell transfection with DNA constructs (Haas et al. 2005) or tissue engineering of bone (Yoon et al. 2004), cartilage (Savaiano and Webster 2004), vascular wall (Bacakova et al. 2003, Venugopal et al. 2005), skin (Chung et al. 2006), liver (Yoon et al. 2002) and even peripheric and central nervous tissue (Bryan et al. 2004, Han et al. 2005). Extensive studies of aliphatic polyesters over the past two decades have shown that surface chemistry, topography and roughness, and surface modifications influence biological properties such as protein adsorption, and consequently cell adhesion, spreading and proliferation, ultimately affecting new tissue formation (Bacakova et al. 2003, Savaiano and Webster 2004, Venugopal et al. 2005, Chung et al. 2006). Therefore, in this study we have investigated the effect of three groups of aliphatic polyester foils, differring in chemical composition and physicochemical surface properties, on the behavior of MG 63 osteoblast-like cells in cultures on these materials.

Materials and methods

Polymeric foils

The first group of samples contained foils with different chemical composition. We compared poly(L-lactide) (PLLA; Purac, Biochem, The Nederlands, Mv=410 kDa; Pamula et al. 2001) with a newly synthesized copolymer of L-lactide and trimethylene carbonate (PLTMC 50:50) (Dobrzyński and Kasperczyk 2006).

In the second group all the samples were made of glycolide and ε -caprolactone (PGCap 10:90), but had different surface roughness and topography (referred as PGCap up, PGCap down, PGCap membrane).

Finally we compared copolymer of glycolide and L-lactide (PGLA 18:84) and its modification with hydroxyapatite deposits (PGLA-HAp), produced by biomimetic method from simulated body fluid (Pamula and Buczynska 2005).

As a control material well supporting cell adhesion and growth, tissue culture polystyrene (TCPS) (TPP, Switzerland; diameter 22 mm) was used. As a negative control, we applied a blend of PGCap and 30 wt% of polyethylene glycol (PEG, Mn ca. 400 Da, Aldrich, Cat. No 20,239-8), referred as PGCap+PEG blend. It is known that PEG is a protein repulsive material and therefore non-appropriate for cell adhesion.

Measurements of physicochemical surface properties

The water contact angle was measured by sessile drop method by an automatic drop shape analysis system DSA 10 Mk2 (Kruss, Germany). UHQ - water (produced by Purelab UHQ, Elga) of resistivity 18 MΩ/cm, was used for experiments. The surface topography and roughness were evaluated by atomic force microscopy in contact mode (AFM Explorer, ThermoMicroscopes, Vecco, USA) in the scan areas of 100 μ m x 100 μ m. The samples which were too rough to be studied in AFM were evaluated by scanning electron microscopy (SEM, JSM 5400, JEOL, Japan).

Cells and culture conditions

Human osteoblast-like cells from the cell line MG 63

(European Collection of Cell Cultures, Salisbury, UK) were seeded on the polymer foils at the initial density of 13 000 cells/cm² into 2 ml of Dulbecco-modified Eagle Minimum Essential Medium with 10% of fetal bovine serum. The cells were cultured at 37°C in humidified atmosphere containing 5% of CO₂ for 1, 4 and 8 days.

Cell adhesion and growth

In order to evaluate the cell morphology and distribution over the material surface, the samples were rinsed with phosphate-buffered saline (PBS), fixed in 70% ethanol, stained with propidium iodide and then observed using inverted microscope Olympus IX 50, equipped with a digital camera DP 70, obj. 10x.

To measure the number of cells, the cells were detached from the polymer by trypsin- EDTA solution (Sigma, U.S.A, cat. N° T4174) and counted in Bürker haemocytometer (3 measurements for each sample). The doubling time of cells was calculated according to the formula: $DT=(t-t_o)\log 2/log$ Nt-log Nt_o, where to and t represent earlier and later time intervals after seeding respectively Nto and Nt the number of cells at these intervals (i.e., day 1, 4 or 8 after seeding). For cell adhesion area measurements on day 1, the cells were fixed in 70% ethanol and stained with hematoxylineosin. Ten pictures were taken from each sample using inverted microscope Olympus IX 50, with digital camera DP 70, obj. 20x. The images were analyzed using software Atlas (Tescan, Brno, CR).

Statistics

Data were presented as averages ±S.E.M. (Standard Error of Mean). The statistical significance of the differences was evaluated by the Student's t test for unpaired data.

Results and discussion

Properties of the polymer foils

Water contact angle and roughness indexes of the studied materials are provided in TABLE 1. The highest contact angle was found on PLTMC and on the samples containing poly-epsilon-caprolactone, which is generally known by its hydrophobicity. All caprolactone-containing samples also were relatively rough. As measured by AFM, their roughness indexes ranged from more than 100 nm to several μm (the latter in the case of PGcap membrane), whereas the surface roughness of standard tissue culture polystyrene, PGLA and

PLTMC was in the range of nanometers or tens of nanometers. Also the HAp-enriched PGLA was relatively rough, thus its surface roughness was not measurable using AFM. The roughness of PLLA was in the range of more than 100 nm. These results are further documented on morphological pictures of the material surface topography obtained by AFM or SEM (FIG.1). The caprolactone-containing copolymers and polyL-lactide based polymers showed well apparent irregularities on their surface, while PGLA samples and polystyrene were almost completely flat.

Cell culture on the polymer foils

On day 1 after seeding, the cell number on all of the samples was significantly lower than on TCPS and comparable with the negative control (PGCap+PEG blend, FIG.2). In the first group of samples PLTMC had significantly higher number of cells than PLLA. In the second group cell number did not seem to be affected by the surface roughness. However, the surface topography influenced the cell adhesion area. The cells on the sample with the highest roughness index were roundly shaped and their adhesion area was significantly smaller (FIG.2). That could be explained by adhesion of the cells in the "valleys" on the material, which limited the cell spreading. In the third group the cell number was comparable on both materials, i.e. on PGLA and PGLA with hydroxyapatite deposits.

From day 1 to 4 after seeding, the cell population doubling time (TAB.2) on all tested polymeric samples was similar or even longer than on the control tissue polystyrene. As a results, on day 4 the cell number on all of the samples was still significantly lower than on TCPS, but already noticeably higher than on negative control (PGCap+PEG blend, Fig. 2). The latter sample did not allow cell colonization because of its extreme hydrophilicity, which was indicated by non-measurable water drop contact angle due to extreme spreading of the water drop on the material surface (TAB.1).

After eight days of cultivation, the cell number on most of the samples equaled or even exceeded the value found on the control TCPS (FIG.2). This result is in good correlation with a markedly shorter doubling time between the days 4 and 8 on all polymeric samples in comparison with TPCS (TAB.2). In the first group of samples, i.e. in samples of different chemical composition, the cell number on PLTMC was higher than on polystyrene or PLLA. In the second group, i.e. PGCap samples with different roughness, the number of cells on samples with a lower surface roughness (RRMS

Materialgroup	Cont	rols	Gro	oup 1		Group 2		Grou	ip 3
Parameter measured	TCPS	PGCap +PEG	PLLA	PLTMC	PGCap down	PGCap up	PGCap membr	PGLA	PGLA +HAp
Water contact angle [degree]	60.0±3.7	n.m.*	77.3±1.6	79.5±1.3	80.6±2.3	79.9±2.6	80.7±3.4	72.9±2.6	57.8±2.2
R _{RMS} [nm]	13.5	460	170	42	130	180	n.m.**	11.3	n.m.**
n.m.* = non-measurable (because of extreme spreading of the water drop); n.m.** = non-measurable (because of too high roughness to be analysed by AFM);									
Mean ± S.D. from 10-12 measurements	of individual	drops.							

TABLE 1. Water contact angle and R_{RMS} roughness on polymeric materials (explanation of the abbreviations see Materials and methods).

Material group/ parameter	Controls		Group 1		Group 2			Group 3	
DT (h)	TCPS	PGCap +PEG	PLLA	PLTMC	PGCap down	PGCap up	PGCap membr	PGLA	PGLA +HAp
14.	23.9 ±0.6	140.2±174.0	24.3±1.6	23.6±2.1	25.6±2.9	26.2±1.7	30.7±4.2	34.4±5.3	38.3±3.0
48.	105.8 ±9.6	62.9±8.7	43.9 ±2.6	50.7±1.9	37.4±0.9	39.1±1.8	46.9±5.0	42.1±5.7	29.9±1.0

TABLE 2. Doubling time (DT) of MG 63 populations on polymeric materials (see Materials and methods) between days 1 to 4 and 4 to 8 after seeding. Mean ± S.E.M. from 6-9 measurements.



FIG.2. Cell number on day 1, 4 and 8 and cell adhesion area on day 1 on polymeric materials (see Materials and methods).

PGLA HA

rcre

Means ± S.E.M. from 36 to 54 measurements obtained from 2-3 independent samples (cell number) or 13 to 20 cells for each experimental group (cell adhesion area). Student's t-test for unpaired data. Statistical significance: *p \geq 0.05, **p \geq 0.01, ***p \geq 0.001 in comparison with the value on TCSP.

BIOMATERIAŁÓW

130 and 180 nm) was significantly higher than that on the control polystyrene, whereas on the PGCap samples with the roughness in micrometers, it was similar as the value found on the polystyrene. In the last group of samples, the number of cells on PGLA with hydroxyapatite deposits was significantly higher than on standard tissue culture dish, as well as on the unmodified PGLA foil, which suggests that hydroxyapatite supports cell proliferation (Bacakova et al. 2004).

FIG.3. Morphology of MG 63 on polymeric materials (see Materials and methods) on the 8th day after seeding. Fixed with ethanol, stained with propidium iodide, fluorescence microscope Olympus IX 50, digital camera DP 70. Bar=500 µm. (Control samples: A-TCPS, B-PGCap+PEG blend; Group 1: C-PLLA, D-PLTMC; Group 2: E-PGCap down, PGCap up, PGCap membrane; Group 3: H-PGLA, I-PGLA+HAp

The morphology of MG 63 cells adhering to the studied polymers on day 8 after seeding is shown in FIG.3. It is apparent that on flat materials such as tissue culture polystyrene and PGLA, PLLA or PLTMC foils, the cells are distributed homogeneously while on rough materials (caprolactonecontaining samples and hydroxyapatite-modified PGLA) the cells are concentrated in the depressions among the protuberances on the material surface. On the PGCap+PEG blend, only occasional cell aggregates were found.

Conclusion

Newly synthesized copolymer of L-lactide and trimethylene carbonate (PLTMC 50:50) promoted faster growth and proliferation of MG 63 osteoblast-like cells in comparison with both standard culture tissue dish and commercially available poly(L-lactide). Surface roughness and topography had no significant effect on the cell adhesion and growth on poly(glycolide-epsilon-caprolactone) from day 1 to 4 after seeding. However, on day 8, the cells reached a higher population density on samples of the surface roughness between 130-180 nm, whereas on the samples of the roughness in micrometers, this density remained similar as on the polystyrene. In addition, a higher surface roughness decreased the size of the cell adhesion area. Modification of the polymeric material by hydroxyapatite deposits improved the cell proliferation.

Acknowledgements

Supported by the Grant Agency of the Czech Republic (grant No.106/06/1576) and by Polish Ministry of Scientific Research and Higher Education (grant No.3 T08D 019 28). We also thank to Mrs. Ivana Zajanova for her excellent technical assistance.

References

[1] Bacakova L, Lapcikova M, Kubies D, Rypacek F: Adv Exp Med Biol 534: 179-189, 2003.

[2] Bačáková L, Jungova I, Slosarczyk A, Zima A, Paszkiewicz Z: Inz Biomater – Eng. Biomater, 7 [38-42]: 15-18, 2004.

[3] Bryan DJ, Tang JB, Doherty SA, Hile DD, Trantolo DJ, Wise DL, Summerhayes IC: J Neural Eng 1: 91-98, 2004.

[4] Chung TW, Wang YZ, Huang YY, Pan CI, Wang SS: Artif Organs 30: 35-41, 2006.

[5] Dobrzynski P, Kasperczyk J, J Pol Sci Part A, , 44: 3184-3201, 2006.

[6] Haas J, Ravi Kumar MN, Borchard G, Bakowsky U, Lehr CM: AAPS PharmSciTech 6: E22-E30, 2005.

[7] Han DW, Sub Lee M, Park BJ, Kim JK, Park JC: Biotechnol Lett 27: 53-58, 2005.

[8] Lysaght M, Hazlehurst A: Tissue Eng 10: 309-320, 2004

[9] Pamuła E, Błażewicz M, Paluszkiewicz C, Dobrzyński P: J Mol. Struct 596: 69 – 75, 2001.

[10] Pamuła E, Buczyńska J, Ceramika-Ceramics 91/1: 577-584, 2005

[11] Savaiano JK, Webster TJ: Biomaterials 25: 1205-1213, 2004.

[12] Venugopal J, Ma LL, Yong T, Ramakrishna S: Cell Biol Int 29: 861-867, 2005.

[13] Yoon JJ, Nam YS, Kim JH, Park TG: Biotechnol Bioeng 78 :1-10, 2002.

[14] Yoon JJ, Song SH, Lee DS, Park TG Biomaterials 25: 5613-5620, 2004.

VASCULAR SMOOTH MUSCLE CELLS IN CULTURES ON SYNTHETIC POLYMERS WITH ADHESIVE MICRODOMAINS

Martin Parizek*, Lucie Bacakova*, Vera Lisa*, Olga Kubova*', Vaclav Svorcik**, Johannes Heitz***

*INSTITUTE OF PHYSIOLOGY, ACAD. SCI. CR, VIDENSKA 1083, 142 20 PRAGUE 4-KRC, CZECH REPUBLIC **INSTITUTE OF CHEMICAL TECHNOLOGY, TECHNICKA 5, 166 28 PRAGUE 6 – DEJVICE ***ANGEWANDTE PHYSIK, JOHANNES KEPLER UNIVERSITÄT, ALTENBERGERSTR. 69, A-4040 LINZ, AUSTRIA E-MAIL: PARIZEK.M@SEZNAM.CZ, LUCY@BIOMED.CAS.CZ

Abstract

Polyethylene terephtalate was modified by UV *light irradiation produced by a Xe*,**-excimer lamp for* 10, 20 or 30 min in an acetylene atmosphere. For creation of microdomains for selective cell adhesion, a contact nickel mask (apertures of the diameter of 500 µm, centre-to-centre distance 2 mm) was used. The material was then seeded with rat aortic smooth muscle cells (passage 3, 17 000 cells/cm²). After 1, 3 and 7 days of cultivation, the cells were homogeneously distributed on the samples without any preference of the irradiated microdomains. Moreover, on day 1, the number of initially adhered cells was similar on all tested samples. However, on day 3, the number of cells on the irradiated samples was significantly higher than that on control unmodified PET and increased proportionally to the time of exposure to UV light. On day 7 after seeding, however, the cell number on the unmodified PET exceeded the value on all irradiated samples. In the second set of experiments, polyethylene (PE) was irradiated by Ar⁺ ions in order to create the adhesive microdomains (dose 10¹²-10¹⁴ ions/cm², energy 150 and 15 keV, contact mask with holes of 100 µm diameter and distance 200 µm). The highest selectivity of the adhesion and growth of rat aortic smooth muscle cells (89% of all cells) was found on the microdomains created at the energy of 150 keV and the dose of 3.1012 ions Art. The lowest selectivity (30 %) occurred on samples irradiated with 150 keV Ar⁺ ions of the dose of $3 \cdot 10^{14}$ ions/cm². Therefore, both methods seem to be suitable for modification of materials with highly hydrophobic surfaces in purpose to increase the cell colonization, for example when constructing bioartificial vascular replacements. The second method can be also used for the creation of domains for a regionally selective adhesion and growth of cells on biomaterials.

Key words: UV light irradiation, ion implantation, patterned surfaces, adhesive microdomains, vascular smooth muscle cells

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),7-10]

Introduction

Synthetic materials, such as polyethylene, polystyrene, polyurethane or polyethylene terephtalate, are commonly used in various industrial applications as well as in biology and medicine. They serve not only as growth supports for cell cultures *in vitro*, but also they can be used for a con-

struction of replacements of various tissues or organs, e.g. non-resorbable or semi-resorbable vascular prostheses, artificial heart valves, bone and joint replacements, implants for plastic surgery (for a review see Bacakova *et al.* 1996).

There are two approaches for application of these materials. The first one is using mostly highly hydrophobic or extremely hydrophilic surfaces not allowing the adhesion and growth of cells. This approach is used for creation of bioinert vessel replacements, where the permanent blood flow is necessary and thus the adhesion of thrombocytes or immunocompetent cells is non-desirable in order to prevent the restenosis of the graft (for a review see Bacakova et al. 2000). An alternative approach, widely accepted in recent tissue engineering, is creation of surfaces supporting the colonization with cells and good integration of a replacement with the surrounding tissues of the patient's organism. This concept is used e.g. for construction of bone prostheses, persisting in the patient's organism for many years, and is developed for creation of bioartificial replacements of blood vessels, liver, pancreas and even nervous tissue (for a review see Bacakova et al. 2000, 2001).

There are different possibilities of modification the materials' surfaces so they would be convenient for the cell adhesion. One of them is the creation of microdomains supporting adhesion and conducting the growth of cells (Mikulikova *et al.* 2005). For this purpose, the exposure to ultraviolet (UV) irradiation or to a beam of ions (e.g., oxygen, nitrogen, noble gases or halogens for biological applications) through a contact metallic mask with holes of a needed diameter is often used. For more pronounced changes in physicochemical properties of the microdomain surface, the process can be realised in gas atmosphere, e.g. in acetylene or ammonia.

The goal of these irradiation modifications is to create regions with functional chemical groups containing oxygen or nitrogen, like carbonyl, carboxyl or amine groups, on the material's surface, which increase the surface wettability, support the adsorption of cell adhesion-mediating extracellular matrix proteins and stimulate the cell adhesion and growth (Bacakova *et al.* 2000, 2001, Svorcik *et al.* 2004) In our case we used the UV light for surface modification of polyethylene terephtalate, a material often used for fabrication of blood vessel prosthesis, and argon ion beam for the irradiation of polyethylene, a material also perspective for biomedical use. On the modified materials we evaluated the colonization with smooth muscle cells in cultures isolated from the rat aorta.

Materials and methods

Preparation of the polymer samples

Polyethylene terephtalate (PET), currently used for fabrication of blood vessel prostheses, was exposed to UV light generated by Xe_2^- -excimer lamp (Heraeus-Noblelight, Germany) for 10, 20 and 30 min in an acetylene atmosphere. The irradiation was coming through a contact nickel mask with holes of the diameter of 500 µm and center-to-center distance 2 mm.

Polyethylene (PE) was exposed to a beam of Ar⁺ ions (energy 150 keV or 15 keV, dose from $3 \cdot 10^{12}$ to $3 \cdot 10^{14}$). The implantation at room temperature was performed using Varian 350 D ion implanter with ion current density below 50 nA cm⁻² and under the pressure of $4 \cdot 10^{-4}$ Pa. The irradiation went through a mask with holes of 100 um in diameter and the centre-to-centre distance of 200 µm.

Cells and culture conditions

ATERIALÓ

The modified materials were cut into square samples of

10x10 mm in size, placed into 24-well plates (TPP, Switzerland; well diameter 1.5 cm) and fixed to the well bottom by polyethylene circles (inner diameter 0.35 cm, inner area 0.38465 cm²). Vascular smooth muscle cells were isolated by explantation method from the aorta of young male rats of the strain Wistar SPF (Bacakova et al. 2000, 2001). In the 3rd to 7th passage, they were seeded on the samples at the density of 30,000 cells/well (i.e., 17,000 cells/cm²). The cells were cultivated in 1.5 ml Dulbecco's Modified Eagle Minimum Essential Medium (Sigma, USA) supplemented with 10% foetal bovine serum (Sebak GmbH, Aidenbach, Germany) for 1, 2, 3, 5 or 7 days (temperature of 37°C, 5% of CO₂ in the air). The cells were then fixed by 70% cold ethanol (-20°C) and stained with hematoxylin and eosin. The number of cells inside or outside the irradiated microdomains was evaluated on pictures taken under a microscope Olympus IX 50 using the digital camera Olympus DP 70. As control materials, non-modified polymers, standard tissue culture polystyrene dishes and glass coverslips were used.

Statistics

The results were presented as mean \pm SEM (Standard Error of Mean). Statistical significance was evaluated by Students' t-test for unpaired data. Values p≤0.05 were considered as significant.

Results and discussion

On the polyethylene terephtalate irradiated with UV light in acetylene atmosphere, the smooth muscle cells did not prefer the created domains (FIG.1), but the cell numbers were significantly different on samples irradiated for different times.

On the first day after seeding, the numbers of cells on the samples of irradiated PET were similar as the values



FIG.1. Morphology of rat aortic smooth muscle cells on day 1 after seeding on polyethylene terephtalate (PET). (A) non-modified PET; (B) PET exposed to UV light for 10 min, (C) 20 min, (D) 30 min, (E) polystyrene culture dish, (F) microscopic coverslip. Stained with hematoxylin and eosin, microscope Olympus IX 50, bar=200µm.



FIG.2. Number of rat aortic smooth muscle cells on polyethylene terephtalate (PET), modified by UV light in acetylene atmosphere for 10, 20 and 30 min, on day 1, 3 and 7 after the setting. Glass = microscopic glass coverslip, PS = polystyrene culture dish. Mean \pm SEM from 27 microscopic fields (0.144 mm²) obtained from 3 independent samples for each experimental group. Student's t-test for unpaired data. Statistical significance (p≤0.001 etc.) was evaluated in comparison with control unmodified PET.

on the control non-modified polymer (FIG.2). However, on day 3 after seeding, the lowest cell population densities were found on a non-modified PET (1516±245 cells/cm²), while on the samples exposed to UV light for 10, 20 or 30 min, the number of cells was 26108±2543, 31196±2395 and 38057±2035 cells/cm², respectively, i.e. the number of the cells increased with the exposure time.



FIG.3. Morphology of rat aortic smooth muscle cells on day 1 after seeding on polyethylene modified by Ar^+ ions (energy of 150 keV, dose $3x10^{12}$. microscope Olympus IX 50. A,B: bar=1mm; C,D: bar=200 μ m.



FIG.4. Number of rat aortic smooth muscle cells on polyethylene with adhesive domains created by irradiation with Ar⁺ ions of the energy 150 keV (A) or 15 keV (B) and among these domains. Doses from $3x10^{12}$ to $3x10^{14}$ ions/cm². Mean ±SEM from 7 to 15 measurements obtained on 2 independent samples for each experimental group.

Interestingly, on the 7th day, the cell population density on the unmodified polyethylene terephtalate exceeded the value on all examined samples and reached the BIOMATERIAŁÓW

value 263587±12218 cells/cm², whereas the values on the samples irradiated for 10, 20 and 30 min were only 182705±3202, 134321±8446, 259976±16765 cells/cm2. This result, as well as the homogeneous distribution of cells on the material surface, was surprising, because the preferential adhesion of cells on the irradiated microdomains was expected. It is possible that on PET in the acetylene atmosphere, modification of the entire material surface occurred, and the whole surface of the sample gained the physical and chemical characteristics originally supposed only for domains, such as the creation of oxygen-containing groups, changes in the surface wettability etc. On the other hand, the UV light-irradiation in acetylene atmosphere leaded to the formation of hydrogenated amorphous carbon (a-C:H) (Bacakova et al 2001, Svorcik et al. 2004, Kubova et al. 2005). Amorphous carbon has been found to be relatively hydrophobic and not well supporting cell adhesion in comparison with conventionally used cell culture plastics (Bacakova et al. 2001, 2004), so that the cell number was not increased on the irradiated microdomains in comparison with surrounding non-modified polymer.

In all groups of ion-irradiated polyethylene, i.e., at all doses and energies of ions, the cells were growing preferably on the modified domains (FIG.3), although they were found also among them. The selectivity of the cell growth on the domains differed in samples irradiated by ions of different energies and doses.

At the energy of 150 keV, the highest selectivity was observed at a relatively low dose of 10^{13} ions/cm². On these samples, $80\pm0.04\%$ of cells adhered to the domains. The cells on these domains reached the density of 1986325±160223 cells/cm², while outside them it was only 4161±1239 cells/cm². At the energy 15 keV, the highest selectivity was noticed at the dose of $3\cdot10^{14}$ Ar⁺/cm², where 75.8±0.06% of cells adhered to the domains.

The lowest selectivity at the energy of 150 keV was registered on polymers modified by the highest doses of $3 \cdot 10^{14} \text{ ions/cm}^2$, where only 22.80±0.03% of cells adhered to the domains. At the energy of 15 keV, the lowest selectivity was registered at the lowest doses of $3 \cdot 10^{12} \text{ ions/cm}^2$ (62.4±0.07% of cells on the domains). The lowest doses were probably less sufficient to increase the polymer attractiveness for cell colonization (FIG.4)

Therefore, the cells preferred the domains, on which oxygen-containing functional groups were created by the influence of Ar^+ ion irradiation. These groups are known to increase the surface wettability and improve the adhesion and subsequent growth of cells (*Bacakova et al. 1996, 2000, 2001*). Differences between the tested samples in the selectivity of cell adhesion on ion-irradiated domains were caused by the doses of Ar^+ ions. At the energy of 150 keV, higher doses of Ar^+ might lead to the formation of amorphous carbon, which is known not to increase the material's attractiveness for cells, and thus these domains were less convenient cells colonization (*Bacakova et al. 2001, 2004, Rockova–Hlavackova et al. 2004*).

In case of the ion energy of 15 keV, i.e., a value one order lower, it seems that a lower ion doses were insufficient to create the adhesive microdomains. On the contrary, higher ions doses were better for this purpose and the cells preferred the domains created this way.

Conclusion

The method of irradiation with Ar⁺ ions appears as convenient for surface modification of polyethylene and other relatively hydrophobic synthetic polymers. Vascular smooth muscle cells preferred the ion irradiation-created microdomains for their growth. However, it is very important to choose appropriate combination of the ion dose and energy, which will be the goal of our subsequent researches.

On the polyethylene terephtalate exposed to UV light in acetylene atmosphere, we obtained a homogeneous colonization of the material surface with vascular smooth muscle cells instead the expected selective adhesion and growth of these cells on the modified microdomains. Nevertheless, on day 3 after seeding, the cell number on irradiated samples increased with the time of exposure to UV light, although on day 7, these differences disappeared. Therefore, these events need further investigation.

Acknowledgements

This study was supported by the Grant Agency of the Acad. Sci. CR (grant No. A 5011301).

References

 Bacakova L., Svorcik V., Rybka V., Micek I., Hnatowitz V, Lisa V., Kocourek F.: Biomaterials 17: 1121-1126, 1996.

[2] Bacakova L., Mares V., Bottone M. G., Pellicciari C., Lisa V., Svorcik V.: J. Biomed. Mater. Res., 49: 369-379, 2000.

[3] Bacakova L., Walachova K., Svorcik V., Hnatowitz V.: J. Biomater. Sci. Polymer Edn., Vol. 12, No. 7: 817-834, 2001.

[4] Bacakova L., Noskova L., Koshelyev H., Biederman H.: Inzynieria Biomaterialów-Engineering of Biomaterials, 7 [37]: 18-20, 2004.

[5] Kubova O., Bacakova L., Svorcik V.: Biocompatibility of carbon layer on polymer, Mater. Sci. Forum 482: 247-250, 2005.

[6] Mikulikova R., Moritz S., Gumpenberger T., Olbrich M., Romain CH., Bacakova L., Svorcik V., Heitz J.: Biomaterials 26:5572-5580, 2005.

[7] Rockova – Hlavackova K., Svorcik V, Bacakova L., Dvorankova B., Heitz J., Hnatowitz V.: Nucl. Instr. Meth. Phys. Res., B 225: 275-282, 2004.

[8] Svorcik V., Rockova K., Ratajova E., Heitz J., Huber N., Bäuerle D., Bacakova L., Dvorankova B., Hnatowitz V.: Nucl. Instr. Meth. Phys. Res., B 217: 307-313, 2004.

HUMAN ENDOTHELIUM ON VASCULAR PROSTHESES MODIFIED BY EXTRACELLULAR MATRIX PROTEINS IN A FLOW EXPERIMENT

JAROSLAV CHLUPAC*, ELENA FILOVA*, TOMAS RIEDEL****, EDUARD BRYNDA****, MURIELLE REMY-ZOLGHADRI*****, REINE BAREILLE*****, PHILIPPE FERNANDEZ*****, RICHARD DACULSI*****, LAURENCE BORDENAVE*****, LUCIE BACAKOVA*

*INSTITUTE OF PHYSIOLOGY,

ACADEMY OF SCIENCES OF THE CZECH REPUBLIC,

VIDENSKA ST. 1083, 142 20 PRAGUE 4-KRC, CZECH REPUBLIC; **CENTRE FOR EXPERIMENTAL CARDIOVASCULAR RESEARCH, VIDENSKA ST. 1083, 142 20 PRAGUE 4-KRC, CZECH REPUBLIC; ***TRANSPLANT SURGERY CLINIC, INSTITUTE FOR CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE,

VIDENSKA ST.1958/9, PRAGUE 4-KRC,140 21,CZECH REPUBLIC; ****INSTITUTE OF MACROMOLECULAR CHEMISTRY, ACADEMY OF SCIENCES OF THE CZECH REPUBLIC.

Heyerovsky Sq. 2, 162 06 Prague-6, Czech Republic; *****Inserm U577, Universite Victor Segalen, 146 rue Leo Saignant, Bordeaux 33076, France; E-mail: chlupac@biomed.cas.cz

Abstract

Artificial vascular prostheses are used for bypass surgery. Thrombogenicity often cause graft occlusion. Targeted surface alterations including cell seeding may improve the haemocompatibility. Knitted commercial tubular PET (polyethylene terephtalate) vascular prostheses with collagen impregnation were modified by adsorption of laminin (LM) or coating with fibrin network (FB) on the luminal surface. Human endothelial cells were harvested, cultured and seeded at the density of 150x103 cells/cm2 on all grafts. The cell lining was continuously visualized and quantified. The retention was 21%, 37% and only 2% of the seeding density on the unmodified (UM), LM- and FB-coated grafts, respectively. These seeded prostheses were exposed to a laminar shear stress (SS) 15 dynes/cm² for 40 minutes (UM, LM, FB) and 120 min (UM, LM) in a chamber simulating blood circulation. The SS was exluded in static (ST) control grafts. After 40 min-SS the cell numbers were 78%, 27% and 72% for the UM, LM and FB prosthesis compared to the ST. The cell densities were 61% and 57% on the UM and LM after 120 min-SS. To conclude, the endothelium formed a confluent layer whereas laminin immobilisation improved endothelial adhesion but not the flow resistance. Reverse effect was observed on fibrin coating.

Key words: vascular prosthesis, endothelial cells, collagen, laminin, fibrin, adhesion, shear stress [Engineering of Biomaterials,58-60,(2006),10-13]

Introduction

Atherosclerosis is the most common disease affecting and damaging human arteries. Surgical intervention may be required to restore the blood supply to endangered organs and tissues. Autogenous or allogenous vessels are ideal natural material for bypass procedure but they are often unavailable or unsuitable for reconstruction. Therefore synthetic vascular prostheses are widely used in vascular surgery. They are usually made of hydrophobic synthetic polymers such as expanded polytetrafluoroethylene (ePTFE) or polyethylene terephtalate (PET) [1]. Despite being considered bioinert, colonisation of undesired cell types, e.g. vascular smooth muscle cells (VSMC), platelets or leukocytes leads to neointimal hyperplasia [2] which is a common cause of restenosis. Together with artificial surface thrombogenicity these processes may result in graft occlusion. Inner surface of native vessels is lined with a monolayer of mature endothelial cells (EC) which impart excellent antithrombotic properties. The vascular EC are anchored to extracellular matrix (ECM) proteins of the basal lamina such as collagen, laminin [3] or fibronectin which give to the cells sufficient mechanical support. Several surface modifications are carried out [4, 5] to approximate the synthetic prosthesis to natural vessel, among others adhesion ligand grafting, ECM protein coating and even cell seeding [6,7]. We focused on synthetic commercial PET vascular prostheses of a small diameter, modified them with ECM protein coatings and subsequent EC seeding. We formed the cell monolayer, exposed it to defined flow conditions, e.g. laminar shear stress [8,9] and evaluated the cellular retention on the inner grafts surface.

Materials and methods

Knitted crimped tubular PET vascular prostheses with bovine type I collagen impregnation (VUP[®] Joint-Stock Comp., Brno, Czech Republic) of 6 mm inner diameter were modified on the inner surface by laminin (LM) immobilisation (Engelbreth-Holm-Swarm Murine sarcoma, Sigma®) or by fibrin (FB) network coating prepared by activation of human fibrinogen (Sigma®) with surface attached thrombin (Sigma®) (Institute of Macromolecular Chemistry, Prague, Academy of Sciences of the Czech Republic). Third set of grafts was left unmodified i.e. commercial collagen-PET surface (UM). They were all immersed for 12 hours into standard culture medium M199 (Invitrogen®). Human saphenous vein endothelial cells (HSVEC) obtained from coronary bypass surgery were cultured in flasks (Falcon®) and amplified to the passage number p3-5. Culture medium consisted of M199, 20% of foetal calf serum (PAA®), Heparin 50 IU/mL (Choay®), basic fibroblast growth factor b-FGF 10ng/mL (Promocell®) and mixture solution of Penicillin (10x10³ IU/mL) and Streptomycin (10µg/mL) 1:100 (Sigma®). The cellular suspension was homogenized in fresh medium and injected into the lumen of each prosthesis, both ends were ligated and the grafts were placed into a rotating device (Endostrabilisator, Biegler Co.Ltd., Austria) for 4 hours to achieve homogenous cell seeding. The initial seeding density was 150x10³ cells/cm². Just after seeding a small ring was cut out of the middle of each prosthesis, stained with Live/Dead (L/D) Viability/Cytotoxicity Kit (Molecular Probes®) to roughly see the homogenity of the seeding [Fig. 3C]. The seeding was followed by 48 hours of maturation in culture flasks with fresh complete medium without rotation in a humid incubator with 5% CO₂.

The flow experiment occured in a haemodynamic bench (Inserm U577, Universite Victor Segalen, Bordeaux, France) consisting of a peristaltic pump, water container, heating, flowmeter, tensiometer and silicon tubing circuit. The conditions inside simulate human arterial circulation (temperature 37°C, pulsatile pressure 120/60 mmHg, laminar shear stress (SS) 15 dynes/cm², medium viscosity 0,04 Poiseuille (achieved by adding 8% of Dextran, Sigma[®]). So called dynamic prosthesis was mounted on a special metal conector creating laminar flow and static control prosthesis was placed into a blind branch of the circuit and thus submitted to same conditions of medium, pressure and temperature but excluding shear stress.

There were 4 pieces of each type of seeded grafts (UM, LM, FB). The first one was used to evaluate the seeding, the second and third ones were exposed to dynamic flow conditions for 40 (UM, LM, FB) and 120 (UM, LM) minutes (') and the fourth one was submitted to static conditions exluding shear stress.

After each step of the experiment (seeding, maturation, flow) a prosthesis fragment was saved for immunocytochemical staining [e.g. FIG.2B], another fragment of defined surface area was stained by immunofluorescent L/D Kit to visualize the cells which were then removed from the support by a phosphate buffer saline (PBS) solution with 0,125% Trypsin (Sigma®) and 0,0625% EDTA. M199 medium with 10% FCS was used to stop the Trypsin/EDTA solution. After centrifugation (5 minutes, 300g) and resuspendation the cells were counted in a 1 mm³ Malassez chamber to obtain the cell number and count the cell density on the prosthesis fragment which was expressed as mean and SEM of 8 independant observations. This was compared to the population density on the corresponding static graft. For statistical evaluation Student t-test for unpaired data was used.

Results

The initial seeding density of HSVEC was 150×10^3 cells/ cm² on each of the prosthesis. The seeding efficiency was the best on the LM graft where the cell density decreased to



FIG.1A. Human endothelial cells density (HSVEC, p3-5) FIG.1B. Retention of HSVEC on modified knitted collaon modified knitted collagen-PET vascular protheses 48 gen-PET vascular protheses after laminar shear stress hours after seeding 150x10³ cells/cm². P<0,001 each of (SS=15dynes/cm²), p<0,01 all grafts vs. corresponding the grafts versus (vs.) seeding density, Student t-test for static control after both 40 and 120 minutes of SS. unpaired data.



12

FIG.2A. HSVEC on knitted collagen-PET vascular prosthesis with immobilized laminin. The ultrastructure of the knitted graft is obvious. Anti-von Willebrand Factor Rabbit IgG 1:100 MAb (Sigma®), Propidium Iodide 5µg/mL. Confocal microscope Leica TCS SP2 AOBS 39x10µm, magnif. 10x. FIG.2B. HSVEC after 40 minutes (1) of shear stress (SS=15 dynes/cm²). Secretion granula with von-Willebrand factor are clearly visible. 25x0,5µm, magnif. 100x.

59±2,6x10³ cells/cm² after seeding and 48 hours of maturation (p<0,001 LM versus (vs.) UM, LM vs. FB). The density on the UM prosthesis was 35±1,0x103 cells/cm2 while only 3,2±0,3x10³ cells/cm² retained on the FB graft (p<0,001 UM vs. FB). Thus the cell retention was 21%, 37% and only 2% of the seeding density on the UM, LM- and FB-coated grafts, respectively (p<0,001 for each of the grafts) [FIG.1A]. After exposing the endothelium to 40 min-laminar shear stress, the cell population density dropped to 78%, 27% and 72% for the UM, LM and FB prosthesis compared to the corresponding static (ST) control (p<0,01 for all grafts). On the UM and LM prostheses the cell numbers were 61% and 57% after 120 min-SS (p<0,01 vs. ST for both grafts) [FIG.1B].

Discussion

Low density of the endothelial cells on the fibrin prosthesis might be caused by technical difficulties and manipulation with dry fibrin network coating rather than by low adhesive interactions between the cells and the support. Higher cell density after 120 minutes than after 40 minutes of shear stress on the laminin graft may have resulted from local inhomogenity in cellular coverage of the tested prosthesis fragment. However, the cell retention was generally low after both 40 and 120 minutes of flow on the laminin grafts compared to the static control.

Gourevitch et al. [10] reported EC retention of 73% after 102 min of flow in vitro (140 mmHg, 140 mL/s) on gelatincoated Dacron® (PET) 6 mm ID grafts compared to initial cell density. Our results showed 61% EC retention on collagen-PET prostheses after 120 min-shear stress compared to static control.

Conclusions

Human endothelial cells formed a confluent layer on the luminal surface of both commercial and the laminin modified



FIG.3A. HSVEC on fibrin network-coated knitted collagen-PET vascular prosthesis 2 hours after seeding (150x10³ cells/cm²). Anti-CD31 human FITC conjugated 1:100 MAb (EXBIO®), Confocal microscope Leica TCS SP2 AOBS, 21x9,5µm, magnif. 10x.

FIG.3B HSVEC on commercial knitted collagen-PET vascular prosthesis after 40 SS (15 dynes/cm²). The cells keep forming a confluent monolayer. Anti-β-actin Mouse IgG MAb 1:200 (Sigma®), Propidium Iodide 5µg/mL, 36x20µm, magnif. 10x.

FIG.3C HSVEC on commercial knitted collagen-PET vascular prosthesis after 120'SS (15 dynes/cm²). The cells still retain confluency. Live/Dead Viability/Cytotoxicity Kit (Molecular Probes®), Light microscope Olympus, magnif. 10x.

collagen-PET vascular prostheses after amplification and seeding in high density [FIG.2A, 3B]. After exposure to shortterm laminar shear stress similar to that in human vessels the cells showed good retention. Even if the cell detachement degree was statistically significant, the endothelium retained its confluent form on many of the investigated grafts [FIG.3B]. Immobilisation of the extracellular matrix protein laminin on the inner surface improved the cellular adhesion [FIG.2A] but decreased their shear stress resistance compared to the unmodified and fibrin-coated prostheses. Vice versa fibrin network coating [FIG.3A] resulted in worse adherence but better flow resistance compared to the graft with immobilized laminin.

Acknowledgements

Supported by the Centre for Experimental Cardiovascular Research, the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (Barrande 2005-06-036-1), the Grant Agency of the Academy of Sciences of the Czech Republic (grants No. A5011301, A4050202, A400500507, 1QS500110564). We also thank to Dr. Vera Lisa and Mrs.

References

[1] Kannan RY, Salacinski HJ, Butler PE, Hamilton G, Seifalian M: J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater 74B: 570-581, 2005 [2] Zhang Z, Wang Z, Liu S, Kodama M: Biomaterials 25: 177-187, 2004

[3] Hallmann R, Horn N, Selg M, Wendler O, Pausch F, Sorokin LM: Physiol Rev 85: 979-1000, 2005

[4] Bordenave L, Remy-Zolghadri M, Fernandez P, Bareille R, Midy D: Endothelium, Vol.6(4): 267-275, 1999

[5] Bacakova L, Mares V, Lisa V, Svorcik V: Biomaterials 21: 1173-1179, 2000

[6] Meinhart JG, Deutsch M, Fischlein T, Howanietz N, Fröschl A, Zilla P: Ann Thorac Surg 71: 327-331, 2001

[7] Remy-Zolghadri M, Laganiere J, Oligny JF, Germain L, Auger FA: J Vasc Surg 39: 613-620, 2004

[8] Lehoux S, Tedgui A: Journal of Biomechanics 36: 631-643, 2003

[9] Traub O, Berk BC: Arterioscler Tromb Vasc Biol 18: 677-685, 1998

10] Gourevitch D, Jones CE, Crocker J, Goldman M: Biomaterials Vol 9 January, 1988

Ivana Zajanova for their excellent technical assistance in cell culturing and immunocytochemical staining.

3D EVALUATION OF THE SURFACE ROUGHNESS USING STEREO IMAGES MADE IN SEM – INFLUENCE ON OSTEOBLAST CELL GROWTH

M. DOUDEROVA*, V. STARY*, Z. TOLDE*, L. BACAKOVA**

*Department of Materials Engineering, Faculty of Mechanical Engineering, Czech Technical University in Prague, Karlovo Náměstí 13, 121 35 Praha 2, Czech Republic **Institute of Physiology,

ACADEMY OF SCIENCES OF THE CZECH REPUBLIC, VIDENSKA 1083, 14220 PRAHA 4, CZECH REPUBLIC E-MAIL: MARGITA.DOUDEROVA@CENTRUM.CZ

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),13-14]

The surface roughness creates one of the main conditions for contact of the living tissue with material. The cells adhesion, proliferation and differentiation are usually influenced by the surface morphology very strongly. Now, for biomaterial applications, it is necessary to better understand this influence and to define the roughness parameters, which control these interactions at the cell-material interface. The surface roughness can be measured by number of methods; often, the contact profilometer can measure a number of parameters characterising the roughness. The disadvantage of this measurement is the line recording of the surface, which is principally two dimensional, and gives us information just from the path in one direction. The other possibility is to create the 3D reconstruction of a surface by suitable code from stereo-pair of images. For this method, using of Scanning Electron Microscope is very suitable and effective for its large depth of focus and simple change of

imaging conditions. We observed the osteoblast-like cells growing on carboncarbon composites with various surface layers and also plain ones. Particular layers, which would by evaluated are pyrolytic graphite (PyG), titanium-carbon layer (Ti:C-H), diamond like carbon (DLC) and zircon nitride (ZrN). These materials were studied in the form of films prepared either by PACVD method or by pyrolysis on 2D C-C composites. The osteoblast-like cells were grown on the surface for defined time and generally adhesion, doubling time and spreading of cells were evaluated

The SEM images were obtained using JSM5410 scanning electron microscope (JEOL, Japan) and the *Scandium* software (Olympus Soft Imaging Solutions, Germany), which was used for 3-D surface reconstruction of images. Firstly, we compared the roughness parameters measured by line profilometer (Hommel Tester T 1000, Hommelwerke



FIG.1. 3D reconstructed surface of ZrN layer deposited on C-C composite by the magnetron sputtering.

GmbH, VS-Schwenningen, Germany) and calculated by Scandium code. We obtained reasonable agreement, even though the length of measurement is substantially different. Than after we studied the dependence of cell spreading on single roughness parameters. For pyrolytic carbon, the optimal value of Ra was obtained, and also the particular correlation between spreading and roughness parameter Rsk was found.

The particular results achieved from the pyrolytic carbon layer shows TABLE 1.

The skewness (Rsk), describing the asymmetry of the



FIG.2. Osteoblast-like cells growth on the PyG layer, SEM; SEM – Scandium.

BIOMATERIAŁÓW



FIG.3. The dependence of biological parameters on the roughness parameter of the surface Ra for the pyrolytic carbon layer

Sample	#3	#4	#5	#6	#7
Cell density after 1 day [10 ³ /cm ²]	9,6 ±1,0	9,0 ±0,3	8,9 ±1,5	9,1 ±0,7	9,3 ±1,4
A [µm²]	1155	1007	1527	1759	895
	±222	±97	±425	±402	±286
DT [h]	23,8	22,1	21,1	21,3	19,6
	±1,8	±0,6	±1,7	±0,9	±0,4

TABLE 1. Parameters of cell's features after one day cultivation: doubling time DT, number of cells N1 and cell areas A.



FIG. 4: Dependence of cell areas on Rsk.

profile, showed a tendency to be in negative values for best spread cells.

The next results for other types of surface films will be presented in the contribution.

References

[1] L. Bacakova; V. Stary; P. Glogar: Adhesion and growth of cells in culture on carbon-carbon composites with different surface properties, Eng Biomater, 1998, pp. 2:3–5.

[2] V. Stary; L. Bacakova; J. Hornik; V. Chmelik: Bio-compatibility of the surface layer of pyrolytic graphite, Thin Solid Films, 2003 pp. 191–198.

BIOLOGICAL EFFECTS OF POLYMERS MODIFIED WITH CARBON NANOTUBES ON HUMAN OSTEOBLAST-LIKE MG 63 CELLS

LUBICA GRAUSOVA*, LUCIE BACAKOVA*, ANETA FRACZEK**, STANISLAW BLAZEWICZ**, MARTA BLAZEWICZ**, MICHAEL PEPKA***

*INSTITUTE OF PHYSIOLOGY,

Academy of Sciences of the Czech Republic, Videnska 1083, 142 20 Prague 4-Krc, Czech Republic, **University of Science and Technology, AGH, Mickiewicza 30/A3, 30-059 Kraków, Poland ***Nanocraft Inc, P.O. Box 3429, Renton, WA 98056, U.S.A. E-mail: grausova@biomed.cas.cz

Abstract

The tested materials were represented by a pure terpolymer of polytetrafluorethylene-polyvinyldifluoride-polypropylene (PTFE-PVDF-PP), pure polysulphone (PSU) and PSU modified with single- or multiwalled carbon nanotubes in concentrations of 0.5, 1 or 2 wt%. As control samples, a polystyrene cell culture dish and microscopic glass coverslips were used. The number and viability of human osteoblast-like MG 63 cells in cultures on these materials was detected with a Cell Viability Analyzer (Vi-CELL XR, Beckman Coulter) on 1, 3 and 7 days after seeding. On all tested samples, the cell number was similar or lower than that detected on the control polystyrene dishes. The cell viability on day 1 after seeding was relatively low on PTFE-PVDF-PP and some nanotube-containing samples, ranging from 10 to 100 % of living cells, but on day 7 after seeding, it reached at least 90% on all tested samples. The cell spreading area was detected in cells after immunocytochemical staining of β-actin on day 3 after seeding. In nanotube-containing samples, especially those with multi-walled nanotubes, this area was similar or even larger than that on the control materials. The beta-actin cytoskeleton was well developed in cells on all nanotube-containing materials and similar to that in cells on control surfaces. Thus, it can be concluded that nanotube-containing PSU supports the adhesion and growth of osteoblastlike cells and could be used for construction of bone implants in which the anchorage in the surrounding bone tissue is desirable.

Key Words: carbon nanoparticles, carbon-polymer composites, bone cells, adhesion, proliferation, betaactin

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),14-16]

Introduction

In recent years, carbon materials, especially the carbon nanotubes, have been considered as very promising materials for biomedical applications including tissue engineering. Therefore, in our experiments, polysulphone was mixed with single- or multi-walled carbon nanotubes, because it is believed that the nanostructure of materials containing nanotubes can resemble the nanoarchitecture of the natural extracellular matrix (ECM). Nanostructured surfaces can promote preferential adhesion and growth of osteoblasts over other "competitive" cell types, mainly fibroblasts, which can cause fibrous encapsulation and loosening of bone implants [1, 2]. Moreover, nanotubes can serve as a reinforcement of synthetic polymers, which are usually too soft and elastic for replacement of the bone tissue. When incorporated into a polymeric matrix, the nanotubes can resemble nanofibres of collagen and other extracellular matrix proteins in the bone, and together with other carbon nanoparticles (nanodiamonds, fullerenes), also hydroxyapatite and other inorganic crystals in the bone [1-3].

Material and methods

The tested materials were represented by pure terpolymer of polytetrafluorethylene-polyvinyldifluoride-polypropylene (PTFE-PVDF-PP), polysulphone (PSU; purchased from Aldrich Chemical Co., Inc. USA) and polysulfone modified with single- or multi-walled carbon nanotubes (NanoCraft Co. Inc., Renton, WA, U.S.A.) in concentrations of 0.5, 1 or 2 wt%. As control samples, a conventional polystyrene cell culture dish (TPP, Switzerland) and microscopic glass coverslips (Menzel GmbH, Germany) were used.

The polymer solution was obtained by dissolving 5 g of PSU in 50 ml of dichloromethane. This solution was mixed in a sonicator for 10 minutes with Single Walled Carbon

as polymers mixed with single- or multi-walled carbon nanotubes was similar or lower than the values found on the control polystyrene dishes (FIG.1). Nevertheless, the cells on all nanotube-containing samples were relatively well spread. On the pure PSU and PSU with all concentrations of SWNT, the cell adhesion area was similar to that found on the control glass coverslips, and in samples with MWNT it was even significantly larger (FIG.2). On PTFE-PVDF-PP, the cell adhesion area was significantly smaller than on the glass coverslips, which was probably due to a relatively high surface hydrophobicity. Moreover, the cells on the polymer-nanotube composites, displayed well developed beta-actin cytoskeleton characterized by distinct beta-actin filament bundles (FIG.3). It was probably caused by the nanostructure of the surface that supported the spreading of osteoblast-like cells [1-3]. Similar results were obtained in MG 63 cells growing on carbon fibre-reinforced carbon composites covered with a nanostructured film of fullerene C₆₀ (Bacakova et al. 2005).

The viability of MG 63 cells on day 1 after seeding was relatively low on PTFE-PVDF-PP (10% of living cells), PSU containing 0.5% SWNT (30% of living cells) and PSU with 1% MWNT (50% of living cells). On the other samples, the cell viability ranged from 63 to 100%, being 77% on the control polystyrene dishes. However, during 7-day-cultivation, the cell viability markedly improved. On day 3 and 7



FIG.1. Number of MG 63 cells grown for 1, 3 or 7 days on tissue culture polystyrene (PS), polysulphone (PSU), terpolymer of polytetrafluorethylene-polyvinyldifluoride-polypropylene (TER), PSU mixed with 0.5, 1 or 2 wt% of single-walled carbon nanotubes (0.5%SWNT, 1%SWNT and 2%SWNT, respectively), and PSU mixed with 0.5, 1 or 2 wt% of multi-walled carbon nanotubes (0.5%MWNT, 1%MWNT and 2%MWNT, respectively). Mean \pm SEM from 50 measurements, Student's t-test for unpaired data. Statistical significance: *p≤0.05, **p≤0.01 and ***p≤0.001 in comparison with the values on PS.

Nanohorns (single-walled carbon nanotubes, SWNT); or High Crystalline Electric Arc Multi-wall Nanotubes (MWNT); in concentrations of 0.5, 1 or 2 wt%. The mixture was poured into a Petri dish and left freely to evaporate.

The materials in a form of circular foils (diameter 1.67 cm) were sterilized by H_2O_2 – plasma method (Sterrad 120, ASP, Johnson & Johnson), inserted in polystyrene 24-well-multidishes (TPP, Switzerland), seeded with human osteoblast-like cells of the line MG 63 (European Collection of Cell Cultures, Salisbury, UK) at the initial density of 7000 cells/cm, and incubated in 2 ml of Dulbecco-modified Eagle Minimum Essential Medium (DMEM, Sigma, U.S.A.) medium supplemented with 10% fetal bovine serum.

The cell number and viability was detected using a cell viability analyzer Vi-CELL XR (Beckman Coulter, U.S.A.) on the 1^{st} , 3^{rd} and 7^{th} day after seeding.

The cell spreading and the size of cell-material contact area were evaluated in cells after immunofluorescence staining of β -actin on day 3 after seeding [4].

Results and discussion

The number of MG 63 cells on day 1, 3 and 7 after seeding on pure polymers (PSU, PTFE-PVDF-PP) as well



FIG.2. Size of the cell adhesion area of osteoblastlike MG 63 cells on grown for 3 days on various polymer-nanotube composites (see FIG.1). Mean \pm SEM from 26-124 cells for each experimental group. Student's t-test for unpaired data. Statistical significance: *p≤0.05, **p≤0.01 and ***p≤0.001 in comparison with the control values obtained in cells on glass coverslips (Glass). BIOMATERIAŁÓW



FIG.3. Immunoflurescence staining of β -actin in MG 63 cells grown for 3 days on microscopic glass coverslips (Glass), polysulphone (PSU), PSU mixed with 2 wt% of single-walled carbon nanotubes (PSU + 2 SWNT), terpolymer of polytetrafluorethylene-polyvinyldifluoride-polypropylene (TER), and PSU mixed with 0.5, 1 or 2 wt% of multi-walled carbon nanotubes (PSU + 0.5 MWNT, PSU + 1 MWNT and PSU + 2 MWNT, respectively). Fluorescence microscope Olympus IX 50, digital camera DP 70.

after seeding, it was at least 85% and 90%, respectively, in all tested samples.

Conclusion

Polysulfone supplemented with single-walled or multiwalled carbon nanotubes supported the adhesion, spreading and subsequent growth of human osteoblast-like MG 63 cells.

Acknowledgement

Supported by the Grant Agency of the Czech Republic (grant No. 204/06/0225). We also thank to Dr. Vera Lisa and Mrs. Ivana Zajanova for their excellent technical assistance in cell culturing and immunocytochemical staining.

References

[1] Price RL, Ellison K, Haberstroh KM, Webster TJ: J Biomed Mater Res 70A: 129–138, 2004

[2] Webster TJ, Ergun C, Doremus RH, Siegel RW, Bizios R: J Biomed Mater Res 51, 475-483, 2000

[3] Tan J, Saltzman WM: Biomaterials 25: 3593-3601, 2004

[4] Bacakova L, Mares V, Lisa V, Svorcik V: Biomaterials 21: 1173-1179, 2000.

[5] Bacakova L., Grausova L., Vacik J., Jungova I.: Inzynieria Biomaterialow (Engineering of Biomaterials), VIII (47-53): 3-6.2005.

THE STUDY OF THE SURFACE PROPERTIES OF C/C COMPOSITES

Z.Tolde, V.Starý, M.Douděrová

Czech Technical University, Karlovo nám. 13, Praha 2, 121 35, Czech Republic E-mail: zdenek.tolde@fs.cvut.cz, margita.douderova@ centrum.cz

[Engineering of Biomaterials, 58-60, (2006), 16-17]

Introduction

2D carbon-carbon composites (C-C) without or with the surface layer of pyrolytic carbon (graphite) is very prospective material due to its exclusive properties. This material system is often used in biomedical applications (bone and joint implants), machinery (friction-bearing parts) and in the aircraft industry (parts of the braking system). The aim of this work was to define the coefficient of friction and wear resistance of composite and of PyG layer.

Samples preparation

The investigated composites (IRSM AS CR, Prague, CR) were prepared from commercially available plain-weave carbon fabric made of the general purpose ex-PAN carbon fibre Toray T800. A stack of 8 layers of the fabric, soaked in an ethanol solution of phenol-formaldehyde resin Umaform LE (SYNPO Ltd., Pardubice, CR), was cured at 120°C. During its carbonization at 1000°C in nitrogen, conversion of the resin matrix to glass-like carbon took place; it was followed by high-temperature treatment of the samples at 2200°C in an argon environment. Pyrolytic carbon (graphite) (PyG) forms as result of pyrolysis, a chemical process where the bonds among the atoms of hydrocarbon molecules are broken due to high temperature. Partially crystalline pyrolytic carbon (pyrolytic graphite) layer of thickness about 0.5 mm was produced at process temperature 1900°C and partial pressure p=4Pa of butan+H₂ mixture. We studied the samples both with native ("as prepared") surfaces and also with surfaces prepared by grinding using metallographic paper of 4000 grade, to obtain samples with various roughnesses and chemistry. By this way, we have prepared 4 types of samples (I - IV) with 2 types of surface chemistry (C-C and PyG) and with various roughness – unground and ground.

Results and discussion

The measurements were realized using conventional tribometer in natural atmosphere (dry wear). The measurements demonstrate the excellent tribological properties of the surfaces, especially the very low friction coefficient and the very good wear resistance of the surface of the pyrolytic carbon layer on the polished 2D C-C composite.

To explain these measurements we also measured the surface roughness, microhardnes and surface energy of both the composite and the layer. The roughness and heterogeneity are common features of all real surfaces even if they were prepared very carefully. We have found, that both the type of surface and its roughness have the influence on the time dependence of friction and, moreover, the roughness has relatively low influence on the wear. Thus, the properties influencing the wear should be the hardness

BIOMATERIALÓW

and surface energy (wettability) of the actual surface. The hardness is different comparing the C-C (matrix and fibre, respectively) and PyG layer. The problem of wettability is in fact the measurement can be influenced directly by roughness. Every scratch on the surface can play the role of a capillary in which a liquid rises up. This happens if the contact angle θ is acute. At the other side the liquid decreases in the capillary for obtuse contact angles θ . In other words the rough surface has usually a good wettability in comparison with smooth surface, if we presume use of liquid with good wetting ability. We will get opposite results by use of liquids with bad wetting ability. Both of these factors are proved in the magnitude of the contact angle – wetting angle θ . We have found the very pronounced dependence of the surface wetting angle on the surface type.

Conclusions

 the lowest friction coefficient was observed in the ground samples without a PyG layer

 the highest friction coefficient was observed in the unground samples with a PyG layer

• the best wear resistance was observed in the samples covered by PyG layers, almost independently on the substrate grinding (under the layer)

• the lowest contact angels was observed in the samples with a PyG layer

Acknowledgement

This research was supported by grant No.101/06/0226 of the Grant Agency of the CR and by project No. MSM 6840770012 of Ministry of Education of CR.

LASERACUPUNCTURE WITH NEW ACUPUNCTURE NEEDLE AS ESSENTIAL PART OF COMPLEX TREATMENT AFTER ALLOGENIC RHINOPLASTY

I.O.POHODENKO-CHUDAKOVA, O.P.CHUDAKOV, A.V.LASHIN

BELARUSSIAN COLLABORATING CENTRE OF EACMFS, BELARUSSIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY, MINSK, BELARUS PUSHKIN AV. 33–239; PO BOX 190; 220092 MINSK, BELARUS E-MAIL: IP-C@TUT.BY

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),17-18]

Introduction

Aesthetic surgery of innate and acquired nose pathology takes 58,9% of the total amount of aesthetic operations made in cranio-maxillofacial area [2]. It makes to look for new methods of complications prophylaxis, complex treatment and rehabilitation procedures of pathology mentioned above after the operation. Last time great attention of specialists is paid to the treatment with laser which is introduced into the practice and is used in different fields of medicine with success. But till our days there is no information about expediency and effectiveness of acupuncture treatment application (acupuncture, laseracupuncture) for patient's rehabilitation after rhinoplasty.

Aim

Study of effectiveness of laser acupuncture application as a part of complex allogenic rhinoplasty postoperative treatment (experimental and clinical cases).

Methods

Experimental study was performed on 28 rabbits of the same stock and weight. Line slit of nasal bone, sterilized cut allogenic transplant moving under periosteum were performed under intravenous anesthesia of natria thiopental and local infiltration anesthesia (Novocaini 1%). The wound was closed in layers with atraumatic needle and materials (vicrilum). Animals were divided into two groups. Laser acupuncture treatment was applied for the animals of 1-st group (14 animals). The following acupoints were irritated with special acupuncture needle with optical glass fiber: Li4 (hegu), Li19 (hejiao), GV26 (shuigou). Treatment course consisted of 10 sessions. Power density of the light flow was not more than 5mW/cm² to one AP.

Laseracupuncture treatment was carried out with acupuncture needle (patent № 924). This needle contains



FIG.1. Acupuncture needle (Patent of Republic of Belarus N 924), 1-cylinder made from transparent material appropriated for laser emission; 2-steel covering; 3- steel bush on surface of which thread for needle insertion is located; 4-first end of the light pipe ignited into an oblique cut of the needle; 5-second end of the light pipe is fixed into the butt of the needle and shaft.



FIG.2. Scheme acupuncture needle application (Patent of Republic of Belarus No 924): 2-pointed end of the needle with steel covering for insertion into the acupuncture point; 6-body of laser; 7-special point of the flexible light pipe; 8-laser stop; 9-acupuncture needle with light pipe.

MATERIAŁÓW

cylindrical trunk with its pointed end made from different metal. Period of treatment session is minimized due to simultaneous stimulation of acupuncture point by laser emission and mechanic insertion of the needle. Dissimilar metals are layer-by-layer, internal layer is a transparent metal. Instrument described above permit to irritate the acupuncture points by pointed end of the needle and by laser emission which pass through trunk from transparent metal.

2-nd group was control one and animals had ordinarytreatment course. Morphological study was performed 24 hours after the operation, 3, 7, 14, 21 days, 1, 2 months later.

We examined 42 patients in clinic. They have had rhinoplasty surgery of innate and acquired nose pathology.

All patients have had rehabilitation treatment postoperatively according to the following schema:

1. strict following of the treatment procedures,

2. local postoperative hypothermia,

3. complex antiphlogistic therapy,

4. prophylaxis of scleral haematoma,

5. redressing with keeping of plaster and change of external bandage,

6. treatment of schneiderian membrane and nose 7 days after moving off of tampon.

Patients were divided into two groups. Laser acupuncture was included into the complex of postoperative treatment for the patients of 1-st group (22 persons). 2-nd group of patients was control one. Laser acupuncture treatment course consisted of 10 sessions carried out either daily or every other day. The following acupoints were irritated by special acupuncture needle with optical glass fiber: Li4 (hegu), Li10 (shousanli), Li11 (quchi), Li19 (hejiao), Li20 (yingxiang), GB20 (fengchi), Si18 (quanjiao), St1 (chengqi), St2 (sibai), BI1 (jingming), BI2 (cuanzhu), GV25 (sujiao), GV26 (shuigou) [1,3]. Laseracupuncture treatment was carried out with acupuncture needle, patent of Republic of Belarus № 924 (FIG.1). Scheme of laser needle application is shown on the FIGURE 2.

Power density of light flow was not more than 5 mW/cm² for one AP. Time of its irritation consisted of 7-10 seconds to one AP. One session lasted 2 minutes at maximum.

Results

Analyzed final data showed swelling and tissue infiltration healed in postoperative scar region authentically earlier for animals of the 1-st group (p<0,01). Rabbits of the 2-nd group had purulent-inflammatory process in 17,8% of cases when there are no complications recorded in the 1-st group.

We have achieved the following results during examinations in clinic. Patients of the 2-nd group have had problems with breathing by nose because of mucous tunic odema to the end of the ordinary treatment course. Low level of sense of smell was restored one month later. At the same time patients of the I-st group have had considerable reduction of nose mucous tunic odema. They did not use more vasoformative medicines and sense of smell was restored.

For the patients of 1-st group clinical treatment course consisted of 10-12 days. For the patients of 2-nd group that period composed 12-14 days. 2-nd group patients kept nose swelling while 4-6 months. Patients of the 1-st group did not have nose swellings 4 weeks postoperatively. Patients of the 1-st group passed in clinic 7 days less than 2-nd group patients.

Conclusion

Laser acupuncture treatment with new laser acupuncture needle let combine two kinds of acupuncture treatment. It is

effective and is to be included into the postoperative rehabilitation course for the patients after allogenic rhinoplasty. It let to recommend this method of rehabilitation of patients after allogenic phinoplasty for wide application.

References

[1] Chen Jing. Anatomical atlas of chinese acupuncture points.-Jinan, China: Shandong science and technology press.- 1990.-266 p.

[2] Chudakova I.O., Lenkova I.I., Assaf R.N. Acupuncture rehabilitation after rhinoplasty //Col. of scient. works «Theory and practice of cranio-maxillofacial surgery». Ufa, 1999.- P. 97 – 99.

[3] Essentials of Chinese Acupuncture.- Foreign languages press.-Beijing, 1989.- 432 p.

EFFECTIVENESS OF ELECTRO-ACUPUNCTURE APPLICATION COMBINED WITH REHABILITATION PROCEDURES FOR THE PATIENTS WITH TRIGEMINAL NERVE NEURITIS DUE TO TRAUMA

I.O. POHODENKO-CHUDAKOVA, E.A. AVDEEVA, A.I. PECHURSKY

BELORUSSIAN COLLABORATING CENTER OF EACMFS, BELORUSSIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY, MINSK, BELARUS PUSHKIN AV. 33 – 239; PO BOX 190; 220092 MINSK, BELA-RUS

E-MAIL: IP-C@TUT.BY

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),18-20]

Introduction

Problem of the face pain remains one of the vital and actual in modern maxillofacial surgery. Traumatic injuries to facial nerve branches, operative investigations, stomato-logical manipulations on mandible have been recognized to develop trigeminal nerve neuritis due to trauma in 84,2% of cases [1,4]. Paroxysm of pain progressing while mentioned above pathological processes do people unable to work. It has great social and economic sense. Last years they have told in domestic and foreign literature resources about necessity to apply acupuncture in complex treatment and rehabilitation for patients with neuralgia trigeminus. [5,6]. Our hypotheses about acupuncture effectiveness in case of its application in complex treatment of trigeminus neu-

ritis were formed by O.N.Savitskiy's opinion that neuralgia trigeminus is initial form of neuritis. Aim of this researche is to study effectiveness of complex

electro-acupuncture stimulation combined with rehabilitation procedures in treatment of patients with trigeminal nerve neuritis due to trauma.

Materials and methods

In our experiment 68 patients were involved. 1-st group of patients (32 patients) was subjected to traditional rehabilitation treatment. It was group of control. 36 patients 2-nd group were performed traditional treatment combined with electro-acupuncture treatment consisting of 10 sessions



FIG.1. Comparative appreciation of temperature asymmetry indexes change for patients if 1-st, 2-nd groups.

carried out daily.

We have chosen the following acupuncture points for electroacupuncture stimulation according to the special manuscripts [2,3]:

1) general acupuncture points of strong vegetation: Li4 (heguy), Li10 (shousanli), Li11 (quchi), Li18 (futu), GB20 (fengchi);

2) local acupuncture points: Si18 (quanjiao), Si19 (tinggong), St5 (daying), St6 (jache), St7 (xiaguan) and out-channel acupuncture point located in skin projection of mental aperture, out-channel acupuncture point PC3 (intan) so-called "third eye". Electro acupuncture sessions were performed with device "Elita". Operation factors of alternating polarity current were changed constantly, but current strength did not exceeded 50 mkA for acupuncture points of maxillofacial area and 100 mkA for other part of body. It was in line with brake (sedative) method of application. Acupuncture points irritation was performed with brake method with needle expose within 30 minutes.

Patients were subjected to the following performed clinicals tests: treatment indices study themperature gradient on local thermometry in skin projection of AP, reography quantitative data of pain syndrome (appreciation max. 4 points), paresthesia and hyposthesia examination (appreciation max. 8 points).

Local thermometry in skin projection of acupuncture points of maxillofacial region was carried out under local thermometry 15 minutes after patient entered into the room. At the beginning of examination we have taken absolute thermometry in skin projection of extrameridian acupuncture point PC3 (intan) which presented reference zone. In order to take temperature we used electothermometer TPEM-1 scaled with 0,1°C. Examination of absolute temperatures was aimed to determine indexes of temperature gradient. Examination was performed on the acupuncture points located in the region innervation of affected trunk of n.trigeminus and acupuncture points of no-affected region of the face symmetric to them. Tests above were passed in dynamic: while patients hospitalization or after the operation (1-th examination) 5 (2-th examination), 10 days (3-th examination), 1 months postoperatively (4-th examination), 6 months postoperatively (5-th examination).

Results

Electro acupuncture in complex treatment was aimed to:

- · provide antiphlogistic influence,
- reduce edema and swelling of nervous trunk,
- get sensitizing effect,
- improve total human body resistance,
- make working of adaptive and compensatory reactions,
- renew impulse gone conductivity by nervous trunk.

Detailed examinations showed authentic distinction confirming advantage of results in 2-nd patients group on base of mentioned above clinical tests results in respect of the control group.

Authentic distinctions according to the heat indices of the human body were recorded with coefficient of significance equal to p<0,02, local thermomettry - with coefficient of significance equal to p<0,05, and reography - equal to p<0,02, to the fifth day to the 10-th day it was p<0,01, p<0,05, p<0,02 correspondingly. In 1 months, 6 months succeeded distiwelous were established according to the thermomethry (p<0,05) and reography (p<0,001) only.

Comparative appreciation of temperature asymmetry indexes change for patients if 1-st, 2-nd groups is presented on the FIG.1.

Conclusion

Achieved results give to conclude of is advisable to include electro acupuncture to the rehabilitation treatment course for the patients with trigeminal nerve neuritis due to trauma. It has positive effects while treatment procedures.

References

[1] Cretu G., Berea I. Acupuncture in the treatment of trigeminal neuralgia and facial nerve paralysis //Rev. Chir. Oncol. Radiol. ORL Oftalmol. Stomatol. Otorinolaringol.- 1983.- Vol.28, №4.- P. 309 - 312.

[2] Gavaa Luvsa. Essays for eastern acupuncture methods /Under red.V.N.Zibuljaka. – Novossibirsk: Nauka, 1991. - 432 p.

[3] Matcheret E.L., Samossuk I.Z.. Manuscript for acupuncture. Kiev: "Vischa chkola", 1986. - 302 p.

[4] Pohodenko-Chudakova I.O., Avdeeva E.A. Determination of acupuncture method application while complex treatment of traumatic neuritis of trigeminus //Bel. Med. Journ. 2002.– N1.– P. 71–72.

[5] Sermanov K.S., Mazurok F.S. Complex treatment of neuralgia of nervous trigeminus (Laser acupuncture, phinlepsin) //Thes. rep. intern. symp. on laser surgery and medicine.- Samarkand, 1988.-V.2.- P. 317 - 319.

[6] Weinberg S., Kryshtalskyj B. Analysis of facial and trigeminal nerve function after arthroscopic surgery of the temporomandibular joint //J. Oral Maxillofac. Surg.- 1996.- Vol.54, №1.- P. 40 - 43.

OSTEOINTEGRATION UNDER INFLUENCE OF MAGNETOACUPUNCTURE (EXPERIMENTAL CASE)

I.O. POHODENKO-CHUDAKOVA, A.P. PILIPENKO

BELORUSSIAN COLLABORATING CENTER OF EACMFS, BELORUSSIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY, MINSK, BELARUS

Pushkin av. 33–239; PO BOX 190; 220092 Minsk, Belarus E-mail: $\ensuremath{\texttt{IP-C}}\xspace$ Tut.by

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),20-21]

Introduction

Human body tissue regeneration is one of actual medico-biological problems. According to the special medical literature, great attention is paid to the study of reparative regeneration of bone tissue for patients with surgical pathology of mandible [1]. At the same time the main problem is to find methods for tissue regeneration stimulation which have to correspond to two general requirements: 1) influence to reparative regeneration process must provide only realization of those capacities which have primary tissue under examination but not change regeneration possibilities; 2) performed influence must be harmless at maximum and do not provoke by-effects, aggravating factors are not to be caused.

This problem is also worthy of notice because of craniomaxillofacial area injuries augmentation last years. So, quantity of traumatic fractures of mandible is increased and composes 67% - 85% [2,6]. At the same time, scientists of the world examine influence of different physical factors as well as magnetoacupuncture and alternative methods on the morphological characteristics of the bone tissue for the patients with diseases of osteoarticular system [4,5,7]. There important advantage before medicines is stimulation of microcirculation and immunological reactions and involve metabolism normalization. Till now, no information in official literature resources about magnetoacupuncture application with alternating magnetic field for stimulation of reparative processes of bone tissue of mandible after traumatic injury.

Aim of the work is to study magnetoacupuncture influence on the regeneration of traumatic injuries of bone tissue of mandible in experiment.

Materials and methods

Research has been performed on the 12 dogs divided into two equal groups. Intravenous anesthetic of thiopental sodium 10% has been applied for all animals -40 - 45mg per 1 kg of animal weight. This method of anaesthesia gave possibility to do operation on the mandibular bone during 1,5 - 2 hours without additional medicines. 15 ml of thiopental sodium 10% has been applied for animals during the operation. This anaesthesia medicine was effective to avoid complications during anaesthesia course and at the end of operation when this course was finishing.

Operations have been performed in aseptic conditions. Incisions performed parallel to the edge of body of mandible in 1 sm from it. Skeen, subcutaneous fat and platysma have been cut keenly. After periosteotomy and skeletonization of the horizontal segments of body of mandible, osteotomical cut has been performed at an angle of 80°-90° by dental drilling machine in the region of bottom edge. Neurovascular fascicle has been kept undamaged. We have extracted teeth, roots of which have been on the line of cut. Operation wound was treated with lincomycine hydrochloride 30% - 5 ml and sew up. Sutures have been treated with iodine. The same operations have been performed on the opposite side of the animal mandible. Postoperatively all animals have had 7 days antibacterial and antiphlogistic course. Animals of the I-st group have had traditional treatment course. This group of animals was control one. Animals of the II-nd group have had the same treatment combined with magnitoacupuncture by alternating magnetic field. We have used a special device for magnetotherapy. One plane magneto was used. Its induction of magnetic field was 30 mT, frequency - 50 Hz. We have stimulated skin in the region of skin projection of acupoints Li4 (hegu) and Li11(quchi) by turns. Acupuncture points localization was determined according to the manual by Chen Jing [3]. We have chosen the mentioned above acupuncture points for stimulation because they represent general acupuncture points with strong vegetation and the Large Intestine Channel of Hand-Yangming is directly connected with zone of traumatized regions of animal mandible. Treatment course consisted of 10 sessions with stimulation of acupoints projection regions during 5 min.

Sampling of materials for morphological tests was performed 7, 14, 21 days and 1, 2 moths after the operation. Samples were put in 10% neutral formalin. They were decalcified in nitric acid. According to the general rules samples were processed by spirits of different degree and after that they were put under paraffin. So prepared mounts were paint with hematoxyline-eosine and by Van-Guison's method.Prepared samples were examined by microscope.

Results

After having examined morphological characteristics of the reparative process of bone tissue of mandible in I and II groups of animals, we have seen that terms of traumatic bone regeneration in the II-nd group of animals have been shorter. During examination with microscope of the samples of the animals which were subjected under magnetoacupuncture course, taken 7 days after the operation, we have seen insignificant difference with control group of animals. Regarding the periosteum, there no proliferative reaction found. Destructive changes as focus of marrow necrosis and

21



FIG.1. Morphological structure of new formed bone tissue, 21 days, animals of the II-nd group. (hema-toxyline-eosine. 125x).

loss of osteocyte in regions near of line of cutting were no so good visible. There was found single and small focuses of hemorrhage in marrow cavities. Haversian canels were no enlarged. They have had ordinary configuration. On the 21 day, collagen fibers with specific cellular composition, typical structures without signs of proliferation and resorption were found for animal of the II-nd group (FIG.1).

Traumatic defect was completely replaced by newfound bone tissue in the same group in 1,5 months. Bone tissue structure was the same as per mature spongy bone (FIG.2). Group of control where magnetoacupuncture was no applied has achieved the same results only 2 months later.

Having done examinations we have concluded that application of magnetoacupuncture in complex with general treatment can provide the following:

1) elimination of reactive inflammation in injured tissues in short terms;

2) interruption of purulent-inflammatory complications developement;

3) osteogenesis of bone tissue activation providing compensatory mechanisms entering which respond for regeneration capacities of the bone tissue and of the human body.

As a result clinically tested consolidation and terms of morphological formation of new-formed bone tissue of mandible for animals of the 2-nd group have place earlier to compare with control group what has scientific and practical sense.

FIG.2. Morphological structure of new formed bone tissue, 1,5 months, animals of the II-nd group (he-matoxyline-eosine, 125x).

Conclusion

Magnetoacupuncture application (one of the method of acupuncture) in complex with standard treatment of traumatic injuries of bone tissue of mandible is effective and pathogenetically grounded.

References

[1] Barkov A.V. Treatment of disorders of reparative regeneration long bones fractures //Orthopedy, traumatol. and prosthesis.- 2000.-№2.- P.94 - 95.

[2] Bernadskiy Y.I. Traumatology and reparative cranio-maxillofacial surgery.- M.: Medical litterature, 1999.- 456 p.

[3] Chen Jing. Anatomical atlas of chinese acupuncture points.-Jinan, China: Shandong science and technology press.- 1990.-266 p.

[4] Laing A.J., Mullett H., Gilmore M.F. Acupuncture-associated arthritis in a joint with an orthopaedic implant //J. Infect.- 2002.-Vol.44, №1.- P. 43 - 44. [5] Musin N.O., Mamontov V.I., Nemsadze V.P. etc. Expierance of electroacupuncture anaelgesia application in orthopedy traumatic practice for chieldren// Orthopedy, traumatology, prosthesis.- 1980.-№6.- P. 41 - 43.

[6] Ogundare B.O., Bonnick A., Bayley N. Pattern of mandibular fractures in an urban major trauma center //J. Oral. Maxillofac. Surg.- 2003.- Vol.61, №6.- Р. 713 - 718.

[7] Pohodenko-Chudakova I.O., Bezzubik S.D. Acupuncture influence on the regeneration of the traumatic fractures of bone tissue of mandible in experiment// Collection of scient. art. Of republ. scient. conf. «Actual problems of medicine», 15 scient. session of Gomel state medical university. Gomel: GGMU, 2005.- V.3.- Issue 6.- P. 89 – 90.

22 SELF-DESCRIPTIVENESS OF DIFFERENT METHODS FOR PREDICTION OF PURULENT-INFLAMMATORY PROCESSES DEVELOPMENT FOR PATIENTS WITH PHLEGMON OF ORAL CAVITY

I.O. POHODENKO-CHUDAKOVA, Y.M. KAZAKOVA

BELORUSSIAN COLLABORATING CENTER OF EACMFS, BELORUSSIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY, MINSK, BELARUS PUSHKIN AV. 33–239; PO BOX 190; 220092 MINSK, BELARUS E-MAIL: IP-C@TUT.BY

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),22-23] Introduction

Problem of elaborating new and easy to be done, effective, simple in interpretation and wide introducing in clinic practice already known methods of prediction of purulentinflammatory processes development remain actual. Very often regardless to the adequate surgical treatment of suppurative focus, clinical description and dimensions of oral cavity phlegmons become dangerous and are complicated with mediastinitis which leads to death sometimes [5]. Severity of sick people condition with hard inflammatory processes is determined by syndrome of endogenous intoxication level of what could be specified with integral leucocyte indexes [2, 6]. It is well known that arising and developing diseases in maxillofacial area can provoke dysfunction of human body homeostasis what involves change of oral fluid indexes and its physical property of microcrystalization. Some authors say about positive changes of micricrystalization while treatment of diseases in maxillofacial area [1, 3]. In some works we find information that this test is self-descriptive for prediction of purulent-inflammatory processes development of odontogenous aetiology [4]. In special literature there is no results found about compative appreciation of integral leucocytes indexes application effectiveness and indexes of microcrystallization for prediction of phlegmon of oral cavity development.

Aim of the work is to do comparative appreciation of self-descriptivenees of prediction of oral cavity phlegmon development with integral indexes of intoxication and microcristallization of oral fluid.

Materials and methods



We examined 36 patients with phlegmon of oral cavity of odontogenous aetiology. Group of control composed of 24 persons. Treatment course for all patients consisted of surgical preprocessing of suppurative focus and conservative therapy postoperatively which included antibacterial, antihistaminic, nonsteroid antiphlogistic preparations application, patients also received polyvitamins, infusion therapy and physiotherapy course. We have taken into consideration that there is possibility of general status of patient and some aspects in oral cavity influence on biophysical properties of the oral fluid while examination. All patients had no systemic diseases and injuries for medical rehabilitation, pathology of mucous tunic of oral cavity, palatine tonsils were also excluded. All patients had high level of caries intensity.

Oral fluid preparation was realized by P.A.Leus [1]. All patients were subjected into the test of leucocyte index of



FIG.1. Correlation of integral leucocyte indexes of intoxication dynamics and indices of microcrystallization of oral fluid while complex rehabilitation procedures for patients with phlegmon of oral cavity.



FIG.2. Positive changes of microcrystallization test of oral fluid for patient F with mouth floor phlegmon: A – test results before treatment, B – test results 3 days after primary surgical treatment of suppurative focus.



FIG.3. Negative changes of microcrystallization test of oral fluid for patient K with mouth floor phlegmon: A – test results before treatment, B – test results 3 days after primary surgical treatment of suppurative focus.

intoxication by V.K.Ostrovskiy (LIIO) [2] and nuclear index of intoxication (NI) by G.A.Dachtayantz [6]. Examination of these indices was studied in dynamics: 1) when patient arrived to the doctor first time for treatment, 2) three days after surgical preprocessing of pyoinflammatory focus, 3) atthe end of treatment in hospital. Information was gathered in «Microsoft Excel» tables and adapted by method of calculus of variations with PC.

Results

Indexes of examination showed authentic distinction according to the integral leucocytes indexes, indexes of microcrystallization of oral fluid as regards to the group of control (p<0,001). While treatment course we have seen positive changes of all indices which have had authentic changes in 3-rd experiment LIIO (p<0,001) in comparison with initial indice $3,53\pm0,3$, also NI in 3-rd experiment $0,1\pm0,006$ (p<0,001) regarding to the initial data $0,17\pm0,02$. Similar data was received when microcrystallization of oral fluid was studied while 3-rd experiment $2,42\pm0,08$ (p<0,001) in regards to the initial index $2,84\pm0,01$. In that way, if we compare dynamics of studied indices, we can conclude that there is correlation between results of microcrystallization and indexes of leucocyte indexes of intoxication (FIG.1).

Conclusion

Test of microcrystallization of oral fluid is highly self-descriptive for prediction of pyoinflammatory process development in maxillofacial a rea (FIG.2 and FIG.3). This method has its advantages. It is noninvasive, easy for application, it does not need a lot money to spend, it is not necessary to have special knowledge, is reproducible day and night, number of times of reproduction is not limited.

References

[1] Dubrovina L.A. Microcrystallization of mixed saliva of children with different intensity of caries //Stom. assistance: Coll. art.- Riga: RMI, 1988.- P. 104 -108.

[2] Ostrovskiy V.K., Svitich Y.M. Simplified formula of leucocyte index of intoxication for diagnostics of hard surgical diseases //Zdr. Kazahstan.- 1982.- 7.- P. 24.

[3] Pohodenko-Chudakova I.O. Comparative appreciation of change of oral fluis microcrystallization for patients with traumatic fracture of mandible while standard treatment and rehabilitation procedures with acupuncture //Stomatology for all.- 2005.- V.31.- №2.- P. 10 – 13.

[4] Pohodenko-Chudakova I.O., Kazakova Y.M. Prognostication of osteomielitis development for patients with traumatic fractures of mandible according to the indices of microcrystallization of oral fluid//Bul. intern. scient. Surgical association. Mat. III intern. dist. scient.-pract. conf. «New technologies in medicine - 2006», 2006 V.1.- №2.- P. 51 – 52.

[5] Soloviev M.M, BolchakovБольшаков О.Р. Abscesses and phlegmons in head and neck. STp, 1997.– 252 p.

[6] Vasilkov V.G., Shikunova L.G., Kelina N.Y etc. System approach to the analysis difficulties of state of sick people and level of endoxicos after operation.//Critic technologies in rehanimation. Math. intern. conf. Moscow, 2003.– P. 13 - 15.

24 MODYFIKACJA CHEMICZNA KO-POLIMERU GLIKOLIDU Z ε-KA-PROLAKTONEM I JEJ WPŁYW NA ADHEZJĘ I ŻYWOTNOŚĆ FIBROBLASTÓW IN VITRO

Elżbieta Pamuła*, Anna Ścisłowska-Czarnecka**, Artur Szlęk*, Magdalena Chadzińska***, Piotr Dobrzyński***, Barbara Płytycz*** *AGH, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, Kraków **Akademia Wychowania Fizycznego, Wydział Anatomii, Kraków ***Uniwersytet Jagielloński, Instytut Zoologii, Kraków

****CENTRUM CHEMII POLIMERÓW PAN, ZABRZE

Streszczenie

W celu poprawienia biozgodności kopolimeru glikolidu z ε-kaprolaktonem (PGCap) został on zmodyfikowany poprzez inkubację przez różne okresy czasu w roztworze wodnym zasady sodowej. Zastosowana modyfikacja nie wpłynęła na chropowatość powierzchni lecz spowodowała wytworzenie tlenowych grup funkcyjnych, które nadały powierzchni charakter polarny i spowodowały obniżenie hydrofobowości. Badania in viro wykazały lepszą adhezję i żywotność fibroblastów (L929) hodowanych na próbkach modyfikowanych powierzchniowo.

[Inżynieria Biomateriałów,58-60,(2006),24-28]

Wprowadzenie

Jest wiadome, że zarówno budowa chemiczna powierzchni biomateriału jak i jego topografia wpływają na konformację zaadsorbowanych białek substancji międzykomórkowej, co w konsekwencji warunkuje oddziaływania na granicy faz materiał-komórka [1]. Jednymi z ważniejszych parametrów, które wpływają na zgodność komórkową biomateriałów jest hydrofobowość i swobodna energia powierzchniowa. Wykazano, że komórki łatwiej przylegają do powierzchni o umiarkowanej hydrofilowości, niż do powierzchni bardzo hydrofilowych lub bardzo hydrofobowych. Metody modyfikacji powierzchni, które mogą poprawić hydrofilowość polimerów syntetycznych to: modyfikacja plazmą [3], naświetlanie promieniowaniem UV [4], implantacja jonowa [5] i obróbka chemiczna w ciekłych utleniaczach [5].

Ostatnimi czasy resorbowalne poliestry alifatyczne (polilaktydy, poliglikolid, poli-ɛ-kaprolakton i ich kopolimery) są często przetwarzane w postać trójwymiarowych porowatych rusztowań do hodowli komórek, przeznaczonych do wytwarzania w warunkach *in vitro* sztucznych tkanek i organów [7]. Jedną z największych wad poliestrów alifatycznych jest ich wysoka hydrofobowość, co może pogarszać zgodność komórkową i często uniemożliwia właściwe zwilżanie rusztowania polimerowego pożywką hodowlaną w warunkach *in vitro*. Nasze poprzednie badania wykazały, że przyleganie, proliferacja i żywotność komórek hodowanych na PGCap były znacznie niższe niż na materiałach kontrolnych i innych poliestrach alifatycznych [8-10].

Celem niniejszej pracy było zmodyfikowanie powierzchni kopolimeru glikolidu z ε-kaprolaktonem w celu poprawienia jego hydrofilowości, a także zgodności komórkowej. W tym celu, polimer został inkubowany w 0.1M NaOH przez różne okresy czasu i następnie przebadany w warunkach *in vitro* w kontakcie z fibroblastami z linii L929.

CHEMICAL MODIFICATION OF POLY(GLYCOLIDE-ε-CAPROLACTONE) AND ITS IMPACT ON ADHESION AND VIABILITY OF FIBROBLASTS *IN VITRO*

ELŻBIETA PAMUŁA*, ANNA ŚCISŁOWSKA-CZARNECKA**, ARTUR SZLĘK*, MAGDALENA CHADZIŃSKA***, PIOTR DOBRZYŃSKI****, BARBARA PŁYTYCZ*** *AGH-UST, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS, KRAKOW, POLAND ***ACADEMY OF PHYSICAL EDUCATION, FACULTY OF ANATOMY, KRAKOW, POLAND ***JAGIELLONIAN UNIVERSITY, INSTITUTE OF ZOOLOGY, KRAKOW, ****CENTER FOR POLYMER CHEMISTRY,

POLISH ACADEMY OF SCIENCES, ZABRZE, POLAND

Abstract

Copolymer of glycolide and ε -caprolactone was modified by incubation in aqueous solution of sodium hydroxide for different periods of time in order to improve its biocompatibility. Applied modification did not influence surface roughness but created oxygenated functions, which enhance surface polarity and diminish hydrophobicity. In vitro studies showed better adherence and viability of fibroblasts (L929) cultivated on surface-modified samples.

[Engineering of Biomaterials, 58-60, (2006), 24-28]

Introduction

It is well known that both the chemistry and the topography of biomaterial surface influence cell behaviour through adsorbing extracellular matrix (ECM) proteins and modifying their conformation what, in a consequence, regulate cellmaterial interactions [1]. Hydrophobicity and surface free energy are very important factors that affect cytocompatibility of biomaterials. It was already shown that cells prefer to attach on surfaces of moderate hydrophilicity than on very hydrophobic or very hydrophilic ones [2]. Many methods such as plasma treatment [3], UV irradiation [4], ion implantation [5] and chemical treatment in liquid oxidisers [6] may affect hydrophilicity of synthetic polymers.

Resorbable aliphatic polyesters (polylactides, polyglicolide, poly- ε -caprolactone and their copolymers) are recently used to fabricate porous scaffolds for three-dimensional cell culture to create *in vitro* artificial tissues and organs [7]. One of the weak points of aliphatic polyesters is their high hydrophobicity, what may deteriorate cytocompatybility and often enables proper wetting with cell culture medium *in vitro*. Our previous studies show that adhesion, proliferation and viability of cells grown on PGCap was significantly lower than on control materials and on other aliphatic polyesters [8,9,10].

The aim of this study was to modify the surface of poly(glycolide- ε -caprolactone) (PGCap) in order to improve its hydrophilicity and cytocompatibility. To this end, the polymer was soaked in NaOH for different periods of time and studied *in vitro* in contact with fibroblasts (L929).

Materials and methods

Copolymer of glycolide and ε-caprolactone (PGCap)

Materiały i metody

Kopolimer glikolidu i ε-kaprolaktonu (PGCap) zsyntezowano z wykorzystaniem Zr(acac)₄ [11]. Z badań NMR wynikało, że stosunek molowy glikolidu do kaprolaktonu w kopolimerze wynosił 9:91. Liczbowo-średnia masa cząsteczkowa M_n, wynosiła 53.4 kDa, a współczynnik polidyspersji d, wynosił 1.9. Folie polimerowe odlano z roztworu PGCap (10% w/v) w chlorku metylenu (POCh, Gliwice). Folie o masie 0,2 g inkubowano 0,1M NaOH (POCh, Gliwice) przez 2, 6, 16 i 24 h w temperaturze pokojowej. Po modyfikacji folie intensywnie płukano w wodzie ultraczystej (UHQ, oczyszczonej przez UHQ-PS, Elga, Wielka Brytania) w płuczce ultradźwiękowej (Sonic3, Polsonic, Polska). Efektywność płukania sprawdzano mierząc pH i przewodnictwo wody UHQ przed i po kontakcie ze zmodyfikowanymi foliami.

Zwilżalność folii wodą (UHQ) i diodometanem (Aldrich) mierzono metodą kropli za pomocą analizatora kształtu kropli (DSA 10Mk2, Kruss, Niemcy). Energię powierzchniową obliczono według przybliżenia Owens–Wendt–Rabel–Kaelble [12]. Topografię powierzchni analizowano za pomocą mikroskopu sił atomowych (Explorer, Veeco, USA) w trybie kontaktowym. Chropowatość powierzchni wyznaczono za pomocą oprogramowania SPM LAB 5.01. Obecność grup funkcyjnych na powierzchni folii polimerowej oceniono za pomocą spektroskopii w podczerwieni FTIR-ATR (FTS Digilab 60, BioRad).

Dla celów hodowli komórkowych, folie o średnicy 14 mm przemyto w 70% etanolu, wyjałowiono pod lampą UV przez 1 h z każdej ze stron i umieszczono w 24-dołkowych płytkach hodowlanych (Nunc, Dania). Zawiesinę fibroblastów L929 (gęstość komórek $3x10^4$ komórek/ml) w pożywce hodowlanej RPMI 1640 (Sigma, Niemcy) zawierającej 10% cielęcej surowicy płodowej (ICN, Niemcy) i antybiotyki (100 Ul/ml penicyliny, 10 mg/ml streptomycyny i 25 µg/ml amfoterycyny, Sigma, Niemcy) osadzono na każdej próbce i na szkiełkach nakrywkowych (Greenpol, Polska) stanowiących kontrolę. Komórki hodowano przez 3 dni w inkubatorze (Nuaire, USA) w temperaturze 37° C w atmosferze zawierającej 5 %CO₂.

Morfologię komórek przylegających do podłoża oceniano za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego (JSM 5410, JEOL, Japan) przy powiększeniu 2000 razy. Przed analizą komórki utrwalono w 2,5% aldehydzie glutarowym (Sigma, Niemcy), odwodniono w serii etanolowej, wysuszono w punkcie krytycznym CO_2 (Critical Point Research Industries LADD, USA) i napylono cienką warstwą złota (JEOL JFC – 1100E, Japonia).

Przyleganie komórek badano za pomocą testu wchłaniania fioletu krystalicznego (CV). Po przepłukaniu próbek w soli fizjologicznej (PBS), przylegające komórki utrwalono w 2 % formalinie (POCh, Gliwice) przez 1 h w 21°C i wybarwiono przez 5 min w 0,5 ml fioletu krystalicznego (0,5% w 20% metanolu). Po przepłukaniu wodą, próbki przeniesiono do nowej 24-dołkowej płytki hodowlanej i wyekstrahowano zaabsorbowany barwnik w 1 ml 100% metanolu (POCh, Gliwice). Następnie mierzono gęstość optyczną (O.D.) dla długości fali 570 nm za pomocą spektrofotometru Export Plus (Asys Hitach, Austria). Żywotność komórek określono za pomocą testu MTT. Do każdego dołka dodano 100 µl wodnego roztworu MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5diphenyltetrazolium bromide; Sigma, Niemcy) o stężeniu 5mg/ml. Po 1-godzinnej inkubacji w ciemności w 37°C reakcję zatrzymano poprzez dodanie 1 ml izporopanolu zawierającego 3% HCI (POCh, Gliwice). Płytkę wytrząsano na wytrząsarce (Elpan, Poland) przez 30 min. Następnie mierzono gęstość optyczną (O.D.) dla długości fali 570 nm za pomocą spektrofotometru Export Plus (Asys Hitach, Austria).

was synthesised with the use of $Zr(acac)_4$ [11]. Molar ratio of glycolide to ε -caprolactone in copolymer was 9:91, as studied by NMR. Number-average molecular mass, M_n, was 53.4 kDa, while polydispersion index, d, was 1.9. Polymeric foils were obtained by solvent casting method from 10 w/v copolymer solution in methylene chloride (POCh, Gliwice, Poland). Polymeric foils (0.2 g) were soaked in 10 ml of 0.1 M NaOH (POCh, Gliwice, Poland) for 2, 6, 16 and 24 h at room temperature. After modification the foils were extensively washed in UHQ water (produced by UHQ-PS apparatus Elga, Great Britain), followed by washing in the ultrasound bath (Sonic3, Polsonic, Poland). Effectiveness of washing was checked by pH and conductivity measurements of UHQ water before and after contact with modified foils.

Wettability of foils was measured by sessile drop with the use of drop shape analysis system (DSA 10Mk2, Kruss, Germany) using water (UHQ) and diodomethane (Aldrich). Surface free energy was calculated according to Owens– Wendt–Rabel–Kaelble approach [12]. Surface topography was studied by atomic force microscopy (Explorer, Veeco, USA) in contact mode. Based on SPM LAB 5.01 software surface roughness was also calculated. Chemical surface functionalities were evaluated by infrared spectroscopy (FTIR-ATR, FTS Digilab 60, BioRad).

For cell culture studies, the foils were washed in 70 % ethanol and sterilized under UV lamp for 1 h from both sizes and placed into the 24-well culture dishes (Nunc, Danmark). A suspension of L929 fibroblasts in RPMI 1640 (Sigma, Germany) containing 10% foetal bovine serum (ICN, Germany), and antibiotics (100 UI/ml penicillin, 10 mg/ml streptomycin and 25 μ g/ml amfotericin, Sigma, Germany) was seeded on each sample and on control glass coverslips (cell density 3x10⁴ cells/ml). The cells were cultured at 37°C in an incubator (Nuaire, USA) with humidified 5 % CO₂ atmosphere for 3 days.

The morphology of adhered cells was evaluated with scanning electron microscopy (SEM, JSM 5410, JEOL, Japan) under magnification of 2000 times. Before analysis the cells were fixed in 2.5% glutaraldehyde (Sigma, Germany), dehydrated in graded ethanol series, dried in CO_2 at critical point (Critical Point Research Industries LADD, USA), and finally sputter coated with a thin gold layer (JEOL JFC – 1100E, Japan).

The adhesion of cells was measured by crystal violet test (CV). The foils were rinsed with saline (PBS), fixed in 2 % formalin (POCh, Gliwice, Poland) for 1 h at 21°C and stained with 0.5 ml of crystal violet (0.5% in 20% methanol) for 5 min. After washing with water the foils were transferred to new 24-well dishes and dried in air. Then, absorbed stain was extracted in 1 ml of 100% methanol (POCh, Gliwice, Poland). Finally, the optical density (O.D.) was measured at 570 nm with an Expert Plus spectrophotometer (Asys Hitach, Austria). Moreover, the aspiration of dye by materials themselves was measured.

The viability of cells was estimated by MTT assay. For each well 100 µl of 5 mg/ml MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide; Sigma, Germany) water solution was added. After 1 h incubation in the dark at 37°C the reaction was stopped by pouring 1 ml of isopropanol containing 3% of HCl (POCh, Gliwice, Poland) and the dish was put on a shaker (Elpan, Poland) for 30 min. Finally, the optical density (O.D.) of formazan in the solution was measured at 570 nm with an Expert Plus spectrophotometer (Asys Hitach, Austria).

Results and discussion

. . . .

TABLE 1 presents the water contact angle, dispersive and polar surface free energies as well average surface 26

.

t [h]	Θ [°]	γ₄ [mJ/m²]	Y₅ [mJ/m²]	R _a [nm]
0	79.9 (2.0)	47.4 (0.8)	3.4 (0.1)	103 (16)
2	71.9 (2.2)	47.9 (0.5)	4.6 (0.2)	117(19)
6	66.9 (1.8)	47.1 (0.6)	6.8 (0.2)	129 (31)
16	60.2 (1.6)	47.4 (1.0)	9.8 (0.2)	116 (10)
24	53.2 (4.3)	44.4 (0.7)	14.4 (0.5)	134 (25)

t–modification time / czas modyfikacji, Θ –water contact angle / kąt zwilżania wodą, γ_d -dispersive part of surface free energy / składowa dyspersyjna energii powierzchniowej, γ_p -polar part of surface free energy / składowa polarna energii powierzchniowej, R_a -average roughness / średnia chropowatość

TABELA 1. Właściwości powierzchniowe PGCap w funkcji czasu modyfikacji w 0,1 M NaOH (średnia i odchylenie standardowe w nawiasach). TABLE 1. Surface properties of PGCap as a function of modification time in 0.1 M NaOH (average and standard deviation in brackets).

Wyniki i dyskusja

W TABELI 1 zestawiono wyniki kąta zwilżania, składowej polarnej i dyspersyjnej energii powierzchniowej, a także średnią chropowatość powierzchni folii PGCap przed i po modyfikacji w 0,1 M NaOH. Zastosowana modyfikacja powoduje spadek kąta zwilżania i wzrost składowej polarnej swobodnej energii powierzchniowej. Interesujące jest, że składowe dyspersyjne wszystkich próbek, z wyjątkiem modyfikowanej NaOH przez 24h, były do siebie zbliżone.

RYS.1 przedstawia widma FTIR folii PGCap przed i po modyfikacji w 0,1 M NaOH przez 24h. W widmie przed modyfikacją widoczne są następujące pasma: w zakresie 2800-3000 cm⁻¹ od drgań rozciągających grup CH₂ i CH₃, pasmo w położeniu 1700 cm⁻¹ od drgań rozciągających grup C=O, pasma w zakresie 1100-1200 cm⁻¹ od drgań rozciagających grup C-O i C-O-C i pasma w zakresie 400-1500 cm-1 przypisywane drganiom deformacyjnym CH₂ i CH₃. Pasma te sa charakterystyczne dla poliestrów alifatycznych [13]. Po modyfikacji w NaOH przez 24 h, w widmie FTIR można zauważyć zmiany położenia i szerokości połówkowych pasm przypisywanych drganiom grup: C=O, C-O i C-O-C. Ponadto pasma w zakresie 2800-3000 cm⁻¹ przypisywane drganiom grup CH_2 i CH_3 , a także drganiom grup OH z kwasów karboksylowych zmieniają swój kształt i przesuwają się w kierunku niższych liczb falowych [14]. Wyniki te oznaczają, że obróbka w NaOH powoduje utlenianie i hydrolizę wiązań poliestrowych w PGCap, co w konsekwencji powoduje wzrost polarności i poprawia zwilżalność powierzchni.

BIC MATERIAŁÓW

RYS.2 przedstawia obrazy topograficzne uzyskane za pomocą mikroskopu sił atomowych powierzchni PGCap przed i po modyfikacji w NaOH. Na powierzchni PGCap występują regularne struktury typowe dla polimerów semikrystalicznych, nazywane sferolitami [RYS.2a]. Sferolity zbudowane są z krystalicznych lamelli, które są lepiej widoczne przy mniejszych obszarach skanowania. Badania AFM wykazują, że ciekły utleniacz wytrawia preferencyjnie obszary amorficzne pomiędzy sferolitami, co sprawia, że krystaliczne lamelle i sferolity są lepiej wyeksponowane [FIG. 2b]. Jednakże, obróbka w NaOH praktycznie nie wpływa na chropowatość powierzchni PGCap [TABELA 1].

Na RYS.3 przedstawiono obrazy SEM fibroblastów L929 hodowanych na foliach PGCap modyfikowanych





roughness of PGCap foils modified with 0.1 M NaOH for different periods of time. Applied modification caused decrease in contact angle and increase in polar part of surface free energy. Interestingly, dispersive part of surface free energy was similar for all the samples and did not change during modification time, except for the sample treated with NaOH for 24 h.

FIG.1 presents FTIR spectra of PGCap foils before and after 24h-modification in 0.1 M NaOH. In the spectrum of PGCap before modification the following bands are visible: in the range 2800-3000 cm⁻¹ from CH₂ and CH₃ stretching a band at 1700 cm⁻¹ from C=O stretching, bands in the range 1100-1200 cm⁻¹ from C-O and C-O-C stretching and bands the range 400-1500 cm⁻¹ attributed to deformational CH₂ and CH₃. Those bands are characteristic for aliphatic polyesters [13]. After 24-hour modification in NaOH in the FTIR spectrum changes in the shape of the bands attributed to C=O, C-O and C-O-C vibrations are observed. Moreover, the bands in the range 2800-3000 cm⁻¹ attributed to CH₂ and CH₃, as well to OH from carboxylic acids change their shape and shift towards lower wavenumbers [14]. The results mean that NaOH treatment causes oxidation and hydrolysis of polyester bonds in PGCap, what in turn increases surface polarity and improves wettability.

FIG.2 presents AFM scans of PGCap surface before and after 24 h modification in NaOH. On the surface of PGCap regular structures typical of semicrystalline polymers, called spherolites, are present [FIG.2a]. Spherolites consist of crystalline lamella, which are better visible for smaller scan areas (data not presented). AFM studies show that liquid oxidizer preferentially etches amorphous areas of PGCap, situated between spherolites, what results in better exposition of crystalline lamella and spherolites [FIG.2b]. However, treatment in NaOH practically does not influence surface roughness of PGCap [TABLE 1].

FIG.3 presents SEM pictures of L929 fibroblasts grown on PGCap foils modified with NaOH for different periods of time. The cells on the initial PGCap and that modified for 2 h are round and adhere to the surface with relatively small area. The cells on PGCap modified for 6, 16 and 24h are



RYS.2. Obrazy topograficzne AFM PGCap przed i po modyfikacji w 0.1 M NaOH przez 24h. FIG. 2. AFM topography images of PGCap before and after modification for 24 h in NaOH.

NaOH przez różne okresy czasu. Komórki na wyjściowym i modyfikowanym przez 2 h PGCap są okrągłe i przylegają do powierzchni stosunkowo małą powierzchnią. Komórki na foliach modyfikowanych przez 6, 16 i 24 h są bardziej spłaszczone, okrągłe i/lub o kształcie wielokątów. Niektóre z komórek mają wykształcone pseudopodia.

RYS. 4 przedstawia wyniki badań za pomocą dwóch testów: wchłaniania fioletu krystalicznego i redukcji MTT. Test wchłaniania fioletu krystalicznego jest wykorzystywany do oceny przylegania komórek na powierzchni biomateriałów [15]. Test redukcji MTT ocenia żywotność komórek poprzez oznaczenie aktywności dehydrogenaz mitochondrialnych [16]. Badania wykazały, że zastosowana modyfikacja poprawia istotnie przyleganie komórek do powierzchni w porównaniu z kontrolą. Należy podkreślić, że sama folia PGCap wchłania barwnik, a jego ilość wzrasta wraz z czasem modyfikacji. Może to świadczyć, że NaOH modyfikuje nie tylko powierzchnię ale i wnętrze materiału.

Podsumowując, obróbka w zasadzie sodowej jest metodą, która efektywnie poprawia zwilżalność kopolimeru glikolidu z ε-kaprolaktonem, co w konsekwencji wpływa korzystnie na przyleganie i żywotność fibroblastów.



RYS.3. Obrazy SEM fibroblastów L929 hodowanych na PGCap bez modyfikacji (0h) i modyfikowanych w 0,1 M NaOH przez 2, 6, 16 i 24 h i na kontrolnych szkiełkach nakrywkowych.

FIG.3. SEM pictures of L929 fibroblasts grown on PGCap without modification and modified in 0.1M NaOH for 2, 6, 16 and 24 h and on control glass coverslips.

Podziękowania

Praca byłą finansowana z projektów badawczych 3 T08D01928 i DS773/IZ/ZIE/UJ/2006. Autorzy dziękują Pani Zuzannie Banach (Katedra Histologii i Cytologii, UJ) i Pani Dr Czesławie Paluszkiewicz (Wydział IMiC, AGH) za pomoc odpowiednio: przy badaniach SEM i FTIR.



RYS.4. Adhezja wyznaczona metodą fioletu krystalicznego (a) i żywotność oznaczona testem MTT (b) fibroblastów L929 hodowanych na PGCap bez modyfikacji i modyfikowanych w 0,1 M NaOH i na kontrolnych szkiełkach nakrywkowych. O.D. – gęstość optyczna. Wartości z takimi samymi cyframi (np. A vs. A) nie są różne statystycznie, wartości z różnymi cyframi (np. A vs. B) różnią się statystycznie (p<0,05).

FIG.4. Adhesion by crystal violet (a) and viability by MTT test of L929 fibroblasts grown on PGCap without modification and modified in 0.1 M NaOH and on control glass coverslips. O.D. – optical density. Values sharing letters (e.g. A and A) are not significantly different while values with different letters (e.g. A vs B) vary significantly (p<0.05).

better spread, round and/or polygonal in shape. Some of the cells develop pseudopodia.

FIG.4. presents the result of crystal violet and MTT tests. Crystal violet is a method to evaluate cell adhesion on biomaterial surface [15], while MTT asses viability of cells by measurement of activity of mitochondrial dehydrogenases [16]. The results show that applied modification considerably improves adhesion of cells in comparison with control. Interestingly, aspiration of dye by the biomaterial itself is considerable and increases with modification time. It may suggest that NaOH modifies not only the surface but also the whole material.

In conclusion, sodium hydroxide treatment is a very effective method to improve wettability of poly(glycolide- ϵ -caprolactone), what ultimately enhances adhesion and viability of fibroblasts.

Acknowledgements

This study was supported by research grants 3 T08D 019 28 and DS/IZ/ZIE/UJ/2006. The authors wish to express their thanks to Zuzanna Banach (Dept. Histology and Cytology, Jagiellonian University) and Dr. Czesława Paluszkiewicz (AGH, Fac. Mater. Sci. and Ceramics) for their help during SEM and FTIR analyses, respectively. **BIOMATERIALÓW**
••• Piśmiennictwo

[1] K.C. Dee, D.A. Puleo, R. Bizios, An introduction to tissue-biomaterial interactions, Willey USA, 2002, 149-172.

[2] Z. Ma, C. Gao, Y. Gong, J. Shen, *Biomaterials* 24, 2003, 3725-3730.

[3] E. Pamuła, V. De Cupere, Y.F. Dufrene, P.G. Rouxhet, J Coll Interf Sci 271, 2004, 80-91.

[4] H. Kaczmarek, J. Kowalonek, A. Szalla, A. Sionkowska, *Surf Sci* 507-510, 2002, 883-888.

[5] H. Tsuji, H. Satoh, S. Kieda, S. Ikemura, Y. Gotom, J. Ishikawa, *NIM B* 148, 1999, 1136-1140.

[6] G.E. Park, A. Pattison, K. Park, T.J. Webster, *Biomaterials* 26, 2005, 3075-3082.

[7] A. Atala, R. Lanza, Methods of tissue engineering, Academic Press, Elsevier, 2002, 619-627.

[8] E. Pamuła, L. Bacakova, J. Buczyńska, E. Filova, L. Noskowa, P. Dobrzyński, M. Bero, Eng Biomat (Inż Biomat) 37, 2004, 14-17.

OCENA WIELOFUNKCYJNEGO STABILIZATORA MIĘDZYWYROSTKOWEGO TYPU "NON-FUSION"; BADANIA NA ZWIERZĘTACH -KOZY

J.Sterna^{*}, L.F. Ciupik^{**}, J. Chłopek^{***}, A. Dobkiewicz^{****}, A. Kierzkowska^{*****}, J. Pieniążek^{****}

* KAT. CHIRURGII ZWIERZĄT, SGGW, W-WA

Centrum Badawczo-Rozwojowe IBME/LFC, Zielona Góra *Wydz. Inżynierii Materiałowej AGH, Kraków

****Kat. I Oddz. Kliniczny Neurochir. I Neurotraumat. Śl.AM,Bytom

*****CBR IBME/LFC I UNIWERSYTET ZIELONOGÓRSKI, ZIELONA Góra

> Słowa kluczowe:implant kręgosłupowy, stabilizacja międzywyrostkowa, "non fusion", dynamiczna, badania biocmechaniczne, badania na zwierzętach. [Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),28-31]

Wprowadzenie

Każde wprowadzenie do praktyki medycznej nowego wyrobu wymaga interdyscyplinarnego /wszechstronnego podejścia. Tylko zbiorcza analiza wyników: w zakresie inżynierskim, laboratoryjnym-bioinżynierskim, badań *in vitro* i *in vivo* na zwierzętach oraz badań klinicznych wraz z przeprowadzoną analizą ryzyka daje możliwość podjęcia decyzji o wprowadzeniu wyrobu medycznego do użycia przy akceptowalnym (zminimalizowanym) poziomie zagrożenia. Praktyka medyczna zna różnorodne systemy międzywyrostkowe pochodzenia zagranicznego [1-3], często o ograniczonym stosowaniu z powodu niedogodności instalacyjno-konstrukcyjnych i funkcjonalnych.

Badania wyrobów wszczepialnych na zwierzętach opisywane w literaturze dotyczą zwykle szczurów lub królików [4-5] lub do eksperymentów wykorzystywane są kozy [6-7].

Wśród dostępnych zwierząt do oceny pierwszego polskiego wszczepu międzywyrostkowego rozszerzającego

References

[9] B. Szot, M. Chadzińska, E. Pamuła, E. Menaszek, B. Płytycz, Effects of the resorbable polymers on activity of L929 mouse fibroblasts, *Molecular and Physiological Aspects of Regulatory Processes of the Organism*, Edited by Henryk Lach, Cracow 2005, 489-491.

[10] M. Chadzińska, E. Pamuła, M. Kretek, J. Krawców, B. Płytycz, *Molecular and Physiological Aspects of Regulatory Processes of the Organism*, Edited by Henryk Lach, Cracow 2006, 88-90.

[11] P. Dobrzyński, J. Kasperczyk, H. Janeczek, M. Bero, *Macro-molecules* 34, 2001, 5090-5098.

[12] D.K. Owens, R. C. Wendt, J Appl Polym Sci 13,1969, 1741.

[13] E. Pamuła, M. Błażewicz, C. Paluszkiewicz, p. Dobrzyński, J Mol Str 596, 2001, 69-75.

[14] R.T. Morrisom, R.N. Boyd, Organic Chemistry (Polish Ed), vol 1, PWN, Warszawa, 1994, 980-990.

[15] B. Płytycz, M. Różanowska, R. Seljelid, *Folia Biol* 40,1992, 3-9.

[16] K. Berg, M.B. Hansen, S.E. Nielsen, *APMIS* 98, 1990, 156-62.

EVALUATION OF MULTIFUNCTIONAL INTERSPINOUS STABILIZER "NON-FUSION" TYPE; TESTS ON ANIMALS - GOATS

J.Sterna^{*}, L.F. Ciupik^{**}, J. Chłopek^{***}, A. Dobkiewicz^{****}, A. Kierzkowska^{*****}, J. Pieniążek^{****}

* CHAIR OF ANIMAL SURGERY, SGGW, WARSAW

** RESEARCH & DEVELOPMENT CENTER LFC, ZIELONA GÓRA

***DEPARTMENT OF MATERIAL ENGINEERING AGH, KRAKÓW

****CHAIR AND CLINICAL DEP. OF NEUROSURGERY AND NEU-

ROTRAUMATOLOGY, SILESIAN MEDICAL ACADEMY, BYTOM

***** Research&Development Center LFC, University of Zielona Góra, Zielona Góra

Key words: spinal implant, interspinous stabilizer, "non-fusion", dynamic, biomechanic tests, tests on +animals.

[Engineering of Biomaterials, 5860,(2006),28-31]

Introduction

Every introduction of new device into medical practice requires interdisciplinary/comprehensive approach. Only cumulative analyze of results: engineering, laboratorybioengineering range, *in vitro* and *in vivo* test on animals and clinical studies together with performed risk analysis provides the possibility of taking decision regarding introduction of the medical device in use taking into consideration acceptable (minimized) level of thread. Medical practice knows different interspinous systems of abroad origin [1-3], often of limited use because of inconveniences related to installation-construction and functionality. Investigations of medical implantation devices on animals described in literature usually are connected with rats or rabbits [4-5] or for experiments goats are used [6-7].

Among available animals for evaluation of the first Polish interspinous implant, which extends possibilities of treatment of lumbar spine dysfunctions (mainly pain), goats were selected because of their accessibility, liveliness, anatomic możliwości leczenia dysfunkcji kręgosłupa lędźwiowego (głównie bólowych) wytypowano kozy ze względu na ich dostępność, żywotność, cechy anatomiczne i najczęściej wykorzystywany i opisywany w literaturze materiał badawczy.

Celem pracy było przeprowadzenie oceny poprawności zaproponowanej małoinwazyjnej procedury wszczepiania systemu międzywyrostkowego InterS (implant i narzędzia chirurgiczne), badanie zachowanie/działania polimerowopoliestrowego stabilizatora w okresie po implantacji w kręgosłupy zwierzęce i ocena "post mortem" tkanek układu kostno-mięśniowo-więzadłowego (badania histopatologiczne) oraz stabilizatora polimerowo-poliestrowego z tytanowymi markerami po półrocznym funkcjonowaniu w organizmach zwierzęcych. Jednocześnie badania na zwierzętach stanowiły weryfikację testów biomechanicznych przedstawionych w [8], dotyczących wpływu napięcia cięgna na przebudowę geometrii przestrzeni międzykręgowej.

Materiał i metody

Przedmiotem badań był międzywyrostkowy system stabilizacyjny dostosowany geometrycznie do anatomii przestrzeni w zakresie L₁-L₅ kozy. Interdyscyplinarne badania (z udziałem chirurgów kręgosłupa, chirurgów weterynarii i biomechaników) prowadzono w klinice chirurgii zwierzęcej SGGW w Warszawie. Do budowy implantu międzywyrostkowego wykorzystano trzy różnorodne materiały o przeznaczeniu medycznym, ale o zupełnie odmiennych własnościach, które w porównaniu z kością zestawiono w TABELI 1. Element nośny wykonany jest z przeziernego polimeru typu PEEK Optima z markerami ze stopu Ti6Al4V do identyfikacji radiologicznej, element instalacyjno-pozycjonujący występuje w postaci poliestrowego cięgna (RYS.1).

Zakres badań obejmował:

 ocenę śródoperacyjną procedury wszczepiania, geometria a funkcjonalność implantu i poręczność instrumentarium;
 ocenę pooperacyjną z wykorzystaniem techniki radiologicznej (Rtg, TK), mającą na celu określenie wzajemnego sytuowania się elementów stabilizatora i współpracy im-

plant-tkanka; - "post mortem" stabilizatora i tkanek oraz obszarów ich wzajemnego oddziaływania z oceną histopatologiczną (HP).

Dodatkowo celem identyfikacji pooperacyjnej zmian w geometrii układu objętego obserwacją wszczepiono kozom specjalny tytanowe odnośniki geometryczne w postaci płytki prostokątnej (3x10)±0.05mm. Czas trwania badań *in vivo* wynosił do 6 miesięcy od momentu wszczepienia.

Wyniki

Przygotowanie kóz do operacji oraz wszystkie czynności śródoperacyjne odbywały się z zachowaniem wszystkich rygorów obowiązujących w chirurgii zwierzęcej oraz pod ciągłą opieką anestezjologiczną (RYS.2). Zgodnie z przyjętymi założeniami procedura wszczepiania odbyła się z ograniczoną inwazyjnością chirurgiczną, na którą składał się jednostronny dostęp operacyjny z cięciem długości 4-5 cm z zachowanie więzadła nadkolczystego, z usunięciem jedynie przyczepów mięśni i więzadła międzykolczystego. Procedura implantacji objęła:

 - przygotowanie przestrzeni operacyjnej z odpreparowaniem tkanek miękkich (mięśni); RYS.3A,

ocena przestrzeni międzywyrostkowej i dobór wielkości implantu,

 - wprowadzenie w przestrzeń międzywyrostkową polimerowego implantu z planowanym i kontrolowanym za pomocą specjalnego klucza dynamometrycznego naciągiem policharacteristic and most often used and described research material in literature.

The purpose of the examination was to perform the evaluation of correctness of proposed low-invasive implantation procedure of interspinous InterS (implant and surgical instruments), testing and observing of maintaining/working of polymeric-polyester stabilizer after implantation in animal spines and "post mortem" evaluation of osseus-muscleligament tissues system (histopathology examination) and polymeric-polyester stabilizer with titan markers after half a year of functioning in animal bodies. Contemporary, tests on animals were bond for verification of biomechanical tests shown in [8], connected with influence of band tension on reconstruction of interspinous space geometry.

Material and methods

The main purpose of the evaluation was interspinous stabilizing system geometrically adapted for anatomy space at level L₁-L₅ of goat. Interdisciplinary test (with participation of spine surgeons, veterinary surgeons and biomechanicians) were provided in animal surgery clinic SGGW in Warsaw. For the construction of interspinous implant three different materials of medical predestination with totally different characteristics were used, which compared with bone are shown in table 1. Bearing element is made of radiolucent polymer PEEK Optima type with markers made of titanium alloy Ti6Al4V used for radiographic identification, installation-positioning element appears as polyester band (fig.1). The range includes:

 intra-operative evaluation of implantation procedure, geometry and functionality of implant and convenience of used instruments;

- post-operative evaluation with use of radiological techniques (X-ray, CT), having on purpose definition of mutual locating of stabilizer elements and implant-tissue cooperation :

- "post mortem" of the stabilizer and tissues and also spaces of their mutual influence with histopathological evaluation (HE).

Additionally, on purpose of post-operative identification of changes in geometry of system observed, goats were implanted with special titanium geometry reference marks in shape of precise rectangular plate $(3x10)\pm0.05$ mm. The period of prolonging of test *in vivo* was up to 6 months after implantation.

Results

The preparation of goats for surgery and other intra-operative functions took place with keeping of all rigors obligatory in animal surgery and under care of anesthesiology surgeon (FIG.2). According to taken assumptions procedure of implantation took place with limited surgery nvasiveness, which was made of unilateral surgical approach with cut of length 4-5 cm with keeping of supraspinous ligament and removing of muscle attachments and interspinous ligament.

The procedure of implantation includes:

- preparing of surgery space with unpreparing of soft tissues (muscles); FIG.3a,

- evaluation of interspinous space and matching of proper implant size,

- insertion in intraspinous space of polymeric implant with planed and con trolled polyester band tension by using special dynamometric key,

- the final installation (FIG.3b) and radiological post-operative diagnose.

30

	1	2	3	4	5	6	
Materiał Material	Granica plastyczności Field strength [MPa]	Wytrzymałość na rozciąganie Tensile strength [MPa]	Moduł Younga Young module [GPa]	Wytrzymałość na zginanie Flexular strength [MPa]	Gęstość Density [g/cm³]	Twardość Hardness [HRC]	
Kość gąbczasta / Cancelous bone			≥0,1				
Kość kortykalna / Cortical bone		≥90	≥13	≥160			
Ti6Al4V	≥795	≥860	≥100		4,05	32	
PEEK-Optima	≥90	≥100	≥3,8	≥150	1,3		
Włókna poliestrowe Polyester fibres	charakteryzowane są głównie średnią siłą zrywającą, która dla stosowanej w systemie taśmy wynosi 25,8 [daN] oraz wydłużeniem względnym o średniej wartości do 69,9% characterized maliny by average breaking Power, chich is 25.8 m[daN]for used band system and relative elongation of average value up to 69,9%						

TABELA 1. Własności kości oraz biomateriałów zastosowanych w wielofunkcyjnym implancie InterS. TABLE 1. Properties of osseous and biomaterials used in the multifunctional implant InterS.



RYS.1. Zainstalowany lędźwiowy implant miedzywyrostkowy InterS; polimerowy wspornik (PEEK Optima) spięty poliestrowym cięgnem z wyrostkami kolczystymi L_3 - L_4 .

FIG.1. Installed interspinous lumbar implant InterS; polymer PEEK Optima stabilizer fastened with polyester band around interspinous process L_3 - L_4 .

estrowego cięgna,

 końcową instalację (RYS.3b) i radiologiczną diagnostykę pooperacyjną.

Przykładowe zdjęcia pooperacyjne (po 2 tygodniach) pokazane na RYS.4 wskazywały na poprawne ułożenie/ dopasowanie implantu do przestrzeniu międzywyrostko-



RYS.4. Rtg ze stabilizatorem międzywyrostkowym po 2 tygodniach od wszczepienia: markery (1) wskazujące pozycję implantu, markery (2) służące do oceny pooperacyjnej przemieszczeń, płytka wzorcowa (3) do oceny zmian geometrii.

FIG.4. Post-operative interspinous stabilizer after 2 weeks after implantation: markers(1) showing implant position, markers(2) needed for post-operative replacements evaluation, reference plate(3) for geometry changes evaluation.



RYS.2. Poziom stabilizacji i przygotowania do operacji kozy. FIG.2. Level of stabilization and preparation of the goat for surgery.

RYS.3. Przygotowanie z jednostronnego dostpu chirurgicznego przestrzeni midzy wyrostkami i zaimplantowany stabilizator międzywyrostkowy InterS.

FIG.3. Preparation of unilateral surgical approach of interspinous space and implanted interspinous stabilizer InterS.

iExample post-operative x-rays (after 2 weeks) shown on FIG.4 suggest on correct put in/fit of implant to interspinous space in animals cases. It did not also show bothering events connected with breakage of implant or its migration and other bothering events.

Section evaulations (FIG.5) after 6 months after implantation show the importance of matching the proper size of implant (width and height) to intraspinous space. In case, when implant was to big and was pressing on supraspinous ligament atrophy of ligament was ascertained and also reconstruction of bone (spondylodesis) in the place of injury of joint surfaces. "Post-mortem" analysis of contact polymer-tissue, polyester-tissue and titanium alloy-tissues showed high biotolerance of those biomaterials. There was no defense reactions of organism and reactions around the implants. There was also observed loose adhesion of tissue to material of PEEK type (without space fulfilled with liquid) useful because of destined biomechanical bearing functions without spondylodesis-stabilizer "non-fusion". Titan gauge (plate (3) on fig.4) was tight covered with soft tissue of big tenacity ("growth") with exact fulfillment micro-unevenness of top level of implanted titanium alloy. "Acceptation" of implant wej u zwierząt. Nie wykazywały też niepokojących zjawisk związanych z uszkodzeniem implantu lub jego migracją i innych niepokojących zdarzeń.

Badania sekcyjne (RYS.5) po 6 miesiącach od wszczepienia ujawniły ważność doboru rozmiaru implantu do rozmiarów (szerokości i wysokości) przestrzeni międzywyrostkowej. W przypadku, gdzie implant był zbyt duży i uciskał na więzadło nadkolczyste stwierdzono zanik więzadła oraz przebudowę kości (deza) w miejs cu naruszenia powierzchni stawowych. Analizy pośmiertne kontaktu polimer-tkanka, poliester-tkanka oraz stop tytanu-tkanka wykazały wysoką biotolerancję tych biomateriałów. Nie zanotowano jakichkolwiek reakcji obronnych organizmu i odczynów wokół implantów. Zaobserwowano luźne przyleganie tkanek do tworzywa typu PEEK (bez przestrzeni wypełnionych płynem) korzystne ze względu na przeznaczone biomechaniczne funkcje nośne bez zrostu - stabilizator "non-fusion". Przymiar tytanowy (płytka (3) na RYS.4) był szczelnie okryty tkanką miękką o dużej adhezyjności ("przyrośnięciem") z dokładnym wypełnieniem mikronierówności warstwy wierzchniej implantowego stopu tytanu. "Akceptacja" implantu w organizmie zwierzęcym przejawiała się także przebudowa i dostosowaniem tkanek miekkich i kości do geometrii implantu i pełnionej funkcji.

Omówienie i wnioski

Badania in vivo potwierdziły poprawność opracowanej procedury implantacji i funkcji implantu oraz wpłynęły na usprawnienie i modyfikację instrumentarium. Obserwacje w czasie potwierdziły przydatność i bezpieczeństwo stosowania polimerowo-poliestrowego implantu InterS w tkankach mięśniowych i kości.

Wykazano dużą przydatność badań na zwierzętach w ocenie biotolerancji, wszczepialności oraz zachowania elementów implantu/stabilizatora po wszczepieniu. Przeprowadzone badania okazały się słuszne, co potwierdzają uzyskiwane w późniejszym czasie wyniki obserwacji klinicznych. Ich ilościowa ocena ciągle trwa i wykonywana jest wieloośrodkowo w ramach tak zwanych "clinical study").



[1] S.D. Christie, J.K. Song, R.G. Fessler, Spine 30 (16S), S73-S78, 2005.

[2] J.F. Zucherman, K.Y. Hsu, et al., Spine 30 (12), 1351-1358, 2005.

[3] J.C. Richards, S. Majumdar, et al., 30 (7), 744-749, 2005.

[4] M. Kroeber, F. Unglaub, et al., Spine 30 (2), 181-187, 2005.
 [5] T. Namikawa, H. Hidetomi, et al., Spine 30 (15), 1717-1722, 2005.



RYS.5. Analiza sekcyjna polimerowo-poliestrowego implantu po 6 miesiącach od wszczepienia. FIG.5. Polymer-polyester section evaluation of implant after 6 months after implantation.

inside of the animal body reveals also as reconstruction and adaptation of soft tissues and bones to implant geometry and performed function.

Discussion and conclusions

In vivo tests confirmed propriety of prepared implantation procedure and implant function and had influence on improvement and modification of instruments. Observations in time confirmed usefulness and safety of using polymericpolyester implant InterS in muscle tissue and bones.

Big usefulness of tests on animals in evaluation of biotolerancy, implantation and reaction of implant/stabilizer elements after implantation was confirmed. Performed evaluations appeared right, what was confirmed by clinical observations achieved in later time. Their volume evaluation is still ongoing and is performed in so called multicenter "clinical study".

References

[6] J. Sterna, J. Chłopek, et al., Małoinwazyjne techniki w chirurgii kręgosłupa, XII Konferencja Sekcji Neuroort. Pol. Tow.Neuroch., Łódź 2006.

[7] J.T. Braun, J.W. Ogilvie, et al., Spine 31 (13), 1410-1414, 2006.

[8] L. F. Ciupik, R.Gunzburg, A.Kierzkowska, M.Szpalski; złożone do druku w lipcu 2006 w Inżynierii Biomateriałów.

32 OCENA BIOMECHANICZNA FUNKCJI KOREKCYJNO-STABILIZUJĄCEJ POLIMEROWO-POLIESTROWEGO STABILIZATORA MIĘDZYWYROSTKOWEGO

Lechosław F. Ciupik*, Izabela Cęcek*, Robert Gunzburg**, Agnieszka Kierzkowska***, Marek Szpalski****

*Centrum Badawczo-Rozwojowe LFC, Zielona Góra **Dep. of Orthopaedics, Centenary Clinic, Antwerp, Belgium ***Centrum Badawczo-Rozwojowe LFC i Uniwersytet Zielonogórski, Zielona Góra ****Dep.of Orthopaedics, IRIS South Teaching Hospitals, Brussels; Professor New York University

Słowa kluczowe: implant międzywyrostkowy, lędźwiowy, biomechaniczne, polimer/poliester, przestrzeń międzykręgowa [Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),32-34]

Wprowadzenie

Częstą przyczyną niepełnosprawności ludzi poniżej 45 roku życia jest ból lędźwiowy i z jego powodu cierpi około 75% ludności [1,2]. Znacząca liczba niesprawności tej części kręgosłupa związana jest z naruszeniem równowagi biomechanicznej segmentu ruchowego, a zwłaszcza zmian w geometrii przestrzeni międzykręgowej ("osiadanie przestrzeni"). Obok leczenia farmakologicznego, stosowane są w ostatnich latach metody chirurgiczne. Dotychczasowa praktyka lecznicza wykazała, że niektóre dysfunkcje kręgosłupa ustępują po dystrakcji tylnej kolumny i wsparciu międzywyrostkowo implantem. Funkcje oraz wymagania stawiane stabilizacji międzywyrostkowej w odniesieniu do konstrukcji i materiału oraz dotychczasowe rozwiązania są przedmiotem wielu rozważań, między innymi przedstawionych w [3,4]. Jednak ciągle trwają poszukiwania nowych rozwiązań, rozszerzających możliwości małoinwazyjnego leczenia poprzez biomechaniczne oddziaływanie na kręgosłup.

Celem pracy jest badanie wpływu geometrii powierzchni nośnej polimerowego implantu oraz naciągu poliestrowego cięgna, spinającego poprzez wyrostki kolczyste segment ruchomy z implantem, na geometrię strefy stabilizacji. Analizowano również zmiany towarzyszące funkcjonowaniu wsparciowo-spinającego implantu w połączeniu z kością podczas fizjologicznych obciążeń, również cyklicznych. Praca stanowi element zakresu *"based evidence medicine"*, realizowanego wieloośrodkowo.

Materiał i metody

Przedmiotem testów był stabilizator międzywyrostkowy InterS/DERO (*patent ap.*). Do badań wykorzystano preparaty zwierzęce (świńskie) symulujące odpowiednio najbardziej zbliżone warunki do panujących w odcinku lędźwiowym kręgosłupa ludzkiego na poziomie L_1 - L_5 .

Zaproponowano specjalną metodykę pomiarową z laserowym stanowiskiem pomiarowym (RYS.1), umożliwiającą ilościową ocenę zmian geometrii przestrzeni międzykręgo-

BIOMECHANICAL EVALUATION OF CORRECTIVE-STABILIZING FUNCTION OF POLYMERIC-POLYESTER INTERSPINOUS STABILIZER

Lechosław F. Ciupik*, Izabela Cęcek*, Robert Gunzburg**, Agnieszka Kierzkowska***, Marek Szpalski***

* Research & Development Center LFC, Zielona Góra **Dep. of Orthopaedics, Centenary Clinic, Antwerp, Belgium *** Research & Development Center LFC and University of Zielona Góra, Zielona Góra ****Dep.of Orthopaedics, IRIS South Teaching Hospitals, Brussels; Professor New York University

Key words: lumbar interspinous implant, polymer/ polyester, biomechanics, intervertebral space [Engineering of Biomaterials 58-60,(2006),32-34]

Introduction

Frequent cause of disability under the age of 45 is lumbar spine pain and because of it 75 percent of population suffers [1,2]. A significant number of the dysfunctions of this part of spine is related to unbalancing of the biomechanics of the motion segment, especially to the changes in the geometry of intervertebral space ("space subsidence"). Next to physician treatment, surgical methods are used lately. Previous medical practice has shown that some of spine dysfunctions recede after use of posterior column distraction and interspinous implant support. Functions and expectations for interspinous stabilization in relation to construction and material and previous solutions are the subject of many considerations, shown inter alia on [3,4]. However the researches on new solutions are still evaluating, which will extend the possibilities of non-invasive treatment through biomechanic influence on spine.

Purpose of the research is to evaluate the influence of geometry of the polymeric implant bearing surface and the polyester tension of the band, which fastens, through spinous processes, the motion segment with the implant, on geometry of the stabilization space. Also changes related to functioning of corrective-fastening implant in connection with bone during physiological loads, also cyclic. The research



RYS.1. Pomiar przemieszczenia względnego kręgów z wykorzystaniem promienia laserowego. FIG.1. Laser beam measuring of vertebras relative displacement of vertebras.



FIG.2. Schemat pomiarowy do oceny wzajemnych przemieszczeń sąsiadujących kręgów (1) i (2) po instalacji implantu InterS (3) i przy różnych napięciach (naciągu) cięgna (4): 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 Nm. FIG.2. Measuring scheme for evaluation of mutual displacement of adjacent vertebras (1) and (2) after installation of InterS implant (3) using different band tension (4): 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 Nm.

wej po wprowadzeniu biomechanicznego, kontrolowanego systemu napięciowego oraz określono charakterystyki obciążeniowe dla kręgosłupa bez implantu, z implantem o charakterze wsparciowym oraz wsparciowo-spinającym. Wpływ napięcia taśmy na geometrię strefy stabilizacji oceniano na podstawie zmian położenia markerów usytuowanych w sąsiednich wyrostkach kolczystych stabilizowanego segmentu. Pomiarów dokonywano w czterech punktach l(p)₁, l(p)₂, l(a)₃ i l(a)₄: na początku i na końcu markerów o długości 100 mm – RYS.2. Zmiennym parametrem było napięcie taśmy, które ustalono na 0.6, 0.8, 1.0 i 1.2 Nm.

Badania biomechaniczne polegały na poddaniu preparatów obciążeniom cyklicznym w kierunku skłonu-przeprostu α =9° o częstotliwości 0,6Hz z siłą równą 200N i były prowadzone na maszynie MTS we współpracy z Zakładem Inżynierii Biomedycznej i Mechaniki Eksperymentalnej PW.



RYS.3. Wstępna analiza wpływu kąta powierzchni nośnej implantu na rozwarcie przestrzeni międzytrzonowej.

FIG.3. Preliminary analysis of the implant angle bearing surface influence on opening of intervertebral body space.

is an element of operating range called "evidence based medicine", realized in numerous centers.

Materials and methods

The main purpose of tests was interspinous stabilizer InterS/DERO (patent ap.). The research was done with use of animal specimen simulating properly most close conditions to these prevailing in human lumbar spine at level L_1 - L_5 .

Special measuring method with use of laser beam was proposed (FIG.1), providing volume evaluation of geometry changes of interspinous space after insertion of biomechanical, controlled tension system, also loading characteristics of spine without implant, with implant of supportive and supportive-fastening characteristic, were defined. The influence of band tension on geometry of stabilization space was evaluated on base of changes of position of markers situated in adjacent spinous processes of stabilized segment. Measurement were provided in four places $I(p)_1, I(p)_2, I(p)_3, I(p)_4$: at the beginning and the end of markers of length of 100 mm – FIG.2. Variable parameter was the tension of band predetermined on 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 Nm.



RYS.4. Wpływ naciągu taśmy (cięgna) na zmianę wzajemnego położenia sąsiednich kręgów po zainstalowaniu zbieżnego InterS, h=9/11 mm; naciąg 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 Nm – patrz schemat: rys.2 FIG.4. Influence of band tension on the mutual changes of adjacent vertebras after installation of converged InterS (h=9/11 mm); band tension: 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 Nm – look at the scheme: FIG.2

Wyniki

Analiza geometryczna nad wpływem kąta nachylenia powierzchni nośnej implantu na kształt przestrzeni między-

Biomechanical researches rested on processing of specimens on cycling loading in direction of flexion-extension α =9° with frequency of 0,6Hz and force of 200N and were provided on MTS machine in cooperation with Biomedical

BIOMATERIAŁÓW

trzonowej bez uwzględnienia oddziaływania tkanek miękkich i powierzchni stawowych przedstawiono na RYS.3. Analiza doświadczalna bazująca na rzeczywistej geometrii kręgów i rozmiarach implantu wskazuje na możliwość sterowania wielkością wzajemnego przemieszczania kręgów, a zwłaszcza zmianą wysokości przestrzeni międzytrzonowej.

Podczas naciągu cięgna następowało zbliżanie markerów pomiarowych w tylnej części kręgosłupa z jednoczesnym oddalaniem w części przedniej. Nierównomierny spadek/ wzrost odległości l(p)₁ i l(p)₂ oraz l(a)₃ i l(a)₄ wskazywał na występowanie przemieszczenia kątowego kręgów objętych stabilizacją. Przykładowy wykres dotyczący jednego segmentu stabilizowanego implantem skośnym o wysokości 9/11mm i o kącie 6° przedstawiono na RYS.4. Dla implantów prostych otrzymano mniejsze przyrosty l(p)₂ i l(a)₄ wskazujące na mniejszą możliwość kątowego przemieszczania kręgów. W przypadku implantów o wymiarach większych od przestrzeni międzywyrostkowej nastąpiło "przesztywnienie" układu, zmiany były nieznaczne i pomimo napinania cięgna nie udawało się przywrócić pierwotnej odległości pomiędzy kręgami.

Przy zastosowaniu analizy MES poszukiwano optymalnych rozwiązań konstrukcyjnych i zależności wymiarowych pomiędzy poszczególnymi elementami implantu z tworzywa sztucznego, odpowiadającego za funkcje nośne. Analizy prowadzono przy obciążeniach o wielkościach analogicznych do tych, panujących w organizmie ludzkim. Przykład rozkładu naprężeń i przemieszczeń w implancie przedstawiono na RYS.5.

Omówienie i wnioski

Wielkość i geometria implantu w połączeniu z geometrią szczeliny międzywyrostkowej wpływają na wzajemne sytuowanie kręgów (geometrię międzykręgową). Dobierając odpowiedni implant do szczeliny oraz rodzaju schorzenia można planować końcowe wzajemne sytuowanie kręgów i wpływać na proces leczenia.

Analiza biomechaniczna wykazała znaczący wpływ cięgna na stabilizację międzywyrostkową. Poprzez zastosowanie w celu leczniczym dynamicznego systemu korekcyjno-stabilizującego, pełniącego jednocześnie funkcję wsparciową i spinającą, umożliwia się stymulowaną biomechanicznie odbudowę przestrzeni międzykręgowej, co jednocześnie sprzyja leczeniu wielu dodatkowych niesprawności kręgosłupa przy mniejszym obciążeniu pacjenta.

Wyniki badań wpływu naciągu cięgna na zmianę geometrii przestrzeni międzytrzonowej były weryfikowane w późniejszym czasie w badaniach na zwierzętach - kozach [5] oraz znalazły potwierdzenie w praktyce leczenia kręgosłupa lędźwiowego.

Piśmiennictwo

References

[1] L.Ciupik, A. Maciejczak, J. Pieniążek, A. Radek, D. Zarzycki; Spondyloimplantologia zaawansowanego leczenia kręgosłupa, 2005, 67-74.

[2] T.Santhos; Facet joints and low back pain, published online 09/11/2002, www.spineuniverse.com.

[3]. K.E. Swanson, D.P. Lindsey, K.Y. Hsu, J.F. Zucherman, S.A. Yerby, Spine (2003), 28 (1), 26-32.

[4] L.Ciupik, D. Zarzycki, A. Graczyk, M. Gajewski, A. Maciejczak, A. Radek; Inżynieria Biomateriałów, 38-42 (2004), 86.

[5] J. Sterna, J. Chłopek, et al., Małoinwazyjne techniki w chirurgii kręgosłupa, XII Konferencja Sekcji Neuroort. Pol. Tow. Neuroch., Łódź 2006.



implant.

Engineering and Experimental Mechanic Institute Polytechnic of Wrocław.

Results

Geometric analyze of influence of angle inclination of load-carrying implant surface on shape of interbody space without consideration of affection of soft tissue and joints surface is shown on FIG.3. Experience analyze based on realistic geometry of vertebras and sizes of implant indicates on possibility of controlling of dimension of mutual vertebras relocation, especially on changing height of interbody space.

During tensioning of band approaching of markers in the posterior part of spine with simultaneous distancing of markers in anterior part of spine took place. Uneven decrease/increase of distance $I(p)_1$ and $I(p)_2$ also $I(a)_3$ and $I(a)_4$ indicated on occurrence replacement of adjacent vertebras within stabilization. The example of diagram related to one stabilized segment after installation of converged implant of height 9/11mm and angle 6° is shown on FIG.4. For straight implants smaller growths were received $I(p)_2$ and $I(a)_4$ which may indicate on smaller possibility of angled relocation of vertebras. In the case of implants bigger then interspinous space "stiffness" of the system was received, changes were insignificant and despite of tensioning the band the preliminary distance between vertebras was not possible to achieve.

By using the MES analyze optimized constructional solutions and size dependences between every part of implant made of artificial material, responsible for bearing functions, were searched. Analysis were provided under loads analogically to those prevailing in mans body. Example of tension resolution and relocations inside of implant shows FIG.5.

Discussion and conclusions

Size and geometry of implant in connection with geometry of interspinous space have influence on mutual vertebras location (intervertebral geometry). Matching of proper implant to the size of interspinous space and kind of illness, the final mutual vertebras location may be planned and treatment process may be influenced.

Biomechanical analyze has shown significant influence of band on interspinous stabilization. Through using, in treatment purposes, dynamic correction-stabilizing system, which simultaneous performs a function of supportive and fastening, allows biomechanical restoration of intervertebral space, which promotes simultaneous treatment of many additional spine dysfunctions with lower patient burden.

Research results of the influence of band tension on changes of interspinous space geometry were verified in later period of time during evaluation on animals – goats [5] and also they found confirmation in practice of lumbar spine treatment.

34

• •

PRZEMIANY HYDROKSYAPATYTU POCHODZENIA NATURALNEGO W PODWYŻSZONYCH TEMPERATURACH I WYBRANYCH ATMOSFERACH

K.Haberko, M.M.Bucko, W.Mozgawa, M.Haberko, A.Pyda, J.Carpentier

Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki

Streszczenie

Ostatnie nasze badania wykazały na istotne różnice pomiędzy syntetycznym hydroksyapatytem (HAp) a materiałem wyekstrahowanym z kości zwierzęcych. Ten ostatni jest niestechiometryczny: stosunek Ca do P jest większy, od 1,67, co jest wartością charakterystyczną dla stechiometrycznego HAp. Ponadto hydroksyapatyt pochodzenia naturalnego zawiera grupy CO_3^{-2} oraz niewielki udział Mg. Oba te składniki są wbudowane w strukturę HAp. Są to cechy występujące w materiale z kości świńskich, wołowych a także ludzkich.

Opracowano metodę ekstrakcji naturalnego hydroksyapatytu z korowej części zwierzęcych kości długich [1]. Aby uzyskać z tego materiału kształtki użyteczne dla badań biologicznych i zastosowań medycznych należy go poddać obróbce cieplnej w toku, której zachodzi proces spiekania nadający wyrobom pożądane cechy mechaniczne. Stwierdzono jednakże, iż w podwyższonych temperaturach, począwszy od około 700°C, podlega rozkładowi. Wydzielanie się z materiału CO₂ wskazuje na zmniejszanie się w nim udziału grup CO₃-². Potwierdzenie tego wniosku uzyskano poprzez pomiary metodą spektroskopii w podczerwieni. Pojawia się również wolny tlenek wapnia (CaO). Jakkolwiek pozostała część układu zachowuje nadal strukturę hydroksyapatytu, to obecność wolnego CaO dyskwalifikuje materiał do zastosowań biologicznych i medycznych.

Przedmiotem niniejszej pracy były badania nad zachowaniem się hydroksyapatytu w temperaturach do 1000°C w atmosferze tlenu i CO₂ (suchego i nasyconego parą wodną). Otrzymane próbki poddano analizie chemicznej, badaniom metodą dyfrakcji rentgenowskiej i metodą spektroskopii w podczerwieni. Stwierdzono, że atmosfera CO₂ (zarówno suchego jak i nasyconego parą H₂O) hamuje rozkład hydroksyapatytu: w próbkach preparowanych w ten sposób nie pojawia się wolny tlenek wapniowy. Równocześnie w temperaturach \geq 900°C udział grup CO₃-² w strukturze materiału nawet wzrasta. W przeciwieństwie do tego w atmosferze tlenu obserwuje się wydzielanie wolnego tlenku wapnia i ubytek udziału grup CO₃-², podobnie jak poprzednio w atmosferze powietrza [1]. W wyniku opisanej pracy stało się możliwe przygotowanie próbek użytecznych do badań nad zachowaniem się hydroksyapatytu pochodzenia naturalnego w środowisku biologicznym.

Piśmiennictwo

[1]. Natural hydroxyaopatite- its behaviour during heat treatment, K.Haberko, M.M.Bućko, J. Braezińska-Miecznik, M.Haberko, W.Mozgawa, T.Panz, A.Pyda, J. Zarębski, J.Eur. Ceram Soc. 26(2006)573-542

TRANSFORMATIONS OF BONE ORIGIN HYDROXYAPATITE AT ELEVATED TEMPERATURES AND IN SELECTED ATMOSPHERES

K.Haberko, M.M.Bucko, W.Mozgawa, M.Haberko, A.Pyda, J.Carpentier AGH-University of Science and Technology, Cracow, Poland

Abstract

Our previous investigations show essential difference between synthetic hydroxyapatite (HAp) and the material which occurs in animal bones. The latter one is non-stoichiometric; its Ca/P ratio is higher than 1.67, contains carbonate groups (CO_3^{-2}) and usually some Mg built into the HAp structure. This is a mutual feature of the material extracted from bovine, pig and human bones.

A method of extracting HAp from animal cortical bones was elaborated [1]. Application of such material involves subjecting it to the treatment at elevated temperatures in order to prepare useful shapes for biological and medical purposes. However it was found that the material decomposes starting from about 700°C; emission of CO₂ indicates the decrease in the CO₃⁻² groups content. It was confirmed by IR measurements. Some free CaO also appears. Although the remaining material retains the HAp structure, the process of its decomposition is detrimental from the point of view of biological applications of the material or at least limits them.

In the present work the behaviour of HAp extracted from pig bones at elevated temperatures up to 1000°C in O₂ and CO₂ (wet and dry) atmospheres was studied. Chemical analysis, X-ray diffraction and IR spectroscopy were useful to study changes in the material structure during processing. It was found that CO₂ (dry and wet) atmosphere arrests HAp decomposition. At sufficiently high temperatures (\geq 900°C) concentration of CO₃⁻² groups even increases. No free CaO appears. In contrast to that in oxygen atmosphere decomposition of HAp occurs, as it was previously observed in air atmosphere [1]. Results of this work allow manufacturing samples useful for biological investigations.

Reference

[1]. Natural hydroxyaopatite- its behaviour during heat treatment, K.Haberko, M.M.Bućko, J. Braezińska-Miecznik, M.Haberko, W.Mozgawa, T.Panz, A.Pyda, J. Zarębski, J.Eur. Ceram Soc. 26(2006)573-542

> M Z Y N F E R Y A MATERIAŁÓW

36

SZTUCZNE MACIERZE POZA-KOMÓRKOWE NA PODSTAWIE WŁÓKIEŃ KOLAGENA I **PROTEOGLIKANÓW (PGS)**

T. DOUGLAS*, U. HEMPEL**, C.MIETRACH**, S. HEINEMANN*, C. KNIEB*, S. BIERBAUM*, D. SCHARNWEBER*, H. WORCH*

*MAX BERGMANN CENTER OF BIOMATERIALS, INSTITUTE OF MATE-RIAL SCIENCE, TECHNISCHE UNIVERSITÄT DRESDEN, BUDAPESTER STRASSE 27, 01069 DRESDEN, GERMANY **CENTRE OF THEORETICAL MEDICINE, INSTITUTE OF PHYSIOLO-

GICAL CHEMISTRY, TECHNISCHE UNIVERSITÄT DRESDEN, FIEDLER-STRASSE 42. 01307 DRESDEN. GERMANY EMAIL: TIMOTHY.DOUGLAS@MAILBOX.TU-DRESDEN.DE

[Inżynieria Biomateriałów,58-60,(2006),36-38]

Wstęp

Główny organiczny komponent kości, kolagen, został zastosowany jako sztuczna macierz pozakomórkowa w kształcie warstwy na implantach tytanowych oraz materiał w podłożach w inżynerii tkankowej. Proteoglikany (PGs) decorin i biglycan, składają się z jądra białkowego, które jest związane z łancuchami z glikozaminoglikanów (GAGs) z siarczanu chondroitinowego (CS) albo dermatanowego (DS)

ARTIFICIAL EXTRACELLULAR MATRICES BASED ON **COLLAGEN FIBRILS AND PROTEOGLYCANS (PGS)**

T. DOUGLAS*, U. HEMPEL**, C.MIETRACH**, S. HEINEMANN*, C. KNIEB*, S. BIERBAUM*, D. SCHARNWEBER*, H. WORCH*

*MAX BERGMANN CENTER OF BIOMATERIALS, INSTITUTE OF MATE-RIAL SCIENCE, TECHNISCHE UNIVERSITÄT DRESDEN, BUDAPESTER STRASSE 27, 01069 DRESDEN, GERMANY

**CENTRE OF THEORETICAL MEDICINE, INSTITUTE OF PHYSIOLO-GICAL CHEMISTRY, TECHNISCHE UNIVERSITÄT DRESDEN, FIEDLER-STRASSE 42, 01307 DRESDEN, GERMANY EMAIL: TIMOTHY.DOUGLAS@MAILBOX.TU-DRESDEN.DE

[Engineering of Biomaterials, 58-60, (2006), 36-38]

Introduction

Collagen, the main organic component of bone, has been used as an artificial extracellular matrix in the form of coatings on titanium implants and a scaffold material in tissue engineering. The proteoglycans (PGs) decorin and biglycan, consisting of a protein core connected to glycosaminoglycan (GAG) chains consisting of chondroitin (CS) or dermatan



RYS.1. Tworzenie sztucznych macierzy pozakomórkowych na powierzchniach tytanowych. FIG.1. Formation of artificial extracellular matrices on titanium surfaces.



RYS.2. Masa związanego decorinu/biglycanu na mg włókień kolagenu typu I, II oraz III, ustalona za pomocą dimethylmethylene blue (po lewej stronie) i hexosamine (po prawej stronie) metod. FIG.2. Mass decorin/biglycan bound per mg collagen type I, II and III fibrils as determined by dimethylmethylene blue (left) and hexosamine (right) assays.

i mogą się wiązać z włóknami kolagenu w czasie tworzenia włókień w stosownym buferze fosforanowym. CS oraz DS wpłynełi na zachowanie się kilka typów komórek [1] [2] [3]. PGs mogą związać czynniki wzrostu takie jak TGF-β1, który stymuluje produkcję macierzy pozakomórkowej, i wpływać na ich działanie [4] [5] [6]. Celami tego badania były a) charakteryzacja włókień kolagenu typu I, II oraz III odnośnie ilości związanego decorinu i biglycanu; b) badanie reakcji pierwotnych osteoblastów, hodowanych na powierzchniach pokrytych włóknami zawierającymi decorin albo biglycan; c) zaobserwowanie wpływu decorinu oraz biglycanu na

Materiały i metodyka

8.0×10 °

6.D×10 °

Włókna kolagena typu I, II oraz III, zawierające decorin albo biglycan, utworzyły się w temperaturze 37°C w 30

> proliferation (human osteoblasts on coated rough titanium, day 2)

(DS) sulphate, bind to collagen fibrils during fibril formation in an appropriate phosphate buffer solution. CS and DS have influenced the behaviour of several cell types [1] [2] [3]. PGs can also bind and influence the effect of growth factors (GFs) such as TGF-B1, which stimulates extracellular matrix production [4] [5] [6]. The aims of this work were a) to characterise fibrils of the collagen types I, II and III with regard to amount of decorin and biglycan bound; b) to investigate the reaction of primary osteoblasts cultured on titanium surfaces coated with fibrils containing decorin and biglycan; c) to observe the influence of decorin and biglycan on TGF-β1's effect on osteoblasts.

Materials and methods

2500

Fibrils of collagen types I, II and III containing decorin and biglycan formed at 37°C in a 30 mM phosphate buffer

collagen synthesis (rat osteoblasts on coated rough titanium, day 4)



kolagenu szczurowymi osteoblastami (po prawej stronie). FIG.3. Effect of decorin and biglycan on proliferation of human osteoblasts (left) and collagen synthesis of



RYS.4. Wpływ decorinu oraz biglycanu na działanie TGF-β1-a na proliferację ludskich osteoblastów (po lewej stronie) i syntezę kolagena (po prawej stronie) ludzkimi osteoblastami FIG.4. Influence of decorin and biglycan on TGF-β1's effect on proliferation (left) and collagen synthesis (right) of human osteoblasts.

Klucz do RYSUNKÓW 3 & 4 / Key to FIGURES 3 & 4					
Ti	bez warstwy / Bare titanium/no coating				
Ti/coll II	Włókna kolagenu typu II / Collagen II fibrils				
Ti/coll II/BG	Włókna kolagenu typu II & biglycan / Collagen II fibrils & biglycan				
Ti/coll II/Dec	Włókna kolagenu typu II & decorin / Collagen II fibrils & decorin				
Ti/coll II/BG/10 ng TGF	Włókna kolagenu typu II & biglycan & TGF / Collagen II fibrils & biglycan & TGF				
Ti/coll II/ Dec/10 ng TGF	Włókna kolagenu typu II & decorin & TGF / Collagen II fibrils & decorin & TGF				

mM buferze fosforanowym, pH 7,4 w różnych stosunkach proteoglikanów do kolagenu. Zawartość proteoglikanów we włóknach została ustaloną za pomocą dwóch różnych metod. [7] [8]. Morfologia włokień została zbadana za pomocą mikroskopu sił atomowych (AFM). Powierzchnie tytanowe zostały pokryte włóknami i w kilku przypadkach też TGF-β1-em przez adsorpcję (RYS. 1). Potem na zmodifykowanych powierzchniach zostały wyhodowane a) pierwotne szczurowe osteoblasty (RO); b) ludzke (HO) osteoblasty. Zbadano parametry: adhezja, proliferacja i synteza kolagenu.

Wnioski i dyskusja

Decorin spowodował obniżkę grubości włókień, w odróżnieniu od biglycanu. Włókna kolagena typu II wiązały wyższą masę proteoglikanów niż włókna kolagena typów I oraz III: znacznie wiecej biglycanu niż decorinu zostało związano we wszystkich trzech typach (RYS. 2). Biglycan wspomogł adhezję. Decorin i szczególnie biglycan stymylowały proliferację HO-ów; biglycan hamował syntezę kolagenu RO-ami, w odróżnieniu od biglycanu (RYS. 3). TGF-β1 zwiększyło syntezę kolagenu przez HO i obniżyło ich proliferację; jednak przy obecności decorinu na miejscu biglycanu obniżenie proliferacji było mniesze i zwiększenie syntezy kolagena zwiększyło się (RYS. 4).

Podsumowanie

Różne typy kolagenu wykazują różne zdolności do wiązania proteoglikanów, przy czym się wiąże więcej biglycanu niż decorinu. Biglycan oraz decorin, związane do włókień kolagenu typu II, wspomogły proliferację pierwotnych ludzkich komórek osteoblastycznych.. Poza tym wygląda, że obecność biglycanu oraz decorinu wpływa na działanie TGF-β1-a. Te wnioski mogą mieć znaczenie przy projektowaniu sztucznych macierz pozakomórkowych, szczególnie jeżeli zawierają czynniki wzrostu.

Podziękowania

Autorzy dziękują BMBF-u (Niemieckiemu Ministerstwu Federalnemu do spraw Edukacji i Badań) za wsparcie finansowe.

Piśmiennictwo

[1] Bierbaum S et al. (2006) J Biomed Mater Res A 77, 551-562 [2] van Susante J et al. (2001) Biomaterials 22, 2359-2369, [3] Zhong S et al. (2005) Biomacromolecules 6, 2998-3004 [4] Hausser H et al. (1994). FEBS Lett 353 (3), 243-245

at pH 7.4 at different PG:collagen ratios. PG content of fibrils was determined using two different methods [7] [8]. Fibril morphology was studied by atomic force microscopy (AFM). Titanium surfaces were coated with fibrils and in some cases also with TGF-B1 by adsorption (FIG.1). Primary rat (RO) or human (HO) osteoblasts were then cultured on the modified surfaces. The parameters investigated were: adhesion, proliferation and collagen synthesis.

Results and discussion

Decorin caused a reduction in fibril diameter, but biglycan did not. Collagen type II fibrils bound more PGs than fibrils of types I and III: considerably more biglycan than decorin was bound by all collagen types (FIG.2). Biglycan promoted the formation of focal adhesions. Decorin and especially biglycan promoted HO proliferation; biglycan but not decorin inhibited RO collagen synthesis (FIG.3). TGF-B1 reduced the proliferation and enhanced the collagen synthesis of HOs; however, the decrease in proliferation was lower and the increase in collagen synthesis was higher when decorin was present instead of biglycan (FIG.4).

Summary

Different collagen types show differing abilities to bind PGs, with more biglycan bound than decorin. Biglycan and decorin bound to collagen II fibrils improved primary human osteoblast proliferation. Furthermore, the effect of TGF-B1 seems to be influenced by the presence of biglycan and decorin. These results could be important when designing collagen-based extracellular matrices, especially those containing GFs.

Acknowledgements

The authors are grateful to the Bundesministerium für Bildung und Forschung (German Federal Ministry of Education and Research) for their financial support.

References

- [5] Takeuchi Y et al. (1994) J Biol Chem. 269(51), 32634-32638
- [6] Moreno M et al. (2005) Embo J 24 (7), 1397-1405
- [7] Yannas IV. et al. (1980) J Biomed Mater Res 14, 107-32
- [8] Chou CH. et al. (2006) J Biomed Mater Res B Appl Biomater 77, 338-348

SPOSOBY IMMOBILIZACJI CEFTRIAKSONU NA PROTEZACH NACZYNIOWYCH

Małgorzata Miazga-Karska[°], Grażyna Ginalska[°], Dorota Kowalczuk[™]

KATEDRA I ZAKŁAD BIOCHEMII, AKADEMIA MEDYCZNA, 20-930 LUBLIN, UL. CHODŹKI 1

KATEDRA I ZAKŁAD CHEMII LEKÓW, AKADEMIA MEDYCZNA, 20-090 Lublin ul. Jaczewskiego 4,

[Inynieria Biomateriałów,58-60,(2006),39-41]

Wprowadzenie

W angioplastyce wykorzystywane są protezy naczyniowe wykonane z politetrafluoroetylenu (PTFE), polimetylometakrylanu (PMMA) oraz polietylenotereftalanu (PET) uszczelnianego żelatyną lub kolagenem. Wszczepione pacjentowi implanty ulegają jednak zakażeniom bakteryjnym. Celem obniżenia ryzyka tego typu komplikacji pooperacyjnych proponuje się modyfikacje biomateriałów naczyniowych antybiotykami lub związkami antyseptycznymi. Prostym sposobem jest zwykłe nasączanie protezy naczyniowej roztworem leku, prowadzone przed zabiegiem. W tym przypadku substancja przeciwbakteryjna wiąże się biernie lub jonowo z implantem. Jednak ze względu na brak stabilności wiązania pomiędzy protezą a lekiem, metoda ochrony przeciwbakteryjnej protez naczyniowych jest wciąż mało skuteczna.

Celem pracy badawczej było opracowanie formy chemicznego wiązania ceftriaksonu do żelatynowanych protez naczyniowych i w efekcie otrzymania efektywnej i przedłużonej w czasie antybakteryjnej ochrony implantów.

Metodyka badań

Protezy naczyniowe Uni-Graft® (Braun) były modyfikowane chemicznie dwoma metodami. Pierwsza (Met. I) polegała na aktywacji 12.5% aldehydem glutarowym (GA) wg zmodyfikowanej metody Hermanson i wsp. (1) i wytworzeniu ramienia przestrzennego. Natomiast druga (Met. II) zachodziła z udziałem etyleno(diaminopropylo)-karbodiimidu (EDAC) bądź drugiego aktywatora hydroksysulfosukcynyloimidu (HSSI). W obrębie tych dwóch głównych metod zastosowano dodatkowe modyfikacje: Met. I a- immobilizacja antybiotyku za pomocą GA z oddzielną immobilizacją leku, Met. I b- immobilizacja antybiotyku za pomocą GA z oddzielną immobilizacją leku w obecności kwasu octowego, Met. Ic- jednoczesna aktywacja protezy GA i immobilizacja leku, Met. II a - aktywacja protezy przy pomocy EDAC, z oddzielną immobilizacją leku, Met. II b - niezależna aktywacja leku i protezy za pomocą EDAC, Met. II c - wspólna aktywacja protezy i leku za pomocą EDAC, Met. II d - immobilizacja antybiotyku na protezie aktywowanej przy pomocy dwóch aktywatorów (EDAC i HSSI), Met. II e - niezależna aktywacja leku i protezy roztworem dwóch aktywatorów (EDAC, HSSI), Met. II f - wspólna aktywacja antybiotyku i protezy roztworem dwóch aktywatorów (EDAC, HSSI). Zaktywowane wymienionymi sposobami protezy łaczono z ceftriaksonem - cefalosporyną III generacji. Ilość antybiotyku związanego z protezami określono techniką HPLC wg Farmakopei Brytyjskiej (1998). Aktywność biologiczną immobilizowanej formy antybiotyku testowano wobec S. aureus ATCC 25923, bakterii odpowiedzialnej za infekcje pooperacyjne. Ocenę tworzenia biofilmu dokonano metodą redukcji TTC (3).

METHODS OF CEFTRIAXON IMMOBILIZATION ON VASCULAR PROSTHESES

Małgorzata Miazga-Karska*, Grażyna Ginalska*, Dorota Kowalczuk**

*CHAIR AND DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY, MEDICAL UNIVERSITY OF LUBLIN, 1 CHODŹKI STR, 20-930 LUBLIN, POLAND ** CHAIR AND DEPARTMENT OF MEDICINAL CHEMISTRY, MEDICAL UNIVERSITY OF LUBLIN, 4 JACZEWSKIEGO STR, 20-090 LUBLIN, POLAND

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),39-41]

Introduction

In angioplasty, standard vascular prostheses made of polytetrafluoroethylene (PTFE), polymetylomethacrylate (PMMA) and polyethylene terephthalate (PET) sealed with gelatin or collagen are applied. However, after the implantation, these grafts may undergo bacterial infections. To lower the risk of these postoperative complications, the modification of vascular grafts with antibiotics or other aseptic compounds was proposed. The simple method include soaking the prosthesis before its implantation in antibiotic solution. In this case, however, the antibacterial agent binds to graft via physical absorption or ionic interactions. However, for the low stability of these bonds, such a method of vascular grafts protection lacks the appropriate effectiveness.

The aim of our research was optimization of chemical method of ceftriaxon immobilization on gelatin-sealed vascular prostheses and – as an effect – obtaining an effective and prolonged antibacterial protection of vascular grafts.

Methods

Vascular prostheses Uni-Graft® (Braun) were chemically modified via two methods. One of them (Method I) was based on 12.5% glutaraldehyde (GA) activation according to modified Hermanson method (1), resulting in space-arm formation. The second one (Method II) was performed with ethylene(diaminopropyl)carbodiimide (EDAC) and optionally the second activator: hydroxysulfosuccinylimide (HSSI). The versions of Method I were: Met. I a - GA as an activator with subsequent drug immobilization, Met. I b - GA as an activator with subsequent drug immobilization in presence of acetic acid, Met. I c - simultaneous prosthesis activation with GA and drug immobilization. For Method II, six versions were tested: Met. II a - prosthesis activation with EDAC, with subsequent drug immobilization, Met. II b - independent activation of both ceftriaxon and prosthesis with EDAC, Met. II c - simultaneous activation of both ceftriaxon and prosthesis with EDAC, Met. II d - drug immobilization on prosthesis activated with both agents (EDAC and HSSI), Met. II e - separate activation of ceftriaxon and prosthesis by solution of two activators (EDAC, HSSI), Met. II f - simultaneous activation of antibiotic and prosthesis with both agents (EDAC and HSSI). Then, the activated prostheses were coupled with ceftriaxon - third generation cephalosporin. Amount of antibiotic bound with the grafts was estimated by HPLC technique according to British Pharmacopoeia (1998). Antibacterial activity of immobilized antibiotic form was tested against S. aureus ATCC 25923, bacteria responsible for postoperational infections. Estimation of biofilm formation was performed according to the method based on TTC reduction method (3).

••	Metoda immobilizacji Immobilization method	la	۱b	١c	ll a	ll b	ll c	ll d	ll e
	Ceftriakson związany z protezą Ceftriaxon bound to prosthesis mg/gprotezy]	3.79	5.58	22.79	10.95	5.10	4.73	6.09	3.71
	Wydajność immobilizacji Immobilization vield [%]	13.00	25.92	62.06	30.65	11.53	14.70	15.50	6.11

TABELA 1. Ilości ceftriaksonu immobilizowanego na protezach naczyniowych. TABLE 1. Amounts of ceftriaxon immobilized to the vascular prosthesis.

Metoda immobilizacji Immobilization method	Strefy zahamowania wzro- stu po 24h Zones of bacterial growth inhibition after 24 h [mm]	CFU <i>S. au- reus</i> * after 1 day	CFU <i>S. aureus</i> * after 7days	CFU S. <i>aureus</i> [•] after 14 days		
۱b	38	0	0	0		
lla	31	0	0	3x10 ²		
control	0	3x10 ⁸	Wzrost zlewny Heavy growth	Wzrost zlewny Heavy growth		

* initial CFU S. aureus:3x106

TABELA 2. Hamujący wpływ unieruchomionego ceftriaksonu na wzrost S. aureus. TABLE 2. Inhibitory effect of immobilized ceftriaxon on S. aureus growth.

Wyniki badań

Uzyskane wyniki dotyczące immobilizacji ceftriaksonu prezentuje TABELA 1. Na podstawie osiągniętych rezultatów stwierdzono, że oba sposoby modyfikacji chemicznej biomateriałów mogą być wykorzystywane do immobilizacji ceftriaksonu. Najwyższą wydajność procesu (62%) uzyskano Met. I c, lecz z powodu częściowego rozłożenia ceftriaksonu metody tej nie można było uznać za wiarygodną. Relatywnie wysokie wartości wydajności (30%) osiągnięto w procesie prowadzonym wg. Met. II przy użyciu EDAC, a nieco tylko słabsze efekty uzyskano podczas immobilizacji leku z GA w 6% CH₃COOH (Met. I b), gdzie obecność grup C=O i jonów H⁺ podnosiła wartości uzyskanych rezultatów. Natomiast obecność HSSI, środka stabilizującego powstały nietrwały związek przejściowy, wbrew doniesieniom literaturowym (2) nie poprawiła wydajności procesu immobilizacji.

MATERIAŁÓW

W dalszym etapie badań testowano aktywność biologiczną unieruchomionych form ceftriaksonu. W eksperymentach in vitro sprawdzono działanie zmodyfikowanych antybiotykiem protez naczyniowych na wzrost bakterii Staphylococcus aureus ATTC 25923 poprzez pomiar stref zahamowania wzrostu na podłożu stałym i zmianę CFU w podłożu płynnym oraz tworzenie biofilmu. Na podstawie uzyskanych rezultatów, zebranych w TABELI 2 i RYS. 1 wykazano hamujący efekt immobilizowanej Met. Ib i Met. Ila formy ceftriaksonu na wzrost testowanego szczepu bakteryjnego, co wskazuje, że proponowane sposoby immobilizacji nie działają negatywnie na aktywność biologiczną leku. Użycie aldehydu glutarowego jako odstępnika (Met. I) powoduje zahamowanie wzrostu S. aureus przez 14 dni eksperymentu, w przeciwieństwie do protez modyfikowanych EDAC. Przypuszczać można, że utworzone ramię



5.17

11 64

RYS.1. Ocena tworzenia biofilmu jako przejaw antybakteryjnych właściwości zmodyfikowanych protez. A - lek unieruchomiony Met. I b, B - lek unieruchomiony Met. II a, C - kontrolna, nie aktywowana proteza.

FIG.1. Biofilm formation as a test of antibacterial properties of modified biomaterial. A - drug bound with Met. I b, B - drug bound with Met. II a, C - control prosthesis without activation.

Results

The results concerning ceftriaxon immobilization were summarized in TABLE 1. They suggest that both methods of chemical modification of prosthesis can be used for ceftriaxon immobilization. The highest immobilization yield (62%) was obtained in Met. I c, however, ceftriaxon in solutions remaining after the immobilization was partially degraded; therefore this method is not reliable. Relatively high immobilization yield (over 30%) was calculated for process performed according to Met. II with EDAC. Only slightly lower results (25%) were found for immobilization of drug with GA and acetic acid (Met. I b) because the presence of carbonyl groups and H⁺ ions increased the effectiveness of the method used for ceftriaxon immobilization. Presence of HSSI, the agent stabilizing the unstable compound did not - in contrast with data in the known literature - affects the immobilization process. Next, the biological activity of immobilized ceftriaxon was tested. In vitro experiments with Staphylococcus aureus ATCC 25923 (measurement of zones of bacterial growth inhibition on solid medium, CFU changes in liquid medium and biofilm formation) revealed that antibiotic-modified vascular prostheses (according to Met. I a and Met. II a) exerted strong, inhibitory effect against tested bacterial strain (TABLE II and FIG.1). It shows that the proposed methods of antibiotic immobilization did not reduce its biological activity. Moreover, the observations points on a fact that GA used as space-arm (Met. I) probably allows for the closer proximity of immobilized drug with bacterial cell, which result in S. aureus growth inhibition for 14 days, in contrast to EDAC used as an alternative prosthesis activator.

przestrzenne umożliwia lepszy kontakt unieruchomionego leku z komórką bakteryjną aniżeli bezpośrednie połączenie leku z protezą.

Wnioski

1. Przyłączanie ceftriaksonu do białkowanej protezy naczyniowej można prowadzić przy pomocy aldehydu glutarowego, jako odstępnika między lekiem a protezą lub z użyciem EDAC, jako środka umożliwiającego formowanie wiązania amidowego pomiędzy wymienionymi czynnikami.

 Porównanie obu metod unieruchamiania leku wskazuje, że antybiotyk odsunięty od biomateriału ramieniem przestrzennym wykazuje lepsze działanie przeciwbakteryjne aniżeli antybiotyk unieruchamiany metodą z udziałem EDAC.

Podziękowania

Praca finansowana przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach projektu badawczego promotorskiego Nr 2 PO5B 067 30

Piśmiennictwo

[1.] Hermanson G.T, Mallia A.K, Smith P.K. (1992), Immobilized affinity ligand techniques Academic Press, INC.

[2.] Abdel-Magid F. A., Carson G. K., Harris D. B. (1996), Reductive Animation of aldehydes and ketones with sodium triacetoksyborohydride. Studies on direct and indirect reductive animation procedures, J. Org. Chem., 61, 3849-3862.

OPTYMALIZACJA WARUNKÓW IMMOBILIZACJI CEFTRIAKSONU W CELU UZYSKANIA SKUTECZNEGO DZIAŁANIA PRZECIWBAKTERYJNEGO PROTEZ NACZYNIOWYCH

Małgorzata Miazga-Karska^{*}, Grażyna Ginalska^{*}, Dorota Kowalczuk^{**}

^{*}Katedra i Zakład Biochemii, Akademia Medyczna, 20-930 Lublin ul. Chodźki 1 ^{**}Katedra i Zakład Chemii Leków, Akademia Medyczna, 20-090 Lublin ul. Jaczewskiego 4

[Inżynieria BiomateriaŁów, 58-60,(2006),41-43]

Wprowadzenie

Bakteryjne infekcje protez naczyniowych choć nie są częstym problemem w chirurgii naczyniowej (4%), to jednak są związane z dużą ilością przypadków amputacji kończyn (do 79%), śmiertelnością (do 75%) i mogą być spowodowane zaniedbaniami przedoperacyjnymi, zakażeniami miejsc operowanych lub układową bakteremią (1,2). Głównie *Staphylococcus aureus* (~70%) jak również *Staphylococcus epidermidis i Escherichia coli* są odpowiedzialne za większość infekcji implantów. W celu redukcji przypadków takich infekcji można stosować impregnację białkowanych protez naczyniowych roztworem antybiotyku. Sposób ten jednak daje jedynie krótkotrwały efekt leczniczy.

Celem naszej pracy było uzyskanie protez o przedłużonej antybakteryjnej aktywności przez utworzenie kowa-

Conclusions

1. Attachment of ceftriaxon to protein-sealed vascular prosthesis can be performed either using glutaraldehyde as a spacer arm between the drug and matrix or EDAC as an agent enabling the formation of amide bond between both elements subjected to coupling.

2. Comparison of the immobilization method used in the experiments showed that the method with GA allows for obtaining the higher antibacterial activity of immobilized drug than in the case of EDAC-method.

Acknowledgements

This work was financed by the Minister of Science and Higher Education Polish Grant 2 Po5B 067 30

References

[3.] Wójtowska – Mach J., Różańska A., Bulanda M. i wsp., (2002), Nadzór epidemiologiczny nad zakażeniami miejsca operowanego. Zakażenia, 1 – 2: 72 – 75.

OPTIMIZATION OF CEFTRIAXON IMMOBILIZATION CONDITIONS FOR OBTAINING THE EFFECTIVE ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF VASCULAR PROSTHESES

Małgorzata Miazga-Karska*, Grażyna Ginalska*, Dorota Kowalczuk**

*Chair and Department of Biochemistry, Medical University of Lublin,1 Chodźki Str, 20-930 Lublin, Poland ** Chair and Department of Medicinal Chemistry, Medical University of Lublin, 4 Jaczewskiego Str, 20-930 Lublin, Poland

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),41-43

Introduction

Vascular graft infections are still infrequent (4% incidence) but significant complications in vascular surgery. They are associated with high rate of limb loss (up to 79%) and mortality (up to 75%) and may be caused by preoperative contamination, postoperative wound infection or systemic bacteraemia [1,2]. Mainly Staphylococcus aureus (~70% cases) but also Staphylococcus epidermidis and Escherichia coli are responsible for majority of implans' infections. Reduction of graft infection rate may by achieved by impregnation of the commercial protein-sealed prostheses with antibiotics solutions. However, simple soaking of prostheses in antibiotic solutions gives only short-term remedial effect.

Aim of our study was to obtain prolonged antibacterial

Metodyka

42

Ceftriakson (BIOTON Polska) był unieruchamiany na żelatynowanej protezie PET (Braun) według zmodyfikowanej metody Hermanson i wsp. (3) z własnymi zmianami. Aldehyd glutarowy (GA) stosowany był w tej metodzie jako aktywator i jednocześnie ramię przestrzenne pomiędzy protezą a lekiem. Ilość ceftriaksonu związanego z protezą oraz wydajność procentowa procesu immobilizacji były wyznaczane metodą HPLC wg Farmakopei Brytyjskiej (1998). Ocenę tworzenia biofilmu wykonano metodą redukcji TTC (4). Testowanym szczepem był *S. aureus* ATCC 25922, częste źródło zakażeń poszczepiennych.

Stężenie leku przed immobilizacją Concentration of ceftriaxon before immobilization [mg/ml]	Ceftriakson związany z protezą Ceftriaxon bound to prosthesis [mg/g]	Wydajność immobilizacji Immobilization yield [%]
20	33.47	8.85
2	20.00	11.00
0.1	0.67	18.84
0.01	0.06	20.80

TABELA 1. Rezultaty immobilizacji ceftriaksonu na protezach naczyniowych Uni-Graft® (Braun) w zależności od użytego stężenia leku. TABLE 1. Results of ceftriaxon immobilization on vascular prostheses Uni-Graft® (Braun) in dependence on concentration of drug.

Wyniki

Uzyskane wyniki przedstawione w TABELI 1 wskazują, że przy wysokich stężeniach ceftriaksonu użytego do immobilizacji, ilość leku związanego z nośnikiem jest najwyższa, ale wydajność procesu jest wówczas najniższa. Natomiast przy niskich wyjściowych stężeniach ceftriaksonu wydajność immobilizacji jest wysoka, ale do protezy wiąże się mała ilość leku. Uzyskane wyniki wskazują, że ilość związanego antybiotyku może być łatwo regulowana. Stwierdzono dodatkowo (TABELA 2), że wydajność procesu wzrasta w obecności jonów H* do 34%, natomiast środowisko zasadowe jest niekorzystne dla reakcji aminacji. W kolejnym doświadczeniu wykazano obecność różnych oddziaływań wytworzonych między lekiem a protezą typu: adsorpcji fi-

pH środowiska reakcji immobilizacji pH of immobilization medium	Ceftriakson związany z protezą Ceftriaxon bound to prosthesis [mg/g]	Wydajność immobilizacji Immobilization yield [%]
4.3	5.98	33.66
7.0	5.50	25.90
9.0	1.30	7.87

TABELA 2. Rezultaty immobilizacji ceftriaksonu na protezach naczyniowych Uni-Graft® (Braun) w zależności od zastosowanego pH reakcji immobilizacji.

TABLE 2. Results of ceftriaxon immobilization on vascular prostheses Uni-Graft® (Braun) in dependence on medium pH for immobilization reaction. protection of vascular grafts, employing covalent immobilization of ceftriaxon to gelatin-sealed prostheses.

Methods

Ceftriaxon (BIOTON, Poland) was immobilized on gelatinsealed PET prosthesis (Braun) according to the modified method described by Hermanson et al [3]. Glutaraldehyde (GA) was used in this method as an activator and space arm between biomaterial and drug. Amount of ceftriaxon bound to prosthesis and percent yield of immobilization were determined by HPLC technique according to British Pharmacopoeia (1998). Estimation of biofilm formation was performed according to the method based on TTC reduction (4). The bacterial strain tested in the experiments was S. aureus ATCC 25922, the most common bacteria responsible for the majority of post-operational infections.



RYS. 1. Procentowy udział 3 typów oddziaływań wytworzonych między protezą naczyniową a ceftriaksonem: A – adsorpcja fizyczna, B – wiązania jonowe, C – wiązania kowalencyjne FIG. 1. The percentage particular interactions of ceftriaxon with prosthesis: A: physical adsorption, B – ionic bonds, C – covalent bonds

Results

The results (TABLE I) affirm that large concentration of ceftriaxon used for immobilization process allowed for ob-



RYS. 2. Strefy zahamowania wzrostu jako przejaw aktywności przeciwbakteryjnej modyfikowanych protez. 1 - proteza odpłukana NaCl, 2 - proteza odpłukana wodą, 3 - proteza nieodpłukana, K - proteza bez aktywacji.

FIG. 2. Zones of bacterial growth inhibition as a function of antibacterial effect of modified biomaterial. 1 - prosthesis washed out in NaCl, 2 - prosthesis washed out in water, 3 - prosthesis without washing, K - control prosthesis without activation.

	Protezy nieodpłukane Prosthesis without washing out	Protezy odpłukane H₂O Prosthesis washed out in H₂O	Protezy odpłukane NaCl Prosthesis washed out in NaCl	Kontrola Control pros- thesis without activation		
Tworzenie biofilmu po 14 dniach Biofilm formation after 14 days	-	-	++	++++		
CFU S. aureus po 14 dniach CFU S. aureus after 14 days	0	0	5x10 ²	Wzrost zlewny Heavy growth		
* initial CFU of S. aureus: 3x10 ⁶						

TABELA 3. Ocena tworzenia biofilmu (metodą TTC) i zmian CFU jako przejaw antybakteryjnych właściwości zmodyfikowanych protez.

TABLE 3. Biofilm formation (TTC-method) and CFU values changes as a test of a antibacterial properties of modified biomaterial.

zycznej, wiązań jonowych i silnych wiązań kowalencyjnych. Ich procentowy udział określono przez odmywanie protez w wodzie (usuniecie antybiotyku zwiazanego fizycznie) i następnie w 0.9% NaCl (usunięcie antybiotyku związanego jonowo). Stwierdzono, że wiązania kowalencyjne stanowią zdecydowaną większość (~95%) całej puli oddziaływań proteza-lek (RYS.1). Następnie testowano efekty mikrobiologiczne unieruchomionego leku wobec szczepu S. aureus ATTC 25922. Na podstawie wykonanych zdjęć (RYS.2) oraz wyników zebranych w tabeli 3 stwierdzono, że protezy naczyniowe modyfikowane ceftriaksonem hamują wzrost badanego szczepu przez 14 dni trwania eksperymentu. Jednocześnie wykazano, że unieruchomienie ceftriaksonu za pomocą 3 typów oddziaływań chroni protezę naczyniową przed zasiedleniem bakteriami S. aureus, bowiem na biomateriale nie stwierdzono żywych bakterii. Zatem wydaje się, że stosowanie tak modyfikowanych protez może być korzystne dla antybakteryjnej ochrony wszczepionych implantów.

Wnioski

 Obecność jonów wodorowych poprawia wydajność procesu immobilizacji

 Ilość ceftriaksonu związanego z protezą zależna jest od stężenia leku użytego do immobilizacji

• Użycie protez modyfikowanych ceftriaksonem może być korzystne dla antybakteryjnej ochrony wszczepionych implantów.

Podziękowania

Praca finansowana przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach projektu badawczego promotorskiego Nr 2 PO5B 067 30 taining the highest amount of drug bound to matrix, but the immobilization yield was the lowest, whereas using small concentration of drug, the immobilization yield was the highest, but quantity of bound ceftriaxon was the smallest. Hence the amount of immobilized drug can be easily regulated. We asserted (TABLE II) that presence of H+ ions additionally improved the process of antibiotic immobilization (up to 34%) but basic medium was not profitable for amination reaction. In the next experiment we showed that ceftriaxon was bound by different types of interactions: physical adsorption, ionic bonds and strong covalent bonds. The percentage of particular interactions was estimated by washing out the prosthesis in water (removal of antibiotic attached by physical adsorption) and then in 0.9% NaCl (removal of ceftriaxon bound by ionic bonds). It was found that the dominating amount of antibiotic (~95% of total amount) was covalently bound to the graft. (FIG.1). In further research, the biological effect of bound antibiotic was tested against S. aureus ATCC 25922 strain. Results presented in FIG.2 and TABLE 3. showed that the ceftriaxon-modified vascular prostheses inhibited the growth of tested bacterial strain for 14 days of experiment. Moreover it was found that ceftriaxon immobilization via 3 types of interactions allowed for the prosthesis protection against S. aureus settling because no living bacteria were observed on the graft surface Therefore it seems that the use of such modified prostheses may be highly promising at antibacterial perioperative implants protection.

Conclusions

• presence of H+ ions improves the process of antibiotic immobilization

 quantity of bound ceftriaxon depends on used concentration of antibiotic

• modified prostheses possess highly promising properties for antibacterial protection of perioperative implants

Acknowledgements

This work was financed by the Minister of Science and Higher Education Polish Grant 2 PO5B 067 30

References

[3] Hermanson G.T, Mallia A.K, Smith P.K. (1992), Immobilized affinity ligand techniques Academic Press, INC.
[4] Wójtowska – Mach J., Różańska A., Bulanda M. i wsp., (2002), Nadzór epidemiologiczny nad zakażeniami miejsca operowanego. Zakażenia, 1 – 2: 72 – 75.

Piśmiennictwo

 Kielar M., (2001), Wyniki leczenia późnych zakażeń protez naczyniowych. Polski Przegląd Chirurgiczny, 9: 68 – 83.
 Wang J, Huang N, Yang P (2004), The effects of amorphous carbon films deposited on polyethylene terephtalate on bacterial adhesion. Biomaterials, 25: 3163-70 BIOMATERIALÓV

44 REKONSTRUKCJA UBYTKÓW PRZEGRODY NOSA MATERIAŁAMI SYNTETYCZNYMI – DONIESIENIE WSTĘPNE

Aleksandra Polok*, Wojciech Ścierski*, Marta Błażewicz**, Grzegorz Namysłowski*

*Katedra i Oddział Kliniczny Laryngologii Śląskiej Akademii Medycznej w Zabrzu

**Katedra BiomateriaŁów Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie

E-MAIL: WOJSCIER@MP.PL [Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),44-45]

Przegroda nosa stanowi ścianę rozdzielającą prawą i lewą jamę nosową. Jest ona zbudowana z trzech różnych materiałów. W odcinku przednim stanowi ją skóra (część błoniasta przegrody), w odcinku środkowym chrząstka przegrody, a w odcinku tylnym struktura kostna (lemiesz i blaszka pionowa kości sitowej).

Perforacje przegrody nosa stanowią nadal duży problem zarówno dla otolaryngologów jak i chirurgów plastyków. Przyczyny powstania perforacji są bardzo różnorodne. Są to nowotwory, urazy, samookaleczenia, przewlekły zanikowy nieżyt nosa (ozena), alergie, nawracające krwawienia z nosa, ziarniniak Wegenera, gruźlica, sarkoidoza, choroby weneryczne, środki chemiczne i metale toksyczne (chrom, arsen), leki (sterydy), środki odurzające (kokaina), choroby układowe tkanki łącznej (zapalenie skórno-mięśniowe, toczeń układowy), a także powikłania po zabiegach endoskopowych i zabiegach operacyjnych przegrody nosa.

Perforacja przegrody nosa może powodować różne dolegliwości w postaci nawracających krwawień, tworzenia się strupów w przewodach nosowych oraz upośledzenia oddychania przez nos, prowadzących w efekcie do zniekształceń nosa, parosmii a także bólów głowy i częstych infekcji górnych dróg oddechowych. Perforacje w tylnych odcinkach przegrody dają mniej nasilone objawy, ze względu na szybsze nawilżanie błony śluzowej zapobiegające jej wysuszaniu.

Leczenie chirurgiczne, szczególnie dużych perforacji, jest często niemożliwe ze względu na zmiany zanikowe błony śluzowej nosa oraz brak odpowiedniej ilości materiału tkankowego do rekonstrukcji ubytku. Ponadto nie zawsze kończy się powodzeniem ze względu na możliwość wystąpienia powikłań, takich jak: krwiak przegrody, krwawienia i krwotoki pooperacyjne, infekcje, zbliznowacenia, martwica, ropień a także perforacja przegrody i deformacja grzbietu nosa.

W rekonstrukcji perforacji przegrody nosa stosowano już wiele technik operacyjnych oraz materiałów zarówno własnych chorego jak i syntetycznych. Z dużym powodzeniem stosowano bezkomórkowy ludzki skórny allograft (alloderm), autografty, np. powięź skroniowa, chrząstka przegrody nosa, chrząstka małżowiny, łączona powięź z chrząstką, okostna czaszki, ochrzęstna, kość sitowa i biodrowa. Alloderm pobierany z ludzkiej skóry jest stosowany od 1992 roku. Szczególny problem stanowią bardzo duże perforacje, kiedy nie ma możliwości ich całkowitej rekonstrukcji. Użycie autograftów kości w takich przypadkach znacznie zwiększa sztywność nowej przegrody i zmniejsza ryzyko reperforacji ze względu na dużą oporność zastosowanego materiału. W przypadku małych perforacji wystarczy użycie kości z wyrostka sutkowatego, nie ma potrzeby pobierania kości z innych miejsc. Wadą allograftów i autograftów jest ich stopniowa resorpcja [1,2,4-7].

Do tej pory próbowano zastosować do rekonstrukcji

RECONSTRUCTION OF SEPTAL NASAL PERFORATION BY SYNTHETIC MATERIALS – PRELIMINARY REPORT

Aleksandra Polok*, Wojciech Ścierski*, Marta Błażewicz**, Grzegorz Namysłowski*

*Department of Otorhinolaryngology, Silesian Medical University, Zabrze,

**DEPARTMENT OF BIOMATERIALS, UNIVERSITY OF MINING AND METALLURGY, CRACOW

E-MAIL: WOJSCIER@MP.PL

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),44-45]

The septal nasal perforation is an important problem for the laryngologists and plastic surgeons. The reasons of septal nasal perforations are injuries, neoplasm, self-mutilation, chronic rhinitis, allergy, recurrent epistaxis, Wegener granuloma, sarcoidosis, tuberculosis, venereal diseases, toxic metals (arsenic, chrome), some drugs (steroids), narcotizing agents (cocaine) and complications after endoscopic and septal nasal operations. The symptoms of nasal perforations are recurrent epistaxis, incrustation in nasal cavity, nasal potency disorders, headaches, parosmia and frequent upper airways infections. Perforations in posterior part of the nasal septum are more asymptomatic.

The surgical treatment, especially in the cases of large septal perforation, is often impossible because of the atrophy of nasal mucosa and lack of suitable material for reconstruction. In the surgical treatment many of methods and reconstructive materials have been used. The following autogenous tissues were used in the reconstruction of septal perforation: alloderm, temporal fascia, septal and auricle cartilage, cranial periosteum, perichondrium, ethmoidal and hip bone. The defect of such materials is progressive resorption [1,2,4-7]. Among the synthetic materials the following have been used without success: Dacron, porous polyethylene, dolomite, bioglass. The rejection of synthetic material was the reason of failure.



RYS.1. Proteza do zamykania ubytku przegrody nosa wykonana z silikonu (za zgodą autorów) [3].

FIG.1. Silicon prosthesis for the septal perforation closure.

MATERIAŁÓW

perforacji przegrody nosa wiele materiałów syntetycznych, takich jak: dolomit, akrylan, Dacron czy porowaty polietylen, jednak bez powodzenia ze względu na odrzucenie ich przez organizm. Dobre rezultaty w rekonstrukcji perforacji przegrody nosa, zwłaszcza dużych daje bioaktywne szkło (BAG). Podczas użycia tego materiału nie obserwuje się reakcji odrzucenia, ani towarzyszących pooperacyjnych infekcji. BAG zawierający tlenek krzemu, wapń, sód i fosfor wykazuje się dużą biokompatybilnością i jest nietoksyczny dla kości i tkanek miękkich [8].

Na podstawie przeprowadzonych badań klinicznych stwierdzono, iż dobrym materiałem alloplastycznym do zamykania ubytków w przegrodzie nosa jest również proteza z kauczuku silikonowego. Ma ona zastosowanie w przypadkach, gdy istnieją przeciwwskazania miejscowe lub ogólne do operacji rekonstrukcyjnej. W trakcie jej noszenia zaobserwowano cechy znacznej regeneracji nabłonka i przywrócenie ciągłości przegrody nosa, co w efekcie spowodowało zmniejszenie lub całkowite ustąpienie dolegliwości zgłaszanych przez chorych. Ze względu na możliwość wystąpienia odczynu zapalnego wokół protezy, po kilku miesiącach może zachodzić potrzeba jej wymiany [3].

Od wielu lat poszukuje się materiału syntetycznego, który mógłby służyć do rekonstrukcji powstałej perforacji w przegrodzie nosa. Celem naszej pracy była ocena dwóch różnych biomateriałów, których cechy mechaniczne i właściwości biologiczne pozwalają przypuszczać, iż mogłyby one w skuteczny sposób zastąpić rusztowanie chrzęstne przegrody nosa. W związku z faktem, iż perforacja przegrody występuje najczęściej w odcinku środkowym – chrzęstnym biomateriał musi jak najbardziej odpowiadać tej tkance.

Do badań wykorzystano dwa rodzaje biomateriałów - biostabilny Terpolimer (politetrafluoroetylen PTFE-56%, polifluorek winylu PVDF 27%, polipropylen PP-17 %) oraz resorbowalny polimer z grupy polihydroksykwasów - kwas poli-L-mlekowy. Materiały te zostały zmodyfikowane w zakresie mikrostruktury i chemicznej budowy powierzchni w taki sposób, aby nadać im właściwości chondrogenne i zapewnić dobrą integrację z tkankami otaczającymi. Każdy z polimerów przetworzony został w formę trójwarstwowego implantu, zbudowanego z litej warstwy konstrukcyjnej nadającej mu niezbędną wytrzymałość, pokrytego z obu stron porowatą membraną. Pory w zewnętrznej części implantu posiadają zróżnicowaną geometrię zarówno pod względem kształtu jak i wielkości. Do ich wytworzenia zostały wykorzystane biozgodne porogeny takie jak algininian sodu w formie włókienek i nanocząstek. Algininy są biopolimerami wykazującymi wysoką biozgodność z komórkami tkanki chrzęstnej. Algininian sodu jest naturalnym polimerem, który rozpuszcza się w wodzie. Włókna algininowe wprowadzone do polimeru zostały z niego usunięte (poprzez wypłukanie), co doprowadziło nie tylko do powstania porów ale także wpłynęło na budowę chemiczną powierzchni biomateriału.

Badania pilotażowe przeprowadzono na 2 królikach. W znieczuleniu ogólnym z cięcia wzdłuż brzegu małżowiny usznej wypreparowano ochrzęstną i chrząstkę na powierzchni 2x2 cm. Nożyczkami podochrzęstnowo usunięto fragment chrząstki małżowiny o wymiarach 1x1 cm, który następnie uzupełniono przy pomocy biomateriału. Biomateriał połączono dwoma szwami sytuacyjnymi wchłanianymi z Poliglikolidu (Safil® 3-0). Aktualnie prowadzana jest obserwacja zwierząt doświadczalnych.

Podziękowania

Specjalne podziękowania dla Fundacji Rozwoju Kardiochirurgii w Zabrzu za wszelką pomoc udzieloną w czasie powstawania tej pracy. The silicon prosthesis is a good alternative as an obturator for the temporary treatment of septal nasal perforation. It is often used in the cases with local or general contraindications for surgery. After several months of silicone prosthesis application very often exchanging is necessary [3].

For many years the suitable synthetic material for septal nasal reconstruction has been searched for. The aim of our study was to evaluate two different biomaterials with proper mechanical and biological features for nasal cartilage replacement. The septal nasal perforation is most often observed in the anterior, cartilaginous part of the septum. Therefore the synthetic material should be similar to this tissue.

We use to our study two type of biomaterials – biostable terpolymer (politetrafluoroetylene PTFE–56%, polyvinylidene fluoride PVDP– 27%, polypropylene PP–17%) resorbable polymer – poli-L-laccid acid. The microstructure and chemical structure of the external layer were modified in these materials. Each biomaterial was converted in the three layer implant. Implant was built with constructive solid stratum covered on both sides by porous membrane.

The pilot studies were performed on the two experimental animals – rabbits. The animals were operated in the general anesthesia. The incision was done along the edge of the rabbit's auricule. Perichondrium and cartilage of the auricule on the surface 2x2 cm were prepared. Subperichondrically 1x1 cm fragment of the cartilage was removed by the scissors. This fragment was then replaced by the biomaterials. Synthetic materials were sutured by the absorbable Poliglicoid sutures (Safil 3-0). The clinical observation actually has been performed.

Acknowledgements

Special thanks for Cardiosurgery Foundation in Zabrze for all help in laboratory investigations.

Piśmiennictwo

References

[1] Ayshford C.A., Shykhon M., Uppal H.S.: Wake Endoscopic repair of nasal septal perforation with acellular human dermal allograft and an inferior turbinate flap Clin. Otolaryngol. 2003, 28, 29-33.

[2] Cohen S.B., Meirisch C.M., Wilson H.A., Diduch D.R.: The use of absorbable co-polymer pads with alginate and cells for articular cartilage repair in rabbits. Biomaterials 2003, 24, 2653-2660.

[3] Fruba J., Makowska W., Waloryszak B., Służewska W.: Ocena zastosowania protezy silikonowej w perforacjach przegrody nosa Otolaryngologia Polska 1993, 47, 1, 58-62.

[4] Leiggener C.S., Curtis R., Muller A.A., Pfluger D., Gogolewski S., Rahn B.A.: Influence of copolymer composition of polylactide implants on cranial bone regeneration. Biomaterials 2006, 27, 202-207.

[5] M a Z., Gao Ch., Gong Y., Shen J.: Chondrocyte behaviors on poly-L-lactic amid (PLLA) membranes containing hydroxyl, amide or carboxyl groups. Biomaterials 2003, 24, 3725-3730.

[6] Nunez-Fernandez D., Vokurka J., Chrobok V.: Bone and temporal fascia graft for the closure of septal perforation The Journal of Laryngology and Otology 1998, 112, 1167-1171.

[7] Russell W.H. Kridel, Hossam Foda, K. C. Lunde Septal perforation repair with acellular human dermal allograft Archives of Otolaryngology-Head&Neck Surgery 1998, 124, 56-59.

[8] Stoor P., Grenman R.: Bioactive glass and turbinate flaps in the repair of nasal septal perforations Ann Otol Rhinol 2004, 113, 8, 655-661.

46 MINERALIZACJA WŁÓKIEN WĘGLOWYCH PROTEZY TCHAWICY PO 38-TYGODNIOWYM OKRESIE OBSERWACJI

Wojciech Ścierski*, Jerzy Nożyński**, Ewa Zembala-Nożyńska***, Grzegorz Namysłowski*, Marta Błażewicz****, Stanisław Błażewicz****, Jan Pilch*, Krzysztof Helewski**** *Katedra i Oddział Kliniczny Laryngologii Śląskiej Akademii Medycznej w Zabrzu **Pracownia Histopatologii, Śląskie Centrum Chorób Serca w Zabrzu ***Katedra i Zakład Patomorfologii Klinicznej Śląskiej Akademii Medycznej w Zabrzu

****Katedra BiomateriaŁów Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie

*****Katedra Histologii i Embriologii w Zabrzu, Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach E-mail: wojscier@mp.pl

[Inynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),46-47]

Wstęp

Leczeniem z wyboru w zwężeniach tchawicy jest resekcja uszkodzonego segmentu z rekonstrukcją typu "koniec do końca". Operacje rekonstrukcyjne dużych ubytków tchawicy z zastosowaniem materiałów syntetycznych związane są wysokim odsetkiem niepowodzeń. Wynikają one z niezwykle skomplikowanej budowy tchawicy, dużym obciążeniom, jakim jest ona poddawana w czasie oddychania, ruchów głowy, kaszlu i kichania oraz faktu, iż proteza implantowana jest w środowisku kontaktującym się z jednej strony z organizmem a z drugiej ze środowiskiem zewnętrznym. Rekonstrukcje tchawicy związane są ryzykiem powikłanego i długiego gojenia. Odczyn zapalny przebiegający z powstaniem tkanek martwiczych staje się potencjalnym ogniskiem zwapnień. Wszczepienie biomateriału pracującego elastycznie może być dodatkowym czynnikiem sprzyjającym odkładaniu się soli wapnia - mineralizacji [2, 5]. Mineralizacja samego implantu jak i fragmentów tchawicy bezpośrednio do niego przylegających może być czynnikiem w poważnym stopniu upośledzającym jego funkcje. Mineralizacja prowadzi do powstawania nierówności i guzków w obrębie protezy, przyczyniając się do jej zdeformowania, usztywnienia a równocześnie gorszego funkcjonowania. Zjawisko odkładania się soli wapnia związane jest bezpośrednio z obecnością kolagenu, a w szczególności z jego specyficzną budową, sprzyjającą absorpcji kationów [4].

Celem pracy jest ocena wapnienia (mineralizacji) włókien węglowych implantu tchawicy w okresie obserwacji do 38 tygodni po jego wszczepieniu zwierzętom doświadczalnym.

Materiał i metodyka

Badania doświadczalne przeprowadzono na grupie 15 owiec, którym implantowano cylindryczny odcinek tchawicy długości 3 cm wykonany z włókien węglowych nasyconych żywicą polisulfonową (RYS.1).

W implancie wykorzystano różne formy włókien węglowych pod postacią włókniny, tkaniny i włókien w formie rovingu. Owce poddawano eutanazji po okresie obserwacji 1, 2, 3, 4, 6, 8, 24 i 38 tygodniach. Z fragmentów tchawicy i implantu wykonywano preparaty histologiczne, które oceniano pod kątem zmian patologicznych. Celem wykrycia soli wapnia w materiale histologicznym preparaty

.

MINERALIZATION OF TRACHEAL IMPLANT CARBON FIBERS AFTER 38 WEEKS OBSERVATION

WOJCIECH ŚCIERSKI*, JERZY NOŻYŃSKI**,

Ewa Zembala-Nożyńska***, Grzegorz Namysłowski*, Marta Błażewicz****, Stanisław Błażewicz****, Jan Pilch*, Krzysztof Helewski****

*Department of Otorhinolaryngology, Silesian Medical University, Zabrze,

**DEPARTMENT OF HISTOPATHOLOGY, SILESIAN CENTER FOR HE-ART DISEASES, ZABRZE,

***Chair and Department of Clinical Pathomorphology, Silesian Medical University, Zabrze

****DEPARTMENT OF BIOMATERIALS, UNIVERSITY OF MINING AND METALLURGY, CRACOW

*****DEPARTMENT OF HISTOLOGY AND EMBRYOLOGY, SILESIAN MEDICAL UNIVERSITY, ZABRZE

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),46-47]

Introduction

The treatment of choice in the tracheal stenosis is resection of lesion with "end to end" reconstruction. Tracheal reconstruction of large defect with synthetic material is connected with high risk of complications. These complications resulted from complex tracheal structure, high loading during breathing process, head moving, coughing and sneezing. Tracheal surgery is burdened with a risk of complicated and prolonged healing. An inflammatory reaction with necrosis became potential calcification foci. The implantation of the flexible biomaterial may promote an additional calcification factor [2,5]. The calcification process may reduce the bioprosthesis durability, diminishing its flexibility by calcium deposits. Deposits of calcium ions are directly connected with the structure of collagen that promotes absorption cations.

The aim of the study is an evaluation of carbon prosthesis calcification (mineralization), as well as tracheal wall during healing process after 6, 8, 24, 38 weeks implantation in experimental animals.

Material and methods

In the experimental studies 15 sheeps were implanted by cylindrical tracheal prosthesis 3 cm long made by carbon fibers and resin (FIG.1).

After 1,2,3,4,6,8,24 and 38 weeks, the animals were sacrificed and the trachea with implant fragments was diagnosed histologically. For the detection of calcium salts the alizarin red staining of histological slides was performed (reacting stechiometrically with calcium ions). The calcified atherosclerotic plaque sections served as the positive staining control. All sections were stained 10 min simultaneously (FIG.2).

Results and discussion

During the healing process inflammatory infiltration, focal necrosis was present. The formation of young granulation tissue was pronounced. No dehiscence of suture connecting an implant with trachea was observed in all cases. In the 3rd week, a proliferation of fibrous connective tissue with the decrease of inflammation, but persisting perivascular inflammatory infiltrations consisting mainly of plasmatic cells was noticed. Only small foci of necrotic tissue were seen at the distal edge of the implant. No damages or calcification of



RYS.1. Rekonstrukcja ubytku tchawicy o długości 3 cm protezą węglową. FIG.1. Reconstruction of 3 cm long tracheal defect by carbon prosthesis.

dodatkowo zabarwiono czerwienią alizarynową, reagującą stechiometrycznie z solami wapnia. Jako dodatnią kontrolę wykorzystano skrawki zwapniałej blaszki miażdżycowej. Wszystkie badane oraz kontrolne skrawki barwiono czerwienią alizarynową jednocześnie 10 minut (RYS.2).

Wyniki i ich omówienie

W trakcie przebiegu procesu gojenia obserwowano nacieki zapalne, obecność tkanek martwiczych na obrzeżach implantu oraz młodą tkankę ziarninową. Nie obserwowano uszkodzenia czy wapnienia chrząstek tchawicy. W tygodniu trzecim stwierdzono rozrost tkanki łącznej włóknistej, zmniejszenie się nacieku zapalnego, lecz utrzymywanie się okołonaczyniowych nacieków zawierających komórki plazmatyczne. Chrząstki tchawicy pozostawały niezmienione przez cały okres obserwacji aż do 38 tygodnia nie wykazując uszkodzenia czy zwapnienia.

Włókna węglowe widoczne były w preparatach w postaci jednorodnie czarnych pasm. Nie wykazano złogów soli wapnia tak w sąsiadujących tkankach jak również na powierzchni włókien badanego biomateriału we wszystkich okresach poimplantacyjnych. Również tkanka martwicza nie ujawniała ognisk zwapnień (RYS.3).

Zjawisko mineralizacji (uwapnienia) biomateriału występuje szczególnie często w układzie krwionośnym i moczowym. Zależy ono od koncentracji jonów wapnia i właściwości samego biomateriału. Jest zjawiskiem niekorzystnym i polega na odkładaniu się w obrębie biomateriału jonów wapnia. Badania mineralizacji wszczepionych zastawek serca wykazały, że proces ten rozpoczyna się w punkcie zginania i ułatwia adhezję m. in. bakterii. Powszechnie stosowane w medycynie biomateriały, takie jak silikon, poliuretan, hydrożele i dakron ulegają mineralizacji [3]. Przeprowadzone przez nas badania nie wykazały tendencji do mineralizacji protezy tchawicy wykonanej z włókien węglowych. Brak mineralizacji włókien węglowych może wynikać z ich odpowiednich właściwości elektrycznych. Analiza procesów wapnienia wykazała, że podczas zgięć włókna kolagenowe jak i materiał plastyczny, poliuretan uzyskują ładunek elektrostatyczny, a proces ten nasila się wraz z fragmentacją włókien, zaś w miejscu zaburzonym elektrostatycznie zachodzi wapnienie [1]. Dobre przewodnictwo elektryczne węgla może zapobiegać gromadzeniu ładunku elektrostatycznego, zapobiegając wapnieniu nie tylko na powierzchni biomateriału, lecz także w tkankach otaczających, ponadto brak immunogenności zapobiega miejscowej reakcji zapalnej.

Piśmiennictwo

[1] Bernacca GM., Mackay TG., Wilkinson R., Wheatley DJ.: Calcification and fatigue failure in a polyurethane heart valve. Biomaterials 1995; 16: 279-85.

[2] Bruck SD.: Possible causes of the calcification of glutaraldehyde-treated tissue heart valves and blood contracting elastomers during prolonged use in medical devices: a physico-chemical review. Biomaterials 1981; 2:14-8.



the tracheal cartilages were observed during all observation periods up to 38 weeks.

plaque sections.

Carbon fibers visible in preparations were uniformly black, calcium deposits were absent in all surrounding tissues, also at the surface of the biomaterial in all analyzed specimens from 1 to 38 weeks after implantation. The necrotic tissue also exhibited the lack of positive Ca⁺⁺ reaction on all specimens (FIG.3).

Mineralization process of biomaterials occurs especially frequent within the urinary and vascular system. It depends on the calcium ions concentration and biomaterial's characteristics. Mineralization studies of cardiac valves showed that this process starts in the flexion point and facilitates adhesion of bacteria. Wide using in medicine biomaterials such as silicon, polyurethane and Dacron undergo calcification [3]. Our study showed lack of carbon implant mineralization in experimental animal model.

Moreover, the lack of the calcification in the surrounding tissue as in the bioprosthesis may suggest two significant positives of carbon biomaterials. In variety of conditioned animal and human tissues the calcifications occupies the interstitial - interfibre space. The diminution of the space by means of preparative methods reduces this potentially nociceptive compartment. The electrical properties of the carbon fiber should also be taken on account. The analysis of the calcification processes showed, that during flexions collagen fibers and plastic material, polyurethane is loaded electrostatically, and this process intensifies with the fiber degradation, and in electrostatically disturbed site the calcification occurs [1]. Good electric conductibility of carbon may prevent the accumulation of electrostatic charge, preventing the calcification not only at the biomaterial surface, but also in the surrounding tissues, additionally the lack of the immunogenity prevents the focal inflammatory reaction.

Acknowledgements

Special thanks for Cardiosurgery Foundation in Zabrze for all help in laboratory investigations.

References

[3] Paduch D.A., Niedzielski J.: Materiały biomedyczne: Część I: Pojęcie filmu biologicznego (biofilmu) i fizykochemiczne podstawy przyczepności substancji organicznych do biomateriałów. Chir. Pol. 2005, 7, 3, 180-191.

[4] Pawlikowski M., Pfitzner R.: Mineralizacja zastawek serca. Folia Med. Cracov 1992; 33:3-24.

[5] Thubrikar MJ, Aouad J, Nolan SP.: Role of mechanical stress in calcification of aortic bioprosthetic valves. J Thorac Cardiovasc Surg 1983; 86:115-25. **31 MATERIALOW**

Specjalne podziękowania dla Fundacji Rozwoju Kardiochirurgii w Zabrzu za wszelką pomoc udzieloną w czasie powstawania tej pracy.

ZACHOWANIE SIĘ WYMIARÓW GEOMETRYCZNYCH WŁÓKIEN WĘGLOWYCH W 38 TYGODNIOWYM OKRESIE OBSERWACJI PO WSZCZEPIENIU W TCHAWICĘ

Wojciech Ścierski*, Jerzy Nożyński**, Ewa Zembala-Nożyńska***, Stanisław Błażewicz ****, Grzegorz Namysłowski *, Jan Pilch*, Krzysztof Helewski****

*Katedra i Oddział Kliniczny Laryngologii Śląskiej Akademii Medycznej w Zabrzu **Pracownia Histopatologii, Śląskie Centrum Chorób Serca w Zabrzu ***Katedra i Zakład Patomorfologii Klinicznej Śląskiej Akademii Medycznej w Zabrzu ****Katedra Biomateriałów AGH w Krakowie *****Katedra Histologii i Embriologii w Zabrzu, Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach E-mail: wojscier@mp.pl

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),48-51]

Wstęp

Procesem biodegradacji określane są wszelkie zmiany o charakterze chemicznym lub fizycznym powstające materiale implantacyjnym w wyniku umieszczenia go w środowisku biologicznym. Ocena degradacji włókien węglowych jest zagadnieniem skomplikowanym i wymagającym szczegółowych badań. Wynika to z natury samego węgla, który charakteryzuje się dużym powinowactwem do tlenu, ulega w żywym organizmie powolnym zmianom chemicznym, jest obdarzony ładunkiem i tworzy czasami otwartą sieć porów. Włókna węglowe różniące się mikrostrukturą powodują różną odpowiedź tkankową oraz w różnym stopniu ulegają degradacji. Włókna niskokarbonizowane (1100°C), charakteryzujące się słabo uporządkowaną strukturą (często określane jako węgiel amorficzny) i wykazują wysoką biozgodność tkankową. Włókna te mogą stanowić podłoże do kierunkowego narastania tkanki łącznej [2]. Inaczej sytuacja wygląda w przypadku włókien wysokokarbonizowanych (2700°C), które są materiałem o wysokim stopniu uporządkowania struktury (węgiel grafitowy), posiadającym zdecydowanie mniejszą biozgodność. Parametry chemiczne i fizyczne tego typu węgla nie ulegają zmianie w wyniku oddziaływania ze środowiskiem biologicznym. Włókna te mogą ulegać jedynie fragmentacji, w wyniku której do środowiska tkankowego dostawać się mogą drobne cząstki węgla ulegające fagocytozie. Stopień uporządkowania struktury węglowej jest więc parametrem decydującym o charakterze odpowiedzi na włókna węglowe [3].

Celem pracy była ocena morfometrycznych wymiarów geometrycznych opisujących włókna węglowe w różnych okresach obserwacji implantu węglowego.

GEOMETRICAL PARAMETERS OF TRACHEAL IMPLANT CARBON FIBERS IN 38 WEEKS OF OBSERVATION

Wojciech Ścierski*, Jerzy Nożyński**, Ewa Zembala-Nożyńska***, Stanisław Błażewicz ****, Grzegorz Namysłowski *, Jan Pilch*, Krzysztof Helewski****

*Department of Otorhinolaryngology, Silesian Medical University, Zabrze, **Department of Histopathology, Silesian Center for Heart Diseases, Zabrze, ***Chair and Department of Clinical Pathomorphology, Silesian Medical University, Zabrze ****Department of Biomaterials, AGH-UST, Cracow *****Department of Histology and Embryology, Silesian Medical University, Zabrze E-mail: wojscier@mp.pl

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),48-51]

Introduction

Biodegradation is all the chemical and physical processes originate in the synthetic material after it's implantation in the biological environment. The estimation of carbon fibers degradation is a difficult problem. It results from the carbon nature - big oxygen affinity, charge possession and ability to creating porous net. The carbon fibers differing of their microstructure cause different tissues response and in different way undergo degradation process. Lowcarboned fibers (1100°C), characterized by low structure settlement have high degradation ability. Highcarboned fibers (2700°C), with high degree of structure settlement undergo very low biodegradation process. These kinds of fibers could only suffer fragmentation. This fragmentation results in production of carbon particle undergo afterwards phagocytosis. The degree of settlement decides therefore about the degradation of carbon fibers in the biological environment.

The aim of our study was to evaluate the geometrical parameters describing carbon fibers of tracheal implant in different periods of observation.

Material and methods

The geometrical parameters of carbon fibres implanted in the trachea of experimental animals (sheep) as a 3 cm long prosthesis were assessed. The tracheal implant was built from the composite material. Tracheal implant was constructed with one layer of carbon tissue and five layers of carbon felts as well as 5 carbon fibres rings. Carbon fibres in the form of unwoven fabric and woven fabrics were immersed in liquid resin solution followed by drying process to remove the solvent. After 1, 2, 3, 4, 6, 8, 24 and 38 weeks, the animals were sacrificed and the trachea with

Grupa tydzień	Liczba pomiarów	Średnia	Medi- ana	Minimum	Maksi- mum	Kwartyl dolny	Kwartyl górny	Odchylenie standardowe
Group week	Number of measure	Mean	Median	Minimum	Maximum	25 perc lower	75 perc upper	Standard deviation
1	629	5.6106	3.846	0.769	30.769	1.538	7.563	5.4218
2	897	5.7164	3.077	0.769	36.154	1.538	7.692	5.9364
3	2045	5.7400	4.615	0.769	30	1.538	8.462	4.5419
4	416	7.4204	5.385	0.769	38.462	1.538	8.462	7.6213
6	975	4.2673	2.308	0.769	29.231	1.538	5.385	4.9457
8	658	5.8416	3.077	0.769	37.692	2.308	8.462	5.7543
24	489	8.1138	6.923	0.769	44.615	2.308	9.231	8.7690
38	1239	4.9480	2.308	0.769	35.385	1.538	6.923	5.1466

TABELA I. Wymiar najkrótszy włókien węglowych implantu wszczepionego w ścianę tchawicy. TABLE I. The breath of carbon fibres implanted in the trachea.

Grupa tydzień	Liczba po- miarów	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Kwartyl dolny	Kwartyl górny	Odchylenie standardowe
Group week	Number of measure	Mean	Median	Minimum	Maximum	25 perc Iower	75 perc upper	Standard deviation
1	629	3.385973	2.941	0.42	16.154	1.261	5.042	2.7567
2	897	3.401792	2.308	0.769	15.385	1.538	5.385	2.6450
3	2045	3.836686	3.077	0.769	14.615	1.538	6.154	2.3098
4	416	3.927421	3.846	0.769	22.308	1.538	5.385	2.8292
6	975	2.628596	1.538	0.769	20.769	1.538	3.077	2.3690
8	658	4.613555	3.2312	1.0766	16.1532	2.1532	7.539	3.1866
24	489	4.108785	4.615	0.769	8.462	1.538	6.154	2.3453
38	1239	2.958797	1.538	0.769	11.538	1.538	4.615	2.3567

TABELA II. Obliczona szerokość włókien węglowych implantu wszczepionego w ścianę tchawicy. TABLE II. The curve length of carbon fibres implanted in the trachea.

Materiał i metodyka

W celu zbadania morfometrycznych wymiarów geometrycznych włókien węglowych, które mogą być miernikiem ich degradacji oceniono cylindryczne implanty tchawicy wykonane z materiału kompozytowego, które wszczepiono zwierzętom doświadczalnym (owcom). Materiał kompozytowy zbudowany był z jednej warstwy włókniny węglowej, pięciu warstw tkaniny węglowej oraz pięciu pierścieni wykonanych z włókien węglowych, które stanowiły wzmocnienie implantu. Wszystkie elementy nasycone były the implanted carbon fragment were routinely histologically processed for further microscopically image analysis with Quantimet Leica. This analysis included: 1. the breadth responding to the shortest diameter of carbon fibres, 2. curve length of carbon fibres, 3. fullness factor. The results were analyzed statistically.

Results and discussion

The results of measurement of breath, curve length and fullness factor showed in the TABLES: I, II and III.

Grupa tydzień	Liczba pomiarów	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Kwartyl dolny	Kwartyl górny	Odchylenie standardowe
Group week	Number of measure	Mean	Median	Minimum	Maximum	25 perc lower	75 perc upper	Standard deviation
1	629	0.907684	0.915	0.304	1.371	0.802	1.019	0.1736
2	897	0.917759	0.945	0.248	1.371	0.802	1.075	0.2126
3	2045	0.853851	0.915	0.278	1.371	0.643	1.04	0.2394
4	416	0.933647	0.934	0.471	1.371	0.8065	1.0505	0.1721
6	975	0.998484	1.021	0.444	1.371	0.883	1.139	0.1746
8	658	0.926375	0.950	0.444	1.225	0.806	1.047	0.1579
24	489	0.851924	0.875	0.397	1.25	0.678	1.009	0.2028
38	1239	0.948558	0.962	0.359	1.371	0.825	1.09	0.1846

TABELA III. Współczynnik wypełnienia włókien węglowych implantu wszczepionego w ścianę tchawicy. TABLE III. Fullness factor of carbon fibres implanted in the trachea. **BIOMATERIALOW**

żywicą polisulfonową. Po uśmierceniu zwierząt w 1, 2, 3, 4, 6, 8, 24 i 38 tygodniu z materiału tkankowego wykonywano preparaty obejmujace zarówno fragment implantu jak i tchawicy. Tak przygotowane preparaty histologiczne oceniano pod powiększeniem mikroskopowym 500x przy użyciu systemu analizy obrazu Quantimet Color Option Leica ®. Detekcję włókien węglowych prowadzono wykorzystując funkcję "Auto-detect" uwidaczniającą jedynie najbardziej zróżnicowane elementy obrazu. Dokonano oceny wymiaru najkrótszego, obliczonej szerokości oraz współczynnika wypełnienia włókien węglowych. Wymiarem najkrótszym jest wielkość odpowiadająca najmniejszej odległości pomiędzy zewnętrznymi obrysami włókna węglowego. Nie odpowiada ona idealnie jego szerokości. Przy współistnieniu obustronnych wgłębień wartość ta wydaje się być zaniżana. Obliczona szerokość jest wielkością automatycznie liczoną przez program analizy obrazu (wielkością kalkulacyjną a nie bezpośrednia), która posiada szczególna użyteczność w pomiarach włókien i pasm. Odpowiada ona szerokości prostokąta o polu powierzchni oraz obwodzie mierzonego włókna węglowego. Wartość ta opisuje średnią szerokość włókna bez obciążania wyniku pomiarami wgłębień i wypukłości czy innymi nieregularnościami obrazu. Współczynnik wypełnienia (zwany również wypełnieniem) jest wartością bezwymiarową - współczynnikiem kształtu, który opisuje nieregularności obwodu (wypukłości i wgłębienia). W przypadku braku wypukłości i wgłębień współczynnik ten wynosi 1. Odpowiada on wartości pierwiastka ze stosunku pola powierzchni do pola wypukłego. Pole wypukłe to pole wielokata opisanego na badanym obiekcie (włóknie weglowym) poprzez linie styczne do jego boków. W przypadku obiektu z zagłębieniami ku środkowi pole wypukłe jest większe od pola powierzchni.

Wyniki i ich omówienie

W TABELACH I, II i III podano wyniki wymiaru najkrótszego, obliczonej szerokości i współczynnika wypełnienia włókien węglowych.

Wahania wielkości przeciętnej, mediany wymiaru najkrótszego w pierwszych dwóch tygodniach były nieznamienne. Wymiar najkrótszy włókien węglowych, wynoszący w 1 tygodniu po implantacji przeciętnie 3.8 µm wykazywał w tygodniu drugim nieznamienny spadek do przeciętnej 3.08µm. W kolejnych dwóch tygodniach następował natomiast wzrost tej wartości, i tak w trzecim tygodniu osiągał 4.62 µm, a w tygodniu czwartym 5.39 µm. W tygodniu szóstym zaznaczał się znamienny spadek wartości przeciętnej do 2.308 µm z następowym stopniowym lecz znamiennym wzrostem wartości aż do 6.92 µm w 24 tygodniu po implantacji. Ostatni okres obserwacyjny, 38 tydzień ponownie wykazywał spadek tej wartości. Porównanie wielkości obserwowanej w pierwszym tygodniu po implantacji z wielkością 38 tygodnia wskazuje na znamienny spadek przeciętnego wymiaru najkrótszego o blisko 1.55 µm, czyli 40% wielkości początkowej. Także analiza korelacji wymiaru najkrótszego z czasem obserwacji wskazywała na znamienną, lecz słabą tendencję spadkową (R Spearmana - 0.036; p<0,001).

Obliczona szerokość włókien węglowych wykazywała podobne zmiany: nieznamienny spadek w drugim tygodniu po implantacji, znamienny wzrost w trzecim i dalszy już nieznamienny wzrost w czwartym tygodniu, po czym obserwowano znamienny spadek w tygodniu szóstym ze wzrostem w 8 i 24 tygodniu i ostatecznie ze znamiennym spadkiem. Porównanie pierwszego i 38 tygodnia wskazywały na znamienny spadek obliczonej szerokości z przeciętnej 2.94 µm do 1.54 µm, czyli o 48%. Analiza korelacji z czasem obserwacji także wykazała znamienną, lecz słabą tendencję spadkową (R Spearmana - 0.033; p<0,004). The changes of breath median values in the first weeks were insignificant. Breath of carbon fibres in 1 week was 3.8 μ m and decreased insignificantly in the 2 week to 3. 08 μ m. In the next weeks this parameter increased to 5. 39 μ m in 4 week. In 6 week significant decreasing was observed to the value of 2. 308 μ m and then increasing to 6. 92 μ m in 24 weeks of observation. In the last observation period 38 weeks after surgery we noticed significant decrease about 1. 55 μ m (40 % of initial value). The correlation analysis of breath parameter showed significant but weak tendency of decreasing (R Spearman value – 0.036, p< 0.001).

The measurements changing of curve length of carbon fibres were similar to those observed in breath. The comparison between 1 and 38 weeks showed significant decreasing from value 2.94 μ m to 1.54 μ m (48% of initial value). Analysis of correlation with observation time showed significant, but weak tendency to decreasing (R Spearman – 0.033, p<0.004). Similar results were stated in other publications [1,4,5]. Fullness factor showed similar to results observed in studies Dąbrówka and Zembala periodical changes of values – alternately increasing and decreasing [1,5].

Our results showed that carbon fibers undergo degradation, described finally as decreasing of the breath.

Piśmiennictwo

References

[1] Dąbrówka K., Zembala-Nożyńska E., Nożyński J., Błażewicz S.: Statystyczna analiza morfometryczna wartości geometrycznych włókien węglowych podczas procesu biodegradacji nici węglowych wszczepionych królikom w tkanki okołożuchwowe. Inżynieria Biomateriałów 2002, 21, 15-21.

[2] Kuś W.M., Górecki A., Strzelczyk P., Świąder P.: Carbon fiber scaffolds in the treatment of cartilage lesions. Ann Transplant 1999, 4, 3-4, 101-102.

[3] Nałęcz M. (red.): Biocybernetyka i inżynieria biomedyczna 2000. Tom 4 Biomateriały. Akademicka Oficyna Wydawnicza EXIT, Warszawa 2003.

[4] Ścierski W., Lange D., Nożyński J., Zembala-Nożyńska E., Namysłowski G., Błażewicz M., Pilch J., Bajor G.: Morfometryczna analiza wczesnego okresu biodegradacji implantów włókniny węglowej wszczepionych w ścianę tchawicy. Inżynieria Biomateriałów 2003, 30-33, 17-19.

[5] Zembala-Nożyńska E., Nożyński J., Sabat D., Dąbrówka K., Cieślik T., Szczurek Z.: Statystyczna analiza parametrów geometrycznych włóknin węglowych użytych do wypełnienia ubytków tkanki kostnej królików. Inżynieria Biomateriałów 2002, 20, 21-29.

50

• •

Podobne wyniki obserwowano w badaniach innych autorów, gdzie stwierdzano stopniowy spadek wymiaru najkrótszego i obliczonej szerokości włókien węglowych wraz z upływającym czasem obserwacji [1,4,5]. Współczynnik wypełnienia wykazywał znamienne wahania pomiędzy wszystkimi badanymi okresami, przyjmując największą wartość przeciętną w szóstym tygodniu, co sugeruje pewną stabilizację procesu zmian geometrycznych w tym tygodniu. Po tym okresie następowały wahania wartości i tendencja do stabilizacji w tygodniu 38. Proces ten świadczy o utracie nierówności obwodu włókien, wyraźnym w 6 i 38 tygodniu obserwacji. Współczynnik wypełnienia wykazywał podobnie jak w pracach Dąbrówki i Zembali [1,5] cykliczne wahania (naprzemienny wzrost i spadek) oraz wyraźną korelację z czasem prowadzonych obserwacji.

Powyższe wyniki wskazują na zjawisko degradacji włókien węglowych, polegające finalnie na spadku ich szerokości rozumianej bądź jako obliczona szerokość bądź tez jako wymiar najkrótszy.

GĘSTOŚĆ OPTYCZNA – UŻYTECZNY WSKAŹNIK OCENY BIOMORFOZY IMPLANTU WĘGLOWEGO TCHAWICY

Wojciech Ścierski*, Jerzy Nożyński**, Ewa Zembala-Nożyńska*, Grzegorz Namysłowski*, Marta Błażewicz****, Jan Pilch*, Krzysztof Helewski*****

*Katedra i Oddział Kliniczny Laryngologii Śląskiej Akademii Medycznej w Zabrzu **Pracownia Histopatologii, Śląskie Centrum Chorób Serca w Zabrzu

***Katedra i Zakład Patomorfologii Klinicznej Śląskiej Akademii Medycznej w Zabrzu

****Katedra Biomateriałów AGH w Krakowie *****Katedra Histologii i Embriologii w Zabrzu, Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach e-mail: wojscier@mp.pl

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),51-53]

Wstęp

Jedną z tendencji rozwojowych współczesnej medycyny jest dążenie do ujmowania badanej cechy cyfrą odzwierciedlającą nasilenie zmiany. Umożliwia to rezygnację z klasyfikowania cech jakościowych na rzecz pomiaru ilościowego. W ostatnich latach w diagnostyce wielu chorób podjęto próbę wykorzystania możliwości komputerowej analizy obrazu do oceny komórek i tkanek. Komputerowa analiza obrazu (morfometria) jąder komórkowych była przedmiotem badań w stanach chorobowych takich narządów jak nerka, żołądek, jajnik, jama nosowa, gruczoł tarczowy i krokowy oraz krtań [2]. Średni stopień szarości jest parametrem morfometrycznym bardzo często wykorzystywanym do oceny komórkowej. Zastosowanie tego parametru do badania włókien węglowych umożliwia ocenę gęstości optycznej materiału. Zakładając, iż wszczepione włókna węglowe pod wpływem działania czynników biologiczno-chemicznych i mechanicznych ulegają stopniowej biodegradacji po wszczepieniu ich do żywego organizmu postanowiono ocenić zmianę gęstości optycznej włókien wykorzystując do tego celu średni stopień szarości.

OPTICAL DENSITY – USEFUL FACTOR OF TRACHEAL CARBON IMPLANT BIOMORPHOSIS EVALUATION

Wojciech Ścierski*, Jerzy Nożyński*, Ewa Zembala-Nożyńska*, Grzegorz Namysłowski*, Marta Błażewicz****, Jan Pilch*, Krzysztof Helewski*****

*Department of Otorhinolaryngology, Silesian Medical University, Zabrze,

**DEPARTMENT OF HISTOPATHOLOGY, SILESIAN CENTER FOR HE-ART DISEASES, ZABRZE,

*** CHAIR AND DEPARTMENT OF CLINICAL PATHOMORPHOLOGY, SILESIAN MEDICAL UNIVERSITY, ZABRZE

**** DEPARTMENT OF BIOMATERIALS, AGH-UST, CRACOW

*****DEPARTMENT OF HISTOLOGY AND EMBRYOLOGY, SILESIAN MEDICAL UNIVERSITY, ZABRZE

E-MAIL: WOJSCIER@MP.PL

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),51-53]

Introduction

During the last years morphometry was used to computer image analysis of cells and tissues in many diseases. A lot of authors described the morphometrical features of the kidney, stomach, ovary, nasal cavity, larynx, thyroid glands disorders [2]. The mean grey level is one of the morphometrical parameters often applied to evaluation of the cells. An application of mean grey level in evaluation of carbon fibers makes possible assessment of biomaterial optical density. We assumed that implanted carbon fibers undergo gradually degradation within the living organism. Therefore we studied the changing of optical density using the mean grey level.

Material and methods

The mean grey level of carbon fibres implanted in the trachea of experimental animals (sheep) as a 3 cm long prosthesis was assessed. The tracheal implant was built from the composite material. Tracheal implant was constructed with one layer of carbon tissue and five layers of carbon felts as well as 5 carbon fibres rings. Carbon fibres in the form of unwoven fabric and woven fabrics were immersed in liquid resin solution followed by drying process to remove the

52 Materiał i metodyka

W celu zbadania zmian gęstości optycznej włókien węglowych, które mogą być miernikiem ich biodegradacji oceniono cylindryczne implanty tchawicy wykonane z materiału kompozytowego, które wszczepiono zwierzętom doświadczalnym (owcom). Materiał kompozytowy zbudowany był z jednej warstwy włókniny węglowej, pięciu warstw tkaniny węglowej oraz pięciu pierścieni wykonanych z włókien węglowych, które stanowiły wzmocnienie implantu. Wszystkie elementy nasycone były żywicą polisulfonową. Po uśmierceniu zwierząt w 1, 2, 3, 4, 6, 8, 24 i 36 tygodniu z materiału tkankowego wykonywano preparaty obejmujące zarówno fragment implantu jak i tchawicy. Preparaty utrwalano w 10% zbuforowanej formalinie. Tkanki poddawano rutynowej obróbce histologicznej zatapiając je w parafinie. Następnie wykonano preparaty histologiczne o grubości 5 um skrawając je przy użyciu mikrotomu Reichert 2035 BIOCUT z nożami jednorazowymi. Preparaty barwiono hematoksyliną i eozyna. Tak przygotowane preparaty histologiczne oceniano pod powiększeniem mikroskopowym 500 x przy użyciu systemu analizy obrazu Quantimet Color Option Leica ®. Detekcję włókien węglowych prowadzono wykorzystusolvent. After 1, 2, 3, 4, 6, 8, 24 and 36 weeks, the animals were sacrificed and the trachea with the implanted carbon fragment were routinely histologically processed for further microscopically image analysis. The 5 um sections were stained with hematoxylin and eosin. The mean grey level and thereby optical density of carbon fibers, observed at the magnification of 500 x, was evaluated with the aid of image analysis system Quantimet Color Option. The carbon fibers were detected by means of the "Auto-detect" function witch reveals exclusively the most differentiated elements of the image.

The mean grey level reflected optical density. The calibration was made with the assumption that black body (e.g. graphite or carbon black particles) has the grey value of 0, and the totally transparent body (microscopic cover glass) the value of 256. In the case of carbon structures the grey value zero corresponds to graphite or carbon particles while the values higher indicate loosening of the carbon structure.

The statistical analysis comprised: A. Goodness of fit of the morphometrical value distribution with the normal distribution. B. Calculation of the descriptive statistics of a given parameter at different observation period. C. Comparison of consecutive weeks of the experiment by means of tests suit-

jąc funkcję "Auto-detect" uwidaczniającą jedynie najbardziej z r ó ż n i c o w a n e elementy obrazu. Ś r e d ni stopień szarości odzwierciedla gestość op-

tyczną włó-

kien węglo-

wych. Ciało

idealnie

czarne (dro-

biny grafi-

tu, sadzy),

nieprze-

puszczalne

dla światła

posiada



able for the stated distribution. It has been assumed that the statistically significant results were those with the probability p<0.05. The statistical analysis was carried out on the basis of software SPSS for Windows.

Results and its discussion

The variations of the average degree of the grey are presented in the TABLE I. TABLE

RYS.1. Rozkład zależności średniego stopnia szarości włókien węglowych od czasu obserwacji.

FIG.1. Comparison carbon fiber of mean grey level and time of observation.

Grupa tydzień	Liczba pomiarów	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Kwartyl dolny	Kwartyl górny	Odchylenie standardowe
Group week	Number of measure	Mean	Median	Minimum	Maximum	25 perc lower	75 perc upper	Standard deviation
1	629	41.5839	38.371	0	82.833	30.921	52.1	12.4253
2	897	29.7820	29.798	6.416	88.8	24.4	34.6	8.8780
3	2045	26.847	26.197	0	98.857	20.722	31.538	10.6538
4	416	32.0862	31.8828	25.1173	39.1266	30.111	33.8015	2.7424
6	975	33.5932	33.8333	21.4666	42.0666	31.4456	36.3333	3.7534
8	658	33.4798	33.6305	22.0833	41.4283	31.5183	36.141	3.6002
24	489	33.2548	33.1596	25.7616	40.4046	31.5783	34.9936	2.7662
38	1239	33.5334	33.7876	21.625	41.3703	31.7666	35.4833	2.9488

TABELA I. Średni stopień szarości włókien węglowych implantu wszczepionego w ścianę tchawicy. TABLE I. Average grey level of carbon fibers in different observation period.

wartość szarości równą 0. Ciało idealnie przepuszczalne (szkiełko podstawowe, niezabarwione tło preparatu) - 256. Pośrednie stopnie szarości (pomiędzy 0 a 256) wskazuja na rozluźnienie struktury węglowej. Analiza statystyczna wyników obejmowała: A. Określenie zgodności rozkładu wartości morfometrycznych z rozkładem normalnym. B. Przedstawienie statystyki opisowej danego parametru dla poszczególnego tygodnia obserwacji. Zakładając wstępnie typową dla pomiarów morfometrycznych niezgodność rozkładu danych z rozkładem normalnym nie podawano wartości błędu standardowego zamieniając go wartością 25 (kwartyla dolnego) i 75 (kwartyla górnego) percentyla. C. Porównanie pomiędzy sobą poszczególnych tygodni obserwacji wykorzystując nieparametryczny test Manna-Whitneya. Za wyniki statystycznie znamienne przyjęto wyniki o prawdopodobieństwie p < 0.05. Analizę prowadzono w oparciu o oprogramowanie statystyczne SPSS for Windows.

Wyniki i ich omówienie

Wyniki pomiarów średniego stopnia szarości podano w tabeli I. W tabeli II przedstawiono porównanie wartości tego parametru w poszczególnych tygodniach obserwacji.

Badając wpływ czasu na wartość średniego stopnia szarości od czasu obserwacji stwierdzono istotną statystycznie zależność (R Spearmana 0.20025, p < 0.001).

Wahania średniego stopnia szarości wskazują na znamienny spadek od pierwszego do trzeciego tygodnia, po czym następowała znamienna, lecz nieznaczna tendencja wzrostowa. Analiza korelacji wykazywała najsilniejszy związek tej wartości z czasem obserwacji (R=0,2; p<0,001). Gęstość optyczna włókien węglowych wykazywała znamienne cechy ich zagęszczania w pierwszych trzech tygodniach obserwacji. Świadczy o tym spadek wartości średniego stopnia szarości z 41 do 26. W kolejnych tygodniach od 4 do 38 zaznaczało się ich nieznaczne, ale istotne rozrzedzenie (wzrost średniej szarości do 33) i tendencja utrzymywania wartości stabilnej.

Badaniem biodegradacji materiałów węglowych zajmowano się w wielu pracach [1, 3-5]. W pracy Zembali i in. analizowano średni stopień szarości jako czynnik świadczący o degradacji włókniny węglowej wszczepionej w kości królika, porównując ją z nićmi węglowymi implantowanymi w tkanki miękkie. Stwierdzono mniejsze wahania gęstości optycznej w przypadku niepracującej mechanicznie włókniny w porównaniu z nicią węglową ulegającą naprężeniom podczas procesów żucia. Wysunięto wniosek, iż na proces biodegradacji włókien węglowych wpływają nie tylko zjawiska biologiczne, ale również mechaniczne [3].

W naszych badaniach włókna węglowe w początkowym okresie obserwacji ulegały stopniowemu zagęszczeniu a następnie rozrzedzeniu i stabilizacji. Proces ten spowodowany był zarówno oddziaływaniem biologiczno-chemicznym jak i wpływem zjawisk mechanicznych, jakim poddawana jest proteza tchawicy.

Piśmiennictwo

[1] Dąbrówka K., Nożyński J., Zembala-Nożyńska E., Błażewicz S.: Średni stopień szarości – obiektywny parametr biodegradacji włókien węglowych. Inżynieria Biomateriałów 2001, 13, 3-8.

[2] Namysłowski G., Ścierski W., Nożyński J.: Charakterystyka zależności szarości zintegrowanej jądra komórkowego od innych parametrów kariometrycznych w stanach przedrakowych i raku krtani. Otolaryngol. Pol., 2001, 55, 2, 161-167.

[3] Zembala-Nożyńska E., Nożyński J., Sabat D., Dąbrówka K., Cieślik T., Błażewicz S., Szczurek Z.: Porównanie średniego stopnia szarości w procesie biodegradacji włókniny i nici węglowej, użytych do różnych zespoleń tkankowych. Inżynieria Biomateriałów 2001, 4, 17-19, 58-59.

Porównywane grupy Compared groups	Znamienność (p) Mann-Whitney test (p)
1 tydzień vs 2 tydzień week 1 vs week 2	0.01
2 tydzień vs 3 tydzień week 2 vs week 3	0.00001
3 tydzień vs 4 tydzień week 3 vs week 4	0.01
4 tydzień vs 6 tydzień week 4 vs week 6	0.00001
6 tydzień vs 8 tydzień week 6 vs week 8	0.49
8 tydzień vs 24 tydzień week 8 vs week 24	0.03
24 tydzień vs 38 tydzień week 24 vs week 38	0.01
1 tydzień vs 38 tydzień week 1 vs week 38	0.00001

TABELA II. Porównanie poszczególnych tygodni obserwacyjnych średniego stopnia szarości włókien węglowych włókniny wszczepionej w ścianę tchawicy.

TABLE II. Comparison of the mean grey levels of the carbon fibres in different observation period.

Il showed the comparison between values of the grey level in the particular weeks of observation.

We stated significant correlation between the mean grey level values and time of observation (R Spearman 0.20025, p<0.001). The changes of average grey level showed significant decreasing from 1 to 3 weeks of observation. From 4 week followed significant, but small tendency to increasing. The correlation analysis showed the highest relationship between value of grey level and time of observation (R=0.2, p<0.001).

The optical density of carbon fibres showed significant features of their condensation in the first three weeks of observation. It corresponds to decreasing mean grey levels from 41 to 26. In the next weeks (from 4 to 38) we observed loosening of optical density (increasing of average grey level to 33) and tendency to preservation of stable value.

The problem of carbon materials degradation within the living organisms was the study subject in many publications [1, 3-5]. Zembala et al studied mean grey level of carbon cloth (used as a filling of the experimental osseous lesions in the rabbit mandibles) and carbon thread (implanted in perimandibular soft tissues). The results pointed out to the significantly smaller grey levels in the cases of the carbon cloth (no working mechanically) with comparison to carbon thread (working mechanically during the mastication). They concluded that the mean grey level reflects not only the time role, but also the biomechanical process [3].

References

[4] Zembala-Nożyńska E., Nożyński J., Sabat D., Dąbrówka K., Cieślik T., Błażewicz S., Szczurek Z.: Porównanie średniego stopnia szarości w procesie biodegradacji włókniny i nici węglowej, użytych do różnych zespoleń tkankowych. Inżynieria Biomateriałów 2001, 4, 17-19, 58-59.

[5]. Zembala-Nożyńska E., Nożyński J., Sabat D., Dąbrówka K., Cieślik T., Szczurek Z.: Analiza średniego stopnia szarości w procesie biodegradacji włóknin węglowych. Inżynieria Biomateriałów 2002, 20, 15-21. 53

. . . .

OCENA PORÓWNAWCZA WŁAŚCIWOŚCI BIOLOGICZNYCH CZYSTEGO I WZMOCNIONEGO WŁÓKNAMI WĘGLOWYMI KOPOLIMERU P(LLA/GLA) PO WSZCZEPIENIU DO ŻUCHWY I TKANEK MIĘKKICH KRÓLIKÓW

Magdalena Cieślik*, Daniel Sabat*, Agata Cieślik-bielecka***, Marek Adwent***, Grzegorz Bajor***, Paulina Kłapcińska*, Tadeusz Cieślik*** * Katedra I Zakład Materiałoznawstwa Stomatologicznego Śam, Bytom

** KATEDRA I ZAKŁAD PATOMORFOLOGII ŚAM, ZABRZE

*** I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ ŚAM, ZABRZE

****KATEDRA CHIRURGII DZIECIĘCEJ ŚAM, BYTOM

Streszczenie

Celem pracy była analiza porównawcza wybranych właściwości biologicznych czystego i wzmocnionego włóknami węglowymi kopolimeru glikolidu z laktydem. Badane materiały wszczepiono w żuchwę i tkanki miękkie królików i oceniano ich zachowanie pod kątem klinicznym, radiologicznym i histopatologicznym. Otrzymane rezultaty badań wykazały, iż rany kostne w obecności kopolimeru z włóknami węglowymi znacznie szybciej ulegają regeneracji niż w obecności czystego kopolimeru. Rozpoczęcie procesu degradacji obu materiałów zaobserwowano od 6 tygodnia doświadczenia. W żadnym z wykonanych badań nie stwierdzono negatywnego (szkodliwego) wpływu produktów rozpadu badanych materiałów na tkanki otaczające i detoksykacyjne narządy wewnętrzne.

Słowa kluczowe: biomateriały, polimery biodegradowalne, kopolimer P(LLA/GLA), włókna węglowe, regeneracja tkanki kostnej, badania na zwierzętach [Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),54-57]

Wprowadzenie

Dobra biozgodność poliglikolidu i jego kopolimerów powoduje ciągły wzrost zainteresowania tymi materiałami w codziennej praktyce klinicznej [1,2,3]. Stosuje się je do wytwarzania biodegradowalnych implantów w postaci śrub, płytek czy gwoździ chirurgicznych, a także zaopatruje się nimi uszkodzenia niektórych organów wewnętrznych [4, 5,6,7]. Kopolimery glikolidu z laktydem stosowane są również często jako nośniki leków w procesach ich kontrolowanego uwalniania do organizmu [8, 9]. Duże znaczenie odgrywają ponadto w inżynierii tkankowej jako podłoża dla nowo powstających tkanek oraz w inżynierii genetycznej [6,10,11,12].

Z uwagi, iż są to materiały termoplastyczne możliwe jest wytwarzanie z nich metodami wtrysku czy wytłaczania

In our study carbon fibres in the initial period of experiment gradually condensed, next weakened and stabilized. This process was caused by influence of several biological, chemical as well as mechanical factors on the tracheal prosthesis.

COMPARATIVE VALUATION OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF PURE AND REINFORCED BY CARBON FIBERS P(LLA/GLA) CO-POLYMER AFTER IMPLANTATION IN RABBITS MANDIBLE AND SOFT TISSUES

Magdalena Cieślik*, Daniel Sabat*, Agata Cieślik-Bielecka**, Marek Adwent**, Grzegorz Bajor***, Paulina Kłapcińska*, Tadeusz Cieślik*** * Department & Section of Stomatological Materials Science of Silesian Medical Academy, Bytom ** Department Of Pathomorfology of Silesian Medical Academy, Zabrze *** I Department and Clinic of Oral and Maxillofacial Surgery of Silesian Medical Academy, Zabrze *** Department of Children Surgery

OF SILESIAN MEDICAL ACADEMY, BYTOM

Abstract

The main purpose of this investigation was comparison of some biological properties of pure and reinforced by carbon fibers lactide/glycolide co-polymer. The research of both materials were carried out on rabbits. The findings subjected to clinical, radiological and histopathological estimation. The osseous wounds filled by lactide/glycolide co-polymer with carbon fibers regenerate faster then its filled by pure co-polymer. The beginning of degradation process for both materials were started from 6 week of examination. In all made up investigations it wasn't any negative (harmful) influence of their degradation on surrounding tissues and internal organs.

Keywords: biomaterials, biodegradable polymers, lactide/glycolide co-polymer, carbon fibers, osseous tissue regeneration, experiments on animals [Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),54-57]

Introduction

Good biocompatibility of polyglycolide and its copolymers is the reason of the observed growing interest of these materials in clinical practice [1, 2, 3]. They are used as biodegradable implants shaped into screws, plates or surgical nails and also as dressing for the wounds of some internal organs [4,5,6,7]. The lactide/glycolide co-polymers are also often used as drug carries for a controlled drug release in human body [8, 9]. They are of great importance as the scaffolds in tissue engineering or genetic engineering [6,10,11,12].

Considering they are thermoplastic materials it is possible to shape them by injection moulding to obtain the articles for medical applications. However, they have relatively low mechanical parameters, which essentially limits the applications to the regions where it is not necessary that they bear wyrobów przeznaczonych dla medycyny. Niewątpliwie kopolimery te posiadają stosunkowo słabe parametry wytrzymałościowe, co w zasadzie ogranicza zakres ich użyteczności w medycynie do przypadków, gdzie nie są narażone na przenoszenie znacznych obciążeń mechanicznych [13]. Poszerzenie pola aplikacji tych materiałów do wszczepów podporowych czy stabilizujących wiąże się z tworzeniem kopolimerów, które dodatkowo są wzmacniane różnego rodzaju napełniaczami pochodzenia naturalnego czy syntetycznego. Przykładem mogą tu być włókna węglowe [14,15] czy włókna wykonane z tego samego materiału co matryca polimerowa (materiały "samowzmacniające") [16], a także wpływające głównie na bioaktywność powstałego z ich udziałem kompozytu bioszkła [17] czy hydroksyapatyt (HA) [18,19].

Materiał i metody

W pracy oceniano i porównywano wybrane właściwości biologiczne kopolimeru glikolidu z laktydem - P(LLA/GLA) oraz jego kompozytu z włóknami węglowymi - P(LLA/ GLA)+CF. Kopolimer został zsyntetyzowany w obecności inicjatora o stosunkowo niskiej toksyczności – acetyloacetonianu cyrkonu [20]. Próbki do badań przygotowano w postaci walców o średnicy 3,2 mm i poddano sterylizacji w autoklawie.

Do badań użyto 56 królików rasy mieszanej, różnej płci i wadze od 2600–3200 gramów, które podzielono na dwie równe grupy – po 28 zwierząt w każdej.

Do bocznej powierzchni żuchwy docierano cięciem u jej podstawy po stronie prawej. Frezem wiertarki klinicznej wykonano kanały kostne o średnicy 3.2 mm oraz głębokości około 4.5 mm. W tak wykonane ubytki wciskano uprzednio przygotowane próbki. W I grupie były one wykonane z P(LLA/GLA), a w II z kompozytu P(LLA/GLA)+CF.

Ponadto w obu grupach, po wygoleniu sierści wzdłuż kręgosłupa lędźwiowego zwierząt, nacięto skórę i uformowano kieszeń w tkance podskórnej i mięśniach lędźwiowych, gdzie także umieszczono przygotowane próbki. Rany w okolicy podżuchwowej i lędźwiowej zaszywano warstwowo Dexonem.

U wszystkich zwierząt wykonano obserwacje kliniczne gojenia ran, a po ich zabiciu badania radiologiczne w 7 i 21 dobie oraz w 6,12,24 i 48 tygodniu doświadczenia, a także histopatologiczne 7, 14 i 21 dobie oraz w 6, 12, 24 i 48 tygodniu doświadczenia. Badano również narządy wewnętrzne zwierząt doświadczalnych (wątrobę i nerki).

Wyniki i dyskusja

Obrazy radiologiczne z kompozytem wykazały, że już po 21 dobie doświadczenia pojawiło się przejaśnienie okalające wypełniony nim ubytek. Był to dowód na toczący się proces tworzenia tkanki kostnej. Po 12 tygodniu praktycznie cały ubytek pokryty był nowo powstałą tkanką kostną (brak jakiegokolwiek przejaśnienia). Po 24 tygodniu obserwacji pojawił się wyraźny cień świadczący o obecności bardziej zmineralizowanej tkanki kostnej w miejscu kanału. Proces kościotworzenia w przypadku czystego kopolimeru glikolidu z laktydem przebiegał wolniej. Zacienienie zaobserwowano dopiero po 12 tygodniu doświadczenia, a nadmierna mineralizacja w postaci intensywnegozacienienia na obwodzie ubytku była obecna po 48 tygodniach badań.

Obrazy histopatologiczne bez wątpienia potwierdzają badania radiologiczne. W przypadku kopolimeru P(LLA/ GLA)+CF ujawniły po 21 dobie obserwacji obecność beleczek kostnych bez cech aktywności osteoblastycznej przylegających do tkanki łącznej pokrywającej kanał. W tym significant loads [13]. Increase of application possibility of these materials to supporting and stabilizing elements is connected with composition of co-polymers which are reinforced by different natural or synthetic fillers: carbon fibers [14,15], fibers made of this same material what polymer matrix (self-reinforced materials) [16] or bioactive bio-glass [17] or hydroxyapatite [18,19].

Material and methods

In this work the selected biological properties of lactide/glycolide co-polymer - P(LLA/GLA) and his composite with carbon fibres - P(LLA/GLA)+CF were estimated and compared. The synthesis of co-polymer was done by use to without any toxic additives a new initiator – acethyloacetoniate zirconium [20]. Specimens to the research were prepared in the form of 3,2 mm diameter cylinders and sterilized in the autoclave.

The experimental study was performed on 56 rabbits, both sex and weight between 2600-3200 grams which were divided into equal parts – 28 animals in each group.

In the first stage of surgery the flank of mandible on the right side was exposed and in this place the canals were done with 3,2 mm diameter bur. Then the canals were filled with glycolide-lactide co-polymer (I group) and its composite with carbon fibres (II group).

In the second stage of surgery under skin on the left side of backbone was made pocket however on the right side separated the muscles of the back. Implants were placed in the both holes. In the all cases Dextron was used to wounds suture.

For all animals healing of wounds clinical observations were carried out. Besides, after the rabbits were killed, the radiological (in 1,3,6,12,24 and 48 week of examination) and histopathological investigations (in 1,2,3,6,12,24 and 48 week of examination) were performed. It was investigated internal organs (kidney and liver) of the animals, too.

Results and discussion

For composite the radiological X-ray pictures showed that already after 3 week of experiment it was appeared round alight surrounding the bone defect. It was proof the regeneration of bone tissue was not finish. After 12 week almost the whole defect was covered with a new osseous tissue (lack of any alight). After 24 week of observation it was appeared significant shade what bore testimony about existence of intensively mineralized bone tissue in the place of bone canal. The formation of osseous tissue in the case of pure glycolide-lactide co-polymer was following slower. The shade was observed not before than after 12 week of experiment and excessive mineralization in the form of intensively shade around canal was observed after 48 week of investigations.

The histopathological pictures confirm doubtless the radiological investigations. After 3 week of observation the examinations showed for P(LLA/GLA)+CF co-polymer presence of adjacent to connective tissue osseous trabeculas without osteoblasts. In this same period of study for pure co-polymer the osseous trabeculas indicated features of cellular activity alive. There were a lot of osteoblasts on their surface. In case of II group after 6 weeks of experiment only it were present a few, single osseous trabeculas which were surrounded with osteoblasts, whereas in case of I group it was observed a lot of osteoblasts (only borders of defect were covered with mature osseous tissue). For composite already after 12 weeks of examination the bone defect was filled with mature bone tissue without osteogenic activity, which

samym okresie w obecności czystego kopolimeru beleczki kostne wykazywały cechy żywej aktywności komórkowej, na ich powierzchni znajdowały się liczne osteoblasty. Po 6 tygodniach obserwacji w grupie II obecne były tylko nieliczne, pojedyncze beleczki kostne obrzeżone osteoblastami, podczas gdy w grupie I nadal obserwowano aktywność osteoblastyczną (tylko brzegi kanału pokryte były dojrzałą tkanką kostną). W przypadku kompozytu już po 12 tygodniach kanał kostny wypełniała dojrzała tkanka kostna bez cech aktywności kościotwórczej, która w dalszych okresach badawczych rozrastała się i równocześnie przerastała pojedyncze włókna węglowe (RYS.1). Analizując czysty kopolimer stwierdzono, iż całkowite wygojenie i wypełnienie kanału kostnego dojrzałą kością zbitą nastąpiło po 48 tygodniach badań (RYS.2). W przypadku kompozytu obserwowano także ziarniniaki typu "około ciała obcego". Były one rozmieszczone głównie wokół pojedynczych, znajdujących się poza torebką łącznotkankową

włókien węglowych. Dało się je zauważyć do około 6 tygodnia doświadczenia. Ich pojawienie się można tłumaczyć tym, iż odłączone od ulegającego degradacji wszczepu włókna węglowe uległy przemieszczeniu i rozpadowi na mniejsze fragmenty, a to spowodowało spotęgowaną komórkową reakcję obronną.

W badanych narządach wewnętrznych (nerki i wątroba) nie wykazano żadnych zmian patologicznych związanych z zastosowanymi wszczepami.

Podsumowanie

Ocena porównawcza czystego i wzmocnionego włóknami węglowymi kopolimeru glikolidu z laktydem wykazała, że rany kostne w obecności kompozytu szybciej ulegają regeneracji niż w obecności kopolimeru P(LLA/GLA). Obecność włókien węglowych powoduje bardziej aktywną odpowiedź tkankową, przejawiającą się pobudzeniem tkanki łącznej do szybszego i intensywniejszego tworzenia właściwej tkanki kostnej. Ma to wpływ na lepszą integrację wytworzonych z ich zawartością wszczepów z tkanką żywą oraz przyspieszenie jej odnowy.

Rozpoczęcie procesu degradacji obu materiałów zaobserwowano od 6 tygodnia doświadczenia, co potwierdziły obrazy histopatologiczne. W żadnym z wykonanych badań nie stwierdzono negatywnego (szkodliwego) wpływu produktów rozpadu badanych materiałów na tkanki otaczające i detoksykacyjne narządy wewnętrzne.

Podsumowaniem wyników badań może być stwierdzenie, że oba badane materiały odznaczają się dobrą biozgodnością i w zadawalający sposób mogą posłużyć jako biomateriały do regeneracji zarówno tkanki kostnej jak i tkanek miękkich.

Piśmiennictwo

[1] Bajor G., Adwent M., Cieślik-Bielecka A., Starzak P., Proszek M., Chłopek J., Sabat D., Cieślik T.: Wczesny okres obserwacji bioresorbowalnego kompozytu kopolimeru P(LLA/GLA) wprowadzonego w kość udową królika – badania doświadczalne. Inż. Biomat., 2004, 38-42, 228-231.

[2] Bajor G., Adwent M., Cieślik-Bielecka A., Starzak P., Proszek M., Sabat D., Cieślik T.: Sześciotygodniowy okres obserwacji wszczepów P(LLA/GLA)+CF wprowadzonych w kość udową królika. Inż. Biomat., 2004, 38-42, 231-234.

[3] Cieślik-Bielecka A., Adwent M., Proszek M., Bajor G., Sabat D., Cieślik T.: Ocena wstępna kopolimerów P(LLA/GLA)



RYS.1. Grupa II-12 tydzień: Dojrzała tkanka kostna w kanale bez cech aktywności kościotwórczej (H.E.,100x). FIG.1. II group-12 week: The mature osseous tissue without osteogenic activity (H&E, 100x). RYS.2. Grupa I-48 tydzień: Kanał wypełniony przez dojrzałą kość zbitą bez cech aktywności osteoblastycznej (H.E.,200x). FIG.2. I group-48 week: The bone defect filled by mature compact bone without osteogenic activity (H&E,200x).

in next periods of studies in the same time was growing and outgrowing single carbon fibres (FIG.1). During analysis of pure co-polymer the research showed that total healing and filling of bone defect with mature compact bone was after 48 weeks of experiment

(FIG.2). In case of composite it observed gigantocellular foreign body granulomas, too. They were located mainly around single carbon fibres which were outside a connective tissue capsule. The gigantocellular foreign body granulomas were present to about 6 week of experiment. Their appearance is due to separated during degradation of implant carbon fibres displaced and fragmented. It caused more active defense cellular reaction.

The histopathological evaluation of kidney and liver did not demonstrate any pathological changes.

Conclusion

The comparative valuation of pure and reinforced by carbon fibers lactide/glycolide co-polimer showed that osseous wounds regenerate faster in contact with composite than P(LLA/GLA) co-polymer. The presence of carbon fibers cause more active tissue reaction which is connected with simulation of connective tissue to faster and more intensive formation of proper osseous tissue. It has bearing on better integration of implants with their contents in contact with alive tissue and acceleration its regeneration.

The beginning of degradation process for both materials were started from 6 week of examination what the histopathological pictures confirmed. In all made up investigations it wasn't any negative (harmful) influence of their degradation on surrounding tissues and internal organs.

As a summation of studies can be recognition that both materials characterize good biocompatibility and they can use as biomaterials to regeneration both osseous tissue and soft tissues.

References

wprowadzonych w tkanki miękkie i żuchwę królików nowozelandzkich. Inż. Biomat., 2004, 38-42, 238-239.

[4] Böstman O., Pihlajamäki H.: Clinical biocompatibility of biodegradable orthopeadic implants for internal fixation: a review. Biomaterials, 2000, 21(24), 2615-2621.

[5] Lajtai G., Balon R., Humer K., Aitzetmuller G., Unger F., Orthner E.: Resorbable interference screws. Histologic study 4.5 years postoperative. Unfallchirurg., 1998, 101(11), 866-875.
[6] Pamuła E., Chłopek J., Błażewicz M., Makinen K., Dobrzyński P., Kasperczyk J., Bero M.: Materiały kompozytowe z nowego

P., Kasperczyk J., Bero M.: Materiały kompozytowe z nowego biodegradowalnego kopolimeru glikolid-laktyd dla celów medycznych. Inż. Biomat., 2000, 12, 23-28.

MATERIAŁÓW

[7] Tiainen J., Soini Y., Tormala P., Waris T., Ashammakhi N.: Self-reinforced polylactide/ polyglycolide 80/20 screws take more than 1(1/2) years to resorb in rabbit cranial bone. J. Biomed. Mater. Res., 2004, 15;70B(1), 49-55.

[8] Jain R.A.: The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradable poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) devices. Biomaterials, 2000, 2475-2490.

[9] Jedliński Z., Juźwa M.: Leki cytotoksyczne na matrycach polimerowych. Nowe perspektywy w terapii nowotworów. Inż. Biomat., 2001, 17-19, 21.

[10] Abu Bakar M.S., Cheng M.H.W., Tang S.M., Yu S.C., Liao K., Tan C.T., Khor K.A., Cheang P.: Tensile properties, tension-tension fatigue and biological response of polyetheretherketone-hydroxyapatite composites for loadbearing orthopedic implants. Biomaterials, 2003, 24(13), 2245-2250.

[11] Pamuła E., Błażewicz M., Buczyńska J., Czajkowska B., Dobrzyński P., Bero M: Bioresorbowalne porowate podłoża dla inżynierii tkankowej z kopolimeru glikolidu z L-laktydem: wpływ mikrostruktury na osteoblasty in vitro. Inż. Biomat., 2003, 30-33, 95-99.

[12] Kumar M.N.V.R., Bakowsky U., Lehr C.M.: Preparation and characterization of cationic PLGA nanospheres as DNA carriers. Biomaterials, 2004, 25(10), 1771-1777.

[13] Chłopek J., Kmita G., Dobrzyński P., Bero M.: Właściwości zmęczeniowe śrub z kopolimeru P(LLA/GLA) oraz kopolimeru wzmacnianego włóknem węglowym. Inż. Biomat., 2002, 23-25, 88-90.

[14] Proszek M., Adwent M., Cieślik-Bielecka A., Bajor G., Sabat D., Cieślik T., Morawska A.: Ocena gojenia ran kostnych żuchwy królików wypełnionych kopolimerem P(LLA/GLA) wzmacnianym włóknami węglowymi. Inż. Biomat., 2004, 38-42, 242-245.

[15] Proszek M.: Gojenie ran kostnych żuchwy królików wypełnionych kopolimerem P(LLA/GLA) wzmacnianym włóknami węglowymi. Rozprawa doktorska, Śląska Akademia Medyczna, Zabrze 2004.

[16] Tiainen J., Soini Y., Tormala P., Waris T., Ashammakhi N.: Self-reinforced polylactide/ polyglycolide 80/20 screws take more than 1(1/2) years to resorb in rabbit cranial bone. J. Biomed. Mater. Res., 2004, 15;70B(1), 49-55.

[17] Kmita G., Chłopek J.: Ocena trwałości kompozytowych śrub polimerowych poddanych stałym obciążeniom w warunkach in vitro. Inż. Biomat., 2001, 17-19, 67-69.

[18] Cieślik M., Cieślik-Bielecka A., Adwent M., Sabat D., Bajor G., Cieślik T., Wysoczańska M.: Obserwacje gojenia ran kostnych żuchwy królików wypełnionych kopolimerem glikolidu z laktydem z dodatkiem hydroksyapatytu – badania wstępne, Przegląd Medyczny Uniwersytetu Rzeszowskiego, 2005, 2,

PORÓWNANIE WŁAŚCIWOŚCI BIOLOGICZNYCH CZYSTEGO I NAPEŁNIONEGO HYDROKSY-APATYTEM KOPOLIMERU GLIKOLIDU Z LAKTYDEM

Magdalena Cieślik', Agata Cieślik-Bielecka'', Marek Adwent'', Daniel Sabat''', Grzegorz Bajor'''', Paulina Kłapcińska', Markus Jan Winkler'', Tadeusz Cieślik''

KATEDRA I ZAKŁAD MATERIAŁOZNAWSTWA STOMATOLOGICZNEGO Śam, Bytom

"I Katedra i Klinika Chirurgii Szczękowo-twarzowej Śam, Zabrze

***Katedra i Zakład Patomorfologii Śam, Zabrze

****Katedra Chirurgii Dziecięcej Śam, Bytom

Streszczenie

W pracy dokonano porównania wybranych właściwości biologicznych czystego i napełnionego hydroksyapatytem kopolimeru glikolidu z laktydem. Badania przeprowadzono w warunkach dotkankowej implantacji na zwierzętach. Uzyskane w ich trakcie wyniki poddano ocenie klinicznej, radiologicznej i histopatologicznej. Otrzymane rezultaty badań wykazały, iż oba materiały nie wywołują negatywnych odczynów miejscowych i ogólnoustrojowych. Ponadto odnowa tkanki kostnej zarówno w styczności z kopolimerem jak i z jego kompozytem następuje wraz z jego procesem degradacji. Obecność w biomateriale aktywnego biologicznie hydroksyapatytu wpływa na przyspieszenie regeneracji tkanki kostnej w porównaniu z jego czystą postacią.

Słowa kluczowe: biomateriały, polimery biodegradowalne, kopolimer P(LLA/GLA), włókna węglowe, hydroksyapatyt, regeneracja tkanki kostnej, badania na zwierzętach

.

.

.

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),57-60]

THE COMPARISON OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF PURE AND FILLED BY HYDROXYAPATITE LACTIDE/ GLYCOLIDE CO-POLYMER

Magdalena Cieślik', Agata Cieślik-Bielecka", Marek Adwent", Daniel Sabat"'', Grzegorz Bajor"''', Paulina Kłapcińska', Markus Jan Winkler", Tadeusz Cieślik"

^{*}DEPARTMENT & SECTION OF STOMATOLOGICAL MATERIALS SCIEN-CE OF SILESIAN MEDICAL ACADEMY, BYTOM

"I DEPARTMENT AND CLINIC OF ORAL AND MAXILLOFACIAL SURGERY OF SILESIAN MEDICAL ACADEMY, ZABRZE

^{***}Department Of Pathomorfology of Silesian Medical Academy, Zabrze

****DEPARTMENT OF CHILDREN SURGERY OF SILESIAN MEDICAL ACADEMY, BYTOM

Abstract

The main purpose of this investigation was estimation of some biological properties of pure and filled by hydroxyapatite biodegradable lactide/glycolide copolymer. The studies of both materials were carried out on rabbits. The results of the researches subjected to clinical, radiological and histopathological estimation. The tested materials caused lack of local and general negative reactions. Besides the process of osseous tissue regeneration both a pure and filled by hydroxyapatite co-polymer was synchronizing with the process of their degradation. The presence of biological active hydroxyapatite influences on acceleration of osseous tissue regeneration in comparison with its pure form.

Keywords: biomaterials, biodegradable polymers, lactide-glycolide co-polymer, carbon fibers, hydroxyapatite, osseous tissue regeneration, experiments on animals

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),57-60]

Badania nad rozwojem materiałów przeznaczonych dla medycyny zmierzają w kierunku rozwiązań coraz bardziej złożonych biomateriałów, zarówno na poziomie atomowym, jak i makroskopowym. Doskonalsze pod względem właściwości biologicznych, fizyko-mechanicznych i szeroko pojętej funkcjonalności nowe rozwiązania materiałowe są następstwem połączenia rozmaitych grup materiałów. Dobór tych materiałów dokonywany jest w oparciu o założenie, że jako najlepszy traktuje się taki materiał, który generuje zminimalizowaną odpowiedź tkankową.

Poliglikolid i polilaktyd, a także kopolimery glikolidu z laktydem są uznawane za materiały o dużej zgodności biologicznej oraz znacznej biofunkcyjności. Nie wpływają rakotwórczo czy mutagennie na tkanki organizmu żywego [1,2], a ponadto przeprowadzone do tej pory liczne badania in vitro i in vivo potwierdzają, iż nie mają działania cytotoksycznego.

Wykonywane z nich wszczepy medyczne pozwalają na unikniecie związanej z dodatkowymi kosztami i powikłaniami reoperacji po zregenerowaniu się tkanek, zmniejszenie czy wręcz zaniechanie pobierania przeszczepu z innego organizmu ludzkiego czy obniżenie ryzyka występowania długotrwałych stanów zapalnych. Ogranicza się w ten sposób możliwość przeniesienia bakterii, wirusów czy chorób odzwierzęcych, a także stosowania leków immunosupresyjnych. Materiały te często stymulują tkankę do szybszej i bardziej aktywnej regeneracji niż ma to miejsce w procesach naturalnych [3].

Polimery bioresorbowalne w czystej postaci mają ograniczone zastosowanie, związane głównie z ich słabymi właściwościami mechanicznymi. Zawęża to ich użyteczność do elementów nie przenoszących znacznych obciążeń mechanicznych [4, 5]. Stosuje się je głównie do naprawy ubytków tkanek miękkich [6], jako nośniki leków w procesach ich kontrolowanego uwalniania się do organizmu żywego [7], podłoża komórkowe do hodowli tkankowej [8, 9] czy w inżynierii genetycznej [10]. Poszerzenie pola ich aplikacji wiąże się z tworzeniem kopolimerów, które dodatkowo są wzmacniane różnego rodzaju napełniaczami pochodzenia naturalnego czy syntetycznego. Przykładem mogą tu być włókna węglowe [11,12] czy włókna wykonane z tego samego materiału co matryca polimerowa (materiały "samowzmacniające") [13], a także wpływające głównie na bioaktywność powstałego z ich udziałem kompozytu bioszkła [14] czy hydroksyapatyt [15,16].

Materiał i metody

W pracy oceniano i porównywano niektóre właściwości biologiczne kopolimeru glikolidu z laktydem - P(LLA/GLA) oraz jego kompozytu z hydroksyapatytem - P(LLA/GLA)+HA. Kopolimer został zsyntetyzowany w obecności inicjatora o stosunkowo niskiej toksyczności – acetyloacetonianu cyrkonu [17]. Próbki do badań przygotowano metodą wtryskiwania w postaci walców o średnicy 3,2 mm.

Do badań użyto 56 królików rasy mieszanej, różnej płci i wadze od 2600 – 3200 gramów. Podzielono je na dwie równe grupy – po 28 zwierząt w każdej.

Cięciem u podstawy żuchwy zwierząt docierano do jej powierzchni bocznej, gdzie następnie wykonano ubytki kostne o średnicy około 3,2 mm. Dalszym etapem było wypełnienie ich kopolimerem P(LLA/GLA). Przeprowadzono to u 28 królików, które stanowiły grupę I. Długość walcowej próbki określano i docinano po uprzednim zmierzeniu głębokości nawierconego ubytku kostnego. Grupę II – stanowiło 28 królików, którym w taki sam sposób wykonano otwory w kości, a następnie wypełnione je kopolimerem P(LLA/GLA)+HA.

Introduction

The scientific research concerning progress of medical materials go to direction of more complicated biomaterials. A new perfect material solutions in respect biological, physical, mechanical properties and good usefulness are result of connection of different groups of materials. A selection of these materials is performing on the assumption that the best is material which generates the least tissue answer.

Both glycolide and lactide and their co-polymers are recognized as materials which are biological compatible and useful. They do not cause allergy and carcinogenic reactions [1,2]. Besides a lot of in vitro and in vivo research confirm they do not cause any toxic reactions, too.

The implants made up with them allow avoiding, connected with additional costs and complication, repeated surgery, decrease or giving up uptake of graft from another organism, besides decrease risk of long-lasting inflammatory reactions. It permits avoiding bacterium, viruses or animal diseases transfer, besides application of immunosuppressive medicines. These materials often stimulate a tissue to faster and more active regeneration than in case of natural processes [3].

The biodegradable polymers in pure form have finite application, connected mainly with their poor mechanical properties. That's why their usefulness is limited to elements which don't carry significant mechanical loads [4,5]. They are used to regeneration of soft tissues [6], as drugs carriers for a controlled drug release [7], as the scaffolds in tissue engineering [8, 9] or in genetic engineering [10]. The expansion of their application area is connected with co-polymers creation which additionally are reinforced by different natural or synthetic fillers. An example can be carbon fibers [11,12] or fibers made of the same material what polymer matrix (self-reinforced materials) [13], besides bioactive bio-glass [14] or hydroxyapatite [15,16].

Material and methods

In this work it was estimated and compared some biological properties of lactide/glycolide co-polymer - P(LLA/GLA) and his composite with hydroxyapatite - P(LLA/GLA)+HA. The synthesis of co-polymer was done by use to without any toxic additives a new initiator – acethyloacetoniate zirconium [17]. Specimens to the research were prepared injection method in the form of 3,2 mm diameter cylinders and sterilized in the autoclave.

The experimental study was performed on 56 rabbits, both sex and weight between 2600-3200 grams which were divided into equal parts – 28 animals in each group.

In the first stage of surgery the flank of mandible on the right side was exposed and in this place the canals were done with 3,2 mm diameter bur. Then the canals were filled with glycolide-lactide co-polymer (I group) and its composite with hydroxyapatite (II group).

In the second stage of surgery under skin on the left side of backbone was made pocket however on the right side separated the muscles of the back. Implants were placed in the both holes. In the all cases Dextron was used to wounds suture.

For all animals healing of wounds clinical observations were carried out. Besides, after the rabbits were killed, the radiological (in 1,3,6,12,24 and 48 week of examination) and histopathological investigations (in 1,2,3,6,12,24 and 48 week of examination) were performed. It was investigated internal organs (kidney and liver) of the animals, too.

Na wygolonej i zdezynfekowanej skórze grzbietu królików po obu stronach kręgosłupa lędźwiowego wykonano nacięcia. Po stronie lewej pod skórą wytworzono kieszeń, a po prawej rozwarstwiono mięśnie grzbietu. W te miejsca wprowadzono badane materiały. Wszystkie rany zaszywano warstwowo Dexonem.

U wszystkich zwierząt wykonano obserwacje kliniczne gojenia ran, a po ich zabiciu badania radiologiczne w 7 i 21 dobie oraz w 6,12,24 i 48 tygodniu doświadczenia, a także histopatologiczne 7,14 i 21 dobie oraz w 6, 12,24 i 48 tygodniu doświadczenia. Badano również narządy wewnętrzne zwierząt doświadczalnych (wątrobę i nerki).

Wyniki i dyskusja

W trakcie obserwacji klinicznych stwierdzono, iż rany pooperacyjne goiły się prawidłowo - nie zaobserwowano odczynów zapalnych czy też objawów chełbotania. Gojenie ran następowało poprzez rychłozrost i uległo zakończeniu między 10–14 dniem doświadczenia na etapie usuwania szwów. W początkowych okresach obserwacji widoczny był obrzęk w miejscu zabiegu, mniejszy w grupie I, szczególnie zaś zauważalny u zwierząt z wszczepionym kompozytem. Utrzymywał się on dla czystego kopolimeru do 3 doby, natomiast w grupie II dało się go zauważyć jeszcze po 14 dobie. Nie obserwowano w żadnej z grup rozchodzenia się ran.

Badania radiologiczne po 7 dobach wykazały w obu grupach obecność kulistego przejaśnienia w otoczeniu ubytku, przy czym w przypadku kompozytu dostrzegano już niewielkie zacienienia w jego części dystalnej. W późniejszych okresach przejaśnienie stopniowo zanikało, przybierając nieregularną, zamgloną postać. W grupie II zjawisko to nie było już dostrzegalne po 24 tygodniach obserwacji, w jego miejsce pojawiło się wyraźne zacienienie świadczące o nadmiernym kostnieniu lub nagromadzeniu się w tym miejscu hydroksyapatytu. W przypadku czystego kopolimeru całkowite zacienienie w obrębie ubytku widoczne było dopiero po 48 tygodniach badań. Było ono również nadmiernie wyraźne co także mogło świadczyć o nadmiernej w tym miejscu mineralizacji. Analizując zdjęcia radiologiczne można wnioskować, iż tkanka kostna w obecności kompozytu wcześniej i szybciej uległa procesowi regeneracji.

Badania histopatologiczne po 7 i 14 dobach ujawniły w obu grupach badawczych obecność młodej tkanki łącznej włóknistej pokrywającej ubytek. Widoczna już była bardzo żywa odbudowa tkanki kostnej. Po 21 dobach obserwacji w grupie I ilość młodych beleczek kostnych pokrytych osteoblastami w ubytku była znacznie większa niż w grupie z kompozytem. W niej bowiem obserwowano już dojrzałą tkankę kostną i jej przyleganie do wszczepu. Dojrzała tkanka kostna w grupie I pojawiła się dopiero po 6 tygodniu doświadczenia. Całkowity zanik komórek osteoblastycznych nastąpił w przypadku grupy z czystym kopolimerem po 48, a grupy z kompozytem po 24 tygodniach doświadczenia. W ostatnich okresach badawczych stwierdzono już całkowitą odbudowę tkanki kostnej. Ponadto w obu grupach obserwowano mgiełkowate złogi matrycy polimerowej, a w przypadku kompozytu dodatkowo drobiny hydroksyapatytu w świetle ubytku żuchwy. Ich obecność świadczyła o toczącym się procesie degradacji badanych materiałów. Jako, że stwierdzono ją wcześniej dla kopolimeru z hydroksyapatytem, można sądzić, iż rozpad materiału w tej grupie rozpoczął się szybciej niż w grupie z czystym kopolimerem.

Obecność badanych materiałów zarówno w tkance podskórnej jak i mięśniowej nie wywołała niepożądanych reakcji. Obserwowane w trakcie badań histopatologicznych zmiany towarzyszące odbudowie tkanek miękkich przebiegały w sposób typowy.

Results and discussion

The clinical researches proved properly healing of the post surgical wounds. There weren't noticed neither any inflammatory reactions nor fluctuation symptoms (lack of hematoma or plentiful wound secretion). It was observed the healing surgical wounds by first intention and came to an end between 10 and 14 day of examination (time of sutures removal). In the initial periods of observations it was observed inflammatory edema in the place of operation. It was smaller for I group but especially noticeable for animals with implanted composite. For pure co-polymer it was noticed to 3 day however for II group it was already observed after 14 days. For all the time of observation the wounds didn't parted.

In both groups the radiological studies after 7 days showed existence of spherical alight surrounded by bone defect, but in case of composite it was already observed small shades in the distal part of the defect. In next periods the alight gradually decreased and took on irregular, hazy form. In II group after 24 weeks of observations this phenomenon was no longer notice. In its place it appeared clear shade which was demonstrative of excessive formation of bone or presence of hydroxyapatite in this place. In case of pure co-polymer complete shading within bone defect was observed just after 48 weeks of experiment. It was excessive clear that's why was evidence of large mineralization. An analysis of X-ray pictures showed that the bone tissues in contact with composite earlier and faster regenerate.

After 7 and 14 days for both groups the histopathological investigations showed a presence of young fibrous tissue which covered a bone defect. It was noticeable very a bone tissue reconstruction. After 21 days of observation in I group an amount of covered by osteoblasts young osseous trabeculas was significant more than in the group with composite. Because for II group it was already observed mature bone tissue and its adherence to the implant. A mature osseous tissue in I group appeared just after 6 week of experiment. The complete disappearance of osteoblasts followed in case of group with pure co-polymer after 48 weeks and for group with composite after 24 weeks of investigations. In the last periods of research it already observed complete reconstruction of osseous tissue. Besides in both groups there were fragments of polymer matrix or additionally particles of hydroxyapatite (in II group) in the light of mandible defect. Their presence was evidence of lasting degradation process of tested materials. Because this process was observed earlier for co-polymer with hydroxyapatite we can suppose the material degradation in this group started faster than in group with a pure co-polymer.

The presence of tested materials both in subcutaneous and muscle tissue didn't cause any negative reactions. The accompanying soft tissues changes which were observed during histopathological investigations were proceeding in typical way.

The histopathological evaluation of kidney and liver did not demonstrate any pathological changes.

Conclusion

The research of biological properties of pure and filled by hydroxyapatite a lactide/glicolide co-polymer showed that both materials didn't cause any local and general negative reactions. Besides the regeneration of osseous tissue both in contact with co-polymer and its composite follows in the same time what its degradation. The presence of bioactive hydroxyapatite in biomaterial influences on acceleration of osseous tissue regeneration comparison with its pure form. W badanych narządach wewnętrznych (nerki i wątroba) nie wykazano żadnych zmian patologicznych związanych z zastosowanymi wszczepami.

Podsumowanie

Przeprowadzone badania właściwości biologicznych czystego i napełnionego hydroksyapatytem kopolimeru glikolidu z laktydem wykazały, iż oba materiały nie wywołują negatywnych odczynów miejscowych i ogólnoustrojowych. Ponadto odnowa tkanki kostnej zarówno w styczności z kopolimerem jak i z jego kompozytem następuje równocześnie z jego procesem degradacji. Obecność w biomateriale aktywnego biologicznie hydroksyapatytu wpływa na przyspieszenie regeneracji tkanki kostnej w porównaniu z jego czystą postacią.

Piśmiennictwo

[1] Ignatius A.A., Claes L.E.: In vitro biocompatibility of bioresorbable polymers: $poly(_{L,DL}$ -lactide) and $poly(_{L}$ -lactide-co-glycolide). Biomaterials, 1996, 17(8), 831-839.

[2] Pamuła E., Chłopek J., Błażewicz M., Makinen K., Dobrzyński P., Kasperczyk J. Bero M.: Materiały kompozytowe z nowego biodegradowalnego kopolimeru glikolid-laktyd dla celów medycznych. Inż. Biomat., 2000, 12, 23-28.

[3] Gogolewski S.: Biomateriały polimerowe, w: Biomateriały, Tom IV, W: Biocybernetyka i Inżynieria Biomedyczna 2000 pod red. M. Nałęcza, Akad. Oficyna Wyd. EXIT, Warszawa 2003.

[4] Böstman O., Pihlajamäki H.: Clinical biocompatibility of biodegradable orthopeadic implants for internal fixation: a review. Biomaterials, 2000, 21(24), 2615-2621.

[5] Kmita G., Chłopek J.: Ocena trwałości kompozytowych śrub polimerowych poddanych stałym obciążeniom w warunkach in vitro. Inż. Biomat., 2001, 17-19, 67-69.

[6] Lajtai G., Balon R., Humer K., Aitzetmuller G., Unger F., Orthner E.: Resorbable interference screws. Histologic study 4.5 years postoperative. Unfallchirurg., 1998, 101(11), 866-875.

[7] Jedliński Z., Juźwa M.: Leki cytotoksyczne na matrycach polimerowych. Nowe perspektywy w terapii nowotworów. Inż. Biomat., 2001, 17-19, 21.

[8] Abu Bakar M.S., Cheng M.H.W., Tang S.M., Yu S.C., Liao K., Tan C.T., Khor K.A., Cheang P.: Tensile properties, tension-tension fatigue and biological response of polyetheretherketone-hydroxyapatite composites for loadbearing orthopedic implants. Biomaterials, 2003, 24(13), 2245-2250.

[9] Pamuła E., Błażewicz M., Buczyńska J., Czajkowska B., Dobrzyński P., Bero M: Bioresorbowalne porowate podłoża dla inżynierii tkankowej z kopolimeru glikolidu z L-laktydem: wpływ mikrostruktury na osteoblasty in vitro. Inż. Biomat., 2003, 30-33, 95-99.

WPŁYW DOMIESZKI TYTANU NA WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE CEMENTU CHIRURGICZNEGO

Alicja Balin*, Sylwia Ziemba* Jerzy Myalski**, Jerzy Toborek***

*Katedra Mechaniki Materiałów, Politechnika Śląska, **Katedra Technologii Stopów Metali i Kompozytów, Politechnika Śląska, ***Oddział Urazowo – Ortopedyczny, Szpital Miejski w Siemianowicach Śląskich Alicja.Balin@polsl.pl

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),60-62]

Cementy chirurgiczne, które w większości są kompozy-

References

[10] Kumar M.N.V.R., Bakowsky U., Lehr C.M.: Preparation and characterization of cationic PLGA nanospheres as DNA carriers. Biomaterials, 2004, 25(10), 1771-1777.

[11] Proszek M., Adwent M., Cieślik-Bielecka A., Bajor G., Sabat D., Cieślik T., Morawska A.: Ocena gojenia ran kostnych żuchwy królików wypełnionych kopolimerem P(LLA/GLA) wzmacnianym włóknami węglowymi. Inż. Biomat., 2004, 38-42, 242-245.

[12] Proszek M.: Gojenie ran kostnych żuchwy królików wypełnionych koplimerem P(LLA/GLA) wzmacnianym włóknami węglowymi. Rozprawa doktorska, Śląska Akademia Medyczna, Zabrze 2004.

[13] Tiainen J., Soini Y., Tormala P., Waris T., Ashammakhi N.: Self-reinforced polylactide/ polyglycolide 80/20 screws take more than 1(1/2) years to resorb in rabbit cranial bone. J. Biomed. Mater. Res., 2004, 15;70B(1), 49-55.

[14] Kmita G., Chłopek J.: Ocena trwałości kompozytowych śrub polimerowych poddanych stałym obciążeniom w warunkach in vitro. Inż. Biomat., 2001, 17-19, 67-69.

[15] Cieślik M., Cieślik-Bielecka A., Adwent M., Sabat D., Bajor G., Cieślik T., Wysoczańska M.: Obserwacje gojenia ran kostnych żuchwy królików wypełnionych kopolimerem glikolidu z laktydem z dodatkiem hydroksyapatytu – badania wstępne, Przegląd Medyczny Uniwersytetu Rzeszowskiego, 2005, 2, tom III, 99-102.

[16] Kokubo T., Kim H.M., Kawashita M.: Novel bioactive materials with different mechanical properties. Biomaterials, 2003, 24(13), 2161-2175.

[17] Bero M., Dobrzyński P., Kasperczyk J., Grzeb P., Kryczka T., Ryba M., Walski M.: Kopolimery laktydu, glikolidu i ε-kaprolaktonu niezawierające metali ciężkich. Synteza własności i zastosowanie w procesie kontrolowanego uwalniania analogów nukleozydów. Inż. Biomat., 2002, 23-25, 21-22.

INFLUENCE OF A TITANIUM ADDITION ON THE PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF SURGICAL CEMENT

Alicja Balin*, Sylwia Ziemba* Jerzy Myalski**, Jerzy Toborek***

*DEPARTMENT OF MATERIALS MECHANICS, SILESIAN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,

**DEPARTMENT OF TECHNOLOGY OF METAL ALLOYS AND COMPOSI-TES, SILESIAN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,

***Casualty and Orthopaedic Ward, Municipal Hospital in Siemianowice Śląskie

ALICJA.BALIN@POLSL.PL

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),60-62]



RYS.1. Skurcz liniowy końcowy, maksymalna temperatura cementu oraz maksymalna temperatura metalowej płytki w modelowych badaniach procesu polimeryzacji cementu Palamed modyfikowanego tytanem.

FIG.1. Final linear shrinkage, maximum cement temperature and maximum temperature of the metal plate in model research of polymerization of the Palamed cement modified with titanium.

tami polimerowymi na osnowie poli(metakrylanu) metylu (PMMA), pomimo wielu modyfikacji, nadal jeszcze w sposób nie w pełni zadowalający spełniają stawiane im wymagania oczekiwanej biofunkcjonalności. W szczególności charakteryzują się one wysoką temperaturą utwardzania, niszczącą tkanki i w efekcie prowadzącą do obluzowania endoprotez stawów [1,2]. Badania nad poprawą tej właściwości użytkowej cementów kostnych do tej pory polegały między innymi na modyfikacji cementu cząstkami ceramicznymi [3].

W niniejszej pracy podjęto próbę obniżenia maksymalnej temperatury polimeryzującego cementu poprzez dodanie do niego cząstek tytanu, który jest materiałem o dobrej biotolerancji [4] i korzystnym przewodnictwie cieplnym. Współczynnik przewodnictwa cieplnego bowiem dla tytanu wynosi $\lambda = 41$ W/(mK) [5] i jest około 200 razy większy, niż dla PMMA, dla którego wynosi $\lambda = 0,19$ W/(mK) [6].

Materiał do badań stanowił cement o nazwie fabrycznej Palamed bez domieszki oraz z domieszką cząstek tytanu o wielkości 25-150 µm i udziale masowym 3,2%. W celu określenia wpływu domieszki na proces polimeryzacji cementu zbudowano warstwowy model laboratoryjny zastępujący rzeczywisty układ biomechaniczny: endoproteza – cement – kość. Warstwę endoprotezy modelował krążek ze stali nierdzewnej, a warstwę kości – krążek wykonany z żywicy epoksydowej. Na podstawie pomiaru swobodnego przemieszczenia krążka z żywicy określono wartość skurczu liniowego. W czasie polimeryzacji cementu rejestrowano jego temperaturę na granicy styku z modelem kości, a także temperaturę metalowej płytki, modelującej endoprotezę. Uzyskane wyniki badań przedstawiono na RYS.1.

Aby sprawdzić, jaki jest wpływ cząstek tytanu w cemencie na właściwości mechaniczne otrzymanego kompozytu, przeprowadzono próbę statyczną zginania próbek wykonanych z badanych materiałów, zgodnie z normą PN-EN ISO 178:1998 oraz próbę statyczną ściskania, zgodnie z normą PN-EN ISO 604:2000. Badania realizowano na maszynie wytrzymałościowej Instron 4469. Wyznaczone wartości wytrzymałości na zginanie R_g i na ściskanie R_c oraz wartości modułów sprężystości w warunkach zginania E_g i ściskania E_c zestawiono odpowiednio na RYS. 2 i 3.

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwier-

Surgical cements, which are mostly polymer composites based on a methyl polymethacrylate matrix (PMMA), in spite of their numerous modifications, still do not guite satisfy the requirement of their anticipated biofunctionality. In particular, they are characterized by a high curing temperature, which destroys tissues and as a result, leads to loosening of endoprostheses of joints [1,2]. The research on improvement of this functional property of bone cements conducted so far has consisted, inter alia, in bone cement modification with ceramic particles [3]. This study is an attempt as reducing the maximum temperature of a polymerizable cement by incorporating some titanium particles in it, the titanium being a material of good biotolerance [4] and beneficial thermal conduction. The thermal conductivity coefficient for titanium amounts to λ = 41 W/(mK) [5] and is ca. 200 times higher than for PMMA, where is amounts to $\lambda = 0,19$ W/(mK) [6].

The research material was cement under the manufacturer's name of Palamed, without an addition and with an addition of titanium particles of 25-150 µm size and a 3.2% mass fraction. In order to determine the influence of the titanium addition on the cement polymerization process, a layered laboratory model was built to substitute the real biomechanical system: endoprosthesis – cement – bone. The endoprosthesis layer was modelled by a stainless steel disc and the bone layer – by a disc made of epoxy resin. Based on the measurement of free movement of the resin disc, the value of linear shrinkage was determined. During cement polymerization, its temperature was recorded on the boundary of contact with the bone model, and so was the temperature of the metal plate modelling the endoprosthesis. The obtained research results are presented in FIG.1.

In order to identify the influence of titanium particles



RYS.2. Właściwości wytrzymałościowe cementu Palamed modyfikowanego tytanem. FIG.2. Strength properties of Palamed cement modified with titanium.



RYS.3. Wartości modułów sprężystości cementu Palamed modyfikowanego tytanem. FIG.3. Values of moduli of elasticity of Palamed cement modified with titanium.

dzić, że domieszka tytanu do cementu na osnowie PMMA spowodowała obniżenie maksymalnej temperatury układu polimeryzującego o około 30% oraz zmniejszenie skurczu liniowego końcowego o około 10%. Równocześnie właściwości wytrzymałościowe uzyskanego kompozytu nie różniły się w sposób istotny w stosunku do odpowiednich właściwości cementu bez domieszki. Zaobserwowano jedynie wzrost o około 9% modułu sprężystości wyznaczonego w warunkach ściskania cementu modyfikowanego tytanem.

Podziękowania

Badania w tym kierunku kontynuowane są w ramach projektu badawczego KBN Nr 3 T08E 016 29.

Piśmiennictwo

[1] Polesiński Z., Karaś J.: Cementy kostne i stomatologiczne. W: Błażewicz S., Stoch L.: Biocybernetyka i inżynieria biomedyczna 2000. Pod red. M. Nałęcza, t. 4, Biomateriały. Akademicka Oficyna Wydawnicza EXIT, Warszawa 2003, s. 179-209.

[2] Łukaszczyk J.: Polimerowe i kompozytowe cementy kostne oraz materiały pokrewne. Polimery nr 2, 49, 2004, s. 79-88.

[3] Balin A.: Materiałowo uwarunkowane procesy adaptacyjne i trwałość cementów stosowanych w chirurgii kostnej. Zeszyty

BADANIA ZACHOWANIA KORO-ZYJNEGO BIOCERAMICZNYCH WARSTW SIO₂ I SIO₂-TIO₂ NA TYTANIE I STOPIE TI6AL4V DLA ZASTOSOWAŃ W STOMATOLOGII

JAROSŁAW BIENIAŚ* ANNA STOCH**, BARBARA SUROWSKA*, MARIUSZ WALCZAK***

*Katedra Inżynierii Materiałowej, Politechnika Lubelska, Lublin

**Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, Akademia Górniczo-Hutnicza, Kraków

***INSTYTUT TECHNOLOGICZNYCH SYSTEMÓW INFORMACYJNYCH, UNIWERSYTET LUBELSKI, LUBLIN

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),62-64]

Wprowadzenie

Współczesny rozwój z zakresie biomateriałów stymuluje prowadzenie intensywnych prac naukowo-badawczych związanych z podwyższeniem właściwości, trwałości, odporności na korozję tytanu i jego stopów, poprzez modyfikację składu chemicznego, modyfikację warstwy wierzchniej metalowego podłoża oraz wytwarzanie powłok ceramicznych o korzystnych właściwościach fizyko-chemicznych i in cement on the mechanical properties of the composite obtained, a static bending test was carried out for samples made of the investigated materials, in accordance with the PN-EN ISO 178:1998 standard and a static compression test, in accordance with the PN-EN ISO 604:2000 standard. The tests were conducted on an Instron 4469 testing machine. The so determined values of bending strength R_g and compression strength R_c , and the values of moduli of elasticity in bending conditions E_g and compression conditions E_c , are juxtaposed in FIG. 2 and 3, respectively.

Based on the research carried out, it can be affirmed that a titanium addition to a PMMA-based cement has caused a ca. 30% reduction of the maximum temperature of the polymerizable system and a ca. 10% reduction of the final linear shrinkage. Simultaneously, the strength properties of the composite obtained do not significantly differ when compared to the respective properties of cement without such addition. Only a ca. 9% increase was observed for the modulus of elasticity determined in the compression conditions of cement modified with titanium.

Acknowledgements

Research in this direction is continued under the research project funded by the State Committee for Scientific Research (KBN) No. 3 T08E 016 29.

References

Naukowe Politechniki Śląskiej, Hutnictwo z. 69, Gliwice 2004. [4] Marciniak J.: Biomateriały w chirurgii kostnej. Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice 1992.

[5] Encyklopedia Techniki, Materiałoznawstwo. Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa 1975.

[6] Śleziona J.: Podstawy technologii kompozytów. Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice 1998.

THE STUDY OF THE CORROSION BEHAVIOR OF SIO₂ AND SIO₂-TIO₂ BIOCERAMIC COATINGS ON TITANIUM AND TI6AL4V ALLOY IN DENTISTRY

Jarosław Bieniaś*, Anna Stoch**, Barbara Surowska*, Mariusz Walczak***,

*DEPARTMENT OF MATERIALS SCIENCE, LUBLIN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, LUBLIN

**Faculty of Materials Science and Ceramics, University of Mining and Metallurgy, Kraków

***Institute of Technological Informative Systems, Lublin University of Technology, Lublin

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),62-64]

Introduction

Nowadays, the development of the range of biomaterials has a stimulating effect on the research work connected with the increase of properties, durability, corrosion resistance of titanium and its alloys via the modification of chemical composition, modification of surface layer of basic metals and producing ceramic coatings with advantageous physical, chemical and mechanical properties [1,2]. In the medicine

mechanicznych [1,2]. Coraz szersze zastosowanie w medycynie i stomatologii znajdują powłoki ceramiczne SiO_2 oraz SiO_2 -TiO₂ wykonywanych metodą zol-żel [3-5].

Biomateriały powinny charakteryzować się wysoką bioprzyswajalnością, a jednym z głównych czynników decydujących o możliwości stosowania materiału w implantacji stomatologicznej jest jego odporność korozyjna w specyficznym środowisku jamy ustnej [2,6].

W pracy przedstawiono ocenę odporności korozyjnej w warunkach *in vitro* tytanu i stopu Ti6Al4V oraz warstw ce-ramicznych SiO₂ oraz SiO₂-TiO₂.

Materiał i metody

Materiał badawczy stanowił czysty technicznie tytan (ASTM-grade 2) i stop Ti6Al4VELI (ASTM-grade 5) z wytworzonymi metodą zol-żel warstwami bioceramicznymi SiO₂ oraz SiO₂-TiO₂.

Podatność na korozję badanych materiałów określono za pomocą przyspieszonych badań elektrochemicznych metodą potencjodynamiczną w roztworze sztucznej śliny (pH=5,3; temp. 37°C, w odniesieniu do elektrody platynowej) przy użyciu automatycznego systemu pomiarowego. Skład chemiczny sztucznej śliny przedstawia TABELA 1. Morfologię i strukturę powierzchni badanych materiałów po przeprowadzonych badaniach korozyjnych oceniano przy użyciu elektronowego mikroskopu skaningowego LEO 1430VP z mikroanalizatorem EDX-Roentec.

NaCl [9]	KCI [g]	CaCl₂·H₂O [g]	NaH₂PO₄·H₂O [9]	Na₂S·9H₂O [g]	Mocz- nik [g]	H₂O [ml]	рН
0,4	0,4	0,795	0,78	0,005	1	1000	5,2- 5,5

TABELA 1. Skład chemiczny sztucznej śliny (wg ISO 10271).

TABLE 1. Chemical composition of artificial saliva(according to ISO 10271).

Wyniki

Zmiany potencjału korozji *E*_{corr} (dla obwodu otwartego) badanych materiałów oraz charakterystyczne krzywe polaryzacji w środowisku sztucznej śliny przedstawiono na RYS.1.

Z przebiegu krzywych potencjału korozji Ecorr oraz krzywych polaryzacji można wnioskować o wysokiej odporności korozyjnej badanych materiałów. Odporność korozyjna biomateriałów jest ściśle uwarunkowana z warstwą wierzchnią, a stabilny stan na powierzchni tytanu i stopu Ti6Al4V wynika z obecnością szybko tworzącej się, ochronnej, pasywnej warstewki tlenków, mocno związanej z osnową metalu podstawowego i uniemożliwiającej bezpośredni kontakt metalu z elektrolitem [1,2]. Wysoka odporność korozyjna warstw SiO₂ i SiO₂-TiO₂ może być związana z częściową amorficzną strukturą warstw. Charakterystyczną cechą wytwarzania powłok metodami zol-żel jest możliwość "sterowania" krystalicznością bądź amorficznością warstw. Dla powłok krystalicznych istotna jest szczelność, ponieważ powłoki nieszczelne o niskiej grubości mogą powodować obniżenie się odporności korozyjnej w wyniku tworzenia się mikroogniw stężeniowych [7].

Na RYS.2 przedstawiono mikrostrukturę powierzchni badanych materiałów po badaniach korozyjnych.

Przeprowadzone obserwacje SEM po wykonanych badaniach korozyjnych w warunkach *in vitro*, w środowisku sztucznej śliny nie wykazały na powierzchniach tytanu i sto-

.

and dentistry the wide application of SiO_2 and SiO_2 -TiO_2 ceramic coatings deposited by sol-gel method is in use. While the biomaterials should be characterized by high bioassimilability, one of the key factors determining the possibility of application of dental implants made of certain materials is corrosion resistance in specific environment of oral cavity.

The corrosion resistance of titanium and Ti6Al4V alloy in addition to SiO_2 and SiO_2 -TiO₂ ceramic coatings in *in vitro* environment are presented in this paper.

Material and methods

Commercially pure titanium (ASTM-grade 2) and Ti6Al4VELI alloy (ASTM-grade 5) with SiO_2 and SiO_2 -TiO_2 bioceramic sol-gel coatings were used. The corrosion susceptibility research were carried out by accelerated electrochemical studies with the use of potentiodynamic method in artificial saliva solution (pH 5.3 at 37°C, with Pt counter-electrode) under the control of automatic measuring equipment. Chemical composition of artificial saliva is presented in TABLE 1. The morphology and microstructure of materials' surface having conducted corrosion tests were studied using a scanning electron microscope (LEO 1430VP) with EDX-Roentec microanalizer.

Results

The variation of corrosion potential E_{corr} (open circuit potential) in studied materials and characteristic potentiodynamic polarization curves in artificial saliva environment are presented in FIGURE 1.



RYS.1. Zmiana potencjału korozji E_{corr} w czasie (a), reprezentatywne krzywe polaryzacji w środowisku sztucznej śliny (b).

FIG.1. The variation of corrosion potential E_{corr} in relation to time (a), potentiodynamic polarization curves in artificial saliva environment (b).

The variation of corrosion potential E_{corr} as well as potentiodynamic polarization curves signify high corrosion resistance of studied materials. Corrosion resistance of biomaterials depends on the surface layers while, surface stability of titanium and Ti6Al4V alloy is determined by the presence of dynamically forming, protective, passive coating of oxides closely related to the base alloy matrix preventing the direct contact between the metal and electrolyte [1,2]. High corrosion resistance of SiO₂ and SiO₂-TiO₂ coatings may be connected to partial amorphous layer structure. The characteristic feature of the production of coatings with the use of sol-gel method is the possibility of "controlling" of crystallite and amorphous structure of the coatings. The tightness of crystallite coatings is crucial for the reason of the possibility of deterioration of tightness of the coatings of low thickness, which may lead to low resistance to corrosion produced by the creation of concentration micro-cells.

The microstructure of surface of the studied materials after corrosion tests are shown in FIGURE 2.


64

.



RYS.2. Mikrostruktura powierzchni materiałów po badaniach korozyjnych *in vitro*; (a) tytan, (b) stop Ti6Al4V, (c) warstwa SiO₂, (d) warstwa SiO₂-TiO₂.

FIG.2. Microstructure of materials surface after *in vitro* corrosion studies; (a) titanium, (b) Ti6Al4V alloy, (c) SiO₂ coating, (d) SiO₂-TiO₂ coating.

pu Ti6Al4V oraz na warstwach SiO₂ i SiO₂-TiO₂znaczących zmian spowodowanych procesami korozji i oddziaływaniem sztucznej śliny.

Podsumowanie

Procesy wykorzystujące metodę zol-żel pozwalają otrzymywać powłoki SiO₂ i SiO₂-TiO₂ odznaczające się szeregiem zalet tj.: możliwość wytwarzania powłok jedno jak i wieloskładnikowych oraz wielowarstwowych, niska grubość, wysoka homogeniczność struktury, a także stabilność chemiczna i mechaniczna. Zastosowane bioceramiczne warstwy SiO₂ i SiO₂-TiO₂ na tytanie i stopie Ti6Al4V charakteryzują się wysoką odpornością korozyjną w specyficznym środowisku sztucznej śliny spełniając wymagania stawiane w implantacji stomatologicznej.

Podziękowania

Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2006-2009 jako projekt badawczy 3 T08C 054 30.

SEM analysis of the investigated materials having undergone in vitro corrosion studies in artificial saliva environment on the surface of titanium and Ti6Al4VELI alloy as well as SiO₂ and SiO₂-TiO₂ significant change caused by corrosion processes and the influence of artificial saliva were not observed.

Summary

The SiO₂ and SiO₂-TiO₂ coatings created with the use of sol-gel method can be characterized by the possibility of both mono- and multi-component also multilayer manufacturing, low thickness, high homogeneity of structure and mechanical and chemical stability. The SiO₂ and SiO₂-TiO₂ bioceramic coatings on titanium and Ti6Al4V alloy are characterized by high corrosion resistance in specific artificial saliva environment meeting the requirements of dental implants.

Acknowledgements

The scientific work was made possible owing to the 2006-2009 government financial resources as a research project 3 T08C 054 30.

Piśmiennictwo

[1] Wierzchoń T., Czarnowska E., Krupa D.: Inżynieria powierzchni w wytwarzaniu biomateriałów tytanowych. Oficyna Wyd. Politechniki Warszawskiej, Warszawa 2004.

[2] Surowska B., Weroński A.: Struktura i właściwości biomateriałów. Wyd. PL, Lublin 1990.

[3] Walczak M.: Badanie układu wielowarstwowego metal-ceramikaceramika do zastosowań w protetyce stomatologicznej. Rozprawa doktorska, PL, Lublin 2005.

[4] Surowska B., Bieniaś J., Walczak M., Sangwal K., Stoch A.: Microstructure and mechanical properties of ceramic coatings on Ti and Ti-based alloy. Applied Surface Science 238, 2004, 288-294. References

[5] Matraszek H., Stoch A., Paluszkiewicz Cz., Brożek A., Długoń E.: Zastosowanie metody zol-żel w praktyce dentystycznej. Inżynieria Biomateriałów 23-25, 2002, s. 72-74.

[6] Cai Z., Shafer T., Watanabe I., Nunn M., Okabe T.: Electrochemical characterization of cast titanium alloys. Biomaterials 24, 2003, 213-218.

[7] Łaskawiec J., Michalik R.: Zagadnienia teoretyczne i aplikacyjne w implantach. Wyd. PŚl, Gliwice 2002.

WŁAŚCIWOŚCI KOROZYJNE STOPÓW BIOMEDYCZNYCH REX 734 I PANACEA P558 MODYFIKOWANYCH WARSTWAMI NANOKRYSTALICZNEGO DIAMENTU

TADEUSZ BŁASZCZYK* BARBARA BURNAT* ANDRZEJ LENIART* HENRYK SCHOLL* LESZEK KLIMEK** WITOLD KACZOROWSKI**

*Uniwersytet łódzki, Wydział Fizyki i Chemii, Katedra Chemii Ogólnej i Nieorganicznej, 90-136 łódź, Narutowicza 68; **Politechnika łódzka, Wydział Mechaniczny, Instytut Inżynierii Materiałowej, Zakład Inżynierii Biomedycznej, 90-924 łódź, Stefanowskiego 1/15 (E-mail: tebe@chemul.uni.lodz.pl)

Streszczenie

W pracy przedstawiono wyniki badań elektrochemicznych i korozyjnych dwóch stopów biomedycznych typu Fe-Cr-Mo: Rex 734 i Panacea P558 bez warstw i z warstwami węglowymi o strukturze nanokrystalicznego diamentu (NCD) o 3. grubościach. Badania prowadzono w roztworze 0.5 M NaCl i roztworze Tyrode'a w cyklach 7. dniowych w temperaturze 37°C (310 K). Stwierdzono, że obydwa stopy charakteryzują się różnymi potencjałami korozyjnymi, oporami polarvzacvinvmi, oraz potenciałami korozii szczelinowei i wżerowej. Stwierdzono również, że warstwy NCD poprawiają parametry korozyjne obydwu stopów przesuwają potencjały korozyjne w kierunku anodowym i zwiększają opory polaryzacyjne. Wpływ warstw NCD na korozję szczelinową i wżerową nie jest jednoznaczny. Dla obydwu stopów nie uzyskano zależności wyżej wymienionych parametrów korozyjnych od grubości warstw NCD.

[Inżynieria Bioimateriałów, 58-60,(2006),65-68]

Wprowadzenie

Stopy typu Fe-Cr-Mo są bardzo często stosowane do wytwarzania implantów kostnych [1]. Charakteryzują się one dobrą wytrzymałością mechaniczną, małym zużyciem, dobrą odpornością korozyjną i relatywnie niskimi kosztami. Wśród tych stopów ważną rolę odgrywają stop Rex 734 zawierający Ni w zakresie od 9% do 11% oraz podobny stop Panacea P558, w którym zawartość Ni wynosi 0.08%. Stop ten jest alternatywą dla pacjentów uczulonych na Ni [2, 3]. Badania elektrochemiczne i korozyjne stopu Rex 734 w różnych roztworach opisane zostały przez U.I. Thomanna i P.J. Uggowitzera [2], J. Pan i wsp. [4] i L. Reclaru i wsp. [5]. Stop Panacea P558 badany był przez P.J. Uggowitzera i wsp. [2, 3] oraz G. Rondelli'ego i wsp. [6]. Poprawę biokompatybilności implantów uzyskać można przez modyfikację ich powierzchni. Ważną rolę odgrywają warstwy węglowe o strukturze diamentopodobnej (DLC) i nanokrystalicznego diamentu (NCD) [1, 7]. S. Mitura i wsp. [7] wykazali bardzo korzystny wpływ warstw NCD na poprawę parametrów mechanicznych, korozyjnych i biokompatybilności różnych biomateriałów.

Celem tej pracy jest przedstawienie wyników elektrochemicznych i korozyjnych badań stopów Rex 734 i Pa-

CORROSION FEATURES OF BIOMEDICAL ALLOYS REX 734 AND PANACEA P558 MODIFIED BY NANOCRYSTALLINE DIAMOND

TADEUSZ BŁASZCZYK* BARBARA BURNAT* ANDRZEJ LENIART* HENRYK SCHOLL* LESZEK KLIMEK** WITOLD KACZOROWSKI**

*University of Lodz, Faculty of Physics and Chemistry, Department of General and Inorganic Chemistry, 90-136 Lodz, Narutowicza 68 *Technical University of Lodz, Faculty of Mechanical Engineering, Division of Biomedical Engineering, 90-924 Lodz, Stefanowskiego 1/15 (e-mail: tebe@chemul.uni.lodz.pl)

Abstract

In this paper are presented the results of electrochemical and corrosion investigations of Fe-Cr-Mo biomedical alloys Rex 734 and Panacea P558 without and with carbon layers of nanocrystalline diamond structure (NCD) with 3 different thickness. The investigations were carried out in 0.5 M NaCl and Tyrode's solutions in 7-days measurement cycles at the temperature of 37°C (310 K). It has been stated that both alloys have different corrosion potentials. polarization resistances and crevice-pitting corrosion potentials. Additionally, it was found that NCD layers improve corrosion parameters of both alloys - they shift corrosion potentials in anodic direction and cause an increase of polarization resistances. The influence of NCD layers on crevice - pitting corrosion is ambiguous. For both alloys did obtain any relationship between above mentioned corrosion parameters and the thickness of NCD layers.

[Inżynieria Bioimateriałów, 58-60,(2006),65-68]

Introduction

Fe-Cr-Mo alloys are very often used for bone implants [1]. These alloys have a very good mechanical strength, week wear, good corrosion resistance and relatively low costs. Very important in group of Fe-Cr-Mo alloys are Rex 734 containing 9-11% Ni and similar Panacea P558 with 0.08% Ni. Panacea P558 is an alternative alloy for patients with negative reaction on Ni content [2, 3]. Electrochemical and corrosion investigations of Rex 734 alloy in different solutions were described by U.I. Thomann and P.J. Uggowitzer [2], J. Pan et al. [4] and L. Reclaru et al. [5]. Panacea P558 alloy was investigated by P.J. Uggowitzer et al. [2, 3] and G. Rondelli et al. [6]. An improvement of implants' biocompatibility can be obtained by surface modification by means carbon layers of diamond like carbon (DLC) and nanocrystalline diamond (NCD) structure [1, 7]. S. Mitura et al. [7] showed an advantageous influence of NCD layers on mechanical and corrosion parameters, and biocompatibility of different biomaterials.

The aim of this paper is a presentation of results of electrochemical and corrosion investigations of Rex 734 and Panacea P558 alloys. Additionally, this paper presents the influence of surface modification by NCD layers on main corrosion parameters of these alloys.

66

nacea P558 bez warstw węglowych oraz modyfikowanych warstwami węglowymi NCD oraz określenie wpływu takiej modyfikacji powierzchni na główne parametry korozyjne tych stopów.

Materiały i metodyka badań

Próbki Rex i Panacea miały kształt walców o średnicy odpowiednio 28 mm i 30 mm. Powierzchnie obydwu próbek przygotowywano poprzez szlifowanie i polerowanie mechaniczne i oczyszczanie w myjce ultradźwiękowej. Przed pomiarami lub przed naniesieniem warstw NCD powierzchnię próbek przemywano alkoholem etylowym i osuszano w strumieniu Ar. Nanoszenie warstw NCD prowadzone było dla serii od 3 do 5 próbek w Zakładzie Inżynierii Biomedycznej Politechniki Łódzkiej metodą plazmową ze wzbudzeniem częstotliwością mikrofalową i radiową (MW / RF PACVD) [8] Zmianę grubości warstw NCD uzyskiwano poprzez zmianę czasu nanoszenia od 1 min do 5 min. Otrzymano warstwy o grubości ok. 0.15 µm (oznaczone NCD1), ok. 0.45 µm (NCD2) i ok. 0.60 µm (NCD3). Parametry procesu nanoszenia warstw NCD przedstawione są w pracy [9].

Badania elektrochemiczne wykonywano w szklanym naczyńku pomiarowym, w którym elektrodą roboczą Ew była próbka, elektrodą pomocniczą E_c folia Pt, a elektrodą odniesienia E_{ref} elektroda kalomelowa w nasyconym roztworze NaCI. Wszystkie potencjały w tej pracy podawane są do stosowanej elektrody kalomelowej (E^o = 0.236 V wzgl. NEW). Powierzchnia robocza wszystkich próbek wynosiła ok. 3.14 cm². Pomiary wykonywano w cyklach 7. dniowych wykorzystując potencjostat / galwanostat PGSTAT 30 (Eco-Chemie AutoLab). Pierwszy pomiar wykonywany był po 24 h od zamontowania próbki i nalania roztworu pomiarowego. Codziennie realizowano cykl składający się z wyznaczenia potencjału korozyjnego E_{cor} próbki w otwartym obwodzie, oporu polaryzacyjnego R_p metodą Stern - Geary'ego i spektroskopowej charakterystyki impedancyjnej (EIS). W 7. dniu dodatkowo wykonywano charakterystyki potencjodynamiczne w cyklu anodowej polaryzacji od E_{cor} - 0.100 V do potencjału, przy którym gęstość prądu osiągała wartość 1 mA/cm² lub 5 mA/cm². Przy tym potencjale zmieniano kierunek polaryzacji na katodowy i wracano do potencjału startowego. Powierzchnię próbek analizowano stosując metalograficzny mikroskop optyczny oraz mikroskop elektronowy z analizatorem rentgenowskim.

Pomiary prowadzono w roztworze 0.5 M NaCl i roztworze Tyrode'a (0.8 g NaCl, 0.02 g CaCl₂, 0.02 g KCl, 0.1 g NaHCO₃, 0.1 g D-glukozy, 0.1g MgCl₂, 0.005 g NaH₂PO₄ i 100 cm³ 3-krotnie destylowanej H₂O). Pomiary wykonywano w temperaturze 37° C \pm 0.5° C (310 K \pm 0.5 K), z mieszaniem mechanicznym i z odtlenianiem Ar (99.999%).

Wyniki i podsumowanie



Przykładowe przebiegi potencjału korozyjnego E_{cor} (z zaznaczonym odchyleniem standardowym) od czasu próbek Rex bez warstw i z warstwami NCD w roztworze 0.5 M NaCl pokazane są na RYS.1. Potencjał E_{cor} próbek Rex bez warstw NCD rośnie od wartości ok. -0.18 V do ok. 0.16 V w ciągu pierwszych 7 dni. W ciągu kolejnych 7 dni praktycznie jest stały. Przyczyną tego może być ustalanie się równowagi między powierzchniową warstwą tlenkową a roztworem korozyjnym. Całkowicie inaczej zachowują się potencjały E_{cor} próbek z warstwami NCD - potencjał ten ustala się już pierwszego dnia i jest praktycznie niezmienny w czasie cyklu pomiarowego. Potencjał E_{cor} próbek Rex w roztworze Tyrode'a praktycznie nie zmienia się w czasie zarówno dla "czystych" próbek jak i z warstwami NCD. Podobnie też

Materials and methods

Samples of Rex and Panacea had a shape of a cylinder with 28 mm and 30 mm in diameter respectively. The surfaces of both samples were prepared by mechanical grinding and polishing, and cleaning in ultrasonic bath. Before each measurement or NCD layers deposition the sample's surface was rinsed with ethanol and dried with Ar. Deposition of NCD layers was done for series of 3 - 5 samples in Division of Biomedical Engineering of Technical University of Lodz using a dual mode microwave / radio frequency plasma method (MW / RF PACVD) [8]. The difference of NCD layers thickness was derived by change of deposition time from 1 min to 5 min. The obtained layers had a thickness of ca. 0.15 µm (designed as NCD1), ca. 0.45 µm (NCD2) and ca. 0.60 µm (NCD3). The parameters of NCD layers deposition were presented in [9]. The electrochemical investigations were carried out in a glass electrolytic cell with a sample as a working electrode E_w, Pt foil as a counter electrode E_c, and calomel electrode in saturated NaCl solution as reference electrode E_{ref}. All potentials in this paper are given versus above reference electrode (E^o = 0.236 V vs. SHE). Exposed area of each sample was ca. 3.14 cm². The investigations were carried out in 7-days measurement cycles using potentiostat / galvanostat PGSTAT 30 (EcoChemie AutoLab). The first measurement was performed in 24 hours after sample installation and filling the cell by solution. Every day were measured corrosion potential E_{cor} in open circuit, polarization resistance R_{p} according to Stern - Geary's method and spectroscopic impedance characteristic (EIS). Additionally, at 7th day were recorded the potentiodynamic characteristics in anodic polarization cycle from $\mathsf{E}_{\mathrm{cor}}$ - 0.100 V up to potential, at which current density reached a value of 1 mA/cm² or 5 mA/cm². At this potential a polarization was changed in cathodic direction and returned to start potential. Afterwards, surfaces of samples were analyzed using both an optical and electron microscope with X-Ray microprobe analyzer.

The measurements were carried out in 0.5 M NaCl and Tyrode's solutions (0.8 g NaCl, 0.02 g CaCl₂, 0.02 g KCl, 0.1 g NaHCO₃, 0.1 g D-glucose, 0.1g MgCl₂, 0.005 g NaH₂PO₄ in 100 cm³ 3-times distilled H₂O) at a temperature of 37° C ± 0.5° C (310 K± 0.5 K) with mechanical stirring and deoxygenating with Ar (99.999%).

Results and conclusions

An exemplary dependences of corrosion potential $E_{\rm cor}$ (with standard deviation) vs. time for Rex without and with



RYS.1. Zależność E_{cor} od czasu dla próbek Rex w roztworze 0.5 M NaCl. FIG.1. Dependence of E_{cor} vs. time for Rex in 0.5 M NaCl solution.



RYS. 2. Potencjał E_{cor} próbek w roztworach korozyjnych w 7. dniu pomiarowym. FIG. 2. E_{cor} potential of samples in corrosion solutions at 7th measurement day.

zachowują się próbki Panacea - jedyną różnicą jest duża zmiana potencjału E_{cor} w pierwszym dniu kontaktowania się próbek z warstwami NCD w roztworze Tyrode'a [9]. Wpływ warstw NCD na potencjał E_{cor} badanych próbek w 7. dniu pomiarowym przedstawiony jest na RYS. 2. Z rysunku tego wynikają następujące wnioski: 1) dla wszystkich próbek warstwy NCD powodują przesunięcie potencjału E_{cor} w stronę anodową, 2) przesunięcie to jest praktycznie niezależne od grubości warstw NCD i 3) potencjały E_{cor} w roztworze Tyrode'a są niższe niż w roztworze 0.5 M NaCl. Z dodatkowych pomiarów wynika, że przyczyną tego może być specyficzna adsorpcja jonu HCO₃⁻ na powierzchni próbek.

Opór polaryzacyjny R_p próbek Rex bez warstw NCD w roztworze 0.5 M NaCl nie stabilizuje się i rośnie aż do 14. dnia pomiarowego. Opór R_p próbek z warstwami NCD wykazuje jedynie oscylacje. Dla próbek Rex w roztworze Tyrode'a oraz dla wszystkich próbek Panacea w obydwu badanych roztworach korozyjnych zaobserwowano monotoniczny wzrost R_p w czasie pierwszych 2 - 4 dni, a następnie jedynie jego oscylacje [9]. Wartości oporów R_p , jakie uzyskano w 7. dniu pomiarowym, przedstawione są dla wszystkich typów próbek na RYS.3. Analizując pokazane zależności można stwierdzić następujące fakty: 1) większy opór R_p mają wszystkie próbki z warstwami NCD w porównaniu do próbek "czystych", 2) wzrost oporu R_p nie wykazuje żadnej zależności od typu roztworu korozyjnego i 3) nie wykazuje też żadnej zależności od grubości warstw



RYS.4. Charakterystyki potencjodynamiczne w roztworze 0.5 M NaCl (v = 1 mV·s⁻¹). FIG.4. Potentiodynamic characteristics in 0.5 M NaCl solution (v = 1 mV·s⁻¹).



RYS. 3. Opór R_p próbek w roztworach korozyjnych w 7. dniu pomiarowym. FIG. 3. R_p resistance of samples in corrosion solutions at 7th measurement day.

NCD layers in 0.5 M NaCl solution are presented in FIG.1. Potential Ecor of Rex without NCD layers increases from ca. -0.18 V to ca. 0.16 V for the first 7 days and practically is stable for the next 7 days. The cause of this effect may be a formation an equilibrium between the surface oxide layer and corrosion solution. For Rex with NCD layers the potentials E_{cor} are completely different - these potentials reached a stable value already in the first day and practically are constant during measurement cycle. Potentials E_{cor} in Tyrode's solution are stable for "plain" Rex samples and the same samples with NCD layers. The behavior of Panacea samples is similar - all E_{cor} potentials have a stable value, except E_{cor} for samples with NCD layers in Tyrode's solution at the first day [9]. The influence of NCD layers on corrosion potential E_{cor} of investigated samples at 7th measurement day is presented in FIG.2. Based on this figure can make the following conclusions: 1) NCD layers shift a corrosion potential E_{cor} in more anodic direction for all samples, 2) this shift is practically independent on NCD thickness and 3) potentials $E_{\rm cor}$ in Tyrode's solution are lower than in 0.5 M NaCl solution. According to additional measurements the last conclusion can be explain by specific adsorption of HCO₃⁻ ions on samples' surface.

Polarization resistance R_n for Rex without NCD layers in 0.5 M NaCl is not stable and rises up to 14th measurement day. Values of R_p for Rex with NCD layers only oscillates. For all Rex samples in Tyrode's solution and for all Panacea samples in both solutions was observed a monotonic increase of R_n during the 2 - 4 first days and next only its oscillations [9]. In FIG.3 are presented the R_o values obtained at 7th measurement day for all samples. Analyzing the showed dependencies can be stated the following facts: 1) all samples with NCD layers with comparison to "plain" samples have higher R_{p} values, 2) the increase of R_{p} has any correlation with corrosion solution and 3) it has any correlation with NCD layers' thickness. Values of R_n have a high statistical error. The high value of R_o error is connected with the disturbances (measured current was of the order of 10-9 A) and with the irreversibility of electrochemical processes. This irreversibility gives a hysteresis between cathodic and anodic slopes. From these reasons R_n values should be treated rather carefully.

The exemplary potentiodynamic characteristics of Rex and Panacea samples in 0.5 M NaCl solution are presented in FIG.4. Characteristics for all investigated samples in Tyrode's solution are similar. The following conclusion can be drawn: 1) equilibrium potentials of samples with NCD layers are shifted in anodic direction in relation to "plain" samples,

NCD. Wyniki pomiarów R_p obarczone są dużymi błędami statystycznymi. Przyczyną tak dużych błędów jest z jednej strony wpływ czynników zakłócających (mierzone prądy były rzędu 10° A), a z drugiej strony nieodwracalność procesów elektrochemicznych, która powodowała powstawanie histerezy między cyklem polaryzacji katodowej i anodowej. Z tego powodu do wyników pomiarów R_p należy podchodzić dosyć ostrożnie.

Przykładowe charakterystyki potencjodynamiczne w roztworze 0.5 M NaCl próbek Rex i Panacea przedstawione są na RYS. 4. W roztworze Tyrode'a charakterystyki wszystkich próbek mają podobne przebiegi. Wnioski jakie można wyciągnąć są następujące: 1) potencjały równowagowe próbek z warstwami NCD są przesunięte w stronę anodową w relacji do próbek "czystych", 2) podobnie w stronę anodową przesunięte są potencjały pasywacji, 3) gęstość prądu próbek z warstwami NCD jest ok. rząd mniejsza od gestości pradu tych próbek bez warstw w zakresie od potencjału równowagowego do potencjału, przy którym szybko rośnie prąd korozyjny, 4) warstwy NCD nie powodują jednoznacznych zmian potencjałów związanych z korozją szczelinową i wżerową. W oparciu o kształt charakterystyk potencjodynamicznych nie można wyznaczyć dokładnych wartości potencjału przebicia E_b. Na podstawie analizy uszkodzeń korozyjnych dla różnych maksymalnych zakresów polaryzacji stwierdzono, że dla próbek Rex potencjał E_b może zawierać się w przedziale od ok. 1.1 V do ok. 1.3 V, natomiast dla próbek Panacea od ok. 1.35 V do ok. 1.5 V [9].

Podsumowując krótko uzyskane wyniki można stwierdzić, że modyfikacja powierzchni próbek Rex i Panacea warstwami NCD powoduje korzystną zmianę parametrów korozyjnych tych próbek. Reakcje elektrochemiczne opisujące zachodzące procesy korozyjne można będzie postulować po wykonaniu dodatkowych badań związanych z pomiarami składu pierwiastkowego i struktury powierzchni próbek.

Podziękowania

Praca wykonana została w ramach grantu 3T08C 036 27. Autorzy wyrażają podziękowania Prof. P. J. Uggowitzerowi i Böhler Edelstahl GmbH za stop PANACEA P558 oraz J. Borowskiemu - MEDGAL (Białystok) za stop Rex 734. 2) also passivation potentials are shifted in anodic direction, 3) current density of samples with NCD layers is ca. one order of magnitude lower than for samples without NCD layers in the range from equilibrium potential to potential at which corrosion current increase rapidly, 4) NCD layers give any unequivocal changes of potentials connected with crevice-pitting corrosion. Based on the shape of potentiodynamic characteristics can not be determined the accurate values of breakdown potential E_b . Analyzing the corrosion damages obtained for different polarization ranges it can be stated that for Rex samples E_b potential is within the range of 1.1 V-1.3 V, while the same potential for Panacea is in the range of 1.35 V-1.5 V [9].

To summarize briefly it can be stated that Rex and Panacea surface modification by NCD layers cause advantageous changes of corrosion parameters of these samples. Electrochemical reactions connected with corrosion processes would be postulated after additional investigations of elemental composition and structure of samples surface.

Acknowledgements

This work was supported by grant No. 3 T08C 036 27. The authors thank Prof. P. J. Uggowitzer and Böhler Edelstahl GmbH for PANACEA P558 alloy and J. Borowski - MEDGAL (Białystok) for Rex 734 alloy.

Piśmiennictwo

[1] Marciniak J.: Biomateriały, Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice (2002)

[2] Thomann U. I., Uggowitzer P. J.: Wear-corrosion behavior of biocompatible austenitic stainless steel, Wear, 239, (2000), 48-58
[3] Uggowitzer P. J., Wohlfromm H.: P.A.N.A.C.E.A. provides the answer to Ni allergy, Metal Powder Report, 53, (1998), 48-52

[4] Pan J., Karlen C., Ulfvin C.: Electrochemical study of resistance to localized corrosion of stainless steels for biomedical applications, J. Electrochem. Soc., 147, (2000), 1021-1025

[5] Reclaru L., Lerf R., Eschler P.Y., Blatter A.: Meyer J.M.: Pitting, crevice and galvanic corrosion of REX stainless-steel/CoCr orthopedic implant material, Biomaterials, 23, (2002), 3479-3485

References

[6] Rondelli G., Torricelli P., Fini M., Giardino R.: In vitro corrosion study by EIS of a nickel-free stainless steel for orthopaedic applications, Biomaterials, 26, (2005), 739-744

[7] Mitura S., Mitura A., Niedzielski P., Couvrat P.: Nanocrystalline Diamond Coatings. Nanotechnology in Material Science, Ed. S. Mitura, Elsevier (2000)

[8] Kaczorowski W., Niedzielski P., Cłapa M., Mitura S.: Charakteryzacja warstw węglowych wytwarzanych metodą MW/RF PACVD, Inżynieria Materiałowa, 5, (2005), 239-241

[9] Błaszczyk T., Burnat B., Leniart A., Scholl H., Kaczorowski W.: Właściwości korozyjne bezniklowego stopu PANACEA P558 i wpływ warstw NCD na te właściwości, Inżynieria Materiałowa - przyjęte do druku

MECHANICZNE WŁAŚCIWOŚCI ZMĘCZENIOWE HYBRYDOWYCH MATERIAŁÓW KOMPOZYTOWYCH DO ZASTOSOWAŃ MEDYCZNYCH

Bożena Konieczna*, Wojciech Ścierski**, Stanisław Błażewicz*

*Akademia Górniczo–Hutnicza, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki , Katedra Biomateriałów, 30-059 Kraków, Al.Mickiewicza 30 "Katedra Otolaryngologii Śląskiej Akademii Medycznej, Zabrze e-mail: blazew@agh.edu.pl

Streszczenie

Artykuł przedstawia wyniki badań dotyczące otrzymywania i oceny biomechanicznej in vitro biomateriału w formie kompozytu dla zastosowania w laryngologii. Sztuczną tchawicę wykonano z kompozytu polimerowego wzmocnionego włóknem węglowym. Implant kompozytowy zaprojektowano i wykonano w formie kompozycji warstwowej, w której warstwa zewnętrzna składa się z biostabilnego terpolimeru składającego się politetrafluoroetylenu, fluorku poliwinilidenu i polipropylenu i włókien węglowych w formie tkaniny, a warstwa wewnętrzna zespolona z warstwą zewnętrzną składa się z krótkich włókien weglowych i polimeru. Implant w formie rurki został poddany mechanicznym testom stycznym i dynamicznym w warunkach in vitro. Mechaniczne właściwości sztucznej tchawicy zostały porównane z właściwościami tchawicy naturalnej owcy przyjętej jako model doświadczalny.

Słowa kluczowe: Implant tchawicy, materiał kompozytowy, właściwości zmęczeniowe, rekonstrukcja tchawicy

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),69-73]

Wprowadzenie

Rekonstrukcje tchawicy z wykorzystaniem obcego materiału napotykają na szereg problemów, w większości odnoszących się do odtworzenia złożonych funkcji pierwotnych. Laryngoplastyka wymaga stosowania materiału w sytuacji chorób wywołanych nowotworem bądź okaleczeniami. Zwężenie tchawicy jest najczęstszym przypadkiem jako następstwo intubacji i tracheotomii. Wśród innych przyczyn zwężenia tego organu można wymienić: uszkodzenia mechaniczne i chemiczne oraz nowotwory [1,2,3].

W celu zastąpienia usuniętej tkanki i odtworzenia pierwotnych funkcji tchawicy zostały opracowane różnorodne techniki. Leczenie stenozy tchawicy prowadzi się zarówno metodami alternatywnymi jak i radykalnymi. Leczenie radykalne polega na usunięciu chirurgicznym zwężonego odcinka tchawicy i zrekonstruowaniu brakującego segmentu (anastomoza wolnych końców), lub wypełnieniu go materiałami auto lub alogenicznymi. Ubytki tkankowe związane z częściową tracheotomią wymagają odpowiedniego uzupełnienia. Możliwe jest pokrycie miejsca pooperacyjnego perichondrium, tkanką chrzęstną bądź mięśniową, chociaż efekty tych sposobów są rzadko satysfakcjonujące. Niedogodnością tych sposobów są powstałe ubytki tkanki w miejscu pobrania, niewystarczająca ilość materiału do re-

FATIGUE MECHANICAL CHARACTERIZATION OF HYBRID COMPOSITE MATERIALS FOR MEDICAL PURPOSE

Bożena Konieczna*, Wojciech Ścierski**, Stanisław Błażewicz*

*AGH-UST, Faculty of Material Engineering and Ceramics, Department of Biomaterials 30-059 Krakow, al Mickiewicza 30 "Department of Otolaryngology Silesian Medical University, Zabrze E-mail: Blazew@uci.agh.edu.pl

Abstract

The paper presents the results on manufacture and biomechanical evaluation in vitro of composite biomaterials used in laryngotracheal reconstructions. The new artificial trachea was prepared from fibers based polymer composite. The composite implant was designed and prepared in the form of the layered fibrous composition in which the outer layer is composed of biostable terpolymer (polytetrafluoroetylene, polyvinylidene fluoride, and polypropylene), and carbon fibers mesh, and an inner layer integrally bonded to the outer is composed of a short carbon fibers and same polymer. The implant in the form of tube has been mechanically tested in static and dynamic conditions in simulated body solution. The mechanical properties of the artificial trachea has been compared to the properties of natural trachea of ovine chosen as an experimental model.

Keywords: Trachea implant, composite material, fatigue properties, tracheal reconstruction [Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),69-73]

Introduction

Tracheal reconstructions using foreign material encountered several problems, in most cases related to restoring complex natural functions. Need for laryngoplasty results from different diseases, commonly attacking the trachea including tumor or injuries. Stenosis of the trachea occurs the most often as complications after intubation and tracheotomy. Among the other reasons of narrowing of this organ the following are being named: mechanical injuries, chemical damages, primary and metastasis tumors [1,2,3].

Various surgical techniques have been developed in order to replace the removed tissue and to restore the functions of the trachea. The treatment of the trachea stenosis includes both alternative and radical methods. The radical treatments consist of surgical excision of the narrowed segment followed by reconstruction of trachea (anastomosis of free ends) or filling of lost segment with use of auto or allogenic materials.

Tissue defects following partial tracheotomy require appropriate supplementation. It is possible to cover the postoperative site with perichondrium, cartilage or muscle tissues, however the results are rarely satisfactory.

Disadvantages of these methods are tissue defects in autologous material of origin site, insufficient quantity of material for reconstruction and prolonged operation. In the last decade there have been made trials with allogenic materials application in tracheal and larynx reconstructions such as Silastic, Teflon, Bioglass, hydroxyapatite and polyethylene [4-11].

konstrukcji i wydłużenia czasu trwania operacji. W ostatniej dekadzie wykonano próby z zastosowaniem materiałów syntetycznych takich jak Silastik, Teflon, bioszkło, hydroksyapatyt i polietylen [4-11]. Badania nad możliwością wykorzystania materiałów alloplastycznych do rozwiązania niedogodności związanych z autograftami trwają. Wiadomo, że rekonstrukcje laryngologiczne powinny prowadzić do odtworzenia naturalnych warunków anatomicznych. Jest to możliwe przy założeniu, że zastosowany implant ma zbliżone cechy do zastępowanej tkanki, tzn. zachowuje odpowiedni kształt, sprężystość i jest biostabilny w długim okresie czasu.

Generalnie, problematyka dotycząca rekonstrukcji tchawicznych jest nadal otwarta, i takie zagadnienia jak infekcja, stenoza, odpowiednie złączenie protezy z tkanką, nie są jeszcze właściwie rozwiązane. Proces regeneracji tkanki w obrębie protezy powinien zachodzić w sposób zapewniający odtworzenie struktury pierwotnej. Takie warunki nie mogą zostać stworzone w obrębie tradycyjnego jednofazowego (metalicznego, ceramicznego, organicznego) materiału. Jak do tej pory rekonstrukcje tchawicy z wykorzystaniem tego typu biomateriału nie były w pełni udane z uwagi na pojawiające się lokalne infekcje, krwawienia, występującą stenozę oraz przemieszczenia implantu [12].

Wieloskładnikowe materiały kompozytowe, szczególnie zawierające jeden ze składników w formie włókien oraz osnowę polimerową stanowią grupę materiałów o nieograniczonej gamie możliwości formowania morfologii i właściwości, stąd wydają się być interesującą alternatywą wobec dotychczas wykorzystanych materiałów syntetycznych w omawianym zastosowaniu. Z tego względu autorzy niniejszej pracy podjęli próbę opracowania materiału kompozytowego, złożonego ze sprawdzonych we wcześniejszych badaniach biozgodnych składników, pozwalających na uzyskanie odpowiednich właściwości biologicznych i fizycznych implantu dla laryngologii. Przedstawione wyniki badań dotyczą otrzymywania i oceny wybranych właściwości materiału kompozytowego złożonego z włókien węglowych i terpolimeru (PTFE+PVDF+PE). Taki materiał został użyty do rekonstrukcji długiego wycinka tchawicy owcy, wybranej jako model doświadczalny z uwagi na podobieństwo rozmiarów, kształtu i elastyczności do tchawicy człowieka.

Materiały i metody

Próbki kompozytowe zostały wykonane z wykorzystaniem terpolimeru składającego się politetrafluoroetylenu (PTFE, 57% wag.), fluorku poliwinilidenu 9 PVDF, 27% wag.) i polipropylenu (PP, 15.1 % wag) oraz dwóch typów włókien węglowych różniących się formą (tkanina węglowa, włóknina węglowa) oraz chemicznym stanem powierzchni. Składniki kompozytu były wcześniej badane w warunkach in vitro i in vivo [13,14,15]. Polimer charakteryzuje się stabilnością, jest nieresorbowalny w tkankach i nie wywołuje odpowiedzi typu ciała około-obcego. Dwa rodzaje włókien zostały wykorzystane w celu uzyskania odpowiedniej biofunkcyjności implantu wynikającej i jego funkcji biologicznych i mechanicznych. Wykorzystano następujące rodzaje włókien węglowych:

 tkanina węglowa T-300 (średnia średnica włókna – 8 mikrometrów, wytrzymałość na rozciąganie -3 GPa, moduł Younga 230 GPa)

 - włóknina węglowa (średnia średnica włókna – 9 mikrometrów, wytrzymałość na rozciąganie -0.5 GPa, moduł Younga 90 GPa)

- terpolimer wykorzystany jako osnowa kompozytowa (Aldrich Company Inc., US, no cat.45, 458-3)

Próbki kompozytowe zostały wytworzone w formie dwóch zespolonych z sobą laminatów, różniących się swoja budową oraz właściwościami mechanicznymi i biologiczThe search for alloplastic materials that solve the disadvantages of autografts continues, and it is known that reconstruction of the loss of laryngeal tissue requires recreation of natural anatomic conditions. This is possible only when the properties of the implant material are similar to that of natural tissue, i.e. the implant preserves the appropriate shape, elasticity and provides long–lasting biostability.

In general, the problems of tracheal replacements have not been solved in terms of routine freedom from leakage, infection, stenosis and firm bonding of the prosthesis with the host tissue. The tissue regeneration process around the prosthesis should form a composite acting in the same manner as the original structure. There is no traditional, single-phase material (metallic, ceramic or organic) known so far that could fulfill all of these requirements. Tracheal reconstruction with the use of prostheses have met with limited success because of local infection, hemorrhage, luminal stenosis and prosthesis displacement [12]. Heterogeneous composite materials, especially those based on fibrous forms as components of organic matrix provide an unlimited variety of morphologies and properties and seem to be suitable candidates for biomaterials as tracheal replacement. For this reason the authors attempted to pursue the possibility of developing a composite materials that would combine the biological and physical properties of its components, to date constituting the object of independent research.

The present work pertains to the manufacture and assessment of selected properties of composite material consisted of carbon fibers and terpolimer (PTFE+PVDF+ PE). The composite has been used in the reconstruction of long section of the ovine trachea. The ovine trachea was chosen as the experimental model as its size, shape and flexibility are similar to those of human trachea.

Materials and methods

Composite samples have been prepared using terpolymer consisting of polytetrafluoroetylene, (PTFE,57,6%wt), polyvinylidene fluoride, (PVDF,27.3%) and PP polypropylene, (PP,15.1%), and two type of carbon fibers differing in their form (carbon tissue, carbon unwoven fabric) and chemical surface state.

The components were earlier biologically tested in vitro and in vivo [13,14,15]. The resin used is stable, insoluble in tissue and elicits virtually no foreign body response.

Two types of fibers were used in order to achieve functional implant resulting from its biological and mechanical role in organism. There have been used the following type of carbon fibers:

carbon tissue T-300 (mean diameter of filament -8 μm., tensile strength - 3 GPa, Young's. Modulus 230 GPa

carbon felt (unwoven fabric)- (mean diameter of filament-9 $\mu m.$, tensile strength - 0.5 GPa, Youngs modulus- 90 GPa.

Terpolymer form Aldrich Chemical Company Inc,USA (No cat 45,458-3) was used as a matrix of the composite samples. The composite samples were prepared in the form of two integrally bonded laminates differing in their structure, mechanical and biological properties.

Carbon fibres in the form of unwoven fabric and woven fabrics were immersed in liquid resin solution followed by drying process to remove the solvent. The drying process took place in a vacuum chamber for 24 hours, at 50 °C. The prepreg reinforced with carbon felt had a resin content of approximately 70 % by volume and thickness of 0.3 mm, while the prepreg reinforced with carbon tissue contained 50 % by volume of polymer. The final prepregs in the form of thin sheets of fibre- reinforced terpolymer were then used to fabricate two - layer composite. Due to thermoplastic properties

nymi. Laminaty zostały wykonane w następujący sposób : włókna węglowe w formie tkaniny nasycone zostały roztworem polimeru i następnie poddane zostały suszeniu celem usunięcia nadmiaru rozpuszczalnika. Suszenie prowadzono w komorze próżniowej w temp. 50 °C, w czasie 24 godzin. Laminat zawierający włókninę węglową, o grubości około 0.3 mm, zawierał około 70 % objętościowych polimeru, natomiast wykonany z tkaniny węglowej zawierał około 50 % polimeru. Wytworzone w ten sposób prepregi w formie cienkich laminatów złożonych z włókien weglowych i terpolimeru zostały użyte do wykonania dwuwarstwowego kompozytu. Dzięki termoplastycznym właściwościom osnowy ostateczny kształt kompozytu odpowiadający tchawicy owcy uzyskiwano poprzez ciśnieniowe łaczenie obu laminatów w ogrzewanej formie. Formowanie prowadzono przy ciśnieniu około 0.07 N/cm². Ciśnienie na podanym poziomie utrzymywano w czasie 30 minut, po czy formę chłodzono do temperatury pokojowej. W celu określenia podstawowych charakterystyk mechanicznych próbki poddane testom statycznym w próbie rozciągania i testom dynamicznym. Pomiary dynamiczne prowadzono na próbkach kompozytowych w formie rurek w temperaturze 37 °C, w płynie izotonicznym. Testy te prowadzono w układzie rozciąganie- rozciąganie, kontrolując wartości ekstremalne amplitudy siły. Każda próbka była poddawana 20 000 cykli osiowego rozciągania na różnym poziomie siły z częstością 0.04 Hz. Po każdej takiej próbie próbki były poddawane kolejnej próbie rozciągania do zniszczenia w próbie statycznej. Otrzymaną wartość siły niszczącej porównywano z wartością siły niszczącej przed testem dynamicznym. Wszystkie badania mechaniczne próbkę kompozytowych oraz naturalnej tchawicy owcy prowadzono na maszynie wytrzymałościowej Zwick 1435. Charakterystyka mechaniczna naturalnej tkanki pobranej z tchawicy jak i całej tchawicy porównywano z parametrami mechanicznymi opracowanych kompozytów.

Wyniki badań

Charakterystyka mechaniczna protezy w teście rozciągania statycznego pokazana jest na RYSUNKU 1. Jak wynika z tego rysunku poprzez specyficzny układ włókien w polimerowej osnowie (laminaty zawierają wiązki włókien ułożone względem siebie pod kątem 45 °) wartości odkształcenia protezy przy małej wartość siły są porównywalne z wartością odpowiadającą naturalnej tchawicy; wyznaczone odkształcenia zniszczenia naturalnej tchawicy wynosi 18.6 % (TABELA 1). Wartość siły niszczącej protezy jest wyraźnie wyższa niż określona dla tchawicy naturalnej. RYSUNEK 2 przedstawia przykład widma cyklicznej siły

Osiowa deformacja Prostopadła deformacja Siła odwracalna odwracalna Axial reversible defor-Perpendicular reversible Force mation deformation [%] [%] 5 6,7+/- 0.6 2.0+/-0.1 10 8.7+/-1.1 4.2+/-0.7 6.3+/-0.6 20 12.1 +/-1.7 18.6+/-1.9 67 (Niszczenie / Rupture)

TAB.1. Charakterystyka mechaniczna tchawicy owcy wyznaczona wzdłuż osi i prostopadle do osi rurki.

TAB.1. Mechanical characteristic of total ovine trachea measured along the axis and perpendicular to the tube axis.

of the matrix the final form of composite was joint together by compression molding in a heated press. Compression molding was accomplished by placing two laminates into a die matched to the natural shape of trachea. The stacked lay-up was under a pressure of approximately 0.07 N/cm², at about 80°C. Pressure and temperature was maintained for 30 minutes, followed by cooling to room temperature before releasing the pressure and removing the laminate form the die. The samples of composite were investigated in tensile static and dynamic modes to determine their fundamental mechanical characteristic and fatigue properties. Fatigue measurements were realized on the composite samples prepared in the form of tubes, at 37 °C in isotonic solution. Dynamic testing was conducted in the force - control mode (tensile- tensile test). The samples were uniaxially loaded a determined number of cycles (20 000) for various appliedforce levels, at a loading frequency of 0.04 Hz. After such a test each sample was subjected to static tensile test to rupture, and rupture force was compared to the value of force for as-received sample (before dynamic test). The evaluation of mechanical properties of composites and natural trachea taken from ovine were conducted using the test machine - Zwick 1435. The mechanical characteristics of total natural trachea were compared to composite prosthesis parameters. The composite implants were used in reconstruction of 3 cm long section of the trachea of ovine.

Results

The mechanical characteristics of the prosthesis in static tensile test is shown in the FIG.1. As it indicates from this figure due to specific arrangement of the fiber ply in a polymer matrix (the laminates contain 45–deg plies with respect to the prosthesis axis) the values of the strains under low level of force are comparable to natural trachea; the estimated strain to failure of natural trachea is about 18.6%, (see TABLE 1). Its tensile rupture force is distinctly higher than that determined for natural trachea of ovine.

FIGURE 2 presents an example of dynamic loading in tensile-tensile test. In this case the sample was loaded with the tensile force ranging from 70 to 160 N to maximum of 20 000 cycles in isotonic solution at 37 °C. Another samples were subjected to dynamic test with maximum of force amplitude of 40N, 50N and 60 N. None of the samples has been failed during these tests. Subsequently, after such tests, the samples were subjected to static tensile examination.

The results are gathered in the FIG.3. The data illustrate the changes of failure force of composite prosthesis sub-



RYS.1. Statyczna charakterystyka mechaniczna kompozytowej protezy tchawicy. FIG.1. Static mechanical characteristics of composite tracheal prosthesis. rozciągającej protezę w teście rozciąganie- rozciąganie. W tym przypadku proteza obciążana była siłą rozciągającą w zakresie 70 do 160N, do 20 000 cykli w roztworze izotonicznym w 37°C. Inne próbki kompozytowe poddane zostały badaniom dynamicznym w podobnych warunkach, zmieniając poziom wartości maksimum amplitudy, odpowiednio 40N, 50N i 60N. Żadna z badanych próbek nie uległa zniszczeniu w trakcie tych badań. Następnie, po przeprowadzonych badaniach dynamicznych próbki były niszczone w próbie rozciągania statycznego.

Rezultaty badań zebrane są na rysunku 3. Wyniki ilustrują zmiany siły zrywającej kompozytową protezę poddaną 20 000 rozciągających cykli przy różnym poziomie wartości maksimum amplitudy

Pokazany na rysunku poziom siły statycznej odpowiada wartości protezy przed testem zmęczeniowym. Jak to wynika z przebiegu tych zmian, protezy obciążane dynamicznie siłą o maksimum amplitudy poniżej 50N zachowywały wartości siły zrywającej zbliżonej do wartości przez badaniami zmęczeniowymi (około 900 N). Wskazuje to na istotny wpływ obciążeń dynamicznych na starzenie się protezy, jednakże jedynie dla wysokich wartości maksimum amplitudy. Biorąc jednak pod uwagę wartości siły zrywającej naturalną tchawicę owcy (około 67N) oraz wartość dynamicznych obciążeń nie powodujących zmian właściwości mechanicznych protezy (50N) można założyć, że proteza ma wystarczająca wytrzymałość zmęczeniową dla proponowanego zastosowania.

Wnioski

W pracy wykazano, że w zakresie niewielkich odkształceń badany kompozytowy materiał ma zbliżoną charakterystykę mechaniczną do charakterystyki naturalnej tchawicy owcy przyjętej jako model doświadczalny. Zmęczeniowe testy mechaniczne in vitro wykazały istotne różnice charakterystyki mechanicznej jedynie w zakresie stosowania wysokich wartości naprężeń rozciągających. Badania prowadzone w warunkach obciążeń dynamicznych do poziomu 75% wartości naprężenia niszczącego naturalną tchawicę nie wykazały istotnych zmian po 20 000 cykli (135 godzin pracy) w 37°C, w płynie izotonicznym. Ocena laboratoryjna opracowanej kompozytowej protezy tchawicy wykazała, że jej parametry fizyczne odpowiadają parametrom tchawicy naturalnej.

Podziękowania

Przeprowadzone badania były częściowo finansowane w ramach badań statutowych Akademii Górniczo – Hutniczej, Wydziału Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, projekt nr. 11.11.160.116.



RYS.3. Zmiany wytrzymałości na rozciąganie protezy tchawicy po testach dynamicznych przy różnym poziomie maksimum siły cyklicznej. FIG.3. Variation of tensile strength of tracheal prosthesis after dynamic tests at different level of amplitude maximum force.





jected to 20 000 tensile cycles at various levels of amplitudes. Static failure force shown in the figure corresponds to the value of prosthesis before dynamic fatigue testing. As it indicates from the above figure only the samples dynamically loaded below 50 N (amplitude maximum) behaved their failure force similar to the sample before testing (about 900N). Thus, changes in the composite prosthesis caused by dynamic force are significant only for higher level of force. However, talking into account the value of failure force of natural trachea (about 67N) and the value of amplitude force having no effect upon the ultimate force (50N) it seems that the prostheses studied are strong enough to be used in biological test.

Conclusions

It was found that for the low level of applied forces the investigated composite material has mechanical characteristics close to the natural trachea of the sheep taken as an

> experimental model. In vitro fatigue mechanical tests revealed distinct changes in mechanical characteristics only for high level of tensile stresses. The study of fatigue parameters under the level of 75% rupture force of natural trachea revealed no significant changes after 20 000 mechanical cycles (135 hours), at 37 °C, in isotonic solution. The laboratory assessment of the developed composite tracheal prosthesis indicated its meeting the physical demands resulted from the properties of natural trachea.

Acknowledgements

Financial support for this research in part was provided by AGH University of Science and Technology, Faculty of Materials Engineering and Ceramics, Cracow, project no. 11.11.160.116.

72

• •

[2] Vergona, J.M., Costes F., Polio J.C.: Efficacy and tolerance of a new silicone stent for the treatment of benign tracheal stenosis, Chest, 118,422-426,2000

[3] Otto, T., Chirurgia zwężeń tchawicy, Pol.Tyg.Lek., 40-44,7-9, 1995

[4] Flint,P., Corio,R., Cummings,C.: Comparison of soft tissue response in rabbits following laryngeal implantation with hydroxyapatite, silicon rubber and teflon, Ann-Otol-Rhinol-Laryngol.,May,106 (5): 399 – 407, 1997[5] Hunsaker, D., Martin, P., Allergic reaction to solid silicone implant in medical thyroplasty. Otolaryngol.head. Neck, Surg. Dec:113, 6:782-4, 1995

[6] Righi, P., Wilson, R., Gluckman, I., Thyroplasty using a silicone elastomer implant. Otolaryngol.Clin.North.Am, Apr.28(2), 309-16,1995

[7] Błażewicz, S., Pamula, E., Malinski, M., Pilch, J., Bielecki, I.:Hybryd composite implants in laryngology, Proc.Conf.Biotechnologies and Biomaterials 2000, Wyd.Oddz.PAN, Krakow, Polska, 2000
[8] Woo, P.: Laryngeal framework reconstruction with miniplates. Ann-Otol- RhinolLarygol. Oct.99 (10 Pt1); 772-7, 1990

BADANIA REOLOGICZNE ROZTWORÓW PRZĘDZALNICZYCH I FORMOWANIE WŁÓKIEN Z POLIALKOHOLU WINYLOWEGO

MACIEJ BOGUŃ, TERESA MIKOŁAJCZYK, MAGDALENA OLEJNIK

Katedra Włókien Sztucznych, Wydział Inżynierii i Marketingu Tekstyliów, Politechnika Łódzka e-mail: maciek.bogun@wp.pl, mikolter@mail.p.lodz.pl

Streszczenie

Przeprowadzono badania właściwości reologicznych roztworów przędzalniczych polialkoholu winylowego (PVA) w wodzie. Otrzymany 20% roztwór polimeru wykazywał dobrą przędliwość oraz podatność na zestalanie. Badania potwierdziły możliwość formowania włókien z PVA metodą z roztworu na mokro.

Słowa kluczowe: PVA, formowanie z roztworu na mokro, badania reologiczne

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),73-75]

Wstęp

Polialkohol winylowy (PVA) jest jednym z wielu biodegradowalnych i biozgodnych polimerów hydrofilowych wykorzystywanych w medycynie. Znalazł on już zastosowanie m.in. w implantologii [1], okulistyce [2], przy wytwarzaniu sztucznych narządów [3], jak również jako nośnik leków [4]. Nowym zastosowaniem tego polimeru może stać się wytwarzanie porowatych nanokompozytów otrzymywanych na bazie włókien formowanych metodą z roztworu na mokro. Metoda ta bowiem w przeciwieństwie do innych klasycznych metod formowania włókien, jak również nowoczesnej metody elektospiningu zapewnia odpowiednie sterowanie parametrami procesowymi, w celu uzyskania zamierzonej, powtarzalnej struktury i właściwości włókien. [9] Haliloglu,T., Onar,V., Yildrim, G., Sapti,T., Savci,N.: Tracheal reconstruction with porous high- density polyethylene tracheal prosthesis, Am. Otol. Rhinl. Laryngol. 109, 981-987,2000

[10] Coshman, S., Simpson C.B., McGuff H.S., Soft tissue of the rabbit larynx to Gore- Tex, Ann.Otol.Rhinol Laryngol. 2002, Nov, 111,11, 977-82

[11] Delaere, P., Blondell, M., Hermans, M., Guelinck, P., Feenstra, L.: Use of composite fascial carrier for laryngotracheal reconstruction. Ann.Otol.Rhinol Laryngol. 106:175-180, 1997

[12] Masayoshi ,T., Tatsuo, N., Yasumichi, Y., Tetsuya, K., Poroustype Tracheal Prosthesis sealed with Collagen sponge, Ann, Thorac Surg, 64,965,1997

[13] Czajkowska B., Błażewicz M., Phagocytosis of chemically modified carbon materials, Biomaterials, 18,(1997), 69-74

[14] Pamula E., Blazewicz M., Homyszyn M., Polymer – carbon composite for guided tissue regeneration, Engineering of Biomaterials, edited by Polish Society for Biomaterials 10,(3), 2000,[3-9]
[15] Kus W.M., Gorecki A., Strzelczyk P., Swiader P., Carbon fiber scaffolds in the treatment of cartilage lesions, Ann Transplant 1999,4,3-4,101-2

RHEOLOGICAL EXAMINATIONS OF SPINNING SOLUTIONS AND FIBRE FORMATION FROM POLY(VINYL ALCOHOL)

MACIEJ BOGUŃ, TERESA MIKOŁAJCZYK, MAGDALENA OLEJNIK

DEPARTMENT OF MAN-MADE FIBERS. FACULTY OF TEXTILE ENGI-NEERING AND MARKETING, TECHNICAL UNIVERSITY OF ŁÓDŹ E-MAIL: MACIEK.BOGUN@WP.PL, MIKOLTER@MAIL.P.LODZ.PL

Abstract

The rheological properties of spinning solutions of poly(vinyl alcohol) (PVA) in water have been examined. A 20% polymer solution showed good spinning capability and susceptibility to solidification. The performed tests have confirmed the possibility of fibre formation from PVA by the wet process from solution.

Key words: PVA, wet spinning from solution, rheological measurements

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),73-75

Introduction

Poly(vinyl alcohol) (PVA) is one of the many biodegradable and biocompatible hydrophilic polymers utilised in medicine. This polymer has already found its application among others in implantation [1], ophthalmology [2], artificial organ preparation [3] as well as a carrier of medicaments [4]. A new application of PVA can be its use for the production of porous nanocomposites in the form of fibres spun by the wet process from solution. This process, as opposed to other conventional methods of fibre spinning as well as the modern method of electro-spinning, allows one to properly control process parameters in order to obtain required, reproducible fibre structure and properties. This method makes it also possible to produce fibres with different chemical compositions and molecular weights, which show the anisotropy of properties, similarly as natural tissues whose properties are

References

Pozwala ona również na wytwarzanie włókien w szerokim zakresie składu chemicznego i masy cząsteczkowej, a uzyskane włókna wykazują anizotropię właściwości, podobnie jak naturalne tkanki, których właściwości związane są z obecnością w nich białek fibrylarnych. Otrzymane tą metodą nanokompozyty z polialkoholu winylowego w zależności od użytego nanododatku będą mogły odegrać znaczącą rolę w inżynierii tkankowej, w onkologii, bądź chirurgii urazowej.

Celem podjętych w pracy badań jest określenie właściwości reologicznych roztworów przędzalniczych polialkoholu winylowego w wodzie w temperaturze 20°C.

Przeprowadzenie tych badań pozwoli na dobór odpowiedniego stężenia polimeru w roztworze przędzalniczym z którego przewiduje się uzyskanie włókien z nanokompozytu polialkoholu winylowego przeznaczonych do zastosowań medycznych.

Wyniki badań nad opracowaniem wpływu warunków formowania i właściwości włókien z różnego rodzaju nanokompozytów PVA będą przedmiotem kolejnych publikacji.

Materiały i metody badawcze

W pracy został wykorzystany polimer polialkohol winylowy (japońskiej firmy J-Poval) o lepkości istotnej [η] = 0,8 dl/g wyznaczonej metodą wiskozymetryczną w wodzie, w temperaturze 20°C. Do badań reologicznych wykorzystano 22,5% oraz 20% roztwory polialkoholu winylowego w wodzie.

Do oznaczenia właściwości reologicznych roztworów przędzalniczych stosowano reometr rotacyjny Rheotest RV. Pomiary przeprowadzono w zakresie szybkości ścinania do 146,8 1/s, w temperaturze 20°C przy użyciu cylindra "H". Parametry reologiczne n i K wyznaczono na podstawie krzywych płynięcia przedstawionych w układzie logarytmicznym.

Dyskusja wyników

Na podstawie uzyskanych krzywych płynięcia (RYS.1,2) 22,5% oraz 20% roztworów polialkoholu winylowego można stwierdzić, iż roztwory te są cieczami nienewtonowskimi, rozrzedzonymi ścinaniem bez granicy płynięcia. Dla obu roztworów naprężenie styczne wzrasta



FIG.1. Dependence of shearing stress on the shearing rate of 20% and 22.5% PVA solutions in water.

connected with the presence of fibrillar proteins. PVA nanocomposites obtained by this method could play an important part in tissue engineering, oncology or surgery.

The aim of the study is to assess the rheological properties of PVA spinning solutions in water at a temperature of 20°C. The tests and measurements to be carried out will allow one to select a proper polymer concentration in the spinning solution for the formation of PVA nanocomposite fibres designed for medical applications.

The assessment of the effect of spinning conditions on the properties of fibres from various types of PVA nanocomposites will be the subject of further studies.

Materials and methods

Poly(vinyl alcohol) from Japanese firm J-Poval with an intrinsic viscosity of 0.8 dl/g, found by viscosimetry at a temperature of 20°C, was used in the study. 22.5% and 20% aqueous PVA solutions were used for rheological measurements.

Results and discussion

Based on the obtained flow curves (FIGs.1 and 2) of 22.5% and 20% PVA solution, one may state that these solutions are non-Newtonian fluids rarefied by shearing without flow limit. The shearing stress of both solutions increases less than proportionally with increasing shearing rate and the curves pass through the origin of coordinates. On the other hand, the apparent dynamic viscosity decreases with increasing shearing rate, which is a typical behaviour of polymeric fluids.

TABLE 1 contains the values of rheological parameters of the solutions under investigation.

When the polymer concentration in solution is increased, the non-Newtonian character of fluid is becomes more and more visible, which is indicated by some decrease in the rheological parameter "n" and considerable increase in parameter "K" (TABLE 1). As the value of dynamic viscosity of 22.5% PVA solution was high, exceeding 80 Pas, fibres were spun from 20% PVA solution, whose viscosity ranged from 30 to 40 Pas.

Preliminary trials of fibre formation were carried out using a system consisting of a feeding unit, two tanks with coagula-



RYS.2. Zależność lepkości dynamicznej od szybkości ścinania dla roztworów 20% oraz 22,5% PVA w wodzie.

FIG.2. Dependence of dynamic viscosity on the shearing rate of 20% and 22.5% PVA solutions in water.

74

mniej niż proporcjonalnie wraz ze wzrostem szybkości ścinania, a krzywe przechodzą przez początek układu współrzędnych. Natomiast lepkość dynamiczna pozorna maleje wraz ze wzrostem szybkości ścinania, co jest typowe dla płynów polimerowych.

W TABELI 1 zamieszczono wartości parametrów reologicznych otrzymanych dla badanych roztworów. W przypadku zwiększenia udziału polimeru w roztworze uwidacznia się coraz bardziej nienewtonowski charakter cieczy, o czym świadczy nieznaczne zmniejszenie się wartości parametru reologicznego "n", przy jednoczesnym dużym wzroście parametru "K" (TAB.1). W związku z wysoką wartością lepkości dynamicznej powyżej 80 Pas roztworu 22,5% PVA do wytwarzania włókien użyto 20% roztwór polimeru, którego lepkość dynamiczna zawierała się w zakresie 30-40 Pas. Wstępne próby formowania włókien przeprowadzono stosując układ składający się z punktu podającego, dwóch wanien z kąpiela koagulacyjna (wodny roztwór NaCI), wanny z środkiem strącającym pozostałą na włóknie sól oraz punktu odbierającego. Zastosowany roztwór przędzalniczy wykazywał dobrą przędliwość oraz podatność na zestalanie.

Podsumowanie

Przeprowadzone badania reologiczne roztworów przędzalniczych polialkoholu winylowego pozwoliły na dobranie odpowiedniego stężenia roztworu przędzalniczego przeznaczonego do formowania włókien metodą z roztworu na mokro. Jak wykazały wstępne próby przędzenia roztwór ten wykazywał bardzo dobrą przędliwość oraz podatność na zestalanie. Uzyskane wyniki badań wstępnych będą podstawą do opracowania warunków formowania włókien PVA z różnymi rodzajami nanododatków

Podziękowania

Maciej Boguń Stypendysta programu Mechanizm WID-DOK współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego oraz Budżetu Państwa (numer umowy Z/2.10/II/2.6/04/05/U/2/06

Roztwór przędzalniczy Concentration of spinning solution	Parametry n I K po 24h od sporządzenia Rheological parameters n and K storage for 24 h			
[%]	n	к		
20	0,965	38,79		
22,5	0,964	81,39		

TABELA 1. Charakterystyka roztworów przędzalniczych PVA w wodzie. TABLE 1. Characteristics of PVA spinning solutions in water.

tion bath (aqueous solution of NaCl), a tank with an agent to precipitate the salt remaining on fibres and a take-up unit. The spinning solution used showed good spinnability and susceptibility to solidification.

Conclusion

The performed rheological examinations of PVA spinning solutions made it possible to select proper concentration of spinning solution designed for fibre formation by the wet process from solution. The preliminary spinning trials have shown that the selected PVA solution is characterised by very good spinnability and susceptibility to solidification. The results obtained will be a basis for developing process conditions of PVA fibres containing various types of nanoadditives.

Acknowledgement

The author Maciej Boguń is a grant holder of "Mechanizm WIDDOK" programme supported by European Social Fund and Polish State (contract number Z/2.10/II/2.6/04/05/ U/2/06).

Piśmiennictwo

References

[1] J.H., Bonner, W.S., Ogawa, Y.J., Vacanti, P., Weir,G.C., Transplantation, 61,(1996), 1557

[2] Hyon, S.H., Cha, W.I., Ikada, Y., Kita, M., Ogura, Y., Honda, Y.,
 J. Biomater. Sci. Polym. Ed., 5,(1994), 397

[3] Chen, D.H., Leu, J.C., Huang, T.C., J. Chem. Technol. Biotechnol., 61,(1994), 351

[4] Kobayashi, H., Ykada, Y., Biomaterials, 12,(1991), 747

76 WPŁYW STĘŻENIA ROZTWORU PRZĘDZALNICZEGO I WYCIĄGU FILIEROWEGO NA WŁAŚCI-WOŚCI SORPCYJNE I WYTRZY-MAŁOŚCIOWE WŁÓKIEN Z PGLA

Maciej Boguń*, Teresa Mikołajczyk*, Magdalena Olejnik*, Andrzej Kurzak*, Stanisław Błażewicz** , Joanna Buczyńska**, Elżbieta Pamuła**

*Katedra Włókien Sztucznych, Wydział Inżynierii i Marketingu Tekstyliów, Politechnika Łódzka **Katedra Biomateriałów, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, Akademia Górniczo-Hutnicza, Kraków e-mail: maciek.bogun@wp.pl, mikolter@mail.p.lodz.pl

Streszczenie

Przeprowadzono badania właściwości reologicznych roztworów przędzalniczych kopolimeru PGLA w N,N-dimetyloformamidzie. Wykonano badania wpływu stężenia roztworu przędzalniczego i wyciągu filierowego na właściwości sorpcyjne i wytrzymałościowe włókien. Otrzymane włókna charakteryzowały się wysoką retencją wody oraz wytrzymałością na poziomie 5,4 cN/tex.

Słowa kluczowe: PGLA, formowanie z roztwory na mokro, wyciąg filierowy, badania reologiczne [Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),76-79]

Wstęp

Obecnie jednym z najczęściej wykorzystywanych przez inżynierię materiałową polimerów do zastosowań medycznych są polilaktydy (PLLA, PDLA, PDLLA) i poliglikolid (PGA) oraz ich kopolimery (PGLA) [1]. Znalazły one zastosowanie między innymi w ortopedii, inżynierii tkankowej, jako 3D scaffoldy, jak również nośniki kontrolowanego uwalniania leków [2-5]. Oprócz bioresorbowalności i biozgodności polimery te cechuje stosunkowa łatwa możliwość tworzenia przestrzennych struktur porowatych wytwarzanych do zastosowań w inżynierii tkankowej [6,7]. Typowymi metodami otrzymywania takich struktur są: wypłukiwanie soli, separacja faz i spienianie gazem, jednakże podłoża wytworzone tymi metodami cechuje izotropia właściwości, w przeciwieństwie do naturalnych tkanek, które są najczęściej anizotropowe [6]. Nowym kierunkiem w przygotowywaniu porowatych struktur trójwymiarowych może być zastosowanie do ich konstrukcji włókien wytwarzanych metodą z roztworu na mokro. Zastosowanie tej klasycznej metody pozwala na wytwarzanie włókien w szerokim zakresie składu chemicznego i masy cząsteczkowej, jak również zapobiega termicznej degradacji polimeru, która może wystąpić w przypadku metody formowania ze stopu. Zaletą formowania włókien z kopolimeru glikolidu z L-laktydem metodą z roztworu na mokro jest również fakt, iż umożliwia ona odpowiednie sterowanie parametrami procesowymi, tak aby uzyskać zamierzoną strukturę porowatą i właściwości włókien.

Celem pracy jest określenie wpływu stężenia kopolimeru w roztworze przędzalniczym oraz wyciągu filierowego i stopnia rozciągu na właściwości sorpcyjne i wytrzymałościowe włókien.

EFFECT OF THE CONCENTRATION OF SPINNING SOLUTION AND AS-SPUN DRAW RATIO ON THE SORPTION AND STRENGTH PROPERTIES OF PGLA FIBRES

Maciej Boguń*, Teresa Mikołajczyk*, Magdalena Olejnik*, Andrzej Kurzak*, Stanisław Błażewicz** , Joanna Buczyńska**, Elżbieta Pamuła**

*Department of Man-Made Fibers. Faculty of Textile Engineering and Marketing, Technical University of Łódź **Department of Biomaterials, Faculty of Materials Science and Ceramics, AGH University of Science and Technology. Cracow.

E-MAIL: MACIEK.BOGUN@WP.PL, MIKOLTER@MAIL.P.LODZ.PL

Abstract

The rheological properties of spinning solutions of PGLA copolymer in N,N-dimethylformamide have been examined. The effects of the concentration of spinning solution and as-spun draw ratio on the sorption and mechanical properties of these fibres have been assessed. The obtained fibres are characterised by a high water retention and tenacity at a level of 5.4 cN/tex.

Key words: PGLA, wet-spinning from solution, asspun draw ratio, rheological measurements [Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),76-79]

Introduction

Nowadays the most frequently used polymers by the material engineers for medical applications include polylactides (PLLA, PDLA, PDLLA), polyglycolide (PGA) and their copolymers (PGLA) [1]. They have found their applications in orthopaedics, tissue engineering as 3D scaffolds and carriers of medicines to be released in a controlled manner [2-5]. In addition to bioresorption capability and biocompatibility, these polymers can easily form spatial porous structures designed for use in tissue engineering [6, 7]. Such structures are mostly created by rinsing out salts, phase separation, and gaseous foaming, but the substrates prepared by these methods show isotropy of properties as opposed to natural tissues that are characterised by anisotropy of properties [6]. A new approach to the preparation of 3D porous structures may be the use of fibres produced by the wet-spinning from solution. The use of this conventional process allows one to produce fibres within a wide range of chemical composition and molecular weight and to prevent the thermal degradation of polymer that can take place in the case of melt-spinning. The formation of fibres from glycolide-L-lactide copolymer by the wet process from solution is also beneficial due to the fact that it makes it possible to control process parameters so as to obtain a required fibre porous structure and properties.

The aim of the present study was to assess the effects of copolymer concentration in spinning solution as well as the as-spun draw ratio and total draw ration on the sorption and strength properties of the resultant fibres.

Materiały i metody badawcze

Do wytwarzania włókien zastosowano kopolimer glikolidu z L-laktydem o stosunku molowym 17:83 liczbowo średniej masie cząsteczkowej 85000 D i wagowo średniej masie cząsteczkowej 161 500 D, otrzymany według metody opisanej poprzednio [8].

Włókna formowano metodą z roztworu na mokro, przy użyciu jako rozpuszczalnika N,N-dimetyloformamidu (DMF). Stężenie roztworu przędzalniczego wynosiło 11,5% oraz 15%. Stosowano przędzarkę wielkolaboratoryjną, której konstrukcja umożliwia stabilizację parametrów procesowych i ciągłą ich kontrolę. Użyto dyszę przędzalniczą 240 otworową o średnicy otworków 0,08 mm. Proces zestalania prowadzono w kąpieli koagulacyjnej o stężeniu 20-40% DMF i temperaturze 8-15°C. Proces rozciągu realizowano jednoetapowo w kąpieli plastyfikacyjnej o zawartości rozpuszczalnika około 15-30% w temperaturze 30-50°C. Po procesie płukania włókna suszono w warunkach izometrycznych w temperaturze 20°C

Badanie sorpcji wilgoci 100% RH przeprowadzono zgodnie z Polską Normą <u>PN-81/P-04635</u>.

Retencje wody oznaczono odnosząc masę zatrzymanej przez włókna wody po odwirowaniu próbki w czasie 10 minut z przyspieszeniem 10000 m/s², do masy suchej próbki. Przed odwirowaniem włókna były zanurzone w czasie 24 godzin w wodzie z dodatkiem związku powierzchniowo czynnego: 1% Rokafenolu NX-3.

Wytrzymałość właściwą włókien przy zerwaniu wyznaczono dla wiązki włókien według Normy Polskiej <u>PN-84/P-04654</u>, przy użyciu maszyny wytrzymałościowej typu Zwick Z 2.5 Do oznaczenia właściwości reologicznych roztworów przędzalniczych stosowano reometr rotacyjny Rheotest RV. Pomiary przeprowadzono w zakresie szybkości ścinania do 146,8 1/s, w temperaturze 20°C przy użyciu cylindra "H". Parametry reologiczne n i K wyznaczono na podstawie krzywych płynięcia przedstawionych w układzie logarytmicznym, bez uwzględniania zakresu naprężenia ścinającego poniżej 10 działek odczytu.

Dyskusja wyników

W przypadku obu roztworów przędzalniczych o 11,5% oraz 15% zawartości kopolimeru glikolidu z L-laktydem stwierdzono, że są to ciecze nienewtonowskie rozrzedzone ścinaniem, bez granicy płynięcia. Natomiast wzrost

Materials and methods

Fibres were spun by the wet process from solutions of glycolide-L-lactide copolymer with a molecular weigh of 85 000 D in a molar proportion of 17:83 (obtained according to the method in paper [8]), using N,N-dimethylformamide as solvent. The concentrations of spinning solutions were 11.5% and 15%. A laboratory-spinning machine was used, whose construction made it possible to stabilise the technological parameters at a required level under continuous control. A spinneret with 240 orifices of a diameter of 0.08 mm was used. The solidification process was carried out in a coagulation bath with DMF concentrations of 20-40% at a temperature of 20°C.

The moisture absorption of fibres at 100% RH was tested in accordance with Polish Standard <u>PN-81/P04635</u>. Water retention was determined by comparing the weight of water retained by fibres after centrifuging for 10 min at an acceleration of 10 000 m s² with the weight of a dry fibre sample. Prior to centrifuging, the fibres were immersed in water containing 1% of a surface-active agent (Rokafenol NX-3) for 24 h.

The tensile strength of fibres was tested for a bundle of fibres according to Polish Standard <u>PN-84/P-04654</u>, using a Zwick Z 2.5 tensile tester.

The rheological properties of spinning solutions were measured by means of a rotary rheometer: Rheotest RV. Measurements were carried out within the range of shearing rates up to 146.8 l/s at a temperature of 20°C using an "H" cylinder. Rheological parameters "n" and "K" were determined on the basis of the floe curves presented in a logarithmic system, excluding the range of shearing stress below 10 reading graduations.

Roztwór przędzalniczy Concentration of spinning solution	Parametry n i K po 6h od sporządzenia Rheological parameters n and K storage for 6 h		
[%]		к	
11,5%	0,991	2,63	
15%	0,917	12,01	

TABELA 1. Charakterystyka roztworów przędzalniczych PGLA w DMF-ie. TABLE 1. Characteristics of PGLA spinning so-

lutions in DMF.

Symbol próbki Symbol of sample	Stężenie roztworu przędzalniczego Concentration of spin- ning solution [%]	Wyciąg filierowy As-spun draw out ratio [%]	Rozciąg całko- wity Total draw ratio [%]	Sorpcja wilgoci w 100% RH Moisture absorption at 100% RH [%]	Retencja wody Water retention [%]	Wytrzymałość właściwa Tenacity [cN/tex]	Wytrzymałość właściwa Elongation at break [%]
L 11	11,5	-22,9	260,0	2,60	167,73	3,16	4,47
L 10	11,5	- 3,3	229,2	2,38	178,52	3,80	5,13
L13	11,5	15,6	234,8	2,30	158,29	1,57	3,44
L 12	11,5	36,0	226,4	3,07	175,49	2,37	3,91
L 16	15	-32,0	240,1	2,84	120,65	5,34	8,17
L 19	15	-6,0	244,0	2,88	117,44	5,39	7,93
L 18	15	19,7	230,1	2,80	142,72	4,63	6,45
L 17	15	37,1	211,9	3,82	160,36	3,86	4,13

TABELA 2. Właściwości sorpcyjne i wytrzymałościowe włókien otrzymanych z roztworów PGLA. TABLE 2. Sorption and strength properties of PGLA fibres udziału procentowego kopolimeru w roztworze uwidacznia
 się pogłębieniem nienewtonowskiego charakteru roztworu, o czym świadczy zmniejszenie się wartości parametru reologicznego "n", przy jednoczesnym wzroście parametru "K". (TAB.1)

Dla obu roztworów przędzalniczych przeprowadzono proces przędzenia zmieniając podstawowy parametr procesowy, którym jest wielkość wyciągu filerowego i związana z tym wartość deformacji w etapie rozciągu. Wyciąg filerowy zmieniano w zakresie od -32% do 37%.

W TABELI 2 umieszczono właściwości wytrzymałościowe, sorpcyjne oraz retencję wody dla otrzymanych włókien z PGLA.

Z analizy właściwości włókien formowanych z obu roztworów przędzalniczych przy zmiennych wartościach wyciągu filerowego i deformacji w etapie rozciągu wynika, iż zarówno sorpcja wilgoci w 100%RH, jak i retencja wody wykazują ogólną tendencję wzrastającą wraz ze zmianą wyciągu filerowego w kierunku wyższych wartości (tabela2). Jednakże zmiany sorpcji wilgoci są niewielkie i mieszczą się w przedziale 2,3 – 3,8%. Taka niska wartość tego parametru może świadczyć o niskim udziale por małych i średnich we włóknie, zależność taka bowiem została potwierdzona przez nas we wcześniejszych badaniach w przypadku innych tworzyw włóknotwórczych. Natomiast w przypadku retencji wody dla włókien formowanych z 15% roztworu przędzalniczego PGLA wpływ wyciągu filierowego uwidacznia się bardziej wyraźnie. Dla włókien formowanych przy wyciągu filierowym na poziomie +37,1% obserwowany jest 33% wzrost retencji wody w stosunku do włókien formowanych przy wyciągu filierowym na poziomie -32%. Świadczyć to może o występowaniu w wytworzonej strukturze znaczącego udziału por odpowiedzialnych za wartości tego parametru.

Z analizy właściwości wytrzymałościowych wynika, iż uzyskane włókna z roztworu przędzalniczego o 15% udziale PGLA wykazują znacznie wyższą wartość wytrzymałości właściwej i wydłużenia przy zerwaniu, aniżeli włókna otrzymane z 11,5% roztworu przędzalniczego. Dla obu roztworów przędzalniczych uwidacznia się ten sam charakter wpływu wyciągu filierowego na wartość wytrzymałości właściwej, przy porównywalnych wartościach stopnia rozciągu. Wyższe wartości tego wskaźnika uzyskuje się w przypadku stosowania ujemnych wartości wyciągu filierowego, co pozostaje w zgodności z ogólną zasadą formowania włókien metodą z roztworu na mokro. Pomimo, iż uzyskiwany w przypadku włókien z 15% roztworu przędzalniczego PGLA poziom wytrzymałości około 5,5 cN/tex jest bardzo niski i najprawdopodobniej spowodowany prowadzeniem jednoetapowego procesu rozciągu, nie wyklucza to zastosowania tych włókien jako jednego ze składników do otrzymywania kompozytów stosowanych w inżynierii tkankowej.

Podsumowanie

Przeprowadzone badania nad formowaniem włókien z kopolimeru glikolidu z L-laktydem wykazały, iż korzystniejsze z punktu widzenia uzyskiwanych właściwości sorpcyjnych i wytrzymałościowych jest stosowanie 15% roztworu przędzalniczego. Otrzymane właściwości sorpcyjne oraz wysoki poziom retencji wody świadczą o tym, iż uzyskiwana struktura włókien jest strukturą wysoce porowatą, przy jednocześnie niskiej wytrzymałości właściwej na poziomie około 5,5 cN/tex.

Dalsze prace zespołu dotyczyć będą określenia wpływu II etapowego procesu rozciągu na właściwości mechaniczne i strukturę porowatą otrzymanych włókien. Zostanie także opracowany odpowiedni rozkład rozciągów w celu uzyskania znacznie wyższych wartości wytrzymałości właściwej.

Results and discussion

It has been found that both spinning solutions with the copolymer contents 11.5% and 15% are non-Newtonian fluids rarefied by shearing without flow limits. In the case of the higher copolymer concentration, the non-Newtonian character of the solution is even more distinct, as confirmed by the decreased rheological parameter "n" and increased parameter "K" at the same time (TABLE 1).

Both spinning solutions were used to spin fibres varying the basic process parameter: as-spun draw ratio and related deformation during drawing. This parameter was changed within the range from -32% to 37%.

The sorption and strength properties of the obtained PGLA fibres are presented in TABLE 2.

From the analysis of the properties of fibres spun from both spinning solutions at variable values of as-spun draw ration and deformation during the drawing stage it follows that both the moisture absorption at 100% RH and water retention show a general upward trend with the change in as-spun draw ratio towards higher values (TABLE 2). However the changes in moisture absorption are small ranging from 2.3% to 3.8%. Such a low value of this parameter may indicate a low content of small and medium pores in the fibre structure as such a relationship has been confirmed by us in our previous studies on other fibre-forming polymers. On the other hand, the water retention of fibres spun from 15% PGLA solution is clearly affected by the as-spun draw ration. In the case of fibres spun at the as-spun draw ration +37%, their water retention is increased by 33% as compared to that of fibres spun at the as-spun draw ratio -32%. This may indicate that the created structure includes a considerable content of pores responsible for the value of this parameter.

From the analysis of strength properties it follows that the fibres obtained from the spinning solution containing 15% of PGLA show a considerable higher tenacity and elongation at break than those obtained from 11.5% spinning solution. Both solutions are characterised by the same effect of asspun draw ratio on tenacity with comparable degrees of the total draw ration. Higher values of this parameter are obtained at negative values of as-spun draw ratio, which is consistent with the general principle of fibre formation by the wet process from solution. Despite the fact that the fibres obtained from the spinning solution containing 15% of PGLA show a very low tenacity, amounting to about 5.5 cN/tex, which seems to be due to the use of single-stage drawing process, it is not excluded that these fibres are suitable for use as one of the components to prepare composites for tissue engineering.

Conclusion

The performed trials of fibre spinning from glycolide-L-lactide copolymer have shown that the use of spinning solution containing 15% of the copolymer is more beneficial from the point of view of the obtained sorption and strength properties. The sorption properties and the high level of water retention indicate that the obtained fibre structure is highly porous, although the fibre tenacity is rather low, amounting to 5.5 cN/tex.

Further studies will concern the assessment of two-stage drawing process on the mechanical properties and porous structure of the fibres, including also the development of a proper distribution of drawing ratios in order to obtain considerably higher values of tenacity. This should be a basis for the development of process conditions for the production of PGLA nanocomposite fibres by the wet process from solution.

78

Będzie to podstawą do opracowania warunków wytwarzania włókien PGLA z udziałem nanoproszku ceramicznego metodą z roztworu na mokro.

Podziękowania

W pracy wykorzystano część badań wykonanych w ramach pracy magisterskiej Pani Iwony Niewiadomskiej. Autorzy dziękują Panu Dr. Piotrowi Dobrzyńskiemu za zsyntezowanie PGLA.

Maciej Boguń Stypendysta programu Mechanizm WID-DOK współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego oraz Budżetu Państwa (numer umowy Z/2.10/II/2.6/04/05/U/2/06).

Piśmiennictwo

[1] Rezwan, K; Chen, Q.Z.; Blaker, J.J.; Aldo Roberto Boccaccini Biomaterials 2006, 27, 3413

[2] Södergard, A.; Stolt, M. Prog Polym Sci 2002, 27, 1123
[3] Thomson, R.C.; Wake M.C.; Yaszemski M.J.; Mikos A.G. Adv

Polym Sci 1995, 122, 245

[4] Agrawal C.M.;Stolt M. Prog Polym Sci 2002, 27, 1123

[5] Kim H.D.; Bae E.H.; Kwon I.C.; Pal R.R.; Nam J.D.; Lee D.S. Biomaterials 2004, 25, 2319

ZAWIERAJĄCE WIELOŚCIENNE NANORURKI WĘGLOWE PREKURSOROWE WŁÓKNA PAN

Maciej Boguń*, Teresa Mikołajczyk*, Andrzej Kurzak*, Stanisław Błażewicz**, Aneta Frączek**

*Katedra Włókien Sztucznych, Wydział Inżynierii i Marketingu Tekstyliów, Politechnika Łódzka

**KATEDRA BIOMATERIAŁÓW,

Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, AGH Kraków e-mail: maciek.bogun@wp.pl, mikolter@mail.p.lodz.pl

Streszczenie

Przeprowadzono badania właściwości reologicznych roztworów przędzalniczych poliakrylonitrylu zawierających nanorurki węglowe w N,N-dimetyloformamidzie. Następnie przeprowadzono badania nad otrzymywaniem prekursorowych włókien PAN zawierających różne udziały nanododatku. Otrzymane włókna PAN zawierające 3% nanorurek węglowych charakteryzowały się wysoką wytrzymałością właściwą na poziomie 34 cN/tex i wydłużeniem przy zerwaniu na poziomie 12%.

Słowa kluczowe: włókna prekursorowe, włókna węglowe, nanorurki węglowe

.

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),79-82] Wstęp

Zastosowanie nanotechnologii w procesie wytwarzania prekursorowych włókien poliakrylonitrylowych pozwala na modyfikację właściwości uzyskanych z nich włókien węglowych, co może przyczynić się do większego zainteresowania inżynierii biomateriałowej tym tworzywem. Jak to potwierdziły nasze wcześniejsze badania [1-5] wprowadzenie do tworzywa włókien prekursorowych różnego

Acknowledgement

A part of research performed within the M.Sc. thesis by Mrs. Iwona Niewiadomska was used in the above presented study. Authors thank Dr. Piotr Dobrzyński for synthesised of PGLA. The author Maciej Boguń is a grant holder of "Mechanizm WIDDOK" programme supported by European Social Fund and Polish State (contract number Z/2.10/ II/2.6/04/05/U/2/06).

References

[6] Buczyńska, J.; Pamuła, E.; Błażewicz, S.; et al. Engineering Biomaterials 2005, 47-53, 81

[7] Fuchs J.R.; Nasseri B.A.; Vacanti J.P. Ann Thorac Surg 2001, 72, 577

[8] P. Dobrzyński, J. Kasperczyk, H. Janeczek, M. Bero Macromolecules 34, 2001, 5090

PRECURSOR PAN FIBRES CONTAINING CARBON NANOTUBES

Maciej Boguń*, Teresa Mikołajczyk*, Andrzej Kurzak*, Stanisław Błażewicz**, An eta Frączek**

*Department of Man-Made Fibers. Faculty of Textile Engineering and Marketing, Technical University of Łódź **Department of Biomaterials, Faculty of Materials Science and Ceramics, AGH-UST. Cracow.

E-MAIL: MACIEK.BOGUN@WP.PL, MIKOLTER@MAIL.P.LODZ.PL

Abstract

The rheological properties of carbon nanotubescontaining PAN spinning solutions in N,N-dimethylformamide have been examined. Then, trials have been carried out to prepare precursor PAN fibres containing various contents of the nanoadditive. The obtained PAN fibres containing 3% of carbon nanotubes shows a high tenacity, at a level of 34 cN/tex, and an elongation at break of 12%.

Key words: precursor fibres, carbon fibres, carbon nanotubes

[Engineering of Biomaterials 58-60,(2006),79-82]

Introduction

The use of nanotechnology in the production of precursor polyacrylonitrile (PAN) fibres allows one to modify the properties of carbon fibres obtained from the precursor. This can arouse greater interest of biomaterial engineers in this kind of modified polymers. As confirmed by our previous studies [1-5], the incorporation of various ceramic nanoadditives into the precursor fibre-forming polymer makes it possible to produce fibres with new features incomparable with those of conventional synthetic fibres. rodzaju ceramicznych nanododatków umożliwia nadanie im
 szeregu nowych cech niespotykanych dotąd we włóknach klasycznych.

Wprowadzenie do prekursorowych włókien poliakrylonitrylowych nanorurek węglowych spowoduje zmianę właściwości elektrycznych włókien w kierunku elektroprzewodzących, jak również może przyczynić się do polepszenia właściwości mechanicznych uzyskanych z nich włókien węglowych, a w szczególności zwiększenia wydłużenia przy zerwaniu. Oprócz zmiany właściwości elektrycznych oraz mechanicznych modyfikacja nanorurkami tworzywa prekursorowych włókien PAN może przyczynić się do wzrostu ich porowatości i w związku z tym porowatości włókien weglowych. Uzyskane w ten sposób włókna weglowe o właściwościach antyelektrostatycznych mogą mieć szerokie zastosowanie przy wytwarzaniu materiałów ochraniających sprzęt medyczny przed zaburzeniami elektrostatycznymi, jak również w implantologii ze względu na podwyższona porowatość sprzyjającą łatwiejszemu wiązaniu macierzystych komórek z wprowadzonym do organizmu implantem

Celem pracy jest przeprowadzenie badań reologicznych roztworów przędzalniczych poliakrylonitrylu w DMF-ie zawierających wielościenne nanorurki węglowe. W ramach pracy zostaną przeprowadzone badania wstępne nad formowaniem włókien z nanokompozytu PAN oraz określone zostaną ich właściwości wytrzymałościowe.

Materiały i metody badawcze

Do sporządzenia roztworów przędzalniczych został wykorzystany terpolimer poliakrylonitrylu o nazwie handlowej Mavilon (węgierskiej firmy Zoltek), którego charakterystyka została przedstawiona w naszej wcześniejszej pracy. [6]

W pracy wykorzystano nanorurki węglowe firmy NanoCraft, Inc. produkującej nanomateriały o różnym stopniu czystości. Nanorurki węglowe otrzymano metodą CVD bez dodatku katalizatora. MWNT-A mają średnicę od 5 do 20nm oraz długość od 300 do 2000nm. MWNT-A oprócz nanorurek (20 do 30%) zawierają jeszcze inne nanometryczne struktury wieloboczne (50 do 70%) oraz cząstki grafitu.

Przed wprowadzeniem do roztworu nanorurki poddano działaniu ultradźwięków przez okres 1 h.

Do oznaczenia właściwości reologicznych roztworów przędzalniczych stosowano reometr rotacyjny Rheotest RV. Pomiary przeprowadzono w zakresie szybkości ścinania do 146,8 1/s, w temperaturze 20°C przy użyciu cylindra "H". Parametry reologiczne n i K wyznaczono na podstawie krzywych płynięcia przedstawionych w układzie logarytmicznym, bez uwzględniania zakresu naprężenia ścinającego poniżej 10 działek odczytu

Włókna formowano metodą z roztworu na mokro przy zastosowaniu przędzarki wielkolaboratoryjnej umożliwiającej stabilizację parametrów technologicznych na założonym poziomie oraz ciągłą ich kontrolę. Stosowano dyszę przędzalniczą 240 otworową o średnicy otworków 0,08 mm. Proces zestalania włókien przeprowadzono w kąpieli zawierającej wodny roztwór DMF-u o stężeniu w zakresie 40–70% i temperaturze 15-30°C. Proces rozciągu realizowano dwuetapowo: w kąpieli plastyfikującej (wodny roztwór DMF-u o stężeniu 50-70% i temperaturze 70°C) oraz w atmosferze przegrzanej pary wodnej (temperatura 135-140°C). Po procesie płukania włókna były suszone w temperaturze 20 - 40°C w warunkach izometrycznych.

Właściwości mechaniczne wyznaczono dla wiązki włókien według Normy Polskiej <u>PN-85/P-04761/04</u>, przy użyciu maszyny wytrzymałościowej typu Instron serii IX, sprzężonej z programem komputerowym. The incorporation of carbon nanotubes into precursor PAN fibres will allow one to impart electro-conductive properties to the resultant fibres as well as to improve the mechanical properties of final carbon fibres, including increased elongation at break. In addition to the changes in electric and mechanical properties, the modification of precursor PAN fibres with carbon nanotubes may increase their porosity and consequently the porosity of carbon fibres. Carbon fibres with antistatic properties, obtained in this way, can find their wide application in the production of materials to protect medical equipment against electrostatic disturbances as well as in implantation owing to their increased porosity facilitating the combination of parent cells with the incorporated implant.

The aim of the present study is to examine the rheological properties of spinning solutions of carbon nanotubes-containing PAN in DMF. There will be also carried out preliminary trials of PAN nanocomposite fibre formation. The mechanical properties of the obtained fibres will also be tested.

Material and methods

Spinning solutions were prepared from PAN terpolymer, Mavilon, from Hungarian firm Zoltek, whose characteristics was given in our previous paper [6].

Carbon nanotubes, used in this study, were provided by NanoCraft, Inc. They were prepared by the CVD method without catalyst. The diameter of MWNT-A ranges from 5 nm to 20 nm and length from 300 nm to 2000 nm. In addition to nanotubes (20-30%), MWNT-A contain also other nanometric polyhedral structures (50 - 70%) and graphite particles.

Prior to incorporation into solution, the nanotubes were treated with ultrasounds for 1 h.

Fibres were spun from the polymer solution by the wet-spinning process using a laboratory-spinning machine, whose construction made it possible to stabilise the technological parameters at a required level under continuous control. A spinneret with 240 orifices of a diameter of 0.08 mm was used. The fibre solidification process was carried out in a bath containing DMF solution with concentration ranging from 40% to 70% at 15–30°C. The drawing process was performed in two stages: in a plasticising bath (aqueous DMF solution with a concentration of 50-70%) at a temperature of 70°C and under superheated steam (temperature 135–140°C). After rinsing, the fibres obtained were dried at 20-40°C under isometric conditions.

The mechanical properties of fibre bundles were tested according to Polish Standard <u>PN-85/P-04761/04</u> with the use of Instron tester, series IX, coupled with a computer program.

Results and discussion

Based on the obtained flow curves (FIG.1) of 22% PAN solution and both spinning solutions containing carbon nanotubes, one can state that these solutions are non-Newtonian fluids rarefied by shearing without flow limits. Table 1 contains the values of rheological parameters of the solution under investigation. The incorporation of nanotubes into spinning solutions causes their non-Newtonian character to be even more distinct, which is indicated by the decreased value of rheological parameter "n" and the increased parameter "K' at the same time (Table 1). More non-Newtonian character is shown by the solution containing 3% of nanotubes, which is due to its higher polymer.

The strength properties of PAN fibres without any nanoadditive and PAN fibres containing 3% and 5% of carbon nanotubes. All the fibres were spun at the same value of as-spun draw ratio (-40%) and different total draw ratios being maximal

Dyskusja wyników

Na podstawie uzyskanych krzywych płynięcia (RYS.1) 22% roztworu poliakrylonitrylu oraz obu roztworów przedzalniczych zawierających nanorurki można stwierdzić, iż roztwory te są cieczami nienewtonowskimi, rozrzedzonymi ścinaniem bez granicy płynięcia. W tabeli 1 zamieszczono wartości parametrów reologicznych otrzymanych dla badanych roztworów. Wprowadzenie do roztworu przędzalniczego nanorurek uwidacznia się pogłębieniem nienewtonowskiego charakteru cieczy, o czym świadczy zmniejszenie się wartości parametru reologicznego "n", przy jednoczesnym wzroście parametru "K" (TAB.1). Bardziej nienewtonowski charakter wykazuje roztwór zawierający 3% nanorurek, jednakże spowodowane jest to większą ilością polimeru w roztworze.

W TABELI 2 umieszczono właściwości wytrzymałościowe włókien PAN bez nanododatku oraz włókien PAN zawierające 3% nanorurek węglowych i 5% nanorurek węglowych. Wszystkie rodzaje włókien formowano przy takiej samej wartości wyciągu filierowego (-40%) i różnych maksymalnych dla danej próbki wartościach rozciągu całkowitego. Wprowadzenie do tworzywa włókien niewłóknotwórczego nanododatku spowodowało gwałtowne obniżenie podatności tworzywa na deformacje w etapie rozciągu. Z analizy otrzymanych wyników właściwości wytrzymałościowych wynika, iż dla włókien zawierających nanorurki węglowe obserwuje się spadek wytrzymałości właściwej z poziomu 47cN/tex do wartości 34 cN/tex dla włókien z 3% udziałem nanorurek węglowych oraz do poziomu 29 cN/tex w przypadku 5% udziału nanododatku. Większy spadek wytrzymałości właściwej dla włókien zawierających nanorurki węglowe w ilości 5% oprócz niższej wartości stężenia roztworu przędzalniczego (20%) spowodowany jest najprawdopodobniej zachodzącym zjawiskiem aglomeryzacji nanorurek węglowych w roztworze przędzalniczym. Natomiast w przypadku wydłużenia przy zerwaniu obserwowany jest nieznaczny wzrost tego parametru o około 3% dla włókien z 5% udziałem nanododatku i około 1% w przypadku włókien zawierających 3% nanorurek weglowych w porównaniu do klasycznych włókien PAN.

Podsumowanie

Przeprowadzone badania reologiczne roztworów przędzalniczych wykazały, że z wprowadzeniem nanorurek węglowych związane jest pogłębienie nienewtonowskiego charakteru cieczy, o czym świadczy obniżenie parametru reologicznego "n", przy wzroście parametru reologicznego "k". Badania nad formowaniem prekursorowych włókien PAN zawierających w swojej budowie rozproszone nanorurki węglowe wykazały, iż korzystniejsze z punktu widzenia uzyskiwanych właściwości wytrzymałościowych jest stosowanie 22% roztworu przędzalniczego poliakrylo-



RYS.1. Zależność naprężenia ścinającego od szybkości ścinania dla stosowanych roztworów przędzalniczych.

FIG.1. Dependence of shearing stress on the shearing rate of the spinning solutions used.

for the given sample. The incorporation of the non-fibreforming additive into the polymer considerably decreased the polymer susceptibility to deformation during the drawing stage. The results of testing fibre strength properties show that the tenacity of fibres containing 3% of carbon nanotubes is decreased from 47 cN/tex to 34 cN/tex and that of fibres containing 5% of carbon nanotubes decreases to 29 cN/tes. The latter higher drop is probably due to the agglomeration of carbon nanotubes in this spinning solution, whose concentration is somewhat lower (20%).

On the other hand, the elongation at break is slightly increased: by about 3% for the fibres containing 5% of nanotubes and by about 1% for the fibres containing 3% of nanotubes as compared to conventional PAN fibres.

Roztwór przędzalniczy Spinning solution	Parametry n i K po 24h od sporządzenia Rheological parameters n and K storage for_24 h		
	n	к	
22%PAN	0,964	27,50	
22%PAN+ 3% nanorurek / nanotubes	0,932	31,08	
20%PAN+ 5%nanorurek / nanotubes	0,956	28,83	

TABELA 1. Właściwości reologiczne roztworów poliakrylonitrylu w dimetyloformamidzie bez nanorurek oraz z nanorurkami węglowymi TABLE 1. Rheological properties of PAN solution in DMF without and with carbon nanotubes.

Symbol próbki Symbol of sample	Wyciąg filierowy As-spun draw out ratio [%]	Rozciąg całkowity Total draw ratio [%]	Masa liniowa włókien Linear mass of fibres [tex]	Wytrzymałość właściwa Tenacity [cN/tex]	Odchylenie standardowe Standard deviation [cN/tex]	Wydłużenie przy zerwaniu Elongation at break [%]	Odchylenie standardowe [%] Standard deviation [%]
PAN	-40	1054,00		47,34		11,51	
PAN 3	-40	783,18	53,15	34,57	1,39	12,27	0,64
PAN 9	-40	696,17	54,22	29,60	0,99	14,41	0,66

TABELA 2. Właściwości wytrzymałościowe, włókien PAN bez i z nanododatkiem. TABLE 2. Strength properties of PAN fibres without and with nanoadditives.n nanotubes.

nitrylu zawierającego 3% nanododatku w przeliczeniu na polimer. Otrzymane włókna charakteryzują się wysoką na poziomie 34 cN/tex wytrzymałością właściwą i nieznacznie zwiększonym wydłużeniem przy zerwaniu. Dalsze prace zespołu dotyczyć będą określenia wpływu metody wprowadzania nanorurek węglowych oraz podstawowych parametrów procesu formowania (temperatury kąpieli koagulacyjnej, wyciągu filierowego i rozciągu całkowitego) na właściwości mechaniczne i strukturę porowatą otrzymanych włókien. Opracowane warunki wytwarzania prekursorowych włókien PAN zawierających w swojej budowie rozproszone nanorurki węglowe pozwolą na otrzymywanie nowego typu włókien węglowych przeznaczonych zarówno do celów technicznych jak i medycznych.

Podziękowania

Piśmiennictwo

Eastern Europe 2005, 3, 30

101, 760

Maciej Boguń Stypendysta programu Mechanizm WID-DOK współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego oraz Budżetu Państwa (numer umowy Z/2.10/II/2.6/04/05/U/2/06).

Conclusion

The performed rheological examinations of PAN spinning solutions have shown that the incorporation of carbon nanotubes into them makes their non-Newtonian character even more distinct, as confirmed by the decrease value of rheological parameter "n" and the increased value of parameter "K". The trials of spinning precursor PAN fibres containing carbon nanotubes dispersed in their structure have indicated that considering the strength properties it is more beneficial to use the 22% spinning solution of PAN containing 3% of the nanoadditive. The obtained fibres are characterised by a high tenacity, at a level of 34 cN/tex and slightly increased elongation at break. Further studies of the group will concern the assessment of the effects of carbon nanotube addition procedure and the basic spinning parameters (temperature of the coagulation bath, as-spun draw ratio and total draw ratio) on the mechanical properties and porous structure of the fibres. The developed conditions of producing precursor PAN fibres containing dispersed carbon nanotubes will allow one to obtain a new type of carbon fibres designed for both technical and medical applications.

Acknowledgement

The author Maciej Boguń is a grant holder of "Mechanizm WIDDOK" programme supported by European Social Fund and Polish State (contract number Z/2.10/ II/2.6/04/05/U/2/06).

References

[4] Mikołajczyk T.; Boguń M.; Błażewicz M.; Piekarczyk I. J Appl Polym Sci 2006, 100, 2881

[5] Boguń M.; Mikołajczyk T.; Kurzak A.; Błażewicz M.; Rajzer I. Fibres&Textiles in Eastern Europe, 2006, 2, 13

[6.] Mikołajczyk T.; Boguń M. Fibres&Textiles in Eastern Europe 2005, 1, 28

MIKROSTRUKTURA WYBRANYCH STOMATOLOGICZNYCH BIOMATERIAŁÓW METALICZNYCH PO INKUBACJI W SYNTETYCZNYM OSOCZU

[1] Mikołajczyk T.; Boguń M.; Piekarczyk I.; Błażewicz M.; Wołow-

[2] Mikołajczyk T.; Boguń M.; Kowalczyk A. Fibres&Textiles in

[3] Mikołajczyk, T.; Rabiej, S.; Boguń, M. J Appl Polym Sci 2006,

ska-Czapnik D. Inzynieria Biomateriałów 2004, 38-42, 224

ADAM BRZEZIAK*, JOANNA PODPORSKA**

Akademia Górniczo-Hutnicza, Al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków *Wydział Inżynierii Metali i Informatyki Przemysłowej **Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki

Streszczenie

W pracy przedstawiono wyniki badań mikroskopowych stomatologicznych biomateriałów metalicznych wybranych spośród stopów Ni-Cr-Mo oraz materiałów tytanowych, po okresie 4 tygodni inkubacji w płynie SBF. Przeprowadzono badania mikrostruktury powierzchni oraz analizę chemiczną w mikroobszarach (EDS). Badania mikroskopowe warstw, którymi pokryły się próbki po termostatowaniu przeprowadzono przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) z mikroanaliza-

MICROSTRUCTURE OF DENTAL METALLIC BIOMATERIALS AFTER INCUBATION IN SYNTHETIC BODY FLUID

ADAM BRZEZIAK*, JOANNA PODPORSKA**

AGH-UST, UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKOW *FACULTY OF METALS ENGINEERING AND INDUSTRIAL COMPUTER SCIENCE

**FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS

Abstract

The paper presents the results of microscopic examination of dental metallic biomaterials selected from Ni-Cr-Mo alloys and titanium materials after a four-week incubation in SBF solution. The surface microstructure examination and chemical microrange analysis (EDS) were conducted. The microscopic examination of layers which covered the samples after keeping in SBF solution were performed using a scanning electron microscope (SEM) with energydispersive (EDS) X-ray microanalyser. Based on

82

• •

torem dyspersji energii promieniowania rentgenowskiego (EDS). Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano różnice w zdolności powierzchni wybranych biomateriałów stomatologicznych do pokrywania się warstwą hydroksyapatytu w środowisku SBF. [Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),82-84]

Wprowadzenie

Tworzywa metaliczne ze względu na swoje właściwości mechaniczne i wytrzymałościowe znajdują szerokie zastosowanie wśród materiałów stosowanych w powszechnej praktyce stomatologicznej [1]. Istotny wpływ na zastosowanie biomateriałów metalicznych w protetyce odgrywa przede wszystkim ich odporność na zużycie ścierne oraz zespół właściwości wytrzymałościowych pod obciążeniami statycznymi, dynamicznymi i zmęczeniowymi [2]. Jednak niewystarczająca odporność na korozje biomateriałów metalicznych w środowisku ustrojowym bywa przyczyną procesów infekcyjnych, co prowadzi do odrzucenia wszczepu przez organizm [3]. Również reakcje organizmu na obecność implantu z tworzyw metalicznych mogą powodować alergie, resorpcje kości wokół implantu, a w efekcie utratę wszczepu [1, 3]. Dlatego, by można było prognozować zachowanie się organizmu wokół implantowanego materiału oraz implantowanego materiału w kontakcie ze środowiskiem ustrojowym, jeszcze przed zabiegiem wszczepienia, prowadzi się badania w syntetycznym osoczu (SBF), które symuluje warunki naturalnego wzrostu kości. Na podstawie analizy mikrostruktury materiału po termostatowaniu w płynie SBF wnioskować można o zdolności powierzchni badanych biomateriałów do pokrywania się warstwą hydroksyapatytu.

Materiały i metodyka badań

Badania przeprowadzono na próbkach z dwóch grup biomateriałów metalicznych wykorzystywanych w stomatologii. Jedną grupę stanowiły stopy Ni-Cr-Mo, zaś drugą tytan i stop tytanu. Z grupy stopów Ni-Cr-Mo do badań wykorzystano próbki z materiałów o nazwach handlowych Wiron 99, Remanium CSe oraz Rodent. Z grupy materiałów tytanowych badania przeprowadzono na tytanie technicznym oraz na stopie Ti6Al4V. Powierzchnia próbek została przygotowana przez szlifowanie oraz odtłuszczanie. Tak przygotowane próbki poddano termostatowaniu w syntetycznym osoczu (SBF) w temperaturze 37°C, symulującym warunki naturalnego wzrostu kości. Próbki inkubowano w 50 ml płynu SBF, w szczelnych polietylenowych pojemnikach przez 4 tygodnie. Po inkubacji próbki płukano wodą destylowaną i suszono. Badania mikrostruktury oraz analizę chemiczną przeprowadzono przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) JOEL JSM-5400, z przystawką EDS do analizy chemicznej w mikroobszarach (Link ISIS).

Wyniki badań

Obraz mikrostruktury po termostatowaniu w syntetycznym osoczu oraz rozkład pierwiastków Ca i P na powierzchni stopu Remanium CSe przedstawia RYS.1, zaś na powierzchni stopu Wiron 99 RYS.2. Analiza obrazów mikroskopowych (SEM) badanych stopów Ni-Cr-Mo, jak i badania EDS, wykazały podobieństwo mikrostruktury warstwy hydroksyapatytu, którą pokryły się próbki po inkubacji w płynie SBF.

Obraz mikrostruktury po termostatowaniu w syntetycznym osoczu oraz rozkład pierwiastków Ca i P na powierzchni tytanu technicznego przedstawia RYS.3. Obraz mikroskothe results, differences in the capability of selected dental biomaterials surfaces of being covered with a hydroxyapatite layer in SBF environment were demonstrated.

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),82-84]

Introduction

Owing to their mechanical and strength properties, the metallic materials are commonly used in prosthodontics [1]. Such a widespread application of metallic biomaterials in dental prosthetics is chiefly influenced by their resistance to abrasive wear and good strength properties under static, dynamic and fatigue loads [2]. However, insufficient corrosion resistance of these materials in body fluids is responsible for infections, which results in the body's rejection of implants [3]. The body's reactions to the presence of implants made of metallic materials may include allergies. resorption of bones around implants and, as a result, the loss of the implant [1,3]. Therefore, in order to predict the responses of the tissue around the implanted material and of the material to the body fluids, examinations in the SBF solution stimulating the normal bone growth conditions are carried out before the implants are inserted. The capability of the examined biomaterials of being covered with a hydroxyapatite layer may be inferred from the analysis of the material microstructure after keeping in the SBF solution.

Materials and methods

The examination was based on samples from two groups of metallic biomaterials used in dentistry. The first group included Ni-Cr-Mo alloys, whereas the second consisted of titanium and its alloys. From the first group the samples made of materials with trademark names of Wiron 99, Remanium CSe, and Rodent were used for the examination. Pure titanium and the Ti6Al4V alloy were selected from the second group. The sample surface was subjected to grinding and degreasing. These samples were kept in the SBF solution simulating the normal bone growth conditions at the temperature of 37°C. The samples were incubated in 50 ml of the SBF liquid in tight polyethylene containers for 4 weeks. Upon incubation they were flushed with distilled water and dried. The microstructure examination and the chemical analysis were performed using a JOEL JSM-5400 scanning electron microscope (SEM) with EDS attachment for chemical microrange analysis (Link ISIS).

Results

The microstructure image after keeping the samples in synthetic body fluid and the distribution of Ca and P on the surface of the Remanium CSe alloy are shown in Figure 1, while on the surface of the Wiron 99 alloy in Figure 2. The analysis of microscopic images (SEM) of the Ni-Cr-Mo alloys studied and the EDS examination showed the similarity of the microstructure of hydroxyapatite layers which covered the samples after incubation in the SBF solution.

The microstructure image after keeping the samples in synthetic body fluid and the distribution of Ca and P on the surface of the pure titanium are shown in Figure 3. After incubation in the simulated body fluid (SBF) the microstructure image (SEM) of pure titanium and Ti6Al4V alloy revealed a characteristic hydroxyapatite structure on the surface of these materials. The microstructure of the layer which covered the titanium alloy was similar to that of pure titanium.

The chemical analysis showed essential differences in

84



RYS. 1. Obraz mikroskopowy (SEM) oraz mapa rozkładu pierwiastków Ca i P na powierzchni stopu Remanium CSe.

FIG.1. Microscope image (SEM) and the distribution of Ca, P on the surface of the Remanium CSe alloy.



RYS. 3 Obraz mikroskopowy (SEM) oraz mapa rozkładu pierwiastków Ca i P na powierzchni tytanu technicznego.

FIG. 3. Microscope image (SEM) and the distribution of Ca, P on the surface of pure titanium.

powy (SEM) tytanu technicznego oraz stopu tytanu Ti6Al4V, po inkubacji w płynie SBF, ujawnił charakterystyczną mikrostrukturę strukturę hydroksyapatytu, na powierzchni tych materiałów. Mikrostruktura warstwy, którą pokrył się po termostatowaniu stop tytanu odznacza się podobieństwem w stosunku do tytanu technicznego.

Analiza chemiczna wykazała istotne różnice w intensywności pików EDS dla materiałów tytanowych w porównaniu ze stopami Ni-Cr-Mo. Również rozkład pierwiastków na powierzchni materiałów tytanowych ujawnił mniejszą koncentrację Ca i P w porównaniu ze stopami Ni-Cr-Mo.

Wnioski

Przeprowadzone badania mikrostruktury powierzchni wybranych stomatologicznych biomateriałów metalicznych po inkubacji w syntetycznym osoczu wskazują na większą zdolność do pokrywania się warstwą hydroksyapatytu w roztworach SBF przez stopy Ni-Cr-Mo.



RYS.2. Obraz mikroskopowy (SEM) oraz mapa rozkładu pierwiastków Ca i P na powierzchni stopu Wiron 99.

FIG.2. Microscope image (SEM) and the distribution of Ca, P on the surface of the Wiron 99 alloy.

the EDS peak intensity of titanium materials as compared to Ni-Cr-Mo alloys. The element distribution on the surface of titanium materials also revealed a lower Ca and P concentration in comparison with Ni-Cr-MO alloys.

Conclusions

The examination of surface microstructure of selected dental metallic biomaterials after incubation in synthetic body fluid (SBF) points to a greater capability of Ni-Cr-Mo alloys of being covered with a hydroxyapatite layer in SBF solutions.

Piśmiennictwo

References

 Marciniak J.: Biomateriały w chirurgii kostnej. Gliwice 1992
 Będziński R.: Biomechanika inżynierska, zagadnienia wybrane. Oficyna wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 1997
 Błażewicz S., Stoch L.: Biomateriały. Biocybernetyka i inżynieria biomedyczna 2000, tom 4. Akademicka oficyna wydawnicza Exit, Warszawa 2003

MODYFIKACJA HYDROKSYAPATYTEM WŁÓKIEN RESORBOWALNYCH

Joanna Buczyńska*, Elżbieta Pamuła*, Stanisław Błażewicz*, Teresa Mikołajczyk**, Maciej Boguń**, Piotr Dobrzyński***, Krzysztof Haberko***

*Akademia Górniczo-Hutnicza, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, Katedra Biomateriałów, Al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków **Politechnika Łódzka, Wydział Inżynierii i Marketingu Tekstyliów, Katedra Włókien Sztucznych, Żeromskiego 116, 90-543 Łódź ***Centrum Chemii Polimerów, Polska Akademia Nauk, Ul. Curie-Skłodowskiej 34/20, 41-819 Zabrze ****Akademia Górniczo-Hutnicza, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, Katedra Ceramiki Specjalnej, Al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków

Streszczenie

Stosując metodę przędzenia z roztworu na mokro otrzymano trzy rodzaje włókien PGLA różniących się średnicą i właściwościami mechanicznymi. Włókna poddano inkubacji w sztucznym płynie fizjologicznym (SBF) w celu uzyskania warstwy fosforanu wapnia na powierzchni włókien. Oceniono mikrostrukturę wydzieleń fosforanowych i właściwości mechaniczne otrzymanych materiałów. Badania wykazały, że ilość i morfologia wydzieleń zależy od czasu przetrzymywania włókien w roztworze SBF. Po 15 dniach inkubacji powierzchnie wszystkich włókien całkowicie były pokryte warstwą fosforanu wapnia. Wytrzymałość na rozciąganie oraz odkształcenie zniszczenia wszystkich włókien spadały w funkcji czasu inkubacji w SBF, natomiast moduł Younga włókien ulegał podwyższeniu. Inkubacja w buforowanym roztworze soli fizjologicznej (PBS) nie powodowała zmian właściwości mechanicznvch włókien.

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),85-89]

Wprowadzenie

Ceramika bioaktywna, do której zaliczamy hydroksyapatyt (HAp) i fosforan trójwapniowy (TCP), jest często wykorzystywana do wypełniania ubytków lub naprawy uszkodzonych kości. Główną cechą ceramiki bioaktywnej jest jej zdolność chemicznego wiązania się z kością poprzez biologicznie czynną warstwę apatytu podobnego do występującego w naturalnych kościach. Warstwa bioaktywna tworzy się na powierzchni ceramiki w naturalnym lub sztucznym środowisku biologicznym i składa się z drobnokrystalicznego hydroksyapatytu węglanowego o zdefektowanej strukturze [1-3].

Resorbowalne polimery na przykład polilaktyd (PLA), poliglikolid (PGA) i ich kopolimery (PGLA) są również używane w medycynie, ze względu na to, że ulegają degradacji hydrolitycznej, a produkty degradacji usuwane są z organizmu na drodze metabolicznej [4-7]. Projektowanie i wytwarzanie materiałów dla chirurgii kości łączące doskonałą biozgodność hydroksyapatytu i resorbowalność poliestrów alifatycznych wydaje się być najlepszym rozwiązaniem dla

MODIFICATION OF RESORBABLE FIBRES WITH HYDROXYAPATITE

Joanna Buczyńska*, Elżbieta Pamuła*, Stanisław Błażewicz*, Teresa Mikołajczyk**, Maciej Boguń**, Piotr Dobrzyński***, Krzysztof Haberko^{***}

*AGH-UST, Faculty of Materials Science and Ceramics, Department of Biomaterials, Al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków, Poland **Technical University of Lodz, Faculty of Textile Engineering and Marketing, Department of Man-Made Fibres, Zeromskiego 116 STR, 90-543 Łódz, Poland ***Centre of Polymer Chemistry, Polish Academy of Sciences, UL. Curie-Skłodowskiej 34/20, 41-819 Zabrze, Poland ****AGH-UST, Faculty of Materials Science and Ceramics, Department of Advanced Ceramics, AL. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków, Poland

Abstract

Three types PGLA fibres differing in diameter and mechanical properties were manufactured by solution spinning process. The fibres were incubated in simulated body fluid (SBF) to deposit calcium phosphate layer on their surface. The microstructure of deposits and mechanical properties of the materials were characterized. The results show that the amount and morphology of deposits depend on incubation time in SBF. After 15 days of incubation the surface of all fibres was completely covered with calcium phosphate layer. Tensile strength and strain of all fibres decreased during incubation time in SBF, while Young modulus of fibres increased. The incubation in phosphate buffered saline (PBS) did not cause changes in mechanical properties of fibres.

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),85-89]

Introduction

Bioactive ceramic materials, for example hydroxapatite or tricalciumphosphate, are often used for treatment and repairing of bone defects, especially in oral and maxillofacial surgery. The main feature of bioactive ceramics is their ability to bond chemically to bone through a biologically active layer of bonelike apatite. This active layer is formed *in vivo* on the surface of ceramics, and is composed of small crystallites of carbonate-containing hydroxyapatite with defected structure [1-3].

Resorbable polymers, e.g. polylactide (PLA), polyglycolide (PGA) and their copolymers (PGLA) are also used in medicine, because they undergo hydrolytic degradation, and finally resorption through metabolic pathways [4-7]. Designing and preparation of materials for bone surgery combining both excellent biocompatibility of hydroxyapatite and resorbability of aliphatic polyesters seem to be an effective way to produce medical devices which can mimic the structure of natural bone.

The aim of this study was to modify the surface of resorbable PGLA fibres with a layer of hydroxyapatite, deposited by biomimetic process from simulated body fluid (SBF) and to evaluate the microstructure and mechanical properties of the studied materials.

86

.

produkcji implantów medycznych, które mogą naśladować strukturę naturalnej kości.

Celem pracy była modyfikacja powierzchni resorbowalnych włókien PGLA warstwą hydroksyapatytu, otrzymaną metodą biomimetyczną ze sztucznego płynu fizjologicznego (SBF) oraz ocena mikrostruktury i właściwości mechanicznych otrzymanych materiałów.

Materiały

Kopolimer glikolidu z L-laktydem (Purac, Holandia) zsyntezowano przez koplimeryzację w stopie w temperaturze 100°C z użyciem inicjatora acetyloacetonianu cyrkonu (IV) Zr(acac)₄, wykorzystując w celu odgazowania stopu konwencjonalną linie próżniową, zgodnie z metodą opisaną poprzednio [8]. Analiza ¹H NMR wykazała, że stosunek molowy glikolidu do L-laktydu w kopolimerze wynosił 16:84. Chromatografia żelowa wykazała, że liczbowo średnia masa cząsteczkowa, Mn, kopolimeru wynosiła 190 000 D, a wagowa masa cząsteczkowa, Mw, 323 000 D.

Otrzymano trzy rodzaje włókien: włókna NW (o niskiej wytrzymałości), włókna HAP (zawierające 3% wag. hydroksyapatytu) oraz włókna WW (o wysokiej wytrzymałości). Proszek hydroksyapatytu otrzymano z kości zwierzęcych przez ekstrakcję za pomocą gorącego roztworu NaOH według metody opisanej poprzednio [9].

Włókna otrzymano metodą formowania z roztworu na mokro. Roztwór polimeru (11.5-15%) sporządzono przez rozpuszczenie PGLA w N,N-dimetyloformamidzie (DMF). Stosowano przędzarkę wielkolaboratoryjną z dyszą przędzalniczą 240-otworową o średnicy otworków 0,08 mm. Proces zestalania prowadzono w wodnej kąpieli zawierającej rozpuszczalnik 35% w temperaturze 15°C. Do produkcji włókien NW i HAP proces rozciągu realizowano jednoetapowo (kąpiel plastyfikacyjna zawierająca 35% rozpuszczalnika w temperaturze 45°C). Do produkcji włókien WW pierwszy etap prowadzony był w kąpieli plastyfikacyjnej zawierającej 25% rozpuszczalnika i temperaturze 35°C, podczas gdy drugi etap prowadzono w parze wodnej o temperaturze 98°C. Po usunięciu rozpuszczalnika włókna suszono w temperaturze pokojowej.

Metody

Właściwości materiałów

Obserwacje mikrostruktury włókien przeprowadzono za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego JSM 5400 JEOL przy powiększeniach 1000 i 2000 razy. Przed analizą próbki napylono cienką warstwą węgla w celu nadania im właściwości przewodzących. Przeprowadzono mikroanalizę rentgenowską wydzieleń fosforanowych za pomocą mikroanalizatora rentgenowskiego EDS (Link AN 10 000, Wielka Brytania). Średnica włókien PGLA była mierzona na Lanametrze stosując okular z podziałką mikrometryczną, jako uśrednienie pomiarów 35 pojedynczych włókien.

Badania in vitro

Sztuczny płyn fizjologiczny (SBF) przygotowano według przepisu [10], przy czym stężenia poszczególnych soli były trzykrotnie większe niż w naturalnym płynie zewnątrzkomórkowym człowieka. Roztwór zbuforowano do pH 7.28 tris(hydroksymetylo)aminometanem (TRIS) i kwasem solnym. Równocześnie prowadzono badania degradacji w buforowanym roztworze soli fizjologicznej (PBS) (0,9% NaCl, 24mM Na₂HPO₄ i 16mM KH₂PO₄; o pH równym 7.0 w temperaturze 37°C). Pojedyncze włókna przyklejono na specjalne ramki (jedno włókno na jedną ramkę) umieszczo-

Materials

Copolymer of glycolide and L-lactide (PGLA) was synthesized by in bulk copolymerization with a $Zr(acac)_4$ initiator at 100°C by a conventional method using a vacuum line for degassing and sealing of the ampoules, according to the method described previously [8]. A molar ratio of glycolide to L-lactide in the copolymer PGLA was 16:84, as determined by ¹H NMR. Gel permeation chromatography showed that number average molecular mass, Mn, of copolymer was 190 000 D, and weight average molecular mass, Mw, was 323 000 D.

Three different fibres were obtained: fibres NW (low tensile strength), fibres HAP (containing 3 wt% of hydroxyapatite) and fibres WW (higher tensile strength). Hydroxyapatite powder was of natural origin produced by extraction with hot NaOH solution from animal bones, according to the method described previously [9].

The fibres were spun from the solution by the wet process. Polymer solutions (11.5-15%) were prepared by dissolving of PGLA into N,N-dimethyl formamide (DMF). The laboratory spinning machine with spinneretes containing 240 orifices of diameter of 0,08 mm was used. The solidification process was carried out in a bath containing an aqueous solution of the solvent (35%) at 15°C. To produce NW and HAP fibres the drawing process was performed in a single stage (plastic bath containing 35% of the solvent at 45°C). To produce WW fibres the first stage was performed in a plastic bath containing 25% of the solvent at 35°C, while the second stage was performed in water vapour at 98°C. Finally, the solvent was rinsed off, and the resultant fibres were dried at room temperature.

Methods

Properties of materials

The microstructure of fibres was studied by JSM 5400 scanning electron microscope (JEOL, Japan) at magnification 1000 and 2000 times. Before analysis the samples were coated with a thin carbon layer in order to make them conductive. X-Ray microanalysis (EDS) of phosphate deposits of fibres was performed using EDS microanalyser (Link AN 10 000, Great Britain).

The diameter of PGLA fibres was measured by Lanametr using eyepiece with a micrometer scale and it was obtained by averaging the diameter of 35 individual fibres.

In vitro study

The simulated body fluid (SBF) was prepared according to [10], but the concentrations of the salts were three times higher than those of the human blood plasma. The fluid was buffered at pH 7.28 with the mixture tris(hydroksyme thyl)aminomethane (TRIS) and HCI. At the same time the degradation study of fibres was performed in phosphate buffered saline (PBS) (0.9% NaCI, 24mM Na₂HPO₄ and 16mM KH₂PO₄; pH=7.0, 37°C). The individual fibres were stuck to special frames (one fiber to one frame) and incubated in 100 ml of SBF or PBS in a plastic vials for 15 and 21 days, respectively. The solutions were exchanged every 3 days. After 5,10,15 and 21 days the frames with the fibres were taken, washed tree times in UHQ water (PureLab UHQ, Elga, Germany) and dried in a vacuum oven at 25°C for 24 hours.

Mechanical properties

Mechanical properties of fibres: tensile strength, Young modulus and elongation at break on 35 individual fibres from each experimental group were measured at room tempera-

no w pojemnikach z tworzywa sztucznego, zalano 100 ml roztworu SBF lub PBS i przetrzymywano odpowiednio przez 15 i 21 dni. Roztwory były wymieniane co 3 dni. Po 5, 10, 15 i 21 dniach włókna wyjmowano z płynów, płukano trzy razy w ultraczystej wodzie i suszono w suszarce próżniowej w temperaturze 25°C przez 24 godziny.

Właściwości mechaniczne

Właściwości mechaniczne: wytrzymałość na rozciąganie, moduł Younga i odkształcenie przy zerwaniu 35 pojedynczych włókien każdej grupy badano w temperaturze pokojowej za pomocą uniwersalnej maszyny wytrzymałościowej Zwick 1435 stosując szybkość rozciągania 50 mm/min. Długość próbki (włókna) była równa 25 mm, moduł Younga mierzony był w zakresie obciążeń od 0.002 N do 0.004 N.

Wyniki i dyskusja

Badania wykazały, że średnica włókien zależała od metody otrzymywania. Włókna zawierające 3% hydroksyapatytu (HAP) miały największą średnicę (29±3.2µm). Średnica włókien NW była nieco niższa (27.7±1.9µm), podczas gdy włókna WW miały najmniejszą średnicę (16.9±1.4µm). Włókna WW miały najwyższą wytrzymałość 62±4.0 MPa, moduł Younga 1.2±0.1GPa, i odkształcenie przy zerwaniu 12.6±0.8%. Właściwości mechaniczne włókien NW i HAP był znacznie niższe [RYS.3-5]. Wyniki wykazują, że właściwości mechaniczne włókien silnie zależą od parametrów procesu przędzenia, zwłaszcza procesu rozciągu.

Na RYS.1 przedstawiono obraz z mikroskopu skaningowego włókien PGLA po 5,10 i 15 dniach inkubacji w SBF. Po 5 dniach na powierzchni włókien NW oraz WW widoczne były pojedyncze, kuliste wydzielenia, które tworzyły odizolowane skupiska, w przeciwieństwie do włókien HAP, których cała powierzchni była pokryta wydzieleniami. Po 10 dniach inkubacji powierzchnie włókien NW, WW oraz HAP były pokryte całkowicie wydzieleniami. Inkubacja w SBF przez 15 dni powodowała dalsze wydzielanie się hydroksyapatytu z SBF, co powodowało wzrost średnicy włókien [RYS.2]. Mikroanaliza rentgenowska wydzieleń wykazała obecność wapnia, fosforu węgla i tlenu. Stosunek wapnia do fosforu wahał się od 1.55 do 1.74, i był zbliżony do stechiometrycznego hydroksyapatytu (1.65)

RYS.3-5 pokazują właściwości mechaniczne włókien: wytrzymałość na rozciąganie, moduł Younga oraz odkształcenie przy zerwaniu po 5,10 i 15 dniach inkubacji w płynie SBF i PBS. Wytrzymałość na rozciąganie włókien spadała podczas inkubacji w SBF [Rys.3a], podczas gdy w czasie inkubacji w PBS praktycznie nie zmieniała się do 21 dnia [RYS.3b]. Oznacza to, że pogorszenie właściwości mechanicznych nie było spowodowane degradacją hydrolityczną, tylko powstawaniem wydzieleń hydroksyapatytu na powierzchni włókien. Po 15 dniach włókna NW stawały się do tego stopnia kruche, że nie było możliwe przeprowadzenie badań mechanicznych. Moduł Younga wszystkich włókien zwiększał się wraz z czasem inkubacji [Rys.4a]. Wzrost modułu Younga włókien NW i WW w funkcji czasu inkubacji w SBF był stopniowy. Moduł Younga włókien HAP wzrósł z 1.1 GPa do 5.6 GPa po 5 dniach i nie zmieniał się przez cały okres badań. Inkubacja w PBS nie miała wpływu na moduł Younga wszystkich włókien [Rys.4b]. Odkształcenie przy zerwaniu włókien NW i HAP gwałtownie spadało już po 5 dniach inkubacji w SBF, natomiast dla włókien WW prawie nie zmieniało się do 15 dni [RYS.5a]. Inkubacja w PBS przez 3 tygodnie nie wpływała na odkształcenie włókien [RYS.5b].

ture by universal testing machine Zwick 1435 at crosshead speed of 50 mm/min. The length of the specimen was 25 mm. The Young modulus was estimated in the range of loading between 0.002 N and 0.004 N.

Results and discussion

The size of the fibres varied according to the method of preparation. The fibres with 3% of hydroxyapatite in bulk (HAP) had the biggest diameter ($29\pm3.2 \mu m$). The diameter of NW fibres was slightly lower ($27.7\pm1.9 \mu m$), while the WW fibres had the lowest diameter of $16.9\pm1.4 \mu m$. The WW fibres had the highest tensile strength of 62 ± 4.0 MPa, Young modulus of 1.2 ± 0.1 GPa and elongation at break of $12.6\pm0.8\%$. The mechanical properties of NW and HAP fibres were significantly lower [FIG.3-5]. The results show that the mechanical properties of fibres strongly depend on solution spinning parameters, especially drawing process.

FIG.1. shows microstructure of PGLA fibres after 5,10 and 15 days of incubation in SBF. After 5 days on the surface of NW and WW single spherical deposits forming isolated clusters were seen, while on HAP fibres the whole surface was covered by deposits. After 10 days of incubation the surface of NW, WW and HAP fibres was covered with deposits completely. Incubation in SBF for 15 days caused further



RYS.1. Obraz mikrostruktury włókien PGLA po inkubacji w przez 5, 10 i 15 dni. FIG.1. SEM microphotographs of PGLA fibres after incubation in SBF for 5, 10 and 15 days.



RYS.2. Zmiana średnicy włókien PGLA w funkcji czasu inkubacji w SBF. FIG.2. Diameter changes of PGLA fibres during incubation in SBF.

MATERIA



RYS.3. Zależność wytrzymałości włókien PGLA od czasu inkubacji w: a) SBF, b) PBS. FIG.3. Variation of tensile strength of PGLA fibres as a function of incubation time in: a) SBF, b) PBS.



RYS.5. Zależność odkształcenia przy zniszczeniu włókien PGLA od czasu inkubacji w: a) SBF, b) PBS.

FIG.5. Variation of elongation at break of PGLA fibres as a function of incubation time in: a) SBF, b) PBS.



RYS.4. Zależność modułu Younga włókien PGLA od czasu inkubacji w: a) SBF, b) PBS. FIG.4. Variation of Young's modulus of PGLA fibres as a function of incubation time in a) SBF, b) PBS.

deposition of hydroxyapatite from SBF, what was reflected in the diameter of fibres [FIG.2]. X-Ray microanalysis of the deposits indicated presence of calcium, phosphorus, carbon and oxygen (data not presented). The molar ratio of calcium to phosphorus was in the range 1.55–1.74, similar to that of stechiometric hydroxyapatite (1.65).

FIG.3-5. show mechanical properties of PGLA fibres: tensile strength, Young modulus and elongation at break after 5, 10 and 15 days of incubation in SBF and PBS. Tensile strength of fibres decreased during incubation time in SBF [Fig.3a], whereas it did not change during incubation in PBS up to 21 days [FIG.3b]. It means that deterioration of mechanical properties was not caused by hydrolytic degradation, but resulted from deposition of hydroxyapatite. After 15 days the NW fibres were so fragile, that it was impossible to perform mechanical tests. Young modulus of all types of fibres increased during incubation [FIG.4a]. The Young modulus of NW and WW fibres increased gradually as a function of incubation time in SBF. It is interesting to notice that Young modulus of HAP fibres increased from 1.1 GPa up to 5.6 GPa after 5 days, and remained constant for the whole experimental period. Incubation in PBS had no impact on Young modulus of all fibres [FIG.4b]. The elongation at break of NW and HAP fibres decreased rapidly already after 5 days of incubation in SBF, while that of WW fibres remained almost constant up to 15 days [FIG.5a]. Incubation in PBS during 3 weeks did not influence elongation at break [FIG.5b].

Conclusions

1. PGLA fibres characterized by the diameter in the range from 17 μm to 30 μm and the tensile strength in the range



Wnioski

1. Stosując metodę formowania z roztworu DMF na mokro otrzymano włókna PGLA o średnicy od 17 μm do 30 μm i wytrzymałości na rozciąganie od 26 MPa do 62 MPa.

2. Badania wykazały, że hydroksyapatyt może być wprowadzany do objętości włókien podczas procesu przędzenia i/lub wydzielany na powierzchni z SBF. Modyfikacja powierzchniowa poprawia właściwości mechaniczne włókien (szczególnie moduł Younga)

3. Na podstawie wyznaczonych parametrów mechanicznych włókien i obserwacji morfologii wydzieleń hydroksyapatytu można stwierdzić, że optymalny czas inkubacji włókien HAP wynosi 5 dni, natomiast aby otrzymać homogeniczną warstwę fosforanu wapnia na włóknach NW i WW proces inkubacji musi być przedłużony do 10 dni. Sugeruje to, że obecność cząsteczek hydroksyapatytu w objętości włókien PGLA przyspiesza wydzielanie fosforanu wapnia z roztworu SBF.

Podziękowania

Praca była finansowana przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego (grant 3T08D 023 30).

Piśmiennictwo

[1] R. Zang, P. X. Ma: "Porous poly(L-lactic acid)/apatite composites created by biomimetic process", Journal of Biomedical Materials Research 45, 1999, 285-293

[2] K. Zang, Y. Wang, M. A. Hillmyer, L. F. Francis: "Processing and properties of porous poly(L-lcatide)/bioactive glass composites", Biomaterials 25, 2004, 2489-2500

[3] A. Stoch, A. Brożek, J. Stoch, W. Jastrzębski, E. Długoń, M. Sitko: "Biomimetic growth of phosphates on modified biocarbon surface", Engineering of Biomaterials 10, 2000, 23-29

[4] P.X. Ma: "Scaffolds for tissue fabrication", Materials Today 7(50), 2004, 30-40

[5] B.L. Seal, T. C. Otero, A. Panitch: "Polymeric biomaterials for tissue and organ regeneration", Materials Science and Engineering R 34, 2001, 147-230

from 26 to 62 MPa were produced by the wet process from copolymer solution in DMF.

Hydroxyapatite can be introduced in bulk of the fibres during solution spinning process and/or deposited on the fibres' surface from SBF. Surface modification improves mechanical properties of the fibres (particularly Young modulus).
 According to mechanical properties of the fibres and morphology of the hydroxyapatite layer it is sufficient to incubate HAP fibres in SBF for 5 days, while in order to get a homogeneous layer of hydroxyapatite on NW and WW fibres the process must be prolonged up to 10 days. It suggests that presence of hydroxyapatite particles in bulk of PGLA fibres accelerates deposition of calcium phosphates from SBF solution.

Acknowledgements

This study was supported by the Ministry of Science and Higher Education (grant No. 3T08D 023 30).

References

[6] J. C. Middleton, A. J. Tipton: "Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices", Biomaterials 21, 2000, 2335-2346
[7] S. Dumitriu: "Polymeric biomaterials", Marcel Dekker Inc, USA 2002, 179, 180

[8] P. Dobrzyński, J. Kasperczyk, H. Janeczek, M. Bero: "Synthesis of biodegradable copolymers with the use of low toxic zirconium compounds. 1. Copolymerization of glycolide with L-lactide initiated by Zr(acac)4", Macromolecules 34, 2001, 5090-5098

[9] K. Haberko, M.M. Bućko, J. Brzezińska-Miecznik. M. Haberko, W. Mozgawa, T. Panz, A. Pyda, J. Zarębski, "Natural hydroxyapatite – its behaviour during heat treatment", Journal European Ceramic Society 26, 2006, 537-542

[10] T. Kokubo, H. Kushitani, S. Sakka, T. Kitsugi, T. Yamamuro: "Solution able to reproducer in vivo surface-structure changes in bioactive glass-ceramics A-W", Journal of Biomedical Materials Research 24, 1990, 724-734

90 USZLACHETNIANIE NARZĘDZI MEDYCZNYCH

MARTA BIEL GOŁASKA*, IZABELA KALEMBA **

*Instytut Odlewnictwa, Kraków **Akademia Górniczo-Hutnicza, Kraków E-mail: martabiel@iod.krakow.pl

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),90-93]

Wprowadzenie



RYS.1. Stan narzędzi chirurgicznych wziętych z sali operacyjnej jednego z w polskich szpitali. FIG.1.The state of the surgical tools taken from the operating theatre of one of the Polish hospitals. RYS.2. Korozja wżerowa na narzędziach medycznych. FIG.2. Pitting corrosion on medical tools.

Inspiracją do podjęcia tematyki uszlachetniania powierzchni narzędzi medycznych był obraz stanu narzędzi eksploatowanych w różnych szpitalach w Polsce (RYS.1 i 2). Wiele narzędzi było zniszczonych przez korozję wżerową, co widać na zamieszczonych zdjeciach.

Narzędzia chirurgiczne mają bezpośredni kontakt z tkankami i płynami ustrojowymi w organizmie ludzkim, ze środkami do sterylizacji i odkażania, lekami, jak również podlegają zużyciu eksploatacyjnemu wynikającemu z ich zastosowania, a niekiedy uszkodzeniu. Wymienione warunki użytkowania narzędzi determinują dobór tworzywa, które powinno zabez-



RYS.6. Wiertła stomatologiczne a) bez powłoki oraz z powłokami b) z azotku tytanu TiN i c) z glinoazotku tytanu TiAIN.

FIG.6. Dental borers a)without a coating and with coatings b) of titanium nitride TiN and c) of titanium aluminonitride TiAIN.

ENRICHMENT OF MEDICAL TOOLS

MARTA BIEL GOŁASKA*, IZABELA KALEMBA**

*FOUNDRY RESEARCH INSTITUTE, KRAKOW **UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, KRAKOW E-MAIL: MARTABIEL@IOD.KRAKOW.PL

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),90-93]

Introduction



Rys.3. Narzędzia pokryte powłoką diamentopodobną. FIG.3. Surgical tools covered with diamond-like carbon coating DLC. Rys.4. Narzędzia pokryte azotkiem tytanu TiN. FIG.4. Tools covered with titanium nitride TiN.

Rys.5. Narzędzia pokryte glinoazotkiem tytanu TiAIN-FIG.5. Tools covered with titanium aluminonitride TiAIN.

The sight of the state of tools which are utilized in various hospitals in Poland inspired the authors to undertake the subject of refining the surface of medical tools (FIG.1 and 2). A lot of tools were damaged by pitting corrosion, what can be seen in the photos.

Surgical tools are in a direct contact with tissues and systemic liquids in human organism, with agents for sterilization and disinfection, medicines. They are also worn up became of their exploitation and they are sometimes damaged. The above mentioned conditions of the utilization of medical tools determine the choice of materials which should ensure their reliable exploitation.

The aim of investigation was to refine the surface of medical tools with spreading different coatings in order to increase their durability during their exploitation and sterilization maintaining at the same time suitable biocompatibility. During the work adhesion tests of the applied coatings to metal substrate were carried out as well as their biocompatibility and metallographic examinations of coatings by means of a light microscope and a scanning one.

During the work the surface was modified with two types of medical tools: surgical and dental ones. The surgical tools were refined with three kinds of coatings: diamond-like carbon coating DLC (FIG.3), titanium nitride TiN coating (FIG.4) and titanium aluminonitride coating TiAIN (FIG.5), while the dental ones with titanium nitride coating and titanium aluminonitride coating spread over the diamond-nickel composite (FIG.6). The diamond-like carbon coating was obtained by means of PACVD (Plasma Assisted Chemical Vapour Deposition), whereas the titanium nitride and titanium aluminonitride were acquired using the PAPVD (Plasma Assisted Physical Vapour Deposition) [1].

Material

Specimens and medical tools were made of three steel grades, namely: tools of steel X15Cr13 and X20Cr13 and

pieczyć niezawodną ich eksploatację.

Celem badań było uszlachetnienie powierzchni narzędzi medycznych poprzez nałożenie różnych powłok w celu zwiększenia ich trwałości w trakcie eksploatacji i sterylizacji przy zachowaniu odpowiedniej biozgodności. W pracy przeprowadzono badania adhezji zastosowanych powłok do podłoży metalowych, ich biozgodności oraz obserwacje metalograficzne powłok przeprowadzone na mikroskopie świetlnym oraz skaningowym.

W niniejszej pracy modyfikowano powierzchnię w dwóch rodzajach narzędzi medycznych: chirurgicznych oraz stomatologicznych. Narzędzia chirurgiczne uszlachetniano trzema rodzajami powłok: diamentopodobną DLC (RYS.3), azotkiem tytanu TiN (RYS.4) oraz glinoazotkiem tytanu TiAIN (RYS.5), a stomatologiczne azotkiem tytanu oraz glinoazotkiem tytanu nałożonym na kompozyt diamentowo-niklowy (RYS.6). Powłokę diamentopodobną uzyskano metodą PACVD (Plasma Assisted Chemical Vapour Deposition), natomiast powłoki z azotku tytanu oraz glinoazotku tytanu uzyskano metodą PAPVD (Plasma Assisted Physical Vapour Deposition) [1].

Materiał

Badaniom poddano próbki i narzędzia medyczne wykonane z trzech gatunków stali: narzędzia wykonane ze stali X15Cr13 i X20Cr13 oraz wiertła stomatologiczne ze stali X45Cr13.

Powłoki z trzech rodzajów materiałów: DLC (Diamond-like carbon coating), azotku tytanu TiN oraz glinoazotku tytanu TiAIN wykonano zarówno na próbkach, narzędziach medycznych jak i stomatologicznych.

Metody badań

Próbki oraz narzędzia uszlachetnione powłokami poddane zostały następującym badaniom:

 - badania adhezji powłok do podłoży metalowych oraz ocena ich własności wytrzymałościowych,

- wstępne badania biozgodności trzech rodzajów powłok,

 badania eksploatacyjne narzędzi i wierteł stomatologicznych.

- badania metalograficzne.

Wyniki badań

Badania stopnia przywierania powłok do podłoża oraz własności mechanicznych powłok wykonano na Micro-Combi Testerze [2]. W teście zarysowania zwanego scratch-testem wyznaczono obciążenie krytyczne L_{c,} charakteryzujące adhezję powłok do podłoża. Ponadto określono dental borers of steel X45Cr13.

Coatings of three types of materials: DLC (Diamond-like carbon coating), titanium nitride TiN and titanium aluminonitride TiAIN were spread both over the specimens and medical and dental tools.

Research methods

The specimens and tool refined with coatings were subjected to the following tests:

- tests of coatings adhesion to the metal substrate and evaluation of their mechanical properties,

- initial tests of biocompatibility of three types of coatings,
- exploitation tests of tools and dental borers,
- metallographical examinations.

Tests results

Tests of the degree of coatings adhesion to the substrate and mechanical properties of coatings were made by means of Micro-Combi Tester [2]. In the scratch test the critical load L_{c} , which characterized the coatings adhesion to the substrate, was determined. Moreover, microhardness of the metallic materials and coatings was defined by means of Vickers method and modules of elasticity (TABLE1).

Tests of the biocompatibility of DLC, TiN and TiAIN coatings made on specimens of steel grades X15Cr13 and X20Cr13.

Before testing the biocompatibility, the specimens were covered by three kinds of coatings: diamond-like carbon coating, titanium nitride TiN coating and titanium aluminonitride TiAIN coating. Next they were washed with ethyl alcohol and subjected to ultraviolet radiation. In order to prove the biocompatibility of the investigated material with the human organism the culture of bone forming cells named osteoblasts was carried out and also of the basic cells of the connective tissue called fibroblasts on the specimens of steels designed for tools. A suspension of osteoblasts and fibroblasts in concentration 2x10⁴ in 1 cm³, which was subjected to seven-day culture, was prepared. After this time their vitality on the investigated materials was determined as well as the secretion of collagen of the type I, it means of albumen composing 90% of the bone matrix and being also present in such tissues as: skin, tendons, gristles and blood vessels [3].

The results of the biocompatibility tests are given in diagram which presents the concentration of collagen produced by culture cells as percentage of the value of collagen produced by control cells (FIG.7). From among the tested materials steel X15Cr13 covered with diamond-like carbon coating

Materiał do badań / Material for the tests	Obciążenie krytyczne / Critical load Lc [N]	Mikrotwardość / Microhardness [HV]	Moduł Younga / Young's modulus E [GPa]	
Próbka ze stali / Specimen made of steel grade	10.0	344	209	
X15Cr13 + DLC	19,9	544	209	
Pinceta ze stali / Tweezers made of steel grade	16	559	207	
X15Cr13 + TiN	10		201	
Pinceta ze stali / Tweezers made of steel grade	20.2	2186	336	
X15Cr13 + TiAIN	20,2	2100	330	
Pierścień ze stali / Ring made of steel grade	17.3	331	204	
X20Cr13 + DLC	17,5	351	204	
Pierścień ze stali / Ring made of steel grade	26.9	024	244	
X20Cr13 + TiN	20,8	024	244	
Pierścień ze stali / Ring made of steel grade	10.0	1148	266	
X20Cr13 +TiAIN	13,5	1140		

TABELA 1. Wyniki badań własności mikromechanicznych powłok. TABLE 1. Tests results of the micromechanical properties of coatings **BIOMATERIALÓW**

92 mikrotwardość materiałów metalowych i powłok, metodą
 •••• Vickersa oraz moduł sprężystości (TABELA 1).

Badania biozgodności powłok DLC, TiN oraz TiAIN wykonanych na próbkach ze stali X15Cr13 oraz X20Cr13

Przed badaniem biozgodności próbki pokryto trzema rodzajami powłok: diamentopodobną, azotkiem tytanu oraz glinoazotkiem tytanu przemyto alkoholem etylowym oraz poddano działaniu promieniowania UV. W celu sprawdzenia biozgodności badanych materiałów z organizmem ludzkim, przeprowadzono hodowle komórek kościotwórczych zwanych osteoblastami, a także podstawowych komórek tkanki łącznej zwanych fibroblastami na próbkach ze stali przeznaczonej na narzędzia. Sporządzono zawiesinę komórek osteoblastów i fibroblastów w stężeniach 2x104 w 1 cm³, którą poddano siedmiodniowej hodowli. Po tym czasie oznaczano ich żywotność na badanych materiałach, a także wydzielanie kolagenu typu I, czyli białka stanowiącego 90% macierzy kostnej, występującego także w takich tkankach jak: skóra, ścięgna, chrząstka, naczynia krwionośne [3]. Wyniki badań biozgodności przedstawiono na wykresie przedstawiającym procentowe stężenie kolagenu wyprodukowanego przez komórki hodowane w stosunku do kolagenu wyprodukowanego przez komórki kontrolne (RYS.7). Spośród przebadanych materiałów wysoką biozgodność z tkanką kostną wykazała stal X15 pokryta powłoką DLC oraz stal X20 pokryta powłokami TiN i TiAIN.

Badania eksploatacyjne pincet i wierteł stomatologicznych pokrytych powłokami z azotku tytanu TiN oraz glinoazotku tytanu TiAIN

Badania eksploatacyjne narzędzi medycznych oraz wierteł stomatologicznych podsumowano po raz pierwszy po eksploatacji przez 6 miesięcy. W przypadku wierteł dwa razy dziennie zastosowano sterylizację wstępną polegającą na wytrzymaniu ich przez 15 minut w roztworze Sekudrilu. Następnie zastosowano sterylizację w autoklawie w tempe-



RYS.8. Zdjęcia wierteł pokrytych kompozytem diamentowo-niklowym oraz azotkiem tytanu TiN a) przed eksploatacją, b) wiertło okrągłe po 6 miesiącach eksploatacji, c) wiertło ostre po 6 miesiącach eksploatacji.

FIG.8. Photos of bores covered with diamond nickel composite and with titanium nitride a) before, b)rounded borer after 6 months of their exploitation, c) sharp borer after 6 months of their exploitation.

Wiertła stomatologiczne Dental borers	Po [.] Co	włoka Tin ating TiN	Powłoka TiAIN Coating TiAIN		
	Ostre	Zaokrąglone	Ostre	Zaokrąglone	
	Sharp	Rounded	Sharp	Rounded	
	24,5	48,5	22	47,5	



RYS.7. Wyniki badań biozgodności stali na narzędzia pokrytej różnymi powłokami. FIG.7. Results of biocompatibility testing of steels covered with various coating on medical tools.

DLC and steel X20Cr13 covered with TiN and TiAlN coatings showed high biocompatibility with osseous tissue.

The operation tests of tweezers and dental borers covered with TiN and TiAIN coatings

The operation tests of medical tools and dental borers were evaluated for the first time after the operation time of 6 months. In the case of borers initial sterilization was applied twice a day. It consisted of holding them in the solution of Sekudril for 15 minute. Then the sterilization was applied in an autoclave in the temperature of 134 °C during 18 minutes. In the case of medical tools sterilization was applied in 2% solution of Sekusept for two hours and then in an autoclave under the same conditions as borers.

After the time of six months of operation of the medical tools (tweezers), which included their use and daily sterilization the perceptible wear was not stated. There were also no dye penetrations connected with the chemical reactions on dental medicines and disinfecting liquids.

In the case of the tested borers with sharp ends the operation time was two times shorter in comparison with the borers having rounded ends. Both types of borers, it means those with titanium nitride TiN coatings and titanium aluminonitride TiAIN coatings were observed after the operation time of three and six months. After three months wear traces were noticed, however the borers were sharp enough and wear resistant what allowed them further utilization. After the repeated visual inspection (after six months) successive wear traces appeared on the borers, but they still showed the required sharpness. According to the evaluation and expectations of the dentist the borers to acknowledge them as completely damaged should be operated by at least six successive months.

Metallographic examinations

Metallographic examinations of coatings made with the light microscope are shown in FIGURE 9, whereas the examinations of coatings made with the scanning microscope are shown in FIGURE 10.

Conclusions

1. The coating made of titanium aluminonitride showed decidedly the highest microhardness maintaining at the same time high biocompatibility.

2. The diamond like carbon coating with the lowest microhardness proved to have the highest biocompatibility.

3. All kinds of coatings showed comparable adhesion to the steel substrate.

4. The operation tests of borers covered with a diamond nickel composite and with a titanium nitride coating showed two or three times longer operation time in comparison with the borers without any coatings. raturze 134°C przez 18 minut. W przypadku narzędzi medycznych (pincet) zastosowano sterylizację w 2% roztworze Sekuseptu przez 2 godziny, a następnie w autoklawie w tych samych warunkach co wiertła.

Po półrocznej eksploatacji narzędzi medycznych (pincety) polegającej na użytkowaniu ich oraz codziennej sterylizacji nie stwierdzono zauważalnego zużycia, jak również przebarwień związanych z reakcjami chemicznymi z lekami stomatologicznymi lub płynami dezynfekującymi.

W przypadku badanych wierteł ostro zakończonych czas eksploatacji był dwukrotnie mniejszy w porównaniu z wiertłami zakończonymi kulką. Oba rodzaje wierteł zarówno pokryte azotkiem tytanu TiN jak i glinoazotkiem tytanu TiAIN obserwowane były po 3 oraz 6 miesiącach eksploatacji. Po 3 miesiącach zauważono ślady zużycia, jednakże wiertła miały wystarczającą ostrość i odporność na zużycie zezwalające na dalszą eksploatację. Po ponownych oględzinach (po 6 miesiącach) na wiertłach pojawiły się kolejne ślady zużycia, lecz w dalszym ciągu wykazywały one wymaganą ostrość. Według oceny i przewidywań stomatologów, aby wiertła uznać za całkowicie zniszczone, powinny one być eksploatowane co najmniej przez kolejne pół roku.

Obserwacje metalograficzne

Obserwacje metalograficzne powłok wykonanych na mikroskopie świetlnym pokazano na RYSUNKU 9. Natomiast obserwacje powłok wykonane na mikroskopie skaningowym przedstawiono na RYSUNKU 10.

Wnioski

1. Spośród badanych powłok, powłoka wykonana z glinoazotku tytanu wykazała zdecydowanie najwyższą mikrotwardość przy zachowaniu wysokiej biozgodności.

2. Najwyższą biozgodność wykazała powłoka diamentopodobna o najniższej mikrotwardości.

3. Wszystkie rodzaje powłok wykazały porównywalną adhezję do podłoża stalowego.

4. Badania eksploatacyjne wierteł pokrytych kompozytem diamentu z niklem oraz powłoką z azotku tytanu wykazały dwu do trzykrotnie dłuższy czas eksploatacji w porównaniu z wiertłami pozbawionymi powłok.

5. Obserwacje metalograficzne pozwoliły na ocenę jakości i grubości powłok wynoszącą w przybliżeniu 2µm.

Podziękowania

Praca została zrealizowana w ramach projektu badawczego nr 4 T08A 002 25 finansowanego przez Komitet Badań Naukowych.

Wyrażam serdeczne podziękowania pani dr Barbarze Czajkowskiej za przeprowadzenie badań biozgodności, pani mgr inż. Janinie Radzikowskiej za wykonanie zdjęć powłok na mikroskopie świetlnym, panu mgr inż. Wacławowi Cieśli za obserwacje na mikroskopie skaningowym uwieńczone zdjęciami, pani Ewie Kozakiewicz za przeprowadzenie wielokrotnej sterylizacji oraz odkażania narzędzi stomatologicznych oraz panu mgr inż. Arturowi Kudybie za wykonanie zdjęć narzędzi.



RYS.9. Mikrofotografie powłoki azotku tytanu wykonane w świetle spolaryzowanym (pow.1000x). FIG.9. Microphotograph of titanium nitride TiN coating taken in the polarized light (mag.1000x).



RYS.10. Mikrofotografia powłoki TiN wraz z analizą EDS wykonaną na mikroskopie skaningowym firmy Hitachi 3500N.

FIG.10. Microphotograph of titanium nitride TiN coating together with EDS analysis taken with a scanning microscope of the firm HITACHI 3500N.

5. Metallographic examinations allowed the evaluation of the quality and thickness of coatings amounting approximately to $2\mu m$.

Acknowledgements

The work was realized within the framework of the research project No 4 TO8A 00225 financed by the Committee for Scientific Research.

I would like to express my thanks to: Dr Barbara Czajkowska for carrying out biocompatibility tests, M.Sc.Eng Janina Radzikowska for taking photos of coatings with the light microscope, M.Sc.Eng.Wacław Cieśla for examinations on scanning microscope, Mrs. Ewa Kozakiewicz for carrying out repeated sterilization and disinfection of dental tools and to M.Sc.Eng. Artur Kudyba for taking the photos of the tools.

Piśmiennictwo

References

[1] Biel Gołaska M., Analiza mechanizmów zniszczenia narzędzi chirurgicznych pokrytych warstwą diamentową, sprawozdanie z projektu badawczego KBN realizowanego w latach 2004-2006, Instytut Odlewnictwa, Kraków

[2] Biel Gołaska M. i in., Modyfikacja powierzchni tytanu powłoką diamentopodobną, Inżynieria Biomateriałów, 2006, nr 56-57, s. 1-11

[3] Czajkowska B. i in., Oddziaływanie fibroblastów, osteoblastów i makrofagów z chirurgicznymi siatkami polipropylenowymi, Inży-

nieria Biomateriałów, 2002, nr 23-25, s.42-43

94 BIOAKTYWNE KOMPOZYTY GRADIENTOWE

JAN CHŁOPEK, BARBARA SZARANIEC, MAŁGORZATA MICHALSKA

AGH, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, Katedra Biomateriałów Al. Mickiewicza 30, 30 – 059 Kraków,

Streszczenie

W pracy przedstawiono wyniki badań kompozytów o osnowie z polimeru resorbowalnego PGLA modyfikowanych proszkami, takimi jak: HAp naturalny (HAp_n), HAp syntetyczny (HAp_M), bioszkło, TCP i proszek alginianowy. Kompozyty inkubowano w wodzie destylowanej i na podstawie obserwacji mikroskopowych oraz pomiarów przewodnictwa płynu oceniano ich zachowanie, in vitro". W badaniach mechanicznych określano również wytrzymałość na rozciąganie kompozytów. Uzyskane wyniki badań pozwoliły na zaprojektowanie i wykonanie kompozytów gradientowych o kontrolowanej szybkości rozpuszczania poszczególnych faz.

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),94-97]

Wprowadzenie

Nową grupę materiałów implantacyjnych mogą stanowić biomimetyczne kompozyty o budowie gradientowej. Większość naturalnych tkanek wykazuje taką budowę i charakteryzuje się zmiennymi właściwościami w określonych kierunkach. Z punktu widzenia zastosowań biomedycznych do najważniejszych gradientów możemy zaliczyć gradient modułu Younga obecny szczególnie w tkance kostnej, który decyduje o właściwościach mechanicznych i kierunkowym rozkładzie naprężeń [1,2]. Inne gradienty mogą być rezultatem złożonej warstwowej budowy kości, zawartości i gęstości faz mineralnych oraz zdolności do przebudowy [3]. Wykorzystanie wielofunkcyjnych implantów w medycynie regeneracyjnej wymaga zastosowania kombinacji różnych biozgodnych faz, z których wydaję się, że największe znaczenie mogą mieć kompozycje polimerowo-ceramiczne [4,5]. Moga one prowadzić do otrzymania implantów czasowych z polimerów resorbowalnych modyfikowanych cząstkami ceramicznymi o właściwościach bioaktywnych. Połączenie idei materiału kompozytowego i materiału gradientowego może otworzyć nowe możliwości otrzymywania biofunkcyjnych implantów, lepiej dopasowanych pod względem budowy i właściwości do otaczających tkanek.

Celem pracy było opracowanie metody otrzymywania materiałów kompozytowych gradientowych o kontrolowanej bioaktywności i szybkości rozpuszczania w środowisku biologicznym.

Materiały i metody

Badania wykonywano na foliach kompozytowych o osnowie polimerowej z poli(laktydu-ko-glikolidu), PLA:PGA-83:17, Mn = 75 kDa, dyspersja masy D = 2.1, wytworzonego w Centrum Chemii Polimerów PAN w Zabrzu [6]. Jako fazy modyfikujące użyto następujących proszków:

1. hydroksyapatyt pochodzenia naturalnego, uzyskany z części korowej kości wołowej w Katedrze Ceramiki Specjalnej AGH, o następującej charakterystyce: powierzchnia właściwa 71,4 [m³/g], gęstość 3,16 [g/cm³], skład tlenkowy [%]: CaO - 51,37; MgO - 0,62; P₂O₅ - 37,76; Ca/P - 1,72. [7]; 2. syntetyczny HAp firmy Mitsubishi (Japonia): powierzchnia

BIOACTIVE GRADED COMPOSITES

JAN CHŁOPEK, BARBARA SZARANIEC, MAŁGORZATA MICHALSKA

AGH-UST, Faculty of Materials Science and Ceramics, Department of Biomaterials, al. Mickiewicza 30, 30-684 Kraków

Abstract

The results are reported on investigation of composites with resorbable polimerPGLA matrix, modified with powders such as natural HAp (HApn), synthetic HAp (HApM), bioglass, TCP and alginate powder. Composites were incubated in distilled water and based on microscopic observations and measurements of conductivity of the liquid, their "in vitro" behaviour has been evaluated. Tensile strengths of composites were determined in standard mechanical tests. Obtained results enabled to design and manufacture graded composites with controlled solubility of specific component phases.

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),94-97]

Introduction

The biomimetic composites with graded structure may constitute the new group of implant materials. The majority of natural tissues represent the same structure and can be characterized by properties varying with directions. The Young modulus gradient existing in bone tissue may be considered as one of the most important gradients from the point of view of biomedical applications. It determines both the mechanical properties and the directional stress distribution [1,2]. Other gradients may result from complex bone composition, the content and density of mineral phases and the reconstruction capability [3].

The utilization of multifunctional implants in regenerative medicine requires the application of combination of various biocompatible phases, among which the polymer-ceramic compositions seem to be of major importance [4,5]. They may be conducive to fabrication of temporary implants made of resorbable polymers modified with ceramic particles having bioactive properties. The combination of the concept of composite material and the graded material may open new opportunities for manufacturing of biofunctional implants with better adjustment of their structure and properties to the surrounding body cells.

The goal of this work was to develop the method of obtaining graded composite materials with controlled bioactivity and the velocity of dissolution in biological environment.

Materials and methods

The experiments were carried out on composite foils with polymer matrix of poly(lactide-co-glycolide), PLA: PGA- 83:17, Mn = 75 kDa, mass dispersion D = 2.1. Materials were made at the Centre for Polymer Chemistry PAN in Zabrze, Poland [6]. Following powders were applied as modifying phases:

1. Hydroxyapatite of natural origin, obtained from the core part of steer bone at the Chair of Special Ceramics AGH Krakow, Poland, with following characteristics: specific surface 71,4 [m³/g], density 3,16 [g/cm³], oxide composition [%]: CaO - 51,37; MgO - 0,62; P_2O_5 - 37,76; Ca/P - 1,72. [7]; 2. Synthetic HAp made by Mitsubishi (Japan): spec. surface

właściwa 69,8 [m3/g], gęstość 3,16 [g/cm3], skład tlenkowy [%]: CaO - 51,65; MgO - 0,05; P₂O₅ - 38,88; Ca/P - 1,68. TCP firmy Aldrich: Ca₃(PO₄)₂≥96.0%;

4. bioszkło (symbol A2) o składzie: SiO₂=40 %mol, CaO=54 %mol, P₂O₅=6 %mol otrzymano metodą zol-żel w Katedrze Technologii Szkła i Powłok Amorficznych AGH, stosując jako substancje wyjściowe następujące związki: tetraetoksykrzemian (TEOS), fosforan (V) trietylu (OP(OC₂H₅)₃), uwodniony azotan wapnia (Ca(NO₃)₂*4H₂O) [8].

5. Proszek alginianowy (alginian wapnia) o masie cząsteczkowej ok. 198 kDa, zawierający: 18-27% popiołu [9].

Wyjściowe materiały modyfikujące oraz kompozyty polimerowe inkubowano w wodzie destylowanej w temperaturze 37°C i mierzono zmiany przewodnictwa elektrycznego wody destylowanej za pomocą konduktometru mikrokomputerowego firmy Elmetron typ CC-315.

Obserwację zmian zachodzących na powierzchni próbek inkubowanych wykonano za pomocą mikroskopu optycznego Nikon Epiphot 300 oraz mikroskopu skaningowego Jeol JSM-5400 z mikroanalizatorem rentgenowskim LINK ISIS Seria 300.

Właściwości mechaniczne zbadano przy użyciu uniwersalnej maszyny wytrzymałościowej Zwick 1435.

Na podstawie uzyskanych wyników zaprojektowano materiał gradientowy o kontrolowanej szybkości rozpuszczania poszczególnych faz.

Wyniki i dyskusja

Na RYSUNKU 1 przedstawiono zmiany przewodnictwa elektrycznego wody destylowanej w trakcie inkubacji różnego typu modyfikatorów. Największe zmiany przewodnictwa obserwuje się dla proszku alginianowego oraz bioszkła (rys. 1a). W zakresie przewodnictwa od 0-100 µS/cm (rys.1b) niewielkie różnice występują pomiędzy hydroksyapatytami (w zależności od ich pochodzenia), polimerem resorbowalnym oraz TCP. Podkreślenia wymaga fakt, że największą rozpuszczalnością z pośród badanych cząstek hydroksyapatytów charakteryzuje się hydroksyapatyt pochodzenia naturalnego o nanometrycznej wielkości ziaren. Najmniejszą rozpuszczalność wykazuje natomiast czysty polimer resorbowalny.

69,8 [m3/g], density 3,16 [g/cm3], oxide composition [%]: CaO - 51,65; MgO - 0,05; P₂O₅ - 38,88; Ca/P - 1,68. 3. TCP by Aldrich: Ca₃(PO₄)₂≥96.0%;

4. Bioglass (denoted as A2) of composition: SiO₂ - 40 mol %, CaO - 54mol%, P2O5 - 6mol%, obtained by sol-gel method at the Chair of Technology of Glass and Amorphous Films AGH Krakow, Poland, using following substances as initial components: tetraetoxysilicate (TEOS), triethyl phosphate (V) $(OP(OC_2H_5)_3)$, hydrated calcium nitrate $(Ca(NO_3)_2*4H_2O)$ [8].

5. Alginate powder (calcium alginate) of molecular weight around 198 kDa, with 18-27% ash content [9].

Initial modifying materials as well as polymer composites were incubated in distilled water at the temperature of 37°C. Variations of electrical conductivity were measured using the conductometer Elmetron typ CC-315. Observations of changes occurring on surfaces of incubated samples were performed using both optical microscope Nikon Epiphot 300 as well as scanning electron microscope (Jeol JSM-5400) equipped with X-ray microanalizer (LINK ISIS Series 300). Mechanical properties were examined using universal testing machine (Zwick 1435). Based on obtained results new graded material was designed with controlled solubility of specific phases.

Results and discussion

FIG.1 shows the variation of electrical conductivity of distilled water during incubation of various types of modifying agents. The most significant changes of conductivity can be observed for alginate powder and the bioglass (FIG.1a). Small variations occur among the hydroxyapatites (depending on their origin), resorbable polymer and TCP (FIG.1b). It should be pointed out that natural origin hydroxyapatite with nanometric grain size shows the highest solubility among the examined hydroxyapatite particles. The lowest solubility is shown by the pure resorbable polymer.

Modifying agents of varying solubility constituted the filler material in composites with resorbable polymer matrix. The results of measurements of electrical conductivity of water during incubation of composite samples (FIG.2) indicate that



RYS.1. Zmiany przewodnictwa wody destylowanej w funkcji czasu inkubacji badanych próbek. FIG.1. Variations of conductivity of distilled water as a function of incubation time of the examined samples.

composites with bioglass filler present the most pronounced changes. These results prove that the resorption process can be affected by many other factors, related mainly to the existence of interphase boundaries and also particle agglomeration within the composite. In each case the introduction of modifying particles examined the electric conductivity of



RYS.2. Zmiany przewodnictwa wody destylowanej w funkcji czasu inkubacji folii kompozytowych. FIG.2. Variations of conductivity of distilled water vs incubation time of composite foils.

Modyfikatory o różnej rozpuszczalności stanowiły wypełniacz w materiałach kompozytowych, w których funkcję matrycy spełniał polimer resorbowalny. Jak wykazały badania zmian przewodnictwa elektrycznego wody (RYS.2) w trakcie inkubacji próbek kompozytowych największymi zmianami charakteryzują się kompozyty z wypełniaczem z bioszkła. Świadczy to o tym, że o przebiegu procesu resorpcji mogą decydować także inne czynniki związane głównie z obecnością granic międzyfazowych oraz aglomeracją cząstek w kompozycie. W każdym przypadku wprowadzenie badanych cząstek modyfikujących podwyższa przewodnictwo elektryczne wody destylowanej.

Analiza mikroskopowa pokazała, że proces rozpuszczania ma miejsce na wprowadzonych cząstkach modyfikatora, a proces resorpcji polimeru zaczyna się na granicy faz cząstka-polimer RYS.3).

W pracy badano także właściwości mechaniczne błonek kompozytowych w próbie rozciągania. Wyniki przedstawiono w TABELI 1. Najlepszą wytrzymałość na rozciąganie wykazują błonki modyfikowane TCP oraz hydroksyapatytem o nanometrycznej wielkości ziaren.

Na podstawie uzyskanych wyników przedstawiono projekt kompozytu gradientowego o zmieniającej się rozpuszczalności: największej wewnątrz kompozytu i stopniowo zmieniającej się do powierzchni (RYS.4). Tego typu kompozyt może stymulować wzrost regenerujących się tkanek w określonym miejscu i określonych kierunkach.

1. Kompozyt z Hap-u naturalnego – gradient bioaktywności

a) HAP natur. (25 %mas)

b) HAP natur. (12.5 %mas) c) HAP natur. (3.1 %mas)

RYS.4. Schemat kompozytu gradientowego.

FIG.4. Schematic diagram of graded composite.





RYS.3. Obrazy SEM powierzchni próbek po trzymiesięcznej inkubacji w warunkach in vitro: a) folia z PGLA, b) PGLA+HAp naturalny (25 %mas). FIG.3. SEM microphotographs of samples surfaces after 3 months incubation a) PGLA foil, b) PGLA+Hap natural (25 mass%).

distilled water increases.

The results of microscopic analysis indicate that the dissolution process occurs on particles of modifying agent introduced, while the polymer resorption process commences at the particle-polymer boundary (FIG.3).

Mechanical properties of composite thin foils have been examined in this work in tensile strength tests. The results are summarized in TABLE 1. The best tensile strength is shown by foils modified with TCP and hydroxyapatite with nanometric grain size.

Based on obtained results the design has been proposed for new graded composite of varying solubility: largest inside and gradually decreasing towards surface (FIG.4). Such composite can stimulate growth of tissues undergoing regeneration in the specific area and in desired directions.

Rodzaj materiału Type of material	PGLA	PGLA+ HAp naturalny PGLA+	PGLA+HAp Mit- subishi	PGLA+TCP	PGLA+ proszek alginiano- wy PGLA+	PGLA+ bioszkło PGLA+ bioglass
Rm	32,27	38,85	36,61	48,85	30,42	35,90
E	1,43	1,68	1,51	2,43	1,42	1,73

TABELA 1. Właściwości mechaniczne błonek kompozytowych (udział 6,25% mas).

TABLE 1. Mechanical properties of composite thinfoils (contribution 6,25 mass %).

b) HAP natur. (12.5 %mas) a) HAp natur. (25 %mas)

2. Kompozyt z gradientem resorpcji + bioaktywności
a) HAp natur.
b) TCP
c) HAP Mits.
b) TCP
a) HAp natur.

Wnioski

Wprowadzenie bioaktywnych proszków modyfikujących przyspiesza degradację kompozytów w porównaniu z czystym polimerem PGLA. Rodzaj cząstek, ich udział objętościowy, aglomeracja oraz wielkość ziaren ma wpływ na proces rozpuszczania kompozytowych faz w środowisku wodnym. Pozwala to sterować procesem degradacji polimeru oraz otwierania się porów w materiale kompozytowym. Na podstawie uzyskanych wyników opracowano materiał gradientowy o zróżnicowanej zdolności poszczególnych faz do rozpuszczania w środowisku biologicznym i tym samym o zróżnicowanej zdolności do przerastania odbudowującą się tkanką.

Podziękowania

Praca finansowana przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach projektu PBZ-KBN-100/T08/2003 Composite with natural HAp – bioactivity gradient

 a) HAP natur. (25 mass%)
 b) HAP natur. (12.5 mass%)
 c) HAP natur. (3.1 mass%)
 b) HAP natur. (12.5 mass%)
 a) HAp natur. (25 mass%)
 c) Composite with resorption gradient + bioactivity
 a) HAp natur.
 b) TCP
 c) HAP Mits.
 b) TCP
 a) HAp natur.

Conclusions

Introduction of bioactive modifying powders accelerates the degradation of composites as compared to pure PGLA polymer. Type of particles, their volume content, state of agglomeration as well as their grain size affect the process of dissolution of composite phase in aqueous environment. This allows to control the polymer degradation process and the opening of pores within the composite material. Based on obtained results the design for graded material has been developed with differential solubility of particular phases in biological environment, thus with differential ability of ingrowth of tissue being restored.

Acknowledgements

This work was supported by Ministry of Science and Higher Education. Project PBZ-KBN-100/T08/2003

Piśmiennictwo

[1] Błażewicz S., Stoch L.: Biomateriały, tom 4, Biocybernetyka i inżynieria biomedyczna 2000, Akademicka oficyna wydawnicza ELIT, Warszawa 2003.

[2] Będziński R.: Biomechanika inżynierska, Wrocław 1997.

[3] Szamański A.: Biomineralizacja i biomateriały, PWN, Warszawa 1991.

[4] Chłopek J., Morawska A., Adwent M., Cieślik-Bielecka A., Cieślik M.: Degradacja kompozytów kompozytów polimerów resorbowalnych w warunkach in vivo. Inżynieria biomateriałów 47-53, (2005), 197-202.

[5] Rosół P., Chłopek J., Pielichowska K., Pielichowski J, Mulica D.:Wpływ dodatków modyfikujących na właściwości poli(laktydoko-glikolidu) w warunkach in vitro, Inżynieria biomateriałów 47-53, (2005), 88-92.

References

[6] Dobrzyński P., Kasperczyk J., Bero M., Nowe możliwości syntezy i zastosowania w medycynie biodegradowalnych kopolimerów glikolidu nie zawierających cyny. Inżynieria Biomateriałów 23-25, (2002), 27-29.

[7] Haberko K., Bućko M. Haberko M., Mozgawa W., Pyda A., Zarębski J., Hydroksyapatyt naturalny – preparatyka, właściwości. Inżynieria Biomateriałów 30-33, (2003), 32-38.

[8] Sindut R., Łączka M., Cholewa-Kowalska K., Kajman J., Szymońska J.: Porowate spieki bioaktywne, Inżynieria Biomateriałów 45, (2005), 16-23.

[9] Stodolak E.: Włókniste materiały węglowe modyfikowane alginianami. Inżynieria Biomateriałów 27, (2003).

98 MECHANIZM REGENERACJI TKANKI KOSTNEJ PO IMPLANTACJI KOMPOZYTU Z POLIMERU RESORBOWALNEGO MODYFIKOWANEGO HYDROKSY-APATYTEM

JAN CHŁOPEK, ANNA MORAWSKA-CHOCHÓŁ, PATRYCJA ROSÓŁ

AGH, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, Katedra Biomateriałów, Al. Mickiewicza 30, 30 – 059 Kraków e-mail: chlopek@agh.edu.pl

Streszczenie

Implanty kompozytowe z kopolimeru resorbowalnego laktydu z glikolidem modyfikowanego nanocząstkami hydroksyapatytu oraz implanty z czystego polimeru wszczepiono w kość żuchwy królika. Okresy kontrolne przypadały po 1,2,3,6,12,24,48 tygodniach implantacji. Przeprowadzono obserwację mikroskopową granicy kość-implant wraz z analizą pierwiastków przy użyciu mikroskopu skaningowego (SEM) z przystawką EDS. Zaobserwowano, że po implantacji czystego polimeru udział tkanki łącznej jest większy niż w przypadku PGLA+HAP w całym okresie obserwacji. W przypadku kompozytu widoczne są dwa mechanizmy odbudowy kości, zarówno na cząstkach hydrokyapatytu jak i na wytworzonych włóknach kolagenowych.

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),98-101]

Wprowadzenie

Modyfikacja polimerów resorbowalnych nanocząstkami hydroksvapatytu daje możliwość opracowania wielofunkcyjnych implantów kompozytowych dla chirurgii kostnej. Poliestry alifatyczne (PLA, PGA) i ich kopolimery ulegają w środowisku biologicznym hydrolizie do poszczególnych kwasów (kwas mlekowy, kwas glikolowy), które następnie wchodzą w cykl przemian enzymatycznych (cykl Krebsa), w wyniku czego są wydalane z organizmu w postaci dwutlenku węgla i wody [1]. Istotne jest, aby czas resorpcji polimeru był dostosowany do czasu regeneracji leczonej tkanki. Osnowa polimerowa ulegając stopniowej resorpcji powoduje obniżenie wytrzymałości implantu, co powinno umożliwić przejmowanie obciążeń przez leczoną tkankę. Dodatek nanocząstek hydroksyapatytu ma na celu aktywowanie wydzielania apatytu kostnego i stymulowanie wzrostu tkanki kostnej. Zastosowanie cząstek o nanometrycznych rozmiarach powinno zwiększyć ich bioaktywność, co jest związane z dużym rozwinięciem powierzchni tego materiału. Nanocząstki sprzyjają również pozytywnej odpowiedzi

komórkowej ze względu na ich zbliżone wymiary [2]. Do określenia wzajemnych oddziaływań implant-tkanka konieczne jest przeprowadzenie badań biologicznych na zwierzętach. Pozwalają one ocenić zmiany zachodzące w implancie pod wpływem wielu czynników równocześnie (działania enzymów, adhezji białek i komórek, zróżnicowanego stanu naprężeń, zmieniającej się w stanach chorobowych bądź zapalnych temperatury i pH). Przede wszystkim jednak pozwalają ocenić jakość rosnącej tkanki oraz szybkość i mechanizm procesu gojenia.

Celem pracy jest ocena wpływu środowiska biologicznego na procesy resorpcji polimeru, jak również określenie szybkości i mechanizmu regeneracji leczonej tkanki kostnej.

.

THE MECHANISM OF BONE TISSUE REGENERATION AFTER IMPLANTATION OF RESORBABLE POLYMER COMPOSITE MODIFIED WITH HYDROXYAPATITE

JAN CHŁOPEK, ANNA MORAWSKA-CHOCHÓŁ, PATRYCJA ROSÓŁ

AGH-UST, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS, DEPARTMENT OF BIOMATERIALS, CRACOW, POLAND E-MAIL: CHLOPEK@AGH.EDU.PL

Abstract

Lactide-co-glycolide/nano-hydroxyapatite composite and pure polimer were implanted into the rabbit submaxilla bones. Control periods were determined as 1,2,3,6,12,24,48 weeks after the implantation. Microscopic observations of bone-implant interface, together with elemental analyses, were performed using the scanning electron microscope (SEM) equipped with EDS unit. It was found that the contribution of connective tissue is higher after pure polymer implantation as compared to PGLA+HAP composite. In the case of composite, two mechanisms of bone reconstruction can be observed, both on hydroxyapatite particles as well as on collagen fibres formed.

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),98-101]

Introduction

Modification of resorbable polymers with use of hydroxyapatite nanoparticles opens the opportunities to design multifunctional composite implants for bone surgery. Aliphatic polyesters (PLA, PGA) and their co-polymers undergo hydrolysis in biological environment and break into acids (lactic, glycolic), which later enter the cycle of enzymatic transformations (Krebs' cycle). As the result, they are removed from the body in form of carbon dioxide and water [1]. The adjustment of polymer resorption time to the time of regeneration of healed tissue is critical.

Progressive resorption of polymer matrix leads to implant's strength reduction, which should allow the healed tissue for taking over the carried strains. The addition of hydroxy-apatite nanoparticles has for aim the activation of release of bone apatite and stimulation of bone tissue growth. The application of particles of nanometric dimensions shall increase their bioactivity, related to extensive surface development of this material. The presence of nanoparticles favours also the positive cell response, due to their mutual size closeness [2].

Biological examination using animals is necessary in order to establish the mutual implant-tissue interaction. Such experiments enable to assess the changes taking place within the implant, simultaneously affected by the multitude of factors (enzyme action, protein and cell adhesion, differentiated stress, temperature and/or pH varying in inflammation or disease situations). First and foremost such experiments allow for assessment of quality of the growing tissue, the overall velocity of healing process as well as its mechanism.

The aim of this work was to evaluate the effect of biological environment on the process of polymer resorption, and to define the velocity and the mechanism of healed bone tissue regeneration process.

Materiały i metody

W pracy stosowano kopolimer laktydu i glikolidu (PGLA): 84% laktydu i 16% glikolidu (Mn=85000 Da, Mw/Mn=2,1) wyprodukowany przez Centrum Chemii Polimerów PAN w Zabrzu [3]. Kompozyt otrzymano przez dodatek 15%wag. hydroksyapatytu otrzymanego w wyniku ekstrakcji z kości zwierzęcych [4]. Implanty o kształcie cylindrycznym otrzymano metodą wtrysku w temperaturze 180°C.

Badania doświadczalne na zwierzętach przeprowadzono na królikach nowozelandzkich. Wszystkie zabiegi prowadzone były w Centralnej Zwierzętarni Śląskiej Akademii Medycznej za zgodą Komisji Bioetycznej. Wszczepy wprowadzano w chirurgicznie przygotowane łożysko o średnicy 3,2 mm w kości żuchwy. Okresy kontrolne wyznaczono na 1,2,3,6,12,24,48 tydzień od implantacji materiału.

Obserwację mikroskopową granicy kość-implant wraz z analizą pierwiastków wykonano na mikroskopie skaningowym (SEM) Jeol JSM-5400 z przystawką EDS.

Wyniki badań i dyskusja

Analiza mikroskopowa wraz z analiza EDS wskazują, że implant wykonany z czystego polimeru separuje się od kości grubą warstwą tkanki łącznej przez cały okres obserwacji (zwiększona zawartość tlenu i węgla w analizie EDS – RYS.1,2,3,4). Tkanka łączna obecna jest w obrębie implantu, co pozwala wnioskować, że zastępuje resorbujący się polimer. Po 24 tygodniach implantacji w miejscu po implancie, oprócz tkanki łącznej widoczne są również jony wapnia i fosforu świadczące o stopniowym wzroście udziału kości (RYS.3), a po roku implantacji tkanka kostna zaczyna dominować w stosunku do tkanki łącznej (RYS.4). Resorpcja polimeru zauważalna jest już od 3 tygodnia implantacji, co sugerują obecne w implancie liczne spekania i pory.

Proces resorpcji kompozytu z cząstkami hydroksyapatytu rozpoczyna się podobnie jak w przypadku czystego polimeru. Już po 3 tygodniach implantacji (RYS.5a) granica kość-implant jest nierówna, widoczne są w niej ubytki polimeru, w które wrosła tkanka kostna. Na styku kość-implant obecna jest tkanka łączna, o czym świadczy zwiększona zawartość tlenu i węgla na analizie EDS (RYS.5b). Po 6 tygodniach przebywania implantu w organizmie królika proces resorpcji obejmuje również środek kompozytu, co można wnioskować na podstawie widocznych spękań implantu (RYS.6a). Wzrost udziału jonów wapnia i fosforu (EDS - RYS.6b) w stosunku do analizy pierwiastkowej po 3 tyg. implantacji sugeruje, że w obrębie implantu oprócz cząstek hydroksyapatytu obecny jest również apatyt kostny.



RYS.1. Implant PGLA w kości żuchwy królika po 3 tygodniach implantacji: a) analiza mikroskopowa SEM, b) analiza EDS.

FIG.1. The PGLA implant in rabbit's submaxilla bone after three weeks from implantation: a) microscopic (SEM) analysis, b) EDS analysis.

Materials and methods

The lactide and glicolilde co-polymer (PGLA) was used in this work, consisting of 84% of lactide and 16% of glycolide (Mn=85000 Da, Mw/Mn=2,1), made by the Centre for Polymer Chemistry PAN in Zabrze, Poland [3]. The composite was obtained by addition of 15 wt.% of hydroxyapatite, the latter being extracted from animal bones [4]. Implants of cylindrical shape were obtained by injection at 180°C.

Animal experiments were carried out using the New Zealand rabbits. All surgeries were performed at the Central Animal Farm of Silesian School of Medicine, with permission of Bioethics Commission. Implants were introduced into surgically prepared bed (dia. 3.2 mm) of submaxilla bone. Control periods were determined as 1,2,3,6,12,24,48 weeks after the implantation.

Microscopic observations of bone-implant interface, together with elemental analyses, were performed using the scanning electron microscope (SEM) Jeol JSM-5400 equipped with EDS unit.

Results and discussion:

Microscopic analysis, together with EDS analyses, indicate that the implant made of pure polymer separates itself from the bone by a thick layer of connective tissue during the entire period of observation, which is confirmed by the increased oxygen and carbon dioxide contents in EDS analyses (FIGs.1,2,3,4).

Connective tissue is present within the implant, which allows to conclude that it replaces the resorbing polymer. After 24 hours from implantation, the ions of calcium and phosphorus are present in the implant area, thus proving the increasing contribution of the growing bone (FIG.3). One year after implantation, the content of bone tissue dominates over the connective tissue (FIG.4). Polymer resorption can be observed already three weeks after implantation, which is suggested by the presence of fissures and pores within the implant.

The resorption process of hydroxyapatite containing composite commences in a similar way as in the case of pure polymer. After three weeks from implantation (FIG. 5a) the bone-implant interface becomes rough and polymer losses can be observed with bone tissue in-growths. Connective tissue is present at the bone-implant interface, which is confirmed by the increased content of oxygen and carbon dioxide in the results of EDS analysis (FIG.5b). After the implant remains in rabbit's body for six weeks, the resorption embraces also composite's interior, which can be confirmed by visible cracking of the implant (FIG.6a). Calcium



RYS.2. Implant PGLA w kości żuchwy królika po 6 tygodniach implantacji: a) analiza mikroskopowa SEM, b) analiza EDS.

FIG.2. The PGLA implant in rabbit's submaxilla bone after six weeks from implantation: a) microscopic (SEM) analysis, b) EDS analysis.


RYS.3. Implant PGLA w kości żuchwy królika po 24 tygodniach implantacji, analiza mikroskopowa SEM i EDS.

FIG.3. The PGLA implant in rabbit's submaxilla bone after 24 weeks from implantation, SEM and EDS analysis.



RYS.5. Implant PGLA+HAP w kości żuchwy królika po 3 tygodniach implantacji, analiza mikroskopowa SEM i EDS.

FIG.5. The PGLA+HAP implant in rabbit's submaxilla bone after three weeks from implantation, SEM and EDS analysis.



RYS.7. Implant PGLA+HAP w kości żuchwy królika po 12 tygodniach implantacji, analiza mikroskopowa SEM i EDS.

FIG.7. The PGLA+HAP implant in rabbit's submaxilla bone after 12 weeks from implantation, SEM and EDS analysis.

BIOMATERIAŁÓW

Widoczne jest także zmniejszenie grubości tkanki łącznej na granicy implant-tkanka. Na zdjęciu mikroskopowym otrzymanym po 12 tygodniach implantacji (RYS.7a) widoczne są fraktalne ziarna apatytowe, rozrastające się w puste przestrzenie pozostawione po zresorbowanym polimerze (EDS – RYS.7b). Po roku implantacji puste miejsca są już prawie całkowicie wypełnione tkanką kostną (RYS.8a,b). Na obrazie mikroskopowym widoczne jest również włókno kolagenowe, na powierzchni którego obecne są również wydzielenia apatytu kostnego. Świadczy to o podwójnym mechanizmie tworzenia nowej tkanki kostnej, zarówno na bioaktywnych ziarnach hydroksyapatytowych, jak również na podłożu z włókien kolagenowych.



RYS.4. Implant PGLA w kości żuchwy królika po 48 tygodniach implantacji, analiza mikroskopowa SEM, i EDS.

FIG.4. The PGLA implant in rabbit's submaxilla bone after 48 weeks from implantation, SEM and EDS analysis.



RYS.6. Implant PGLA+HAP w kości żuchwy królika po 6 tygodniach implantacji, analiza mikroskopowa SEM i EDS.

FIG.6. The PGLA+HAP implant in rabbit's submaxilla bone after six weeks from implantation, SEM and EDS analysis.



RYS.8. Implant PGLA+HAP w kości żuchwy królika po 48 tygodniach implantacji, analiza mikroskopowa SEM i EDS.

FIG.8. The PGLA+HAP implant in rabbit's submaxilla bone after 48 weeks from implantation, SEM and EDS analysis.

and phosphor ions contents (EDS - FIG.6b) compared to elemental analyses after three weeks from implantation indicate that other than hydroxyapatite, the bone apatite is also present within the implant. Decrease of thickness of connective tissue can be also observed within the implanttissue interface. The SEM photomicrographs obtained after 12 weeks from implantation (FIG.7a) indicate the presence of fractal apatite grains, growing towards the voids left after the resorbed polymer (EDS - FIG.b). The voids are almost completely filled by bone tissue after a year from implantation (FIG.8a,b). Photomicrographs reveal also the presence of collagen fibres, with bone apatite secretions on their surfaces. This observation confirms the functioning of dual mechanism of formation of a new bone tissue; both on bioactive hydroxyapatite grains as well as on collagen fibres substrates.



Wnioski

Proces resorpcji zarówno kompozytu PGLA+HAP jak i czystego polimeru jest zauważalny od 3 tygodnia implantacji.

W przypadku kompozytu tworzenie tkanki kostnej następuje równolegle z procesem resorpcji polimeru. Widoczne są dwa mechanizmy odbudowy kości, zarówno na cząstkach hydrokyapatytu jak i na wytworzonych włóknach kolagenowych. Po implantacji czystego polimeru udział tkanki łącznej jest większy niż w przypadku kompozytu PGLA+HAP w całym okresie obserwacji.

Podziękowania

Niniejsza praca stanowi część projektu badawczego: PBZ-KBN-100/T08/2003,oraz projektu 3T08D05228 finansowanych przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Piśmiennictwo

 Błażewicz S., Stoch L., Biocybernetyka i Inżynieria Biomedyczna 2000, Red. Nałęcz M., tom 4, 276-277.
 Webster T.J., Siegel R.W., Bizios R., Enhanced functions of osteoblasts on nanophase ceramics. Biomaterials, 2000, 21:1803-10.

POLIMEROWE KOMPOZYTY GRADIENTOWE O KONTROLOWANYM CZASIE RESORPCJI

Jan Chłopek*, Barbara Szaraniec*, Agnieszka Pitak*, Dorota Wołowska-Czapnik**, Agnieszka Sobczak*

*AGH, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, Katedra Biomateriałów, Al. Mickiewicza 30, 30 – 059 Kraków, **Politechnika Łódzka, Wydział Inżynierii i Marketingu Tekstyliów, Katedra Włókien Sztucznych, ul. S. Żeromskiego 116, 90-543 Łódź e-mail: chlopek@agh.edu.pl

Streszczenie

W pracy przedstawiono wyniki badań "in vitro" resorbowalnych włókien PGLA. PGLA-HAP i alginianowych oraz modyfikowanych nimi błonek kompozytowych z poliglokolilaktydu. Badania te wykazały zróżnicowane zachowanie zarówno samych włókien resorbowalnych jak i kompozytów z ich udziałem. Na podstawie uzyskanych wyników zaprojektowano i wykonano kompozyty gradientowe o kontrolowanym czasie resorpcji. Zachowanie otrzymanych kompozytów gradientowych w sztucznym środowisku biologicznym przeanalizowano poprzez pomiar prędkości fali ultradźwiękowej przed i po inkubacji w wodzie destylowanej oraz obserwacje mikroskopowe. Tego typu resorbowalne kompozyty gradientowe mogą być wykorzystane na implanty do regeneracji tkanki kostnej, nerwowej i innych tkanek miękkich.

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),101-106]

.

Conclusions

The resorption process of both PGLA+HAP composite and pure polymer can be observed during the third week from implantation.

The formation of bone tissue in the case of composite occurs simultaneously with polymer resorption process. Two mechanisms of bone reconstruction can be observed, both on hydroxyapatite particles as well as on collagen fibres formed.

The contribution of connective tissue is higher after pure polymer implantation as compared to the case of PGLA+HAP composite, during the entire observation period.

Acknowledgement

This work was carried out as part of research project: PBZ-KBN-100/T08/2003, financed by the Ministry of Science and Higher Education

References

[3] Dobrzyński P., Kasperczyk J., Bero M., Nowe możliwości syntezy i zastosowania w medycynie biodegradowalnych kopolimerów glikolidu nie zawierających cyny. Inż. Biomat. 2002, 23-25, 27-29.
[4] Haberko K., Bućko M. Haberko M., Mozgawa W., Pyda A., Zarębski J., Hydroksyapatyt naturalny – preparatyka, właściwości. Inż. Biomat. 2003, 30 – 33, 32 – 38.

POLYMER GRADED COMPOSITES WITH CONTROLLED RESORPTION TIME

JAN CHŁOPEK*, BARBARA SZARANIEC*, AGNIESZKA PITAK*, DOROTA WOŁOWSKA-CZAPNIK**, AGNIESZKA SOBCZAK*

*AGH-UST, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS, DEPARTMENT OF BIOMATERIALS AL. MICKIEWICZA 30, 30-684 KRAKÓW **TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ, DEPARTAMENT OF MAN-MADE FIBRES, UL. S. ŻEROMSKIEGO 116, 90-543 ŁÓDŹ, E-MAIL: CHLOPEK@AGH.EDU.PL

Abstract

This paper presents the results of "in vitro" examination of resorbable PGLA, PGLA-HAP and alginate fibres as well as poly(glycol)lactide composite thin foils modified with use of these fibres. The study confirmed different behaviour of fibres and of composites made with their contribution. Based on obtained results the design was proposed and graded composites were manufactured with controlled resorption time. The behaviour of obtained composites was examined in artificial biological environment by measuring the velocity of ultrasonic wave before and after incubation in distilled water, and additionally by microscopic observations. Such resorbable graded composites can be applied as implants in regeneration processes of bone, neural, and other soft tissues.

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),101-106]

102 Wstęp

Kompromis pomiędzy właściwościami mechanicznymi i biologicznymi oraz koniecznością otrzymania struktury biomimetycznej skierował badania na kompozytowe materiały gradientowe [1,2]. Większość tkanek wykazuje taką budowę, stąd istnieje potrzeba otrzymania materiałów implantacyjnych o dopasowanej budowie i właściwościach do otaczających tkanek. Z tego punktu widzenia do biomimetycznych struktur możemy zaliczyć kompozyty włókniste, w których włókna najczęściej spełniają rolę elementu wzmacniającego i kształtującego właściwości w określonych kierunkach [3]. Stwarza to możliwość otrzymania materiałów izo- i anizotropowych także o zróżnicowanych właściwościach biologicznych. Zasadniczy problem sprowadza się do otrzymania materiałów kompozytowych złożonych z biozgodnych faz w tym biozgodnych włókien. Szczególne trudności pojawiają się w przypadku kompozytów zawierających włókniste formy bioaktywne. Stąd też ostatnio podejmuje się próby otrzymania włókien organicznych modyfikowanych cząstkami z bioaktywnej ceramiki w skali nano i mikrometrów [4].

W przedstawionej pracy podjęto próbę otrzymania kompozytowych materiałów gradientowych z polimerów resorbowalnych modyfikowanych resorbowalnymi włóknami.

Materiały i metody

Otrzymano trzy rodzaje kompozytów w postaci cienkich błonek o osnowie z kopolimeru glikolidu (17%) z L-laktydem (83%) (prod. Centrum Chemii Polimerów PAN w Zabrzu)[5]. Fazę wzmacniającą stanowiły włókna otrzymane z tego samego polimeru PGLA, włókna z PGLA z 3% zawartością hydroksyapatytu (PGLA+HAP) oraz włókna alginianowe z alginianu wapnia z 3% zawartością krzemionki (Alg). Wszystkie włókna wytworzone zostały w Katedrze Włókien Sztucznych na Wydziale Inżynierii i Marketingu Tekstyliów Politechniki Łódzkiej [6]. Włókna PGLA i PGLA-HAP w celu ich zabezpieczenia przed działaniem rozpuszczalnika w procesie wytwarzania kompozytów modyfikowano powierzchniowo bioszkłem o składzie: SiO₂ – 40 %mol, CaO - 54 %mol, P₂O₅ – 6 %mol [7].

Kompozyty wzmacniane jednokierunkowo (1D), otrzymano metodą ciekłej impregnacji, a kompozyty z włóknami krótkimi (MD) metodą odlewania z zawiesiny polimerowej.

Przygotowane próbki kompozytowe jak również wyjściowe włókna i niemodyfikowane błonki PGLA inkubowano w wodzie destylowanej. Badania prowadzono w dwóch seriach pomiarowych – testy standardowe (w 37°C) przez okres 10 tygodni, oraz testy przyspieszone (w 60°C) przez 9 tygodni (przy czym od szóstego tygodnia co tydzień wymieniano wodę). Na podstawie pomiarów przewodnictwa (konduktometr Elmetron CC-315) i pH wody destylowanej (pH-metr Elmetron CP-315) oraz obserwacji mikroskopowych (mikroskopia optyczna - Nikon Epiphot 300 i skaningowa - Jeol JSM-5400) oceniano resorpcję materiałów. Analiza zmian właściwości biologicznych w powiązaniu ze zmianami mikrostruktury umożliwiły w kolejnym etapie zaprojektowanie i wytworzenie resorbowalnego kompozytu gradientowego o kontrolowanym czasie resorpcji.

W tym celu otrzymano gradientowe kostki poprzez sklejanie błonek kompozytowych, po 20 sztuk z każdego rodzaju i zaprasowywanie ich w formie przez 24 godziny. Po wyjęciu z formy kostki kompozytowe suszono dobę w temperaturze pokojowej w atmosferze powietrza, a następnie kolejną dobę w suszarce próżniowej.

Kostki gradientowe poddano przyspieszonym testom w wodzie destylowanej (temp.60°C) i oceniano ich resorpcję na podstawie zmian prędkości fali ultradźwiękowych (miernik

Introduction

The need to accomodate both mechanical and biological properties, and at the time the necessity of formation of biomimetic structures, shifted the scope of microstructural studies to composite graded materials [1,2]. The majority of tissues have such structure, thus the need to obtain implant materials with structures and properties adjusted to surrounding live tissues. From that point of view, fibre composites can be regarded as biomimetic structures, where fibres in most cases play the reinforcing role, and at the same time they shape properties in required directions [3]. This approach creates the opportunity to form iso- and anisotropic materials, also with varying biological properties. The fabrication of composite materials built of biocompatible phases, including biocompatible fibres, remains the fundamental issue. Particular difficulties may appear in the case of composites containing fibrous bioactive forms. Recently the attempts have been made to obtain organic fibres modified with use of particles of bioactive ceramics of nano- and micrometer size range [4].

The aim of the present work was to obtain graded composite materials using resorbable polymers modified with resorbable fibres.

Materials and methods

Three types of composites were prepared in form of thin films, with the matrix consisting of co-polymer of glycolide (17%) with L-lactide (83%). Samples were made at the Centre for Polymer Chemistry PAN in Zabrze, Poland [5]. The reinforcing phase consisted of fibres obtained from the same PGLA polymer, PGLA fibres with 3% content of hydroxyapatite (PGLA+HAP), as well as calcium alginate fibres with 3% content of SiO₂ (Alg). All fibres were prepared at the Departament of Man-Made Fibres, Technical University of Lodz [6]. The PGLA and PGLA+HAP fibres were surface-modified with bioglass in order to protect them against solvents during composite manufacturing process. The bioglass composition was as follows: SiO₂ – 40 %mol, CaO - 54 %mol, P₂O₅ – 6 %mol [7].

Unidirectionally reinforced composites (1D) were prepared using wet impregnation method, and composites with short fibres (MD) were made by slip-casting of polymer suspension. Composite samples, fibres alone, as well as unmodified PGLA foils, were all incubated in distilled water. Tests were carried out in two experimental series - standard tests (at 37°C) during ten weeks, and accelerated tests (at 60°C) during nine weeks. Starting from the 6th week the water has been replaced once a week. Based on the results of measurements of conductivity (conductometer Elmetron CC 315) and of pH of distilled water (pH-meter Elmetron CP315), as well as on the results of microscopic observations (both optical - Nikon Epiphot 300 and SEM - Jeol JSM-5400), materials' resorption has been evaluated. The analysis of changes in biological properties, in connection with related microstructural changes, allowed in the next stage for designing and preparation of resorbable graded composite with controlled resorption time.

To this aim, graded cubes were prepared by catenation of composite foils, 20 pieces of each type, and pressing them in a mould for 24 hours. After removing from the mould, composite cubes were dried for 24 hours at room temperature in the air, and then for another 24 hours in a vacuum-dryer. The cubes were subjected to accelerated incubation tests in distilled water (temp.60°C) and their resorbiton was

in distilled water (temp.60°C) and their resorption was assessed based on changes of velocity of ultrasonic wave (ultrasonic meter - Ultrasonic 895), as well as on the basis of direct microscopic observations. The ultrasonic measure-



ultradźwiękowy Ultrasonic 895) oraz obserwacji mikroskopowych. Kosteczki kompozytowe mierzono przed i po inkubacji w trzech kierunkach a,b,c zgodnie ze schematem przedstawionym na RYS.1.

RYS.1. Próbka kompozytowa z naniesionymi kierunkami badania prędkości fali ultradźwiękowej. a – kierunek gradientu odpowiadający kierunkowi prasowania

b - kierunek równoległy do układu włókien

c - kierunek prostopadły układu włókien.

FIG.1. Directions of measurement of ultrasonic wave velocity in composite samples.

a -direction of gradient corresponding to axis of pressing

b -direction parallel to fibres' layer

c - direction vertical to fibres' layer.

Wyniki badań

Resorbowalne włókna i kompozyty

Zarówno testy standardowe jak i przyspieszone (RYS.2) przeprowadzone na samych włóknach wskazują na największy wzrost przewodnictwa wody destylowanej z włóknami ments on composite cubes were performed before and after incubation in three directions a,b,c, according to diagram • shown in FIG.1.

Results and discussion

Resorbable fibres and composites

Both standard and accelerated incubation tests performed on fibres alone (FIG.2) indicate the most pronounced increase of conductivity of distilled water with PGLA fibres, and PGLA fibres modified with HAP. These changes are due to polymer resorption and partial dissolving of hydroxyapatite. The intensity of these changes is higher in accelerated tests due to faster degradation of these fibres at higher temperatures. Acidification of testing environment occurs in the presence of PGLA fibres (FIG.3), which confirms degradation of polymer into mers.

While examining alginate fibres, both series of tests indicate that larger amount of ions is being released to environment in the case of short fibres. This is related to larger surface area of fibres, thus easier water penetration to interiors of short fibres.

Similar behaviour can be observed in the case of composite thin films (FIG.4). The largest increase in conductivity can be observed in the case of PGLA composites with PGLA fibres, and PGLA fibres modified with hydroxyapatite. The conductivity values measured in accelerated tests are also much higher in this case than the values measured during standard tests. In the case of polymer modification with use of continuous and short alginate fibres, the behaviour of composites with different length of fibres is different from the behaviour shown by fibres alone. Conductivity increase occurs in composites with continuous fibres, which may



RYS.2. Zależność przewodnictwa wody destylowanej od czasu inkubacji włókien, w testach standardowych i przyspieszonych.

FIG.2. Conductivity of distilled water vs time of fibre incubation in standard and accelerated tests.

PGLA oraz PGLA modyfikowanymi HAp. Zmiany te są efektem resorpcji polimeru i częściowego rozpuszczania hydroksyapatytu, a ich intensywność jest większa w testach przyspieszonych w związku z szybszą degradacją tego typu włókien w podwyższonych temperaturach. W obecności włókien PGLA następuje znaczne zakwaszaniu środowiska (RYS.3) co potwierdza proces degradacji polimeru do merów.

W przypadku włókien alginianowych obie serie testów wykazują, iż większa ilość jonów jest wydzielana do środowiska w przypadku włókien krótkich. Jest to związane z większym rozwinięciem powierzchni, a więc i łatwiejszą adsorpcją wody do wnętrza włókna krótkiego.

Podobne zachowanie obserwuje się w przypadku błonek kompozytowych (RYS.4). Największy wzrost przewodnictwa



RYS.3. Zależność pH wody destylowanej od czasu inkubacji włókien, w testach przyspieszonych. FIG.3. The pH of distilled water vs fibre incubation time in accelerated tests.



RYS.4. Zależność przewodnictwa wody destylowanej od czasu inkubacji kompozytów, w testach standardowych i przyspieszonych.

FIG.4. Conductivity of distilled water vs composite incubation time in standard and accelerated tests.

obserwuje się dla kompozytów PGLA z włóknami PGLA i PGLA modyfikowanymi hydroksyapatytem i również w tym przypadku wartości przewodnictwa mierzone w testach przyspieszonych są znacznie większe niż mierzone w testach standardowych. W przypadku modyfikacji polimeru włóknami alginianowymi zachowanie kompozytów z włóknami długimi i krótkimi nie są analogiczne do zachowania samych włókien. Wzrost przewodnictwa ma miejsce dla kompozytu z włóknem długim co wynika z większego udziału objętościowego włókien długich oraz możliwości bezpośredniego ich kontaktu ze środowiskiem wodnym.

Różnice w przebiegu zmian pH miedzy czystymi włóknami a kompozytami wskazują na decydującą rolę osnowy z polimeru resorbowalnego w procesie degradacji oraz granic międzyfazowych (RYS.5). Zmiany te mogą być spowodowane zarówno degradacją polimeru (obniżenie pH) jak i degradacją alginianów i rozpuszczaniem hydroksyapatytu (wzrost pH). Pomimo podobnego przebiegu zmian pH dla wszystkich badanych kompozytów obserwacje mikroskopowe (RYS.6) wskazują na najszybszą degradacje włókien alginianowych i kompozytów z ich udziałem.

Rod 📾 j	Getoreot	Predko do fall	Predko do fall
kom po zytu /	po zorna	ultrad 2.7.	ultrad 2.7. p o
kleru ne k	pró bek	præd	in ku bao j
po mia ru/		ink ub ao ja	
	Ap parent		Veloci 🖢 o f
Type of	den aty of	Velocity of	uitra con lo
(adito a maa	ca mp le c	ultraconio	wa ve a fter
te cting		walve before	incu ba to n
direction		In oub atton	
	b /om 1	ſm/d	lm / d
Nr 1a	Second and the	1307 ± 36	1337 ± 16
Nr 1b	1,35±0,05	1949±14	1981 ± ZZ
Nric Nric		1872± +6	Z029 ± 16
Nr Za		2011 ± 27	1306 ± 20
Nr Zb	1,34±0,07	2397 ± 26	Z102 ± 36
Nr Zo		1946±17	1759 ± 16

TABELA 1 Prędkość propagacji fali ultradźwiękowej w kompozytach gradientowych Nr 1 i 2 przed i po inkubacji.

TABLE 1. The velocity of ultrasonic wale propagation in graded composites Nr 1 and Nr 2 before and after incubation.



RYS.5. Zależność pH wody destylowanej od czasu inkubacji kompozytów, w testach przyspieszonych.

FIG.5. The pH of distilled water vs composite incubation time in accelerated tests.



RYS.6. Mikrofotografia SEM a) kompozytu PGLA – wł. PGLA +HAP b) kompozytu PGLA – wł. alg. po miesięcznej inkubacji w wodzie destylowanej. FIG.6. The SEM microphotograph of: a) composite PGLA – PGLA +HAP fibres b) composite PGLA –alginate fibres, after one month incubation in distilled water.

be related to larger volume content of these fibres and also to the possibility of their direct contact with aqueous environment.

The differences in pH variations between pure fibres and composites point at the decisive role of resorbable polymer matrix and the interphase boundaries in the process of degradation (FIG.5). These differences may be caused by both polymer degradation (pH decrease), and alginate degradation together with dissolving of hydroxyapatite (pH increase). Despite similar pattern of pH variations for all



PGLA-PGLA PGLA-PGLA HAp PGLA- Alg.SF PGLA-PGLA HAp PGLA-PGLA



PGLA-PGLA PGLA-PGLA HAp PGLA- AlgLF PGLA-PGLA HAp PGLA-PGLA

RYS.7. Schematy i fotografie zaprojektowanych kompozytów gradientowych. FIG.7. Schematic diagrams and photomicrographs of designed graded composites.

Kompozyty gradientowe

Na podstawie otrzymanych wyników badań zaprojektowano i wytworzono dwa rodzaje kompozytów gradientowych o osnowie z PGLA modyfikowanych włóknami resorbowalnymi w następujący sposób: kompozyt Nr 1 – (PGLA/ PGLA+HAP/Alg SF/ PGLA+HAP/ PGLA), kompozyt Nr 2 – (PGLA/PGLA+HAP/Alg LF/ PGLA+HAP/ PGLA), które schematycznie przedstawiono na RYS.7.

Badane kostki kompozytowe wykazują zróżnicowane zachowanie w środowisku wodnym. W przypadku kompozytu z włóknem alginianowym długim obserwuje się spadek prędkości fali ultradźwiękowej (TAB.1), szczególnie w kierunku b odpowiadającym kierunkowi ułożenia włókien. Jest to związane z przyspieszoną resorpcją włókien alginianowych i ułatwioną penetracją medium resorbującego do wnętrza kompozytu. Efektu tego nie obserwuje się w przypadku włókien krótkich.

Obserwacje mikroskopowe (RYS.8) potwierdzają, że proces degradacji zaczyna się od granicy włókno-osnowa.

Wnioski

1. Badania przeprowadzone na czystych włóknach i kompozytach z udziałem tych włókien wykazały zróżnicowane zachowanie w warunkach in vitro.

2. Na podstawie przeprowadzonej analizy resorpcji kompozytów o osnowie z PGLA wzmacnianych włóknami resorbowalnymi z PGLA i alginianów zaprojektowano i wytworzono dwa rodzaje kompozytów gradientowych.

 Zależnie od wprowadzonej fazy modyfikującej jej rozmieszczenia i geometrii możliwe jest otrzymywanie kompozytów gradientowych o kontrolowanym czasie resorpcji.
 Implanty z tego typu resorbowalnych materiałów gradientowych mogą ułatwić proces stopniowego przerastania tkanką kostną, a także mogą stanowić miejsce do wrastania naczyń krwionośnych i sprzyjać regeneracji nie tylko tkanki kostnej, ale także nerwowej i innych tkanek miękkich.

Podziękowania

Praca finansowana przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach projektu PBZ-KBN-100/T08/2003



RYS.8. Fotografie mikroskopowe kompozytów gradientowych a) Nr 1, b) Nr2. FIG.8. Microphotographs of graded composites a) Nr 1, b) Nr2.

composites examined, microscopic observations (Fig.6) point at the fastest degradation of alginate fibres and their composites.

Graded composites

On the basis of the results obtained, two types of graded composites have been designed and prapared with PGLA as matrix and modified with resorbable fibres: composite Nr 1- (PGLA/PGLA+HAP/AIg SF/ PGLA+HAP/ PGLA), composite Nr 2 – (PGLA/PGLA+HAP/AIg LF/ PGLA+HAP/ PGLA). They are schematically shown in FIG.7.

The examined composite cubes show different behaviour in aqueous environment. In the case of composite with continuous alginate fibre, the decrease of velocity of ultrasonic wave can be noted (Table 1), in particular in direction b, corresponding to fibre alignement. It is related to accelerated resorption of alginate fibres and easier penetration of resorbing fluid to composite's interior. This effect is not observed in the case of short fibres.

The microscopic observations (FIG.8) confirm that the process of degradation commences at the fibre-matrix interface.

Conclusions

1. Examination of both pure fibres and of composites made using these fibres indicated different behaviour of materials tested under in vitro conditions.

2. On the basis of performed analysis of resorption of composites with PGLA matrix and reinforced with resorbable fibres made of PGLA and alginates, two types of graded composites have been designed and fabricated.

3. Graded composites with controlled resorption time can be obtained, with appropriate consideration given to the content of modifying phase, its spatial distribution and geometry. 4. Implants made of such resorbable graded materials may facilitate processes of bone tissue in-growth. They may also constitute favourable areas of inclusion of blood vessels and can promote regeneration not only of bone tissue, but also neural and other soft tissues.

Acknowledgements

This work was supported by Ministry of Science and Higher Education. Project PBZ-KBN-100/T08/2003.

Piśmiennictwo

[1] Mathieu L., Montjovent M., Bourban P., Pioletti D., Minson J.: Bioresorbable composites prepared by supercritical fluid foaming. Journal of Biomedical Materials Research Part A Volume 75A, (2005), 89-97

[2] Thieme M., Wieters K.-P., Bergner F., Scharnweber D., Worch H., Ndop J., Kim T. J., Grill W.: Titanium powder sintering for preparation of a porous functionally graded material destined for orthopaedic implants. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, Volume 12, (2001), 225 – 231
[3] Chłopek J., Kmita G.: Non-metallic composite materials for bone

[3] Chłopek J., Kmita G.: Non-metallic composite materials for bone surgery, Engineering Transaction, vol. 2, 3 (2003), 307 – 323

[4] Kim H.W., Lee H.H., Knowles J. C.: Electrospinning biomedical nanocomposite fibers of hydroxyapatite/poly(lactic acid) for bone regeneration. Journal of Biomedical Materials Research Part A, Volume 78A, (2006)

WPŁYW DODATKU MIEDZI NA WYBRANE WŁAŚCIWOŚCI SPIEKANYCH STALI IMPLANTACYJNYCH 316L

Bogdan Dąbrowski, Małgorzata Grądzka-Dahlke, Jan R. Dąbrowski

Pol it echnika Biał ost ocka w Biał ymst oku Wydział Mechaniczny

[Inżynieria BiomateriaŁów, 58-60,(2006),106-108]

Wprowadzenie

Jednym z największych problemów występujących przy endoprotezoplastyce stawów jest trwałość eksploatacyjna węzła tarciowego sztucznego stawu. Obecnie najczęściej stosowanym skojarzeniem tarciowym w sztucznych stawach jest para złożona z głowy metalowej lub ceramicznej i polietylenowej panewki. Układ ten charakteryzuje się niskimi wartościami współczynników tarcia, jednak nadmierne zużywanie i ścieranie polietylenu powoduje powstawanie produktów zużycia, które mogą powodować szereg powikłań, w końcowym efekcie w kontakcie z kością - prowadzić do jej resorpcji i obluzowania mocowania endoprotezy [1-4]. Wzrastające wymagania współczesnej medycyny stawiane biomateriałom, skłaniają do stosowania innych rozwiązań technologicznych, które pozwoliłyby na otrzymanie materiałów lepiej spełniających stawiane im cele.

Do grupy najczęściej stosowanych biomateriałów metalicznych należą stale austenityczne typu 316L. Obserwacje zachowań tych stali w środowisku tkankowym ograniczają ich zastosowanie głównie do wszczepów krótkookresowych [4-6]. Jednak korzystne właściwości mechaniczne i atrakcyjna cena powoduja, że pozostają one nadal obiektem badań. Jednym ze sposobów kształtowania własności jest otrzymywanie spieków na bazie stopów implantacyjnych, charakteryzujących się korzystnymi właściwościami użytkowymi. Znane są prace poświęcone ocenie właściwości tarciowych kompozytów na bazie stali austenitycznych z ceramicznymi dodatkami [7,8]. Autorzy [3,9-12] stwierdzaja korzystny wpływ dodatku miedzi na właściwości, szczególnie odporność korozyjną austenitycznych stali nierdzewnych. W pracy przedstawiono wyniki badań spiekanych materiałów na bazie stali austenitycznej 316L z dodatkiem miedzi.

.

References

[5] Pamuła E., Chłopek J., Błażewicz M., Makinen K., Dobrzyński P., Kasperczyk J., Bero M.: Materiały kompozytowe z nowego biodegradowalnego kopolimeru glikolid-laktyd dla celów medycznych. Inżynieria Biomateriałów 12 (2000), 23-28

[6] Mikołajczyk T., Wołowska-Czapnik D., Boguń M.: Prekursorowe włókna alginianowe zawierające nanododatek SiO2. Fibres and Textiles In Eastern Europe 47, (2004)

[7] Szaraniec B., Cholewa-Kowalska K., Chłopek J., Błażewicz S.: Resorbowalne włókna polimerowe (PGLA) modyfikowane powierzchniowo bioszkłem - Bioglass modified resorbable polymer fibres (PGLA). Inżynieria Biomateriałów

INFLUENCE OF COPPER ADDITION ON PROPERTIES OF SINTERED IMPLANT 316L STEEL

Bogdan Dąbrowski, Małgorzata Grądzka-Dahlke, Jan R. Dąbrowski

Biał ystok Technical University, Biał ystok Faculty of Mechanical Engtineering

[Engineering of Biomaterials, 58-60, (2006), 106-108]

Introduction

One of the biggest problems appearing in arthroplasty is operational durability of friction bond of artificial joint. Nowadays, the most commonly used friction system of hip joint endoprostheses is a pair composed of metal or ceramic head and acetabulum made of UHMWPE. In such combination, low friction coefficients are observed. However, the excessive wear of polyethylene causes formation of wear debris which may lead to many complications and ultimately, to resorption of bone surrounding implant and loosening of endoprostheses [1-4]. Increasing demands made by modern medicine for biomaterials induce development of new technological solutions which could allow to obtain materials better fulfilling the demands.

Austenitic stainless steels type 316L are widely used as metallic biomaterials due to combination of useful advantages. However, the observation of the behavior of these steels in tissue environment restricts the usage mainly for shortterm implants [4-6]. On the other hand, good mechanical properties, processing susceptibility and low price cause make them an excellent object of research. One way to form properties is to produce sintered composite materials based on implant alloys with advantageous functional characteristics. Works concerning the estimation of tribological properties of composites with ceramic fillers are known [7,8]. The authors [3,9-12] certified the beneficial influence of copper addition on properties, particularly the corrosion resistance of austenitic stainless steels.

The presented work is focused on the research of sintered materials based on 316L implant steel with cooper modified addition.

Materiały i metodyka badań

Badano materiały otrzymane na bazie spieków z proszków stali implantacyjnej 316L z dodatkiem miedzi. Materiały wykonano metodą metalurgii proszków (MP). Proces technologiczny obejmował przygotowanie mieszanin proszkowych, prasowanie na zimno i spiekanie. Kompozycje proszków z 2, 4, 10% masowymi dodatkami miedzi przygotowano poprzez mieszanie na sucho w młynie kulowo-odśrodkowym Pulverisette 6 (czas 15 min.). Wartości nacisków przy prasowaniu jednostronnym wynosiły 500 MPa. Spiekanie prowadzono w temperaturze 1150°C w próżni, w czasie 1 godziny.

Badano wpływ zawartości miedzi na zagęszczalność, właściwości mechaniczne oraz tribologiczne otrzymanych materiałów spiekanych. Gęstość względną spieków określano metodą wagową. Mikrotwardość oceniano metodą Vickersa przy użyciu przystawki HANNEMANA na mikroskopie świet-Inym NEOPHOT 21. Ocenę właściwości wytrzymałościowych przeprowadzono podczas próby ściskania statycznego na maszynie wytrzymałościowej INSTRON 8502 PLUS. Badania tribologiczne wykonano z wykorzystaniem symulatora tarcia stawu. Badano skojarzenie: pierścień-tarcza przy ruchu obrotowo-rewersyjnym. Częstotliwość ruchu wynosiła 1Hz. Obciążenie zadawane było w sposób sinusoidalny. Maksymalna wartość nacisków jednostkowych p=8 MPa. Przeciwpróbka w kształcie pierścienia wykonana była z litej stali 4H13. Badania przeprowadzono w środowisku 0,9% wodnego roztworu NaCl w temperaturze pokojowej. Czas trwania pojedynczego pomiaru wynosił 240 min. Zużycie liniowe badanych materiałów oceniano na podstawie analizy profilu śladu tarcia przy użyciu profilografometru TALYSURF 10 firmy TAYLOR-HOBSON.

Wyniki badań i dyskusja

Zastosowane parametry procesu technologicznego pozwoliły na uzyskanie jednorodnych, trwałych spieków. W TABELI 1 przedstawiono wyniki badań gęstości względnej próbek po procesie prasowania i spiekania oraz wyniki pomiarów mikrotwardości i badań wytrzymałościowych materiałów. Z uzyskanych danych wynika, że dodatek miedzi w niewielkim stopniu wpływa na zdolność spieków do zagęszczania. Otrzymano spieki o gęstości względnej ok. 73-75%, Natomiast badania mikrotwardości otrzymanych materiałów wykazały istotny wpływ miedzi na ten parametr. Najwyższy wzrost mikrotwardości uzyskano dla kompozytu z 4% dodatkiem Cu.

Natomiast wyniki pomiarów mikrotwardości analizowanych materiałow wynika, że dodatek miedzi w znacznym stopniu



RYS.1. Wpływ miedzi na wartości współczynnika tarcia spieków na bazie stali 316L.FIG.1. The influence of copper mass fraction on friction coefficient value of 316L steel based composite.

Materials and methods

The sintered materials on the base of 316L stainless steel with copper addition o have been researched. Composite materials characterized by the copper mass fraction of 2, 4, and 10% were fabricated. Materials were produced with the usage of powder metallurgy method. The technological process comprised cold pressing by the pressure of 500 MPa and sintering in vacuum at the temperature of 1150°C for 1 h. The specimens were cooled down naturally to the ambient temperature inside the furnace.

The influence of additions on compactibility of acquired materials, their mechanical properties as well as tribological behaviour were researched. Microhardness was evaluated by the usage of Vickers Hanneman method on the microscope Neophot 21. The yield strenght was determined in static compressing test in a universal testing machine INSTRON 8502. The tribological tests were performed with a simulator of hip joint using a reciprocating ring-on-disc system with a frequency of 1Hz. The rings were loaded along their axis (maximum contact pressure pmax=8MPa). Tribological tests were carried on in lubricant conditions (0,9% NaCl water solution) The friction tracks have been observed in scanning electron microscope HITACHI S-3000N with an X-ray microanalyser VANTAGE.

Results and discussion

Applied parameters of technological process allowed to obtain homogenous, durable sinters. Results of relative density of green compacts and sinters as well as mechanical properties of acquired materials are shown in TABLE 1. According to this data, copper addition slightly influence steels compactibility. Sinters with relative density in the range of about 73-75% were obtained. However, researches of microhardness of manufactured materials showed significant influence on this parameter. The greatest increase of microhardness was observed in composite that included 4% of copper.

Analysis of static compression test results of obtained sinters

Mass fraction of copper [%]	Relative de After com- paction	ensity [%] After sintering	Micro- hardness μHV _{0,1}	Yield strenght Re _{0,2} [MPa]	Linear wear [µm]
0	73,8	74,8	176	108	4
2	73,5	73,4	181	93	1
4	74,8	73,8	193	128	3
10	76,5	73,7	187	124	0

TABELA 1. Wyniki badań właściwości materiałów kompozytowych na bazie stali 316L. TABLE 1. Results of properties research of composite materials based on 316L steel.



RYS.2. Mapy rozkładu pierwiastków na powierzchni przeciwpróbki po tarciu o spiek 316L+10%Cu. FIG.2. Mapping of elements distribution on the counterspecimen surface after sliding against sintered 316L+10%Cu.

wpływa na mikrotwardość otrzymanych spieków. Uzyskano
 wzrost mikrotwardości materiału w odniesieniu do spieku niemodyfikowanego. Największą wartość mikrotwardości wykazały spieki z 4% udziałem masowym miedzi.

Z przeprowadzonych badań statycznej próby ściskania otrzymanych spieków wynika, że dodatek miedzi wpływa na zmianę właściwości wytrzymałościowych otrzymanego kompozytu w porównaniu z materiałem niemodyfikowanym (TAB.1). Niewielki dodatek miedzi (2% udział masowy) spowodował zmniejszenie wartości umownej granicy plastyczności Re0,2. Spieki z większą zawartością miedzi (4 i 10%) charakteryzowały się większymi wartościami Re0,2 w odniesieniu do materiału niemodyfikowanego, tj. spieków ze stali implantacyjnej 316L.

Również wyniki badań trybologicznych wskazują na korzystny wpływ miedzi na właściwości otrzymanych spieków (RYS.1). We wszystkich przypadkach zaobserwowano znaczący spadek oporów ruchu w porównaniu z materiałem niemodyfikowanym. Szczególnie niskie wartości współczynnika tarcia (3-krotnie niższe niż dla materiału wyjściowego) uzyskano dla kompozytu z 4% dodatkiem miedzi. Wartości zużycia liniowego tarcz kompozytowych także były niższe niż czystej stali (TAB.1). W przypadku próbki z 10% udziałem miedzi nie zaobserwowano mierzalnego zużycia. Przeprowadzono analizę składu chemicznego na powierzchni przeciwpróbki po tarciu (RYS.2). Nie zaobserwowano śladów miedzi na powierzchni, co świadczyłoby o przenoszeniu materiału badanego kompozytu na skutek zużycia.

Wnioski

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że dodatek miedzi korzystnie wpływa na badane właściwości spiekanych stali austenitycznych 316L. Uzyskano wzrost mikrotwardości i umownej granicy plastyczności w porównaniu z materiałem niemodyfikowanym. Dodatek miedzi wpłynął także na poprawę właściwości tribologicznych spiekanych stali austenitycznych. Szczególnie w przypadku spieków z 4% udziałem masowym miedzi uzyskano znaczny spadek wartości współczynnika tarcia. Otrzymane spieki na bazie stali 316L charakteryzowały się niższymi wartościami zużycia w ustalonych warunkach tarcia. Uzyskane wyniki wskazują na szerokie możliwości modyfikacji właściwości stali implantacyjnych metodą metalurgii proszków.

Podziękowania

Praca finansowana przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższegow ramach projektu KBN nr 3 T08D 050 26.

Piśmiennictwo

[1]. Gierzyńska-Dolna M.: Biotribologia. Wyd. Polit. Częstochowskiej, częstochowa, 2002.

[2]. Hall R. M., Unsworth A.: Friction in hip prostheses, Biomaterials 18 (1997), s. 1017-1027.

[3]. Frishberg I.V., Kishkoparov N.V., Zolotukhina L.V., Kharlamov V.V., Baturina O.K., Zhidovinova S.V.: Effect of ultrafine powders in lubricants on performance of friction pairs, Wear 254 (2003), s. 645-651.

[4]. Disegi J.A., Eschbach L.: Stainless steel in bone surgery. Injury, Int. J. Care Injured 31 (2000), S-D2-6.

[5]. Będziński R.: Biomechanika inżynierska, Politechnika Wrocławska, Wrocław 1997.

[6]. Marciniak J.: Biomateriały, Politechnika Śląska, Gliwice 2002. [7]. Vardavoulias M., Jeandin M., Velasco F., Torraba J.M.: Dry sliding wear mechanism for P/M austenitic stainless steels and their composites containing Al_2O_3 and Y_2O_3 particles. proved that copper addition affects durability properties of obtained composite in comparison with non-modified sinter (TAB.1). Slight addition (2%) of copper caused decrease of yield point value Re0,2. Sinters with higher mass fractions of copper were characterized by greater Re0,2 values in comparison with initial material - sinters of pure steel 316L. Results of tribological researches also showed advantageous influence of copper on properties of obtained sinters (FIG.1). In all cases significant decrease of movement resistance was observed in comparison with initial material. Especially low values of friction coefficient (three times lower than of sintered 316L steel) were noticed during sliding of composite with 4% mass fraction of Cu. The linear wear values of discs made of investigated materials were also lower than for non-modified steel. No measurable wear was observed in a case of sample with 10% of copper. The analysis of chemical content of the counterspecimen surface after tribological tests were performed (FIG.2). The few copper traces were observed on the surface, which attests to slight transfer of material from investigated composite as a result of wear.

Conclusion

On the basis of obtained results, it can be concluded that the copper addition favourably influenced investigated properties of sintered stainless steel 316L. The increase of microhardness as well as the yield point was observed in comparison with the non-modified material. The copper addition caused also an improvement of tribological properties of austenitic steel. The significant decrease of resistance to motion was noticed in a case of sinters with 4% mass fraction of Cu. The values of linear wear of investigated composites were also lower than for the pure 316L steel. The obtained results confirm wide possibilities of modification of implant steel properties by usage of powder metallurgy method.

Acknowledgements

This work was supported by Ministry of Science and Higher Education. Project № 3 T08D 050 26.

References

[8]. Grądzka-Dahlke M., Dąbrowski J.R., Dąbrowski B.: Struktura kompozytów na bazie stali implantacyjnej 316L z dodatkiem pirofosforanu wapnia, Inżynieria Biomateriałów, nr 47-53 (2005), s. 39-42.

[9]. Amador D.R., Torralba J.M.: Study of PM alloyed steels with Ni–Cu prealloyed powders, Journal of Materials Processing Technology 143–144 (2003), s. 781–785.

[10]. Gonzalez B.M., Castro C.S.B., Buono V.T.L., Vilela J.M.C., Andrade M.S., Moraes J.M.D., Mantel M.J.: The influence of copper addition on the formability of AISI 304 stainless steel, Materials Science and Engineering A 343 (2003), s. 51-56.

[11]. Hattestrand M., Andren H.O.: Microstructural development during ageing of an 11% chromium steel alloyed with copper, Materials Science and Engineering A318 (2001), s. 94–101.

[12]. Kazior J.: Analiza czynników technologicznych decydujących o właściwościach spiekanych austenitycznych stali nierdzewnych, Politechnika Krakowska, Kraków 1994.



BADANIA WŁAŚCIWOŚCI WYTRZYMAŁOŚCIOWYCH POROWATEJ STALI 316L W WARUNKACH ŚCISKANIA I NISKOCYKLOWEGO ZMĘCZENIA

Małgorzata Grądzka-Dahlke, Bogusław Hościło, Bogdan Dąbrowski, Jan R. Dąbrowski

Politechnika Białostocka w Białymstoku Wydział Mechaniczny

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60, (2006), 109-111]

Wprowadzenie

Zapewnienie właściwej niezawodności endoprotez jest jednym z ważniejszych problemów stawianych przed projektantem. Biozgodność, trwałość i wytrzymałość determinuja wybór materiału konstrukcyjnego. Rozwój metalurgii proszków przyczynił się znacząco do wynalezienia materiałów o niespotykanych dotychczas cechach [1]. Pozwoliło to na coraz lepsze dopasowanie właściwości konstrukcyjnych do wymagań środowiska, w którym wykonany element będzie pracował. Od szeregu lat prowadzone są badania materiałów porowatych do zastosowań biomedycznych [1-3]. Dotyczy to głównie poprawy osteointegracji implantu z otaczającą tkanką kostną. Zapewnienie niezawodnego funkcjonowania obcego ciała w żywym organizmie wymaga uwzględnienia wpływu różnorodnych obciążeń zewnętrznych i odpowiedniej wytrzymałości. Wraz ze zmieniającym się w czasie obciążeniem zmieniają się także właściwości mechaniczne materiałów, w szczególności materiałów porowatych. Charakterystyczne właściwości statyczne ustępują miejsca bardziej istotnym cechom zmęczeniowym [4,5]. W opracowaniu podjęto próbę określenia charakteru zmian zmęczeniowych zachodzących pod wpływem obciążeń

cyklicznych w porowatych spiekach ze stali 316L, przeznaczonych na elementy trące sztucznych stawów [6]. Obszar badań ograniczono do zakresu niskocyklowego, gdzie dominują odkształcenia plastyczne. Ma to związek z wartościami sił rzeczywistych działających na element oraz faktem, iż wiele z zależności określonych teoretycznie oraz doświadczalnie dla obszaru wytrzymałości niskocyklowej można przystosować do obliczeń wytrzymałości wysokocyklowej, a tym samym do szacowania trwałości nieograniczonej [7].

Materiały i metodyka badań

Badano materiały porowate, otrzymane z proszków stali implantacyjnej 316L (SANDVIK METNINOX STEEL LTD.) o ziarnistości 125-250µm. Próbki w kształcie walców o wymiarach φ6x10mm wykonano metodą metalurgii proszków (MP). Proces technologiczny obejmował wyżarzanie redukujące proszków w temperaturze 950° w próżni, prasowanie na zimno (ciśnienie prasowania 400MPa) i spiekanie w temperaturze 1150°C w próżni, w czasie 1 godziny. Otrzymano spieki o porowatości ok. 33%. Na RYS. 1 przedstawiono strukturę spieku.

Badania wytrzymałościowe prowadzono na uniwersalnej maszynie INSTRON 8502 ze sterowaniem 8800 Fast Track 2. Badania statyczne wykonano w warunkach statycznego ściskania osiowego. Prędkość obciążenia wynosiła 0,1mm/s. W celu określenia charakteru zmian zmęczeniowych walco-

RESEARCH OF MECHANICAL PROPERTIES OF POROUS 316L STEEL

UNDER COMPRESSION AND LOW-CYCLE FATIGUE TESTS

Małgorzata Grądzka-Dahlke, Bogusław Hościło, Bogdan Dąbrowski, Jan R. Dąbrowski

BIAŁYSTOK TECHNICAL UNIVERSITY, BIAŁYSTOK FACULTY OF MECHANICAL ENGTINEERING

[ENGINEERING OF BIOMATERIALS, 58-60,(2006),109-111]

Introduction

The assurance of high reliability required from implants is one of the most important problems faced by the designers. The choice of material is determined by durability. biocompatibility, and mechanical resistance. The development of powder metallurgy methods caused the invention of new materials with favourable features [1]. It allowed to adapt the structural properties to demands of working environment. In biomedical applications the concept of using porous materials has been investigated for several years [2,3]. Researches have concerned mainly the problem of fixation of implants to the bone host. The assurance of reliable work of the implant demands considering both an appropriate resistance as well as a regard to the effects of varied exterior loads. The mechanical properties of materials, especially porous, are changing accordingly to the load variations during the time. The complex fatigue processes occur in material as a result of variable compressive loads, affecting the implant [4,5].

The presented paper has attempted to evaluate the character of fatigue changes in porous material properties appearing as result of cyclic load. The porous sinters are developed for friction pair of acetabular cup of hip joint endoprostheses [6]. The research area was limited to the low-cycle range, where the plastic strains predominate. It is connected with real load values affecting the elements of endoprostheses. Additionally, many relationships estimated theoretically as well as experimentally under conditions of low-cycle fatigue can be adapted to calculation of high-cyclic resistance and to evaluate the non-limited durability [7].

Materials and methods

The porous materials were manufactured from the powders of 316L stainless steel with the particle size of $125 \div 250 \mu m$. Samples in shape of cylinder ϕ 6x10mm were produced with the usage of powder metallurgy method. The technological process included the annealing in vacuum at 950sC, then cold compaction at the pressure of 400MPa and sintering in vacuum at the temperature of 1150°C for 1 h. The sinters with porosity of about 33% were obtained. The structure of examined material is shown in FIG.1. Mechanical properties were examined by the universal machine INSTRON 8502 with a computer-control 8800 Fast Track 2. The static tests were conducted during the axial compression with the deformation velocity of 0.1mm/s. The fatigue tests were carried out under the fully reversed strain controlled mode. The frequency of cycles was 0.2Hz. The schematic diagram of realized strain is presented in FIG.2.

MATERIAŁÓW

110



RYS.1. Mikrostruktura porowatego spieku ze stali 316L. FIG.1. Microstructure of

porous sinters of 316L steel.

we próbki poddano cyklicznie zmiennym odzerowotętniącym odkształceniom o stałej wartości ∆ɛmax. Częstotliwość cykli wynosiła 10Hz. Na RYS. 2 przedstawiono schemat obciążeń realizowanych podczas badań zmęczeniowych.

Wyniki badań i dyskusja

Jak widać z wykresu zależności naprężeń i odkształceń podczas statycznego ściskania, spieki porowate wykazują właściwości plastyczne (RYS.2). W całym przyjętym zakresie obciążeń (do 40% odkształcenia względnego) następowało plastyczne odkształcenie materiału bez oznak pękania. Dlatego określono jedynie wartość umownej granicy plastyczności R0,2 oraz wartość wytrzymałości na ściskanie Rc przy odkształceniu względnym równym 40% (TABL.1). Przeprowadzono również próbę statycznego ściskania przy kilkakrotnym odciążeniu i ponownym obciążeniu próbki.

Porowatość [%]	R _{0,2} [MPa]	Rc _{max} (ε=40%) [MPa]	σ/ε [MPa]
33	66	612	12.904

TABELA 1. Wyniki badań statycznych porowatej stali 316L.

TABLE 1. Results of static tests of porous steel316L.

Wraz ze zmieniającym się w czasie obciążeniem zmieniają się także właściwości mechaniczne materiałów, w szczególności materiałów porowatych. Przykładowe zmiany charakteru odkształcenia uwidoczniono na wykresie statycznego ściskania prowadzonego z kilkukrotnym odciążaniem i ponownym obciążaniem próbki (RYS.4.).

Odcinek AB przedstawia cechy liniowego wzmocnienia plastycznego. Natomiast odcinek CD świadczy o cechach sprężystych materiału. Przy następnych cyklach obciążenia współczynnik sprężystości zachowywał podobną wartość,



ściskania statycznego porowatej stali 316L. FIG.3. Stress-strain curve under static compression of porous steel 316L.



RYS.2. Schemat realizowanych odkształceń zmęczeniowych.

FIG.2. Schematic diagram of realized fatigue strain.

Results and discussion

The stress-strain dependence acquired during static compression proved good plastic properties of porous sinters (FIG.3). In the whole accepted range of load (up to 40% of relative strain), plastic deformation of material ensued without any signs of cracking. It allowed to define only the value of yield strength R0,2 as well as the compression strength Rc corresponding to the strain range of 40% (TABLE 1). The variable loads caused changes in mechanical properties of materials, especially porous. Exemplary changes of strain character are readily seen on the graph of static compression performed with repeated unloading and reloading (FIG.4). The AB segment presented the features of linear plastic strengthening of porous material. However, the CD segment testified the elastic properties. The coefficient of elasticity was keeping on a constant level during the following strain cycles, which means that the plastic strengthening of sintered material occurred during onset of compression. The complex fatigue processes took place in porous material as result of variable loads. The typical static characteristics gave in the fatigue features. In order to further quantify the damage evolution during fatigue of the porous



RYS.4. Wykres naprężenie-odkształcenie porowatego spieku ze stali 316L przy kilkakrotnym cyklu obciążenia próbki.

FIG.4. Stress-strain curve of porous sintered 316L steel during repeated load.



RYS.5. Schemat pętli histerezy ze stałą amplitudą odkształcenia. FIG.5. Pattern of hysteresis loops evolution with the constant strain amplitude. co oznacza, że podczas pierwszego cyklu nastąpiło umocnienie plastyczne porowatego spieku. W wyniku działających na próbkę zmiennych w czasie obciążeń ściskających w materiale zachodzą złożone procesy zmęczeniowe. Charakterystyczne właściwości statyczne ustępują miejsca bardziej istotnym cechom zmęczeniowym. W celu określenia zachowania porowatego spieku w warunkach obciążeń dynamicznych, przeprowadzono niskocyklowe badania zmęczeniowe przy stałej wartości odkształcenia $\Delta \epsilon max$ (RYS.5). Na podstawie zarejestrowanych zmian sił odpowiadających odkształceniom w poszczególnych cyklach sporządzono wykresy $\Delta\sigma_{max}\text{=}f(N).$ Jak widać na RYSUNKU 6, wartości ∆omax maleją aż do ustalenia się na poziomie nasycenia on, co wskazuje na istnienie zjawiska cyklicznego osłabienia materiału. Osiągniecie nasycenia i utrzymywanie się poziomego przebiegu krzywej dowodzi stabilności zmęczeniowej materiału w badanym obszarze. Poziom napreżenia nasycenia istotnie zależy od wartości przyjętego odkształcenia (TABELA.2).

Nr próby	Δε _{max} [%]	f [Hz]	N	σ _ո [MPa]
1	0,66	0.2	1000	36,8
2	0,86	0,2	1000	53,5

TABELA 2. Wyniki badań zmęczeniowych porowatej stali 316L.

 TABLE 2. Results of fatigue tests of porous steel

 316L.

Wnioski

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że spieki porowate ze stali implantacyjnej 316L charakteryzują się dużą plastycznością. Podczas próby ściskania w pierwszym cyklu zaobserwowano umocnienie plastyczne materiału, następnie współczynnik sprężystości utrzymywał się na stałym poziomie. Podczas badań zmęczeniowych następuje zjawisko cyklicznego osłabienia materiału. Jednak po określonej liczbie cykli wartość $\Delta\sigma_{max}$ osiąga poziom nasycenia, co dowodzi stabilności zmęczeniowej porowatego spieku w badanym obszarze odkształceń.

Podziękowania

Praca finansowana przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach projektu KBN nr 3 T08D 050 26.

Piśmiennictwo

[1] Ryan G., Pandit A., Apatsidid D.P.: Fabrication methods of porous metals for use in orthopaedic applications. Biomaterials 27, 2651-2670 (2006).

[2] Takemoto M., Fujibayashi S., Neo M., Suzuki J., Kokubo T., Nakamura T.: Mechanical properties and osteoconductivity of porous bioactive titanium. Biomaterials 26, 6014-6023 (2005).

[3] Chawla N., Deng X.: Microstructure and mechanical behaviour of porous sintered steels. Materials Science and Engineering A 390, 98-112 (2005).



RYS. 6. Zmiana zależności Δσmax=f(N) podczas badań zmęczeniowych porowatej stali 316L FIG.6. Changes of dependence Δσmax=f(N) during fatigue tests of porous steel 316L

steel, stress-strain hysteresis experiments were conducted with the constant strain amplitude $\Delta \epsilon$ max (FIG.5).

The graphs $\Delta\sigma_{max}$ = f (N) were prepared on the basis of measured loads according to the determined strain range during particular cycle. As the number of cycles increased the decrease of stress range was observed during certain amount of cycles, which implied the phenomenon of the fatigue life decrease (FIG.6). Than the $\Delta\sigma$ max value stabilized and was keeping at a constant level σ n. This phase of curve testified the fatigue stability of material in the examined range. The σ n was estimated for two levels of $\Delta\epsilon_{max}$. It is readily seen the significant effect of the strain range on the σ n values (TABLE 2).

Conclusion

On the basis of obtained results, it can be concluded that the porous sinters made of stainless steel 316L characterized great ductility. The plastic strengthening of material was observed during compression. Subsequently, the coefficient of elasticity was keeping on a constant level. The phenomenon of the fatigue life decrease occurred during the fatigue tests. However, after certain strain cycles the $\Delta\sigma_{max}$ value attained a constant level on, which testified the fatigue stability of material in the examined range.

Acknowledgements

The work was supported by Ministry of Science and Higher Education. Project № 3 T08D 050 26.

References

[4] Teoh S.H.: Fatigue in biomaterials: a review. International Journal of Fatigue 22, 825-837 (2000).

[5] Palissery V., Taylor M., Browne M.: Fatigue characterisation of a polymer foam to use as a cancellous bone analog material in the assessment of orthopaedic devices. Journal of Materials Science: Materials in Medicine 15, 61-67 (2004),

[6] Gradzka-Dahlke M., Dabrowski J.R: Charakterystyka spieków porowatych ze stali 316L na panewki endoprotez stawów. Inżynieria Biomateriałów 47-53, 43-45 (2005).

[7] Kocanda S., Kocanda A.: Niskocyklowa wytrzymałość zmęczeniowa metali, PWN, Warszawa, 1989.

112 BADANIA WŁAŚCIWOŚCI MECHANICZNYCH REGENERATU KOSTNEGO OWCY

FILIPIAK J.*, KUROPKA P.**

*Politechnika Wrocławska, ul. Łukasiewicza 7/9, 50-371 Wrocław **Akademia Rolnicza we Wrocławiu, ul. Kożuchowska 1/3, 51-631 Wrocław e-mail: jarosław.filipiak@pwr.wroc.pl

[Inżynieria BiomateriaŁów, 58-60, (2006), 112-114]

Wstęp

Metoda osteosyntezy dystrakcyjnej jest obecnie standardowową techniką leczenia skrótów kończyn. Idea metody polega na stopniowym zwiększaniu odległości pomiędzy odłamami celowo złamanej kości. W początkowym okresie, 5-6 dni od momentu złamania, szczelina międzyodłamowa wypełniona jest głównie tkanką łączną. Jest to struktura o charakterystyce typowej dla materiału hiperelastycznego. To właśnie tkanka łączna i jej właściwości mechaniczne sprawiają, że możliwe jest stopniowe zwiększanie długości kończyny w tempie 1 mm/dobę. Systematyczne przyrosty odległości między odłamami wydłużanej kości generują stan odkształcenia niedopuszczający do różnicowania się kolejnych struktur tkankowych. Dzięki temu możliwe jest osiągnięcie założonego wydłużenia kości. Dopiero podczas etapu stabilizacji, po osiągnięciu zaplanowanego przyrostu długości leczonej kończyny obserwowany jest intensywnie przebiegający proces powstawania i różnicowania się struktur tkankowych w obrębie regeneratu kostnego. Nie ulega wątpliwości, że szybkość przebiegu procesów różnicowania się struktur tkankowych w szczelinie złamania oraz ich jakość biologiczna zależy od wartości i kierunku przemieszczeń odłamów kostnych [2,4].

Cel i metoda badań

Celem pracy jest określenie wpływu wielkości przemieszczeń odłamów kostnych (DBF) podczas procesu wydłużania kości na właściwości mechaniczne regeneratu kostnego i jego jakość biologiczną. W literaturze przedmiotu znane są prace, w których poddano analizie wpływ wielkości przemieszczeń odłamów na kształtowanie struktury kostniny w szczelinie złamania [1,3]. W przypadku wydłużania kości oddziaływanie przemieszczeń odłamów na procesy zachodzące w obrębie regeneratu są mało poznane. Obserwacje kliniczne i badania histologiczne wskazują, że w trakcie procesu wydłużania jakość biologiczna regeneratu kostnego zmienia się z szybkością zdecydowanie niższą niż w przypadku leczenia złamania [6].

niż w przypadku leczenia złamania [6]. Postawiony cel zrealizowano na drodze badań doświadczalnych. Badania prowadzono na 21 owcach rasy Merynos. Wiek owiec zawierał się w przedziale 2 – 2,5 roku, a ich masa wahała się od 48 do 54kg. Proces wydłużania wg metody Ilizarowa realizowano na kości śródstopia tylnej lewej kończyny (RYS.1a). Wielkość wydłużenia przyjęto na poziomie 20mm. Do tego celu wykorzystano specjalnie zaprojektowany stabilizator badawczy wyposażony w aktuatory liniowe, których zadaniem było: i) realizowanie procesu wydłużania kości w tempie 1mm/dobę, do momentu uzyskania założonego wydłużenia, ii) aplikacja stymulacji mechanicznej regeneratu w postaci cyklicznych przemieszczeń odłamów kostnych. Stymulacja regeneratu kostnego

.

INVESTIGATION OF MECHANICAL PROPERTIES OF SHEEP BONE REGENERATE

FILIPIAK J.*, KUROPKA P.**

*WROCŁAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY **WROCŁAW AGROCULTURAL ACADEMY E-MAIL: JAROSŁAW.FILIPIAK@PWR.WROC.PL

[Engineering of Biomaterials, 58-60, (2006), 112-114]

Introduction

The Ilizarov principle of distraction osteogenesis is used in clinical practice to treat limb shortening. The principle consists in gradually increasing the distance between the fragments of a purposefully broken bone. 5-6 days after the fracture the fissure between the fragments is filled mainly with connective tissue with a structure typical for a hyperelastic material. It is thanks to the connective tissue and its mechanical properties that a limb's length can be increased . This is due to the systematic increment in the distance between the fragments of the elongated bone. As a result. a state of strain arises within the bone regenerate. which prevents the differentiation of the successive tissue structures. Owing to this, the intended bone elongation can be achieved. There is no question that the rate with which the tissue structures in the fracture fissure differentiate and their biological quality depend on the values and direction of the displacement of the bone fragments [2,4].

Research aim and method

The aim of this research was to determine how the displacement of the bone fragments (DBF) during bone elongation affects the mechanical properties of the bone regenerate and its biological quality. In the literature on the subject one can find researches in which the effect of the size of bone fragments displacements on the formation of a callus structure in the fracture fissure is examined [1,3]. Whereas the effect of such displacements on the processes taking place within the bone regenerate during bone elongation is still little known. Clinical observations show that during bone elongation the biological quality of the bone regenerate changes at a rate much lower than in the treatment of a fracture [6].

The aim was achieved through experimental research carried out on 21 Merino sheep. The sheep were at an age of 2-2.5 years and weighed 48-54 kg. Elongation according to the Ilizarov principle was performed on the metatarsal bone of the left posterior limb. Elongation of 20 mm. A specially designed fixator (FIG.1a) equipped with linear actuators whose function was to: i) realize bone elongation at a rate of 1mm/24 h until the intended elongation was reached and ii) apply mechanical stimulation (in the form of cyclic displacements of the bone fragments) to the bone regenerate were used for this purpose. The bone regenerate was stimulated at a frequency of 1 Hz for 1 hour each day. The sheep were divided into three measurement groups. The sheep belonging to group A and B (8 sheep in each group) were subjected simultaneously to bone elongation and the mechanical stimulation of the bone regenerate through the repeated displacement of the bone fragments at an value of DBF=1 mm (group A) and DBF=2 mm (group B). The sheep belonging to group R (5 sheep) were subjected to bone elongation without any mechanical stimulation. The



RYS.1. Zdjęcie rentgenowskie przedstawiające stabilizator badawczy zamontowany na kości śródstopia jednej z badanych owiec (a), schemat obciążenia podczas próby zginania regeneratu (b). FIG.1. X-ray of the metatarsal distraction osteotomy fixed by the ring fixator (a), sheme of the loading system (b).

odbywała się każdego dnia z częstotliwością 1 Hz, przez okres 1 godziny. Owce podzielono na trzy grupy pomiarowe: grupa A i B (po 8 szt.) obejmowała owce, które równocześnie z wydłużaniem poddawane były stymulacji mechanicznej regeneratu poprzez cyklicznie powtarzające się przemieszczenia odłamów kostnych o wartości: DBF=1mm dla grupy A i DBF=2 mm dla owiec z grupy B. Trzecia grupa (5szt.) obejmowała zwierzęta, u których prowadzono wyłącznie standardowy proces wydłużania bez stymulacji mechanicznej (tą grupę przyjęto jako referencyjną R). Po 8 tygodniach od momentu przeprowadzenia zabiegu owce zostały uśmiercone zgodnie z obowiązującymi procedurami. Pobrane preparaty poddano wielokierunkowej analizie, obejmującej badania: radiologiczne, histologiczne i biomechaniczne. W prezentowanej pracy przedstawiono część programu badawczego, obejmującą analizę wpływu przemieszczeń odłamów kostnych na właściwości mechaniczne regeneratu kostnego. Oceniano sztywność regeneratu na podstawie próby zginania (RYS.1b).

Wyniki

Na podstawie przeprowadzonych badań wyznaczono współczynniki sztywności giętnej ośmiotygodniowych regeneratów kostnych. Współczynnik sztywności giętej zdefiniowano jako stosunek wartości momentu zginającego do wartości ugięcia badanego preparatu (k=PI/y). Na RYS.2 przedstawiono średnie wartości sztywności regeneratów uzyskanych w poszczególnych grupach badawczych. Porównując wyniki uzyskane dla poszczególnych grup badawczych należy stwierdzić, że najniższe wartości sztywności zanotowano dla regeneratów wytworzonych u owiec z grupy R – referencyjnej. Wartości sztywności wyznaczone dla owiec z grupy pomiarowej I (DBF=1mm), są wyższe w stosunku do wartości uzyskanych dla grupy R o 39,7% w płaszczyźnie strzałkowej i o 23,9% w płaszczyźnie czołowej. W grupie B, w której podczas wydłużania generowano cykliczne przemieszczenia odłamów o wartości 2mm różnica wartości w odniesieniu do grupy referencyjnej jest jeszcze większa i wynosi: 93,6% (A-P) i 89,3% (M-L).

Dyskusja

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały istnienie wyraźnego wpływu stymulacji mechanicznej regeneratu kostnego w postaci cyklicznie powtarzających się osiowych przemieszczeń odłamów na tempo przebudowy regeneratu i jego jakość biologiczną. W przypadku procesu wydłużania kości kończyn spośród analizowanych zakresów przemieszlatter group was the reference group.

Eight weeks after the treatment the sheep were killed in accordance with the procedures in force. The preparations taken were subjected to comprehensive examinations including: radiological, histological and biomechanical examinations.

This paper presents the research programme's part covering an assessment of the effect of bone fragments displacements on the mechanical properties of the bone regenerate. The regenerate's rigidity and its biological quality were evaluated on the basis of the degree of development of bone trabeculae. The regenerate's global rigidity was determined in a bend test (FIG.1b).

Results

The bending stiffness coefficients of the eight-week bone regenerates were experimentally determined. The average rigidities of the regenerates in the particular test groups are shown in FIG.2. The lowest rigidity values were recorded for the regenerates produced in the sheep in (reference) group R. In comparison with the reference group, the rigidity values determined in the sheep belonging to group A (in which DBF=1 mm were forced during bone elongation) are higher by 39.7% in the sagittal plane and by 23.9% in the frontal plane. In group B (in which DBF=2 mm were cyclically generated during bone elongation) the difference, in comparison with the reference group (R), is even larger



RYS.2. Wartości sztywności giętej k uzyskanych regeneratów kostnych w funkcji cyklicznych osiowych przemieszczeń odłamów kostnych (DBF). FIG.2. Calculate average values of bone regenerate bending stiffness k depending on cyclical axial bone fragments displacement (DBF). **MATERIAL**(

czeń odłamów najwyższy wzrost właściwości mechanicznych, wyrażonych wartością sztywności giętnej zanotowano • • dla grupy pomiarowej B (DBF=2mm). Taki poziom stymulacji mechanicznej generuje warunki biomechaniczne zapewniające najwyższe tempo procesu powstawania i różnicowania się struktur tkankowych w obrębie regeneratu powstającego w procesie wydłużania kości. Znajduje to swój wyraz w obrazie histologicznym regeneratów z tej grupy pomiarowej. Dobrze rozwinięte beleczki kostne o wysokim stopniu zmineralizowania i rozbudowana sieć naczyń krwionośnych z licznymi odgałęzieniami w kierunku prostopadłym do osi odłamów świadczą o szybkim tempie rozwoju i przebudowy regeneratu. Wyniki badań histologicznych pozwalają na stwierdzenie, że w przypadku grupy referencyjnej proces tworzenia tkanki kostnej w regeneracie przebiegał na drodze kostnienia wtórnego, na podłożu chrzęstnym. W grupie B przemieszczenia odłamów kostnych o wartości 2mm stworzyły warunki biomechaniczne sprzyjające kostnieniu pierwotnemu. Pozytywnym efektem takiego stanu jest szybsze tempo odtwarzania się struktury tkanki kostnej. Mówiąc o warunkach biomechanicznych mamy na myśli określony stan odkształcenia, ciśnienia i prędkości przepływu płynów w obrębie poszczególnych struktur tkankowych regeneratu kostnego [3,4,5]. To właśnie te bodźce mechaniczne przetwarzane są na poziomie komórkowym w bodźce natury biologicznej, które sterują procesami powstawania i różnicowania się struktur tkankowych.

Podziękowania

114

Praca została wykonana w ramach Grantu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr 5 T07A 03225 and amounts to 93.6% (A-P) and 89.3% (M-L).

Discussion

The results of the experiments have shown a marked effect of the mechanical stimulation (in the form of cyclically repeated axial displacements of the bone fragments) of the bone regenerate on its remodelling rate and biological quality. The biggest improvement in mechanical properties, expressed by the flexural rigidity value, was recorded for measurement group B where cyclic displacements of the bone fragments amounted to 2 mm. This level of mechanical stimulation generates biomechanical conditions ensuring the highest rate of bone tissue formation and differentiation within the regenerate which forms during bone elongation. This is reflected in the histological picture of the regenerates in this test group. The well developed, highly mineralised bone trabeculae and the extensive network of blood vessels with numerous branchings perpendicular to the bone fragments' axis are the evidence of the fast rate of tissue proliferation and differentiation in the regenerate volume. Histological examinations show that in the reference group (where no cyclical displacements of the bone fragments were generated) bone tissue formation in the regenerate proceeded via secondary chondrous ossification. In group B, bone fragments displacements of 2 mm created biomechanical conditions conducive to primary ossification and so to a faster rate of bone tissue regeneration. Biomechanical conditions are understood as a specific state of strain, pressure and fluid flow rates in the particular tissue structures of the bone regenerate [3,4,5]. Such mechanical stimuli are processed at the cellular level into biological stimuli which control the formation and differentiation of tissue structures.

Acknowledgements

This research was possible owing to the collaboration with fellow researchers from the Department of Orthopaedic and Traumatologic Surgery at the Wrocław Medical University. The authors give their special thanks to: Prof. Andrzej Wall, Dr Leszek Morasiewicz and Dr Artur Krawczyk. The presented research funded with the grant from the Ministry of Science and Higher Education No 5 T07A 03225.

Piśmiennictwo

[1] Augat P, Margevicius K., Simon J., Wolf S., Suger G., Claes L.: Influence of size and stability of the osteotomy gap. Journal Orthopaedic Research, 1998, 16, pp. 475-481

[2] Będziński R., Filipiak J.: Experimental analysis of external fixators for femoral bone elongation. Acta of Bioengineering and Biomechanics, Vol.1, No 2, 1999, pp. 93-105

[3] Doblare M., Garcia J.M., Gomez M.J.: Modelling bone tissue fracture and healing: a review. Engineering Fracture Mechanics, 71 (2004), 1809-1840

References

[4] Filipiak J., Ścigała K.: Displacement of bone fragments as a factor determining bone regenerate formation. Engineering of Biomaterials, No. 38-42, 2004, pp. 136-138

[5] Filipiak J. Mordasiewicz L.: Właściwości biomechaniczne stabilizatora Ilizarowa z hybrydowym układem wszczepów. Chirurgia Narządu Ruchu i Ortopedia Polska, 70 (1), 2005, 49-56

[6] Kuryszko J., Kuropka P., Jędrzejowska I.: Distraction osteogenesis and fracture healing. Differences and similarities. Acta of Bioengineering and Biomechanics, Vol. 2, No. 2, 2000, pp. 83 – 88

MATERIAŁÓW

MODYFIKOWANE IMPLANTY WŁÓKNISTE DO LECZENIA UBYTKÓW TKANEK

IZABELLA RAJZER, ANETA FRĄCZEK, MARTA BŁAŻEWICZ

AGH, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, Katedra Biomateriałów, al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków, Poland E-mail: ipiekarc@yahoo.es

[Inżynieria BiomateriaŁów, 58-60,(2006),115-117]

Wstęp

Kwas hialuronowy jest glikozaminoglikanem (GAG), składnikiem wielu tkanek ciała w tym wszystkich tkanek łącznych (chrząstka), płynu maziowego, ciałka szklistego oka jak również zastawek serca [1]. Pochodne kwasu hialuronowego wykorzystywane są w medycynie od wielu lat. Zastosowaniem kwasu hialuronowego są iniekcje dostawowe w chorobie zwyrodnieniowej stawów: kolanowego, biodrowego, barkowego, skokowego [1,2,3]. Kolejnym zastosowaniem HA w medycynie są choroby oczu. Kwas hialuronowy jest składnikiem wielu kropli do oczu stosowanych w tzw. zespole suchego oka. Ponadto znalazł zastosowanie w chirurgii plastycznej i kosmetycznej, gdzie używa się go w likwidacji zmarszczek oraz innych kosmetycznych korekcjach. Obecnie w wielu ośrodkach naukowych prowadzone są badania nad zastosowaniem różnych biomateriałów modyfikowanych HA w inżynierii tkankowej, jako podłoża w regeneracji tkanek oraz skóry [1,2,3,4]. Z badań tych wynika, że HA wpływa na polepszenie adhezji i proliferacji komórek, jak również przyspiesza regenerację chrząstki [1,2]. Celem pracy były badania własności biologicznych włókien węglowych modyfikowanych kwasem hialuronowym.

Materiały i metody

Włókniny węglowe (wytworzone w Katedrze Biomateriałów, AGH z prekursora poliakrylonitrylowego) inkubowano w roztworze wodnym kwasu hialuronowego (sól sodowa produkowana przez CPN, Spol, sro. Czechy) przez okres 3 dni. Tak otrzymany kompozyt płukano do uzyskania stałego pH, suszono w temperaturze pokojowej i sterylizowano termicznie w 160°C przez 120 minut.

Badaniom biologicznym poddano krążki włóknin węglowych (WN) o średnicy 15mm oraz tych samych włóknin modyfikowanych kwasem hialuronowym (WN+HA).

Badania biozgodności przeprowadzono w Instytucie Fizjologii, Czeskiej Akademii Nauk w Pradze. Materiały węglowe kontaktowano z linią MG63 osteoblasto-podobnych komórek ludzkich pochodzących z Europejskiego Banku Komórek (European Collection of Cell Cultures, Salisbury, UK). Próbki umieszczono w 24-dołkowych plastykowych płytkach (polistyren, TPP Company Switzerland) o średnicy 15 mm. Na każdy dołek hodowlany wylano zawiesinę komórkową o gęstości 50000 komórek/próbkę wraz z 1,5 ml mieszaniny medium hodowlanego DMEM (Dublecco Minimum Essential Medium) z 10% dodatkiem surowicy bydlęcej i gentamicyny (40µm/ml). Kontrolę stanowił polistyren do celów hodowli komórkowych oraz płytki szklane. Hodowlę komórkową inkubowano w temperaturze 37°C, w atmosferze 5% CO₂ (98% wilgotności). Przed obserwacją komórki były utrwalane za pomocą 70% etanolu (-20°C, 5 minut) i barwione jodkiem propidyny (40µg/ml). Badano wzrost i adhezję komórek na próbkach

MODIFIED FIBROUS IMPLANTS FOR TISSUE REGENERATION

IZABELLA RAJZER, ANETA FRĄCZEK, MARTA BŁAŻEWICZ

AGH-UST, FACULTY OF MATERIAL SCIENCE AND CERAMICS, DEPARTMENT OF BIOMATERIALS, AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKOW, POLAND. E-MAIL: IPIEKARC@YAHOO.ES

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),115-117]

Introduction

The hyaluronic acid (HA) is a glicozaminoglican, the components of the many tissues, including the connective tissue, the synovial fluid, the vitreous body, and the cardiac valve. The hyaluronic acid derivative have been used in medicine for many years. The HA are used in therapy of the arthrosis e.g. the arthosis of hip, knee, shoulder, and an ankle. Another application HA is the eye diseases treatment. HA is a components of many eye drops used in therapy e.g. dry eye syndrome. Furthermore, the hyaluronic acid can be used in the plastic surgery to correct, and to eliminate the wrinkles. Currently, the scientists of all the world to try used the HA to modification a lot of scaffold material to regeneration tissue and skin. The prior examinations indicate that HA improve the cells adhesion and proliferation and has a good impact on cartilage regeneration.

The aim of presented study was to investigate the biological properties of carbon fabrics scaffold, which were modified by hyaluronic acid (HA).

Materials and methods

The composite material consisted of carbon fabrics (produced in Department of Biomaterials, AGH, Poland) and hyaluronic acid (HA) used in the form of sodium salt produced by CPN SPOL SRO (Czech Republic). The carbon fabrics - made from polyacrylonitrile precursor, were immersed in the solution of HA in deionised water. After 3 days of incubation the samples were dried at the temperature of 37°C.

Two types of carbon fabrics were applied in the in vitro studies. The first type of investigated implant material was composite fabrics modified with HA. As reference, similar material also prepared from polyacrylonitrile precursor, but without hyaluronic acid was the second type. The samples were sterilized in dry hot air sterilizer (160°C, 2h).

Biocompatibility of human osteoblast-like cells of the line MG63 in cultures of composite materials was studied. (Study made at Academy of Science of the Czech Republic, Institute of Physiology, Prague). The samples were inserted in polystyrene multidishes (24 wells, diameter 15mm, TPP Company Switzerland), and seeded with osteoblast-like MG 63 cells (European Collection of Cell Cultures, Salisbury, UK). Each well contained 30 000 cells/cm² and 1,5 ml of Dulbecco-modified Eagle Minimum Essential Medium supplement with 10% of fetal bovine serum and gentamicin (40µm/ml). Conventional cell culture supports: glass coverslips or the bottom of polystyrene dish, served as control materials. Cells were incubated at 37°C in air atmosphere with 5% CO₂. Samples were fixed by 70 % cold ethanol (-20°C, 5 min), visualized by staining with propidium iodide (5µg/ml 5 min) and their morphology was evaluated and documented using epifluorescence microscope IX 50 equipped with a digital camera DP 70 (Olympus, Japan) [1,2].

• •

 oraz zmiany morfologiczne występujące w komórkach pod
 wpływem badanych materiałów na podstawie zdjęć z mikroskopu fluorescencyjnego IX 50 wyposażony w kamerę cyfrową DP 70 (Olympus, Japan)

Wyniki i dyskusja

Mikrostrukturę włókniny modyfikowanej kwasem hialuronowym przedstawiono na RYSUNKU 1. Z badań mikroskopowych wynika, że kwas hialuronowy pokrywa nie tylko powierzchnię włókien, ale również wypełnia część pustych przestrzeni pomiędzy włóknami tworzącymi włókninę.

Na RYSUNKU 2 przedstawiono morfologie komórek zaadherowanych na badanych włókninach. W obu próbkach komórki przylegają do powierzchni włókien, jednakże w przypadku włókniny modyfikowanej HA komórki dodatkowo przylegają do powierzchni hialuronianu wypełniającego pory pomiędzy włóknami.

Przeprowadzono również ilościową ocenę wyników badań biologicznych. Na RYSUNKU 3 przedstawiono ilość komórek po 7 dniach hodowli na podłożach z włóknin węglowych. Z wykresu wynika, że ilość komórek na włókninie modyfikowanej kwasem hialuronowym jest nieznacznie mniejsza niż na płytce kontrolnej i prawie trzykrotnie wyższa niż na włókninie niemodyfikowanej. Zatem modyfikacja włóknin kwasem hialuronowym istotnie wpływa na polepszenie proliferacji komórek.



RYS.3. Ilość komórek po 7 dniach hodowli na podłożach z włóknin węglowych: WN, WN+HA. FIG.3. Number of MG-63 cells cultured on carbon fabrics (WN, WN+HA) on day 7 after seeding.

Podsumowanie

Badania "in vitro" włóknin węglowych modyfikowanych kwasem hialuronowym z zastosowaniem ludzkich osteoblastów wskazują na ich biozgodność. Wyniki badań wskazują na wyższą proliferacje oraz rozpłaszczanie komórek na kompozycie włóknina węglowa/kwas hialuronowy niż na włókninie bez modyfikacji. Przeprowadzone badania wskazują, że włóknina węglowa modyfikowana kwasem hialuronowym może być rozważana jako potencjalny materiał na podłoża w inżynierii tkankowe.

Podziękowania

Autorki dziękują Pani dr Lucie Bacakova, za umożliwienie realizacji badań w laboratorium Instytutu Fizjologii Czeskiej Akademii Nauk w Pradze.

Praca została dofinansowana ze środków Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego, projekt badawczy nr. 3 T08D 019 27.

Results and discussion

Microstructure of carbon fabrics which were modified by hyaluronic acid is present on FIGURE 1. From the microscopic studies it follows that hyaluronic acid covered not only carbon fibres surface but also is present between the fibres.

The morphology of MG–63 cells on carbon fabrics and modified carbon fabrics is shown on FIGURE 2. Cells adhered well to the surface of both samples but in the case of modified fabrics we have also observed cells between fibres. Quantitative evaluation of biological results were done. The diagram on FIGURE 3 presents the cell number cultured on the carbon fabrics surface, on 7 days after seeding. Proliferation of MG63 cells were significantly better on WN+HA composites then on unmodified carbon fabrics. The number of osteoblast cells on fabric modified HA are comparable with the number of cells on control sample. MG63 cells adhered well to carbon fibers showing an elongated shape. We can indicate that the cells do not only location on carbon fibers surface but also on the fibers intersection.



RYS.1. Mikrostruktura włókniny węglowej (WN) modyfikowanej kwasem hialuronowym. FIG.1. Microscope image of carbon fabrics modified by hualuronic acid.



RYS.2. Morfologia komórek MG-63 po 7 dniach hodowli: A – komórki na płytce kontrolnej (płytka szklana); B- na włókninie WN + HA; C- komórki na włókninie WN.

FIG.2. Morphology of osteoblast-like MG 63 cells on day 7 after seeding on: A – glass; B – composite fabrics WN + HA; C – carbon fabrics (WN).

Conclusion

In vitro study indicates that carbon fabric modified the hyaluronic acid are compatible with osteoblast- like cells. The results on studies demonstrate that carbon fabric/hyaluronic acid composites more induce cell proliferation and spreading compare with carbon material without HA modification. This study indicate that carbon material modified with hyaluronic acid can be consider as scaffold for tissue engineering.

Acknowledgements

The authors thank Dr Lucie Bacakova for possibility to made parts of investigation at the laboratory of Institute of Physiology at the Academy of Science of the Czech Republic in Prague.

This work was supported by Ministry of Science and Higher Education, project no. KBN 3T08D 01927. Thank you very much.

Piśmiennictwo

[1]http://www.medycynasportowa.pl/index.php?go=farmakoterapi a&artykul=kwas-hialuronowy.

[2] http://www.pharmsupply.com.pl/140-40e17d4e6a758.htm.

[3] J.K. Francis Suh, H.W.T. Matthew "Application of chitosan – based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review" Biomaterials 21, (2000), s. 2589 – 2598.

[4] R.Barbucci, S.Lamponi, A.Borzacchoello, L.Ambrosio, M.Fini "Hyaluronic acid hydrogel in the treatment of osteoarthritis" Biomaterials 23, (2002), s. 4503-4513.

WPŁYW RODZAJU MEDIUM SMAROWEGO NA WŁAŚCIWOŚCI TRIBOLOGICZNE POLIETYLENU UHWMPE STOSOWANEGO W ENDOPROTEZACH STAWU KOLANOWEGO

MAREK JAŁBRZYKOWSKI^{*}, ALEKSANDER IWANIAK^{**}, PIOTR WOJCIECHOWSKI^{***}, DAMIAN KUSZ^{***}

*Katedra Materiałoznawstwa, Politechnika Białostocka, 15-351 Białystok, ul. Wiejska 45c
**Katedra Nauki o Materiałach, Politechnika Śląska, 40-019 Katowice, ul. Krasińskiego 8
***Katedra i Klinika Ortopedii i Traumatologii Narządów Ruchu, Śląska Akademia Medyczna, 40-635 Katowice, ul. Ziołowa 45/47

Streszczenie

W pracy przedstawiono wyniki badań tribologicznych próbek wykonanych z polietylenu stosowanego na wkładki endoprotez stawu kolanowego. Badania prowadzono celem porównania wielkości tarcia oraz zużycia masowego polietylenu w różnych środowiskach. Testy tarciowe wykonano na testerze typu trzpień/tarcza, a przeprowadzono je w warunkach tarcia suchego oraz w środowisku modelowej cieczy smarownej, jakim był roztwór karboksymetylocelulozy. Dodatkowo wykonano też kompozycję zawierającą ciecz smarowną oraz drobiny cementu kostnego. Otrzymane wyniki badań wskazują na zróżnicowane tarcie i zużywanie się badanych próbek. Największe ubytki masowe zaobserwowano w środowisku cieczy zawierającej drobiny cementu kostnego.

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),117-120]

Wstęp

Dane literaturowe wskazują, że trwałość, a co zatem idzie także i funkcjonalność implantów, w tym również endoprotez stawów, nie jest zadowalająca. W tym kontekście rodzi się potrzeba oceny coraz to nowszych typów endoprotez. Jak wiadomo oprócz typu zakładanej endoprotezy, sama technika implantacji może mieć istotne znaczenie dla ich "żywotności" w organizmie pacjenta. Wyniki badań literaturowych świadczą, że zarówno cementowe jak i bezcementowe endoprotezy, charakteryzują się podobnymi wskaźnikami "przeżywalności". Problem ich "żywotności" jest ciągle tematem wielu prac naukowo-badawczych. Przy

....

[5] Bacakova L., Filowa E., Rypacek F., Svorcik V., Stary V: Cell adhesion on artificial materials for tissue engineering. Physiol Res 53 (Suppl.1): S35-S45, 2004.

[6] Bacakova L., Jungova I., Ślusarczyk A., Zima A., Paszkiewicz Z: Adhesion and growth on human osteoblas like MG63 cels in cultures on calcium phosphate-based biomaterials" Engineering of Biomaterials 2004, no. 38-42, p.15-18.

INFLUENCE OF THE TYPE OF LUBRICATING MEDIUM ON TRIBOLOGICAL PROPERTIES OF UHWMPE USED IN KNEE-JOINT ENDOPROSTHESES

Marek Jałbrzykowski*, Aleksander Iwaniak**, Piotr Wojciechowski***, Damian Kusz***

*Department of Materials Technology, Białystok Technical University, 15-351 Białystok, ul. Wiejska 45c **Department of Materials Scxience, The Silesian University of Technology, 40-019 Katowice, ul. Krasińskiego 8 *** Department and Clinic of Orthopaedic, Medical University of Silesia, 40-635 Katowice, ul. Ziołowa 45/47

Abstract

The paper presents the results of tribological investigations of some samples made of polyethylene applied for knee-joint endoprosthesis inserts. The aim of the research was to compare the friction magnitude and mass wear of polyethylene in different environments. Friction tests were carried out on a pin-on-disc tester in dry friction conditions and in an environment of model lubricating liquid, which in this case was a carboxymethylocelulosis solution. In addition, a compound lubricant consisting of lubricating liquid and bone cement molecules was prepared. The obtained research results show varied friction and wear of the samples investigated. The highest mass decrement was observed in a liquid environment containing bone cement molecules

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),117-120]

Introduction

The literature data show that durability and, in consequence, the functionality of implants, including endoprostheses of joints, is not satisfactory. In this context, a need arises to evaluate the more and more modern types of endoprostheses. As commonly known, apart from the type of endoprosthesis, it is the implantation technique that may be of high importance to its "life" in patient's organism. The results of literature investigations show that both cemented and non-cemented endoprostheses are characterized by similar "survival" rates. The issue of their "life" is a recurring subject of many research and scientific studies. It should be emphasized that the most frequent reasons for revision czym należy podkreślić, że najczęstszymi przyczynami operacji rewizyjnych, obok powikłań medycznych, głównie zakażeń bakteryjnych, są obluzowania elementów nośnych oraz zużycie polietylenowych wkładek Znane jest także niekorzystne oddziaływanie cementu kostnego na trwałość wszczepionych u pacjentów endoprotez. W literaturze opisane zostało jego negatywne oddziaływanie, głównie dla stawu biodrowego, związane przede wszystkim z przebudową tkanki kostnej wokół trzpienia implantu [1÷8].

Mając powyższe na uwadze w niniejszej pracy podjęto się badań tribologicznych i oceny tarcia oraz zużywania polietylenowych próbek pobranych z nowej wkładki endoprotezy. Badania prowadzono, w różnych środowiskach smarownych, także zawierających drobiny cementu kostnego. Chciano uzyskać informacje, jak cement kostny będzie wpływał na zjawiska tarcia, w przypadku, gdy jego drobiny znajdą się w układzie pary trącej, co może mieć miejsce podczas zakładania samej endoprotezy.

Materiały i metodyka badań

Do badań wykorzystano próbki z fabrycznie nowej wkładki polietylenowej. Badania tribologiczne prowadzono przy tarciu na sucho (S), w środowisku wodnym 1% roztworu karboksymetylocelulozy (K), oraz w mieszaninie wodnej 1% roztworu karboksymetylocelulozy z drobinami cementu kostnego (K+C) o granulacji z przedziału 200÷ 400 μ m. Dla celów badawczych z wkładki polietylenowej pobrano próbki w postaci trzpieni oraz przygotowano metaliczne krążki

(tarcze) wykonane ze stali narzędziowej NC6. Wybór stali narzędziowej jako przeciwpróbki podyktowany był tym, iż oceniano właściwości tribologiczne polietylenowej wkładki jako elementu najbardziej podatnego na zużycie w tym węźle tarcia. Z uwagi na to właściwości tribologiczne przeciwpartnera pominięto. Widok przykładowej endoprotezy oraz miejsca pobrania próbek, przedstawiono na RYS.1.

Metodyka badań

Badania tribologiczne przeprowadzono z wykorzystaniem standardowego testera tarciowego typu trzpień/tarcza (RYS.2). Po



RYS.1. Obszar pobrania próbek polietylenu z powierzchni roboczej wkładki endoprotezy stawu kolanowego.

FIG.1. Area of polyethylene sampling from the working surface of a knee joint endoprosthesis insert.

wstępnych testach tarciowych ustalono następujące parametry badań: nacisk jednostkowy – p=15 MPa, prędkość ślizgania – v=0,15 m/s, czas tarcia – t=8 h.

Za miarę właściwości tribologicznych polietylenu przyjęto wartość współczynnika tarcia oraz zużycie masowe próbek. Zużycie masowe próbek polietylenu oceniano za pomocą wagi cyfrowej Mettler Toledo typ XS205DV z dokładnością do 1.10⁻⁵g.

Wyniki badań i dyskusja

Otrzymane w efekcie przeprowadzonych badań wartości współczynnika tarcia dla różnych mediów smarownych przedstawiono na RYS.3. Z wykresu wynika, że największe wartości współczynnika tarcia uzyskano przy tarciu na sucho. Wartości współczynników tarcia dla próbek badanych z udziałem przygotowanych substancji smarowych, operations, apart from medical complications, such as bacteria infection, are: loosening of load-bearing elements and the wear of polyethylene inserts. An adverse effect of bone cement on the durability of endoprostheses implanted in some patients is known as well. The literature describes its negative influence, in particular on the hip joint, which is first of all connected with bone tissue reconstruction around the implant stem [1÷8].

Bearing the foregoing in mind, tribological investigations and an assessment of friction and wear of polyethylene samples taken from a new endoprosthesis insert were undertaken under this study. The authors wanted to obtain information on how bone cement influences the friction phenomena in the case when its molecules are present in the friction couple system, which may take place during the implantation of an endoprosthesis

Research material and methodology

Samples from a brand new polyethylene insert were used for the investigations. The tribological investigations were conducted under dry friction conditions (S) in a water environment of 1% carboxymethylocelulosis (K) and in a water mixture of 1% carboxymethylocelulosis with bone cement of granulation from the range of 200÷ 400 μ m (K+C). For the investigation purposes, some samples were taken from a polyethylene insert in the form of pins, and some metal discs were made of the tool steel grade NC6. The choice

of tool steel as a counterspecimen was dictated by the fact that the factor to be evaluated were the tribological properties of the polyethylene insert as the element most susceptible to wear in that friction couple. For this reason, the tribological properties of the counter-partner were passed over. A view of an example of endoprosthesis and the sampling places is shown in FIG.1.

Research methodology

The tribological research was conducted using a standard pinon-disc friction tester (FIG.2). After preliminary friction tests, the following test parameters were determined: unit pressure - p=15MPa, sliding speed - v=0.15 m/s,



RYS.2. Tribometr trzpień/tarcza: a) widok ogólny, b) schemat węzła tarcia; 1,2–elementy pary tarciowej (trzpień-polietylen UHMWPE/tarcza-stal NC6).

FIG.2. Shank/disk tribometer used for the investigation: a) general view; b) diagram of friction area; 1,2-components of the friction couple (shank- UHMWPE polyethylene/disk - NC6 steel).

MATERIAŁÓV



RYS.3. Wartości współczynników tarcia dla badanych próbek w różnych środowiskach smarownych.

FIG.3. Friction coefficient values for the investigated samples in different lubricating environments.

kształtują się na zbliżonym poziomie, jednak są niższe niż to w przypadku tarcia na sucho. Na uwagę zasługuje fakt, że najkorzystniejsze charakterystyki tarciowe uzyskano w przypadku testów w środowisku kompozycji smarowej z zawartością drobin cementu kostnego – K+C. Dla pełniejszej weryfikacji uzyskanych wyników przeprowadzono badania tarciowe pobierając próbki z różnych miejsc polietylenowej wkładki.

Wkładkę podzielono na 3 strefy, poczynając od strony przedniej: strefa I – przód, strefa II – środek, strefa III – tył wkładki, co przedstawiono schematycznie na RYS.4. Zaznaczono na nim także graficznie wartości współczynników tarcia w poszczególnych strefach. Jak widać z zamieszczonych danych, największe wartości współczynników tarcia uzyskano przy tarciu na sucho, niezależnie od miejsca pobrania próbki.



RYS.4. Rozkład wartości współczynników tarcia w poszczególnych strefach polietylenowej wkładki.

FIG.4. Distribution of the friction coefficient values through individual zones of the polyethylene insert.

W przypadku badań z udziałem karboksymetylocelulozy (K), stwierdzono mniejsze wartości współczynnika tarcia we wszystkich strefach. Jednocześnie zauważono, że dla kompozycji z dodatkiem drobin cementu kostnego otrzymano nieco najniższe, aczkolwiek porównywalne wartości współczynników tarcia. Mając powyższe na uwadze, można wysunąć ogólne stwierdzenie, że obecność drobin cementu kostnego w strefie tarcia, nie wpływa na pogorszenie się warunków pracy takiego węzła tribologicznego, w odniesieniu do oporów ruchu. Może to być wynikiem specyficznych właściwości tego materiału i wymaga dokładniejszych badań oraz analiz.

Odnosząc się do wyników badań tarciowych, wykonano analizę zużycia masowego badanych próbek. Na RYS.5

friction time - t=8 h.

The friction coefficient value and samples' mass wear were assumed to be the measure of the tribological properties of polyethylene. Mass wear of the polyethylene samples was evaluated by means of digital Mettler Toledo scales, model XS205DV, exact to 1.10-5g.

Research results and discussion

The friction coefficient values for different lubricating media, obtained as a result of the investigations, are presented in FIG.3. As results from the diagram, the highest friction coefficient values were obtained in dry friction conditions. The friction coefficient values for samples investigated with the participation of the lubricating substances prepared, represent a similar level, however, they are lower than those under dry friction conditions. What may be stressed here is the fact that the most advantageous friction characteristics were obtained in tests conducted in the environment of a lubricating substance with a bone cement molecules content, K+C. For a more complete verification of the results, friction tests were performed for samples taken from different places of the polyethylene insert.

The insert was divided into 3 zones, beginning from the front side: zone I – the front, zone II – the centre, and zone III – the back. FIGURE 4 illustrates the method of the insert's division into the zones. It also presents graphically the values of friction coefficients for individual zones. As can be seen from the data, the highest friction coefficient values were obtained under dry friction conditions, regardless of the place of sampling.

In the case of tests with the participation of the carboxymethylocelulosis (K), lower friction coefficient values were found in all zones. At the same time, it was found that for compound lubricants with an addition of bone cement molecules, a little lower, although comparable friction coefficient values were obtained. Bearing this in mind, it can be generally affirmed that the presence of bone cement molecules in the friction zone does not adversely affect the operating conditions of such tribological couple, as regards resistance to motion. This may be the effect of specific properties of this material and requires more detailed research and analyses.

By referring to the friction tests results, an analysis of mass wear of the investigated samples was made. FIG.5 presents the results of those tests. As results from them, the lowest mass wear was obtained for dry fiction. It turns out that higher mass wear takes place during friction in a carboxymethylocelulosis (K) environment, whilst the highest, in the



RYS.5. Wyniki badań zużycia masowego próbek w badanych mediach smarownych. FIG.5. Results of mass wear investigations of samples in the tested lubricating media. 119

MATERIAL(

przedstawiono wyniki tych badań, z których wynika, że najmniejsze zużycie masowe uzyskano przy tarciu na sucho. Okazuje się też, że większe zużycie masowe występuje przy tarciu w środowisku karboksymetylocelulozy (K), zaś największe w środowisku kompozycji z dodatkiem drobin cementu kostnego (K+C).

Powstaje zatem pytanie, co mogło spowodować nieco większe zużycie masowe (przy mniejszych oporach ruchu) w węźle smarowanym zawierającym karboksymetylocelulozę (K), w stosunku do węzła gdzie występuje tylko tarcie suche. Być może ciecz smarowa, w wyniku dużych nacisków powierzchniowych zmienia właściwości fizykomechaniczne warstwy wierzchniej, a konkretnie jej odporność na naprężenia ścinające. Zmniejszona odporność na naprężenia ścinające objawia się mniejszymi oporami ruchu, czego potwierdzeniem mogłyby być wyniki zamieszczone na RYS.4. Natomiast w przypadku kompozycji smarowej z dodatkiem drobin cementu kostnego, procesy tribologiczne być może przebiegają dwutorowo. Z jednej strony ciecz smarowna zmniejsza zmienia właściwości fizykomechaniczne warstwy wierzchniej, m. in. odporność warstwy wierzchniej na naprężenia ścinające, a jednocześnie dochodzi tu czynnik oddziaływania stałych drobin cementu kostnego na powierzchnie polietylenu, który działając jak ścierniwo intensyfikuje i nasila procesy zużycia.

Wnioski

W oparciu o uzyskane wyniki badań w niniejszej pracy sformułowano następujące, ogólne wnioski:

1. Wyniki badań wskazują na zróżnicowane charakterystyki tribologiczne, polietylenu UHMWPE stosowanego na wkładki do endoprotez, w zależności od warunków smarowania.

2. Najniższe wartości współczynnika tarcia i jednocześnie najwyższe zużycie masowe uzyskano dla kompozycji smarowej z zawartością drobin cementu kostnego. Być może jest to uzależnione od specyficznych właściwości tego składnika i mechanizmu działania cieczy smarowej, w obszarze warstwy wierzchniej polietylenu.

3. Podejrzewa się, że obecność cieczy stawowej wpływa na zmiany właściwości mechanicznych warstwy wierzchniej polietylenu poprzez zmniejszenie jej odporności na naprężenia ścinające. Obecność drobin cementu kostnego dodatkowo intensyfikuje procesy zużycia, który oddziałuje na powierzchnię polietylenu jak ścierniwo.

Podziękowania

Praca naukowa finansowana. jako projekt badawczy nr 3 T08C 029 27.

Piśmiennictwo

[1] Raport Centrum Monitorowania Jakości w Ochronie Zdrowia: Porównanie opłacalności wybranych rodzajów endoprotez w całkowitej pierwotnej alloplastyce stawu biodrowego i kolanowego, Kraków 2002

[2] M. Gierzyńska-Dolna: Biotribologia, Wydawnictwo Politechniki Częstochowskiej, Częstochowa 2002

[3] S. Fukupoka, K. Yosida, Y. Yamano: Estimation of the migration of tibial components In total knee arthroplasty, a roentgen stereophotogrammers analysis, J Bone Joint Surg (Br) 2000, 82-B

[4] J. Okrajni, J. Myalski, J. Toborek, D. Kusz, J. Cybo, P. Duda: Prognozowanie zmian właściwości polietylenowej komponenty panewkowej endoprotezy stawu biodrowego, Materiały II Sympozjum: Biomechanika w implantologii, Annales Academiae Medicae Silesiensis, Śląska Akademia Medyczna, Katowice 1999 environment of a compound lubricant with an addition of bone cement molecules (K+C).

A guestion arises here, what the reason could have been for the slightly higher mass wear (at lower resistance to motion) in the lubricated couple containing carboxymethylocelulosis (K) in relation to the couple where only dry friction was present. It may have been the lubricating liquid which, as a result of high surface pressure, changes the physicomechanical properties of the upper layer, and more specifically, its resistance to shearing stress may be reduced. The reduced resistance to shearing stress manifests itself by lower resistance to motion, the corroboration of which could be the results presented in FIG.4. In the case of the compound lubricant with a bone cement molecules addition, the tribological processes may take a two-stage course. At the first stage, the lubricating liquid changes the physicomechanical properties of the upper layer - reduces the upper layer resistance to shearing stresses, and in addition, we have to do with the action of solid molecules of bone cement which, acting as an abrasive, intensifies the wear processes.

Conclusions

Based on the research results obtained, the following general conclusions have been drawn:

1. The research results show the varied tribological characteristics of UMMWPE used for endoprosthesis inserts, depending on the lubricating conditions.

2. The lowest friction coefficient values and, simultaneously, the highest mass wear were obtained for a compound lubricant with an addition of bone cement molecules. This may depend on the specific properties of this component and the mechanism of the lubricating liquid action in the upper layer area of polyethylene.

3. It is suspected that presence of a lubricating liquid induces some changes in the mechanical properties of the polyethylene's upper layer by reducing its resistance to shearing stresses. Presence of bone cement molecules, which acts on the polyethylene surface as an abrasive, additionally intensifies the wear processes.

Acknowledgements

This work was supported by State Committee of Scientific Research (grant No. 3 T08C 029 27 in years 2004-2006).

References

[5] M. Gieżyńska-Dolna, A. Wieczorek, P. Lacki: Procesy tribologiczne a powikłania infekcyjne w alloplastyce stawu biodrowego, Chirurgia narządów Ruchu i Ortopedia Polska, 1999, R. XIII, Sup. 2

[6] M. Gierzyńska-Dolna, W. Więckowski: Wpływ procesów tribologicznych na niepowodzenia w alloplastce stawu biodrowego, Materiały II Sympozjum: Biomechanika w implantologii, Annales Academiae Medicae Silesiensis, Śląska Akademia Medyczna, Katowice 1999

[7] A. Balin: Materiałowo uwarunkowane procesy adaptacyjne i trwałość cementów stosowanych w chirurgii kostnej, Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice 2004

[8] Campbell's Operative Orthopedics, t. IV, Editor: The C.V. Mosby Company ST. Louis Washington, D.C. Toronto 1987

MOŻLIWOŚĆ WYKORZYSTANIA OBRÓBKI LASEROWEJ W CELU POPRAWY WŁASNOŚCI STOPU Ti6AI4V

Magdalena Jażdżewska*, Andrzej Zieliński*, Andrzej Dziadoń**

*Politechnika Gdańska, Wydział Mechaniczny, 80-952 Gdańsk, Narutowicza 11/12, **Politechnika Świętokrzyska, Wydział Mechatroniki i Budowy Maszyn, 25-314 Kielce, Tysiąclecia Państwa Polskiego 7 E-mail:Mjazdzew@mech.pg.gda.pl

[Inżynieria Biomateriasłów, 58-60,(2006),121-123]

Wstęp

Niewiele prac poświęcono nadtapianiu laserowemu stopów Ti, chociaż tę obróbkę powierzchniową wykorzystywano dla tytanu. Początkowo stosowano lasery dużych mocy CO, lub YAG, pozwalające na otrzymanie grubych, twardych i odpornych na korozję warstw powierzchniowych. W nowszych pracach do nadtapiania stopów Ti-6Al-4V i Ti-6,8Mo-4,5Fe-1,5Al stosowano laser UV krótkoimpulsowy kryptonowo-fluorowy [1-3]. W tym ostatnim przypadku stwierdzono, że bardzo krótkie impulsy lasera, pozwoliły na znaczne nagrzanie w krótkim czasie i następnie szybkie schłodzenie stopu, a tym samym uzyskanie warunków odpowiadających ultraszybkiemu chłodzeniu. Uzyskano gładką i pozbawioną pęknięć, nanokrystaliczną warstwę o strukturze zawierającej znaczną ilość martenzytu.

Prezentowana praca miała na celu stworzenie warunków ultraszybkiego chłodzenia przetopionej warstwy w obecności azotu tak, aby otrzymać twardą i grubą warstwę wierzchnią na stopie Ti6Al4V, najczęściej używanym biostopie Ti, zawierającą struktury martenzytu i azotku tytanu.

Materiały i metodyka badań

Do badań wykorzystano stop tytanu Ti6Al4V. Skład chemiczny stopu przedstawiono w TABELI 1. Własności mechaniczne wynosiły: granica plastyczności $R_{0,2}$ =

1010 MPa, wytrzymałość na rozciąganie $R_m = 1072$ MPa, wydłużenie $A_5 = 13\%$. Mikrotwardość stopu w stanie wyjściowym wynosiła (370-410) HV0,05. Nadtapianie laserowe wykonano za pomocą lasera THRUMPF TLF 6000 Turbo. Zastosowano wiązkę 1x20 mm, moc lasera w zakresie 3-6 kW, oraz dwie

Ti	Fe	V	AI	С	0	N	В	Y	Н
Poz.	0,16	4,05	6,40	0,01	0,185	0,005	maks. 0,001	maks. 0,001	0,0035

TABELA 1. Skład chemiczny stopu Ti6Al4V (%mas.) TABLE 1. Chemical composition of the Ti6Al4V alloy (wt.%)

THE POSSIBILITY OF AN USE OF LASER TREATMENT TO IMPROVE THE BEHAVIOR OF THE Ti6AI4V ALLOY

Magdalena Jażdżewska*, Andrzej Zieliński*, Andrzej Dziadoń**

*Gdańsk University of Technology, Faculty of Mechanical Engineering, 80-952 Gdańsk, Narutowicza 11/12, **Kielce University of Technology, Faculty of Mechatronics and Machine Building 25-314 Kielce, Tysiąclecia Państwa Polskiego 7 E-mail:Mjazdzew@mech.pg.gda.pl

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),121-123]

Introduction

A few works have been devoted to laser melting of Ti alloys, even if this surface treatment has been extensively used for pure titanium. In earlier research the high power CO2 and YAG lasers have been applied to obtain relatively thick and hard, corrosion resistant layers. The former researchers have used the short pulse Cr-F UV laser for treatment of the Ti-6Al-4V andTi-6.8Mo-4.5Fe-1.5Al [1-3]. It has been assumed that very short pulses of laser beam would result in substantial heating of the alloy and then in fast cooling in air, so that in conditions corresponding to the ultrafast quenching. The relatively smooth, crack free nanocrystalline surface layer has been obtained containing a significant amount of martensite.

The present research has been aimed at creating of conditions of ultrafast quenching of melted layer in presence of nitrogen in such a way as to obtain the hard and thick surface layer of the Ti6Al4V alloy, the most frequently used Ti bioalloy, containing martensite and titanium nitride structures.

Experimental

In the research the Ti6Al4V alloy was used. Chemical composition of investigated alloy is shown in TABLE 1. The mechanical properties were: yield stress 1010 MPa, tensile strength 1072 MPa, relative elongation 13%. The microhardness of material reached 370-410 HV0.05. Laser melting was done by the THRUMPF TLF 6000 Turbo laser. The laser beam dimension 1x20 mm, power 3-6 kW, and scan rate 0.5 or 1 m/min were used in this process. During of the laser melting specimens were immersed in liquid nitrogen.

Research results and discussion

Detailed examinations of cross-sections showed very

complex structure of the melted layer and microhardness gradually decreasing from the surface. The laser treatment parameters influenced the structure of layer, surface roughness and appearance of cracks.

The more distinct differences in thickness appeared rather as an effect of scan rate than of laser power. At the same laser power value the specimens scanned at **BIOMATERIALÓW**

prędkości skanowania: 0,5 i 1 m/min. Podczas nadtapiania laserowego próbka była zanurzona w ciekłym azocie.

Wyniki badań i dyskusja

Szczegółowe badania przekrojów próbek pokazały bardzo złożoną strukturę nadtapianych warstw i mikrotwardość stopniowo zmniejszającą się z odległością od powierzchni. Parametry obróbki laserowej wpływały na strukturę warstwy, chropowatość powierzchni i występowanie pęknięć.

Wyraźne różnice w grubości warstwy nadtopionej zależały raczej od prędkości skanowania niż od mocy lasera. Przy tych samych mocach, próbki skanowane z mniejszą prędkością wykazywały wyższą grubość warstwy

nadtopionej. Przykładowe mikrostruktury przekrojów i mikrotwardości warstwy nadtapianej przedstawiono na RYS.1.

Warstwy zawierały zarówno strefę nadtapiania, jak i strefę wpływu ciepła. Grubość warstwy nadtopionej mieściła się między 250 µm w próbce (a) i 470 µm w próbce (e). Warstwa nadtapiana była mniejsza dla mocy lasera 5 kW niż dla 6 kW, przy obu prędkościach skanowania 1 m/min i 0.5 m/min. Największą grubość uzyskano w próbce nadtapianej wiązką o mocy 5 kW i prędkości skanowania 0.5 m/min. W mikrostrukturze tej próbki głównie rozwinęła się złota strefa azotku tytanu oraz srebrna strefa zawierająca fazę martenzytyczną nasyconą przypuszczalnie azotem.

Siatkę pęknięć zaobserwowano we wszystkich próbkach. Pęknięcia czasami przebiegały w poprzek całej warstwy, czasami zatrzymywały się w głębszej strefie, zwykle kończyły się w warstwie dyfuzyjnej.

RYS.1 (e) przedstawia typowy przełom (SEM) strefy przypowierzchniowej warstwy nadtapianej laserowo. Zaobserwowano kruchy transkrystaliczny przełom, jak to podano w [4]. Otrzymane wyniki wskazują, że obróbka stopu laserem dużej mocy w warunkach kriogenicznych prowadzi do przetopienia warstwy i przekształcenia jej w bardzo rozdrobnioną strukturę, z powstawaniem azotku tytanu i martenzytycznej struktury nasyconej azotem, praw-

dopodobnie pokrytej tlenkami tytanu i wanadu. Wszystkie te procesy powodują istotny wzrost twardości warstwy wierzchniej. Zatem proces ten jest podobny do sukcesywnego nadtapiania, azotowania i hartowania.

Wnioski

Nadtapianie laserem dużej mocy stopu Ti6Al4V w warunkach kriogenicznych prowadzi do powstania grubej, twardej i chropowatej warstwy wierzchniej. Struktura otrzymanej warstwy jest bardzo złożona i składa się z dominujących stref azotku tytanu oraz martenzytu przypuszczalnie nasyconego azotem. Korzystnym efektem jest pojawienie się w warstwach nadtopionych azotku tytanu. Innym ważnym rezultatem jest utworzenie struktury drobnoziarnistej. Pojawienie się siatki peknieć wywołane jest przypuszczalnie przez silne naprężenia ściskające, tworzenie się struktury martenzytycznej i podwyższenie wrażliwości na kruche pekanie danego stopu.

Grubość warstwy nadtopionej i jej struktura zależą od energii wiązki lasera, tzn. od mocy lasera i od prędkości skanowania.

a lower rate demonstrated higher thickness. The views of cross-sections and microhardness of specimens melted at different parameters are shown in FIG.1.

The layer thickness measurements comprised both melting zone and heat-affected zone. The melted layer thickness comprised between 250 µm in specimen (a) to 470 µm in specimen (e). The melted layer was thicker at laser power 5 kW than 6 kW at both 1 m/min and 0.5 m/min scan rate. The thickest was layer obtained at 5 kW and 0.5 m/min. In this specimen the mostly developed gold zone of titanium nitride and silver zone containing titanium martensite, likely saturated with nitrogen were observed.

The network of cracks was observed for all specimens. The cracks sometimes propagated across entire layer, someti-



RYS.1. Przykładowe mikrostruktury przekrojów i mikrotwardość warstwy nadtopionej (a-e) oraz przełom (SEM) strefy przypowierzchniowej warstwy nadtapianej (f).

FIG.1. Examples of microstructures in crosssections and of microhardness of specimens melted at different parameters (a-e), and fracture surface of melted layer (f).

mes stopped in deeper zones, usually finished in diffusion area.

FIG.1 (e) shows typical fracture surface of the melted layers. The brittle transcrystalline fracture has been observed as before [4]. The obtained results confirm that used laser treatment at cryogenic conditions is able to melt the layer and to transform it in very small grain structure,

with creation of titanium nitride and titanium martensite structure saturated with nitrogen,

also covered

with titanium and vanadium oxides. All these processes cause substantial hardness of the surface layer. Thus, this process is per analogy similar to the subsequent processes of surface melting, nitriding and guenching.

Conclusions

The melting of the Ti6Al4V alloy with high power laser at cryogenic conditions gives the thick, hard and rough surface layer. The structure of obtained melted layer is very complex and is composed of zones with dominant structures, among others, titanium nitride and titanium martensite saturated with nitrogen. The creation of titanium nitride is a positive effect caused by nitriding of surface zone. Another important effect is creation of small grain surface layer. The appearance of network of cracks is likely a result of high compressive stresses, formation of martensite structure and high sensitivity of the alloy to brittle fracture.

The thickness of melted layer and its structure depend on laser beam energy, i.e. laser beam power and scan rate.

Piśmiennictwo

 T.M. Yue, T.M. Cheung, H.C. Man, The effects of laser surface treatment on the corrosion properties of Ti-6Al-4V alloy in Hank's solution, Journal Materials Science Letters 19 (2000) 205-208.
 T.M. Yue, J.K. Yu, Z. Mei, H.C. Man, Excimer laser surface treatment of Ti-6Al-4V alloy for corrosion resistance enhancement, Materials Letters 52 (2002) 206-212.

BADANIE IN VITRO KOMPOZYTÓW: POLISULFON – JEDNOŚCIENNE NANOROGI WĘGLOWE

A.Fraczek*, M.Blazewicz*, E.Zaczynska**, A.Czarny, L.Bacakova***

*AGH, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, Katedra Biomateriałów, al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków **Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu, R. Weigla 12, 53-114 Wrocław ***Czeska Akademia Nauk, Instytut Fizjologii, Videnska 10983, 142 20 Praga E-mail: afraczek@op.pl

> **Słowa kluczowe:** jednościenne nanorogi węglowe (SWNH), nanokompozyty, biozgodność, inżynieria tkankowa

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),123-127]

Wprowadzenie

Nanorurki/nanorogi węglowe są nową odmianą węgla mającą potencjalne zastosowanie w wielu obszarach techniki i medycyny. Te formy węgla posiadają interesujące własności elektryczne, mechaniczne oraz chemiczne. Z powodu tych właściwości nanoformy węglowe (nanorurki, nanowłókna, nanorogi) są coraz bardziej poszukiwane w inżynierii biomedycznej, chemii medycznej, a także stosowane do konstrukcji nowych typów materiałów implantacyjnych [1-5]. Nanorurki/ nanorogi mogą być wypełniane DNA bądź peptydami i mieć zastosowanie w terapii genowej, a także do uwalniania leków w terapii molekularnej. Nanorurki węglowe mogą być także używane do produkcji nanorobotów, które z łatwością można wprowadzić do wnętrza komórki w celu leczenia chorób [9]. Ponadto, nanorurki mogą znaleźć również zastosowanie w miejscowym uwalnianiu leków [10,11]. Jest również znane, że nanorurki/nanorogi wpływają na mechaniczne, elektryczne własności osnów polimerowych, a także mogą być stosowane jako czynnik modyfikujący własności powierzchniowe takie jak chropowatość i zwilżalność. Próbuje się również zastosować materiały w skali nano jako składowe złożonych biomateriałów kompozytowych, zdolnych do pobudzania przylegania komórek, ich rozpłaszczania, a także zastosowania ich w regeneracji tkanek twardych. Poprzez kombinacje biozgodnych polimerów z różnymi nanododatkami, próbuje skonstruować się najbardziej optymalny biomateriał zastępujący naturalną tkankę. Celem tych badań była ocena biozgodności w warunkach in vitro materiałów kompozytowych wykonanych z jednościennych nanorogów węglowych (SWNH) oraz polisulfonu (PSU), a także oszacowanie ich potencjalnego zastosowania w inżynierii tkankowej.

References •••••

123

[3] F. Guillemot, E. Prima et al., Ultraviolet laser surface treatment fore biomedical applications of β titanium alloys: morphological and structural characterization, Applied Physics A 77 (2003) 899-904. [4] H. Badekas, C. Panagopoulos, S. Economou, Laser surfacetreatment of titanium, Journal of Materials Processing Technology 44 (1994) 54-60.

IN VITRO ASSESSMENT OF SINGLE WALL CARBON NANOHORNS – MODIFIED POLYSULFONE

A.Fraczek*, M.Blazewicz*, E.Zaczynska**, A.Czarny, L.Bacakova***

*** AGH–UST, DEPARTMENT OF BIOMATERIALS, AL.MICKIEWICZA 30, 30-059 CRACOW **INSTITUTE OF IMMUNOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPY, POLISH ACADEMY OF SCIENCES, R. WEIGLA 12, 53-114 WROCLAW ***ACADEMY OF SCIENCES OF CZECH REPUBLIC, INSTITUTE OF PHYSIOLOGY, 142 20 PRAGUE, VIDENSKA 10983 E-MAIL: AFRACZEK@OP.PL

Key words: single wall carbon nanohorn (SWNH), nanocomposites, biocompatibility, tissue engineering [Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),123-127]

Introduction

Carbon nanotubes/nanohorns are a new type carbon considered as potential material for application in many areas of Technique and Medicine. Such a form of carbon has interesting set of properties including mechanical, electrical, and chemical ones. Due to these properties the carbon nanoforms (nanotubes, nanofibers, nanohorns) are more and more explored in biomedical engineering, medical chemistry, and construction the new type implant materials [1-5]. Nanotubes/nanohorns can be filled with DNA or peptide molecules and have high potential in gene or peptide storage, in delivery system and in molecular therapy of diseases [7,8]. Carbon nanotubes can also be used to fabricate nanomotors, which likely enter inside the cell to treat disease [9]. Moreover, nanotubes are considered to used in the drugs delivery system [10,11]. It is known that carbon nanotubes/nanohorns influence the mechanical and electrical properties of polymer matrix and may be used as a constituent for modification of the surface properties like roughness and wettability. Nano-sized materials are attempted as components of complex composite biomaterials able to promote and stabilize cell attachments and spreading in selective way and for regenerating hard tissues. By combining the biocompatible polymer matrices with different nano-sized components, a closer approach to the optimal artificial materials designed as bioartificial tissue substitutes.

The aim of this study was in vitro assessment of biocompatibility of composite samples made of single wall carbon nanohorns (SWNH)/polysulfone (PSU) composite and evaluation of its potential for tissue engineering.

124 Materiały i metody

Składowymi kompozytów stosowanych do modyfikacji polisulfonu były jednościenne nanorogi węglowe (SWNH) zakupione od firmy NanoCraft Inc. Renton (USA). SWNH należą do rodziny jednościennych nanorurek węglowych. Nanorogi mają średnice rzędu 2-3 nm i długość 30 do 50 nm, o końcach ustawionych pod kątem 19° zwanych rogami. Mają tendencję do grupowania się w klastery o średnicach od 30 do 120nm. Otwarte nanorogi mają rozwinięcie powierzchni rzędu 1600m²/g.

Jako osnowę do produkcji kompozytów zastosowano polisulfon (PSU) o gęstości 1,24g/cm³. Roztwór polimeru otrzymano poprzez rozpuszczenie 5g PSU na 50ml dichlorometanu. Roztwór polimeru następnie był mieszany z SWNH za pomocą ultradźwięków przez 10 min. Tą drogą otrzymano cztery rodzaje próbek:

• PR1 – polisulfon (PSU) bez modyfikacji;

• PR2 - kompozyt SWNH/PSU zawierający 0,5% SWNH;

• PR3 – kompozyt SWNH/PSU zawierający 1% SWNH;

• PR4 - kompozyt SWNH/PSU zawierający 2% SWNH.

Wszystkie rodzaje roztworów umieszczone zostały w naczynkach Petriego i pozostawione do momentu odparowania rozpuszczalnika.

Badanie określające charakter powierzchni przeprowadzone zostało za pomoca kata zwilżania, urządzeniem DSA 10 Kruss. Pomiar topografii powierzchni kompozytów został wykonany za pomocą mikroskopu optycznego (Nicon EPIPHOT 300, Japan). Wszystkie rodzaje próbek badane zostały w warunkach in vitro. Zanim poddano próbki badaniom in vitro były one sterylizowane metodą plazmową (Sterrad 120, ASP, Johnson & Johnson). Na przygotowanych kompozytach przeprowadzono badania adhezji i proliferacji ludzkich osteoblastów z linii MG63 (European Collection of Cell Cultures, Salisbury, UK). Próbki umieszczono w 24 dołkowych płytkach hodowlanych, o średnicy 15mm i zasiedlono komórkami. Każdy dołek hodowlany zawierał 17000komórek/cm², inkubacja przeprowadzona została w 2ml medium Eagle (Sigma, USA, Cat. No D5648) z dodatkiem 10% płodowej surowicy bydlęcej (Sebak GmbH, Aldenbach, Germany) w inkubatorze o wilgotności powietrza atmosferycznego i dodatkiem 5% CO₂. Komórki były hodowane odpowiednio przez 1, 3 i 7 dni, a następnie poddane fiksacji za pomocą 70% etanolu oraz barwione jodkiem propidyny (5µg/ml). Ilość komórek oraz ich morfologia określone zostały za pomocą mikroskopu fluorescencyjnego (Olympus, Japan). Po upływie 1, 3 oraz 7 dniu komórki poddano trypsynizacji i zliczaniu w komorze Bürkera.

Statystykę błędów przeprowadzono stosując test t-Studenta.

Oznaczanie cytokin pro-zapalnych

Krew obwodowa pochodziła od zdrowych dawców ze Stacji Krwiodawstwa IV Wojskowego Szpitala Klinicznego z Polikliniką SP ZOS we Wrocławiu.

Leukocyty do badań uzyskiwano z krwi heparynizowanej przez wirowanie w gradiencie Dekstran-Uropolina (Gradisol G, o gęstosci 1,115g/ml). Krew w ilości 5ml nawarstwiano na 3ml preparatu. Następnie wirowano przez 30min z przyśpieszeniem 400g i zbierano leukocyty osadzone na granicy faz. Po dwukrotnym płukaniu komórek płynem Dulbecco z 2% zawartością surowicy cielęcej, przygotowywano zawiesinę komórek o wymaganej dla doświadczeń gęstości – 2x10⁶ komórek/ml.

Wytwarzanie cytokin

Na płytkę 24 dołkową firmy NUNC nanoszono po 1 ml zawiesiny leukocytów o gęstości 1x10⁶ komórek/ml. Do tak przygo-

Materials and methods

The composite component used to modify the polysulfone PSU precursor was single wall carbon nanohorns (SWNH) from NanoCraft Inc. of Renton (USA). The SWNH, belong to the single wall nanotube family. Nanohorns were 2 to 3 nm in diameter and 30 to 50 nm in length with a 19 degree closed end called horn. They form into a cluster with a diameter of about 30 to 120 nm. Opened nanohorns have up to 1600m²/g. As composite matrix PSU polymer (Aldrich Chemical Co., USA) with the density of 1,24[g/cm³] has been used in the experiments. The polymer solution was obtained by dissolving 5g of PSU per 50ml of dichloromethane. The polysulfone solution was mixed with Single Walled Carbon Nanohorns (SWNH) by means of sonicator through 10 minutes. In such a way four kinds of samples based on polysulfone solution have been prepared:

PR1 – pure PSU polymer samples;

• PR2 – SWNH/PSU composite containing 0,5% SWNH in polysulfone solution;

• PR3 – SWNH/PSU composite containing 1% SWNH in polysulfone solution;

• PR4 – SWNH/PSU composite containing 2% SWNH in polysulfone solution;

All solutions have been poured onto a Petri's dish and left to remove the solvent.

The surface characteristic was studied by contact-angle measurement (DSA 10 Kruss). The topography of carbon nanohorns/polysulfone composites was accomplished by optical microscopy (Nicon EPIPHOT 300, Japan). All types of nanocomposites were analyzed in vitro conditions. Before the in vitro study the samples were sterilized by plasma method (Sterrad 120, ASP, Johnson & Johnson). The adhesion and growth of human osteoblast-like cells of the line MG63 (European Collection of Cell Cultures, Salisbury, UK) on carbon nanohorns/polysulfone composites were studied. A cells line derived from an osteosarcoma rate 13-year-old boy. The samples inserted into polystyrene multidishes (24 wells, 15mm diameter) and seeded with osteoblast-like cells. Each dish contained 17000cells/cm² was incubated in 2 ml of Dulbecco-modified Eagle Minimum Essential Medium (Sigma, USA, Cat. No D5648) supplemented with 10% Fetal Bovine Serum (Sebak GmbH, Aldenbach, Germany) in humidified air atmosphere containing 5% of CO₂. Cells were cultured for 1, 3 and 7 days, and subsequently the cells were fixed with 70% ethanol, stained with propidium iodide (5µg/ml), and their number and morphology were evaluated in the fluorescence microscope (Olympus, Japan). After 1, 3 and 7 days cultured cells harvested by trypsin and counted in a Bürker's haemocytometer.

The pro-inflammatory cytokines from blood human leukocytes after exposure to samples have been determined. Peripheral vein blood was taken from a group of healthy volunteers and obtained from Wrocław Regional Transfusion Center.

Leukocytes were isolated from heparinized peripheral blood (10 U/ml) by gradient centrifugation in Gradisol G with a density of 1,115g/ml (Aqua Medica, Poznań, Poland). 5ml of blood were layered on 3ml of Gradisol and centrifuged for 30 min. at 400x g. The leukocytes from the interphase were collected, washed two times with Dulbecco's modified Eaglea's minimum essential medium (DMEM) supplemented with 2% c. s. and suspended in this medium at a density of 2x10⁶ cells/ml.

Peripherial blood leukocytes were plated at 1x10⁶ per well in 24-well plastic (NUNC) in DMEM supplemented with 5% towanych komórek dodawano próbki badanych biomateriałów i inkubowano 24 oraz 72 godziny (37°C, 5%CO₂). W płynach znad hodowli oznaczano poziom IL-6 metodą ELISA.

Oznaczanie aktywności IL-6

Zdolność komórek krwi obwodowej do wytwarzania interleukiny-6 po stymulacji biomateriałami badano testem immuno-enzymatycznym ELISA. 96 - dołkową płytkę firmy Nunc Maxisorp opłaszczono monoklinalnymi przeciwciałami (MAb IL-6) i inkubowano przez całą noc w 4°C. Następnie płytkę płukano 3-krotnie roztworem PBS/0,05% Tweed 20, dodano Assay Diluent i inkubowano przez 1h w temperaturze pokojowej, po czym ponownie płukano 3-krotnie PBS/0,05% Tweed 20. Po tym czasie nanoszono na płytkę badane materiały oraz rozcieńczenia standardowej rHu IL-6. Płytkę inkubowano przez 2 godziny i płukano pięć razy PBS/0,05% Tweed 20, po czym nanoszono biotynylowane przeciwciała anty-IL-6 do każdego dołka i inkubowano 1 godzinę w temperaturze pokojowe. Po tym czasie płukano 7-krotnie PBS/0,05% Tweed 20 i dodano substratu (tetrametylobenzydyna i H₂O₂). Zmianę barwy na kolor niebieski obserwowano po 30 minutowej inkubacji w ciemności, a reakcję zatrzymano dodając 1M H₂PO₄ i wówczas następuje zmiana barwy na żółtą. Pomiar absorbancji wykonano po 30 minutach na czytniku (Multiskan RC and the Genesis Software, Thermo Labsystems) przy długości fali λ =450nm. Wartości absorbancji w badanych materiałach odnoszono do stężenia standardowej rHu IL-6.

Wyniki i dyskusja

Kompozyty SWNH/PSU mają inną topografie powierzchni w porównaniu z PSU bez nanododatków. Analiza topografii badanych kompozytów za pomocą mikroskopu optycznego wskazuje, że chropowatość kompozytrów nanorogi/polisulfon jest wyższa porównując z czystym PSU. Zauważono, że nanorogi mają dużą tendencję do tworzenia agregatów. Przedstawione rysunki pokazują, że powierzchnia kompozytów zawierających nanorogi węglowe

nie jest jednolita, nanocząstki mają tendencje do łączenia się tworząc klastery dobrze rozmieszczone w matrycy polimerowej (RYS.1).

Wartość kąta zwilżania zarówno dla czystego PSU jak i nanokompozytów jest podobna. Wyniki te wskazują na to, iż nanorogi węglowe nie wpływają na zmianę zwilżalności powierzchni modyfikowanego polimeru (RYS.2).

Po 1 i 3 dniu hodowli ilość komórek na badanych próbkach była różna. Po 3 dniu inkubacji najmniejszą liczbę komórek zaobserwowano na próbce 0,5%SWNH (27556,67±5563,48komórek/cm²), podczas gdy dla pozostałych próbek ilość komórek jest zbliżona do wyników na próbce kontrolnej (PS) (36715±5020,96komórek/cm²). Jednakże po 7 dniach hodowli największą ilość komórek zaobserwofetal serum, penicillin (100U/ml), streptomycin (100µg/ml) and 2mM L-glutamine. The leukocytes were incubated in the presence or absence of the samples. The supernatants were collected at 24, and 72 h after incubation and stored at -70°C for enzyme – linked immunosorbent assay (ELISA).

II-6 level in cell-free supernatants were determined by an enzyme - linked immunoabsorbent assay (ELISA). OptEIA Human IL-6 Set the commercially available kit containing an anti-human IL-6 monoclonal anti-body (PharMingen, San Diego, CA) was used. The sensitivity of the kit was 4 pg/ml. For this experiment, 96-well polyvinyl plates were coated overnight at 4°C with MAb IL-6 in coating buffer. The plates were washed 3 times with wash buffer (PBS with 0.05% Tween 20), an Assay Diluent (PharMingen) was added and plates were incubated for 1h at room temperature (RT), and washed 3 times again. Twofold serial dilutions in Assay Diluent of standard recombinant IL-6 (PharMingen) ranging from 500 to 7.8 pg/ml were incubated for 2 h in addition to the samples. The plates were washed five times and Working Detector (detection antibody + enzyme reagent) was added and plates were incubated for 1 h at RT, then tetramethylbenzidine and hydrogen peroxide substrate (PharMingen's TMB Substrate Reagent) was added, and after 30 min incubation in dark, the reaction was stopped with 1M H_3PO_4 . The absorbance at 450 nm was measured with a microplate reder (Multiskan RC and the Genesis Software, Thermo Labsystems). Samples concentrations were read out from the dose-response curve obtained with reference recombinant IL6.

Results and discussion

SWNH/PSU composites have a different surface topography as compared with pure PSU. The optical microscope analysis of the topography of carbon nanohorns/polysulfone composites surface indicates that the roughness of these surface composites is higher in comparison with pure polysulfone one. Carbon nanohorns have strong tendency to create the aggregates.



RYS.1. Topografia próbek. Orginalne powiększenie 10x.

FIG.1. The samples topography. Original magnification 10x.



RYS.2. Wyniki kątów zwilżania dla czystego PSU oraz kompozytów SWNH/PSU.

FIG.2. Results of water contact-angle measurements on pure PSU and nanotubes/PSU composites. The pictures show that the surface of composites containing SWNH is non-uniform, partially in the form of small clusters between of which well dispersed carbon nanoforms in the matrix are present (FIG.1). The water contact-angles values are similar both for pure polymer and carbon nanohorns-based composite samples. It indicates that the presence of carbon nanohorns in the near surface region does not change wettability of polymer surface (FIG.2.)

On day 1 and 3 after seeding the number of cells on examination samples were different. 3 days after seeding the lowest number of MG63 cells was observed on the samples 0,5%SWNH (27556,67±5563,48cells/cm²), whereas for the rest samples the number of cells was similar to that of the control polystyrene samples (PS) (36715,56±5020,96cells/cm²). However, 7 days after seeding



126

wano na próbce 0,5% SWNH (265947,84±14300,93komórek/cm²), podczas gdy najniższą wartość wyznaczono na powierzchni czystego PSU (194561,47±13571,38komórek/cm²). Dla pozostałych próbek liczba komórek była porównywalna (RYS.3.).

Uzyskane rezultaty wskazują, że zmiana topografii powierzchni na skutek modyfikacji nanorogami, a także ilość nanocząsteczek w matrycy polimerowej maja wpływ na proliferacje oraz rozpłaszczanie komórek. Zaobserwowano znaczny wzrost proliferacji na powierzchni nanokompozytów, gdzie chropowatość powierzchni była znacznie wyższa niż dla czystego PSU. Reasumując możemy stwierdzić, że istnieje zależność pomiędzy ilością SWNH w matrycy polimerowej, odpowiedzią komórkową, a powierzchnią próbek.

Do badań komórkowych zastosowano również pro- zapalne cytokiny pochodzące z lękocytów krwi obwodowej. Po 24 h hodowli leukocytów na badanych próbkach poziom LI-6 (interleukina–6) był następujący: najniższy poziom IL-6 zaobserwowano dla czystego PSU, podczas gdy dla kompozytów



RYS.3. Krzywa wzrostu ilości osteoblastów na płytce kontrolnej (PS), czystym PSU oraz kompozytach modyfikowanych nanorogami. FIG.3. Growth curves of osteoblast-like cells on polystyrene culture dish (PS) and pure PSU and nanohorns- modified composites.



RYS.4. Poziom IL-6 na próbkach badanych po 24h i 72h po inkubac. FIG.4. The level of IL-6 on examination samples 24h and 72h after incubation.

SWNH/PSU poziom ten wzrastał wraz z ilością SWNH w matrycy polimerowej. Jednakże po 72h inkubacji najwyższy poziom IL-6 zaobserwowano dla czystego PSU, w przypadku nanokompozytów produkcja cytokin pro-zapalnych nie została zaobserwowana (RYS.4.) Polisulfon indukuje wysoki poziom IL-6 w porównaniu z nanokompozytami. Poziom IL-6 na kompozytach z nanorogami węglowymi był nieznaczny w porównaniu z ich poziomem na próbce kontrolnej (leukocyty krwi obwodowej).

Wnioski

BIOMATERIALOW

Badania wstępne in vitro wskazują, że kompozyty nanorogi węglowe/polisulfon są biozgodne w kontakcie z osteoblastami. Proliferacja komórek na powierzchni kompozytów modyfikowanych nanowęglowymi cząstkami jest podobna bądź wyższa w porównaniu z próbką kontrolna (PS), a wyższa w porównaniu z czystym polisulfonem. Wstępne badania ukazuja, że nowoutworzone kompozyty SWNH/ PSU nie wywołują produkcji IL-6 pochodzącej z krwi obwodowej. Uzyskane wyniki sugerują także, że nanorogi węglowe mogą być rozważane jako składowe do modyfikacji własności powierzchni implantów np. matryc polimerowych. Kompozyty SWNH/PSU mogą być rozważane jako podłoża w inżynierii tkankowej jednakże wymagane są dalsze badania mające na celu lepsze zrozumienie przebiegających procesów pomiędzy nanocząstkami i materiałem modyfikowanym, a komórkami.

observed for 0,5% SWNH sample (265947,84±14300,93cells/ cm²), whereas the lowest number of cells was found on pure PSU surface (194561,47±13571,38cells/ cm²). For the rest samples the number of MG63 cells was almost the same (FIG.3.). These results indicate that the topography of nanohorns-modified composites surface and amount of carbon nanohorns in polymer matrix has an impact on the cells proliferation and spreading. The cells proliferation was better on the samples containing single walls carbon nanohorns, where the surface roughness was higher than those for the pure PSU samples. We may assume that there exists a relationship between the amount of SWNH in polymer matrix and the cells response to such a surface. The pro-inflammatory cytokines from blood human leukocytes after exposure to samples have been determined. On 24 hours after leukocyte cells culture on the examination samples the level of IL-6 (interleukin-6) was following: the lowest level of IL-6 was observed on

the pure PSU samples, while

the highest number of cells was

for the SWNH/polysulfone composites the level of IL-6 increased with amount of SWNH in polymer matrix. However, after 72h incubation there was observed the highest growth of the IL-6 on the pure PSU samples; in the case of nanohorns composites the production of the pro-inflammatory cytokines was not observed (Fig.4.). Polysulfone induces high level of IL-6 as compared to nanohorns - based composites. The level of IL-6 on nanohorns- based composites was insignificant in comparison with the level of IL-6 on control sample (peripheral blood human leukocytes).

Conclusions

The preliminary in vitro study indicates that carbon nanohorns/polysulfone composites are biocompatible with osteoblast-like cells. The cells proliferation on nanocarbon- modified surface of composites was similar or higher in comparison with control samples (PS), and higher as compared with pure polysulfone samples. This preliminary study shows that a new form of carbon nanohorns - modified polymer composites do not evoke production of IL-6 from blood human leukocytes. The obtained results also suggest that carbon nanohorns may be considered as a component for modification of the implant surface properties e.g. a polymeric matrix. The SWNH/polysulfone composites can be considered as a scaffold for tissue engineering but further study is required for better understanding the processes between carbon nanohorns-modified material and cells.

Podziękowania

Praca została dofinansowana ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, Badania Statutowe No. 11.11.160.367

Piśmiennictwo

[1] S.lijima, Carbon nanotubes: past, present, and future, Phys. B 323 (4) (2002) 1–5.

[2] J.-M. Bonard, M.Cr oci, C.Klinke, R.Kurt, O. Noury, N. Weiss, Carbon nanotube films as electron field emitters, Carbon 40 (10) (2002) 1715–1728.

[3] W.Zhu, C.Bower, O.Zhou, G.Kochanski, S. Jin, Large current density from carbon nanotube field emitters, Appl. Phys.Lett. 75 (6) (August 9 1999) 873–875.

[4] S.Xie, W.Li, Z.Pan, B.Chang, L. Sun, Mechanical and physical properties on carbon nanotube, J.Phys.Chem. Solids 61 (7) (July 2000) 1153–1158.

[5] Dresselhaus M.S., Dresselhaus G. "Carbon nanotubes", Springer, New York, 2001

WARSTWY AZOTKOWE DLA OCHRONY STOPÓW NITI WYKAZUJĄCYCH EFEKT PAMIĘCI KSZTAŁTU

T. Goryczka*, P. Pączkowski*, J. Lelątko*, T. Wierzchoń**, H. Morawiec*

*IUNIWERSYTET ŚLĄSKI, NSTYTUT NAUKI O MATERIAŁACH, BANKOWA 12 40-007 KATOWICE, POLSKA **POLITECHNIKA WARSZAWSKA, WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ, WOŁOWSKA 141, 02-507 WARSAW, , POLAND E-MAIL: GORYCZKA@US.EDU.PL

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60, (2006), 127-129]

Wstęp

Stopy NiTi wykazujące efekt pamięci kształtu, o składzie zbliżonym do równoatomowego, są znane z licznych zastosowań na implanty zarówno w medycynie jak i ortodoncji. Pomimo względnie wysokiej zawartości niklu implanty wytwarzane ze stopów NiTi nie powodują reakcji alergicznych, toksycznych czy też nie są przyczyną wad genetycznych [1-3]. Jednakże ich czas pozostawania w organizmie żywym może być ograniczony przez korozję [4]. W celu poprawy odporności na korozje, powierzchnia stopów NiTi pokrywana jest warstwami ochronnymi. Okazało się że azotek tytanu jest jednym z kandydatów na warstwy skutecznie chroniące powierzchnię NiTi [5]. Jednakże metoda nanoszenia warstwy wywiera decydujący wpływ na właściwości warstwy. W obecnej pracy przedstawiono wyniki badań stopu NiTi pokrytego warstwą azotku tytanu metodą azotowania jarzeniowego w różnych temperaturach.

Część eksperymentalna

Pręt o średnicy 8 mm komercyjnego stopu NiTi (50.6 at%Ni) walcowano na gorąco uzyskując taśmę o grubości 1 mm. Powierzchnię próbek, wyciętych w kształcie prostokąta o wymiarach 12x15 mm, polerowano w zawiesinach SiO₂ o granulacji od 15 do 0.1 μm. Cienkie warstwy nakładano sto-

.

Acknowledgement

The work was supported by the Ministry of Science and Higher Education, Statute Investigation No. 11.11.160.367

References

[7] Ciu D., Ozkan C.S., Ravindran S., Kong Y., Gao H. "Encapsulation of Pt-labelled DNA molecules inside carbon nanotubes", Mech. Chem. Biosystems 1 (2004) 113-121.

[8] Gao H., Kong Y., Cui D., Ozkan C.S. "Spontaneouse insertion of DNA oligonucleotides into carbon nanotubes", Nanotechnology Letters 3 (2003) 471-473.

[9] Wood J. "Nanotube scaffolds for tissue engineering", Materials Today 7 (2004) 10.

[10] Bogunia-Kubik K., Sugisaka M. "From molecular biology to nanotechnology and nanomedicine", BioSystems 65 (2002) 123-138.

[11] http://www.ipis.pl/artykul.php?idartykul=1612&poddzial=Tele komunikacja

NITRIDED LAYERS FOR NITI SHAPE MEMORY ALLOY PROTECTION

T. Goryczka*, P. Pączkowski*, J. Lelątko*, T. Wierzchoń**, H. Morawiec*

*University of Silesia, Institute of Material Science, Bankowa 12 40-007 Katowice, Poland **Warsaw University of Technology, Faculty of Materials Science and Engineering, Wołowska 141, 02-507 Warsaw, , Poland E-Mail: goryczka@us.edu.pl

[IEngineering of Biomaterials, 58-60,(2006),127-129]

Introduction

The NiTi shape memory alloy, with its chemical composition close to the equiatomic one, has been know from its numerous applications as a implants in medicine and orthodontic. In spite of relatively high content of Ni, the implants formed from NiTi alloy do not cause allergic reaction, toxic or genetic effects [1-3]. However, its functional period inside a living creature can be limited by a corrosion [4]. In aim to improve the resistance, surface of NiTi alloy has been covered by protective layers. Titanium nitride has been found as a good candidate for layers, which sufficiently protect surface of NiTi alloy [5]. However, a method of the surface covering is a crucial and strongly influences its properties. In the presented work the nearly-equiatomic NiTi alloy was covered by nitriding under glow discharge at various temperatures.

Experimental

Commercial NiTi (50.6 at%Ni) rod, 8 mm of diameter, was hot-rolled to strip 1 mm of thickness. Surface of rectangular samples, (12x15 mm) were polished using SiO_2 suspension from 15 to 0.1 µm. The thin layers were obtained by nitriding under glow discharge. In aim to get significant difference between thickness of the layer process was carried out at two

sując metodę azotowania jarzeniowego. W celu uzyskania znacznych różnic w grubościach warstw azotowanie przeprowadzono w dwóch temperaturach: 400°C (proces A) i 700°C (proces B). Identyfikację fazową otrzymanych warstw przeprowadzono przy zastosowaniu wysokorozdzielczej transmisyjnej mikroskopii elektronowej oraz rentgenowskiej dyfrakcji przy stałym kącie padania wiązki pierwotnej (SKP). Grubość, chropowatość oraz gęstość warstw wyznaczono z pomiarów rentgenowskiej reflektometrii.

Wyniki i ich dyskusja

128

Wstępne oględziny otrzymanych warstw wykazały że azotowany stop NiTi posiada gładką powierzchnię o złotawym kolorze charakterystycznym dla azotków tytanu. Identyfikacja, w oparciu o dyfraktogramy rentgenowskie (RYS.1) rejestrowane metodą SKP dla kątów pomiędzy wiązką pierwotną a powierzchnią próbki 0.15, 0.20, 0.30, 0.5 i 0.8 stopnia wykazała, że w przypadku obu procesów na powierzchni stopu tworzy się głównie warstwa TiN. Jednakże w wyniku dyfuzji tytanu na powierzchnię stopu tworzone są warstwy przejściowe. W zależności od temperatury azotowania w procesie A utworzona podwarstwa zbudowana jest z Ni₃Ti, natomiast w procesie B podwarstwę tworzy Ti₂Ni. Na powierzchni próbki azotowanej w temperaturze 700°C zidentyfikowano cienką warstwę TiO₂.



RYS.1. Dyfraktogramy zarejestrowane techniką SKP dla stałego kąta padania wiązki pierwotnej 0.3°.

FIG.1. X-Ray diffraction patterns registered with GIXD technique, where the incident beam was set at angle of 0.30 to the sample surface.

Wyznaczone z pomiarów rentgenowskiej reflektometrii wartości grubości, chropowatości oraz gęstości zamieszczono w TABELI 1. Porównanie otrzymanych wyników wskazuje że grubość, morfologia, skład chemiczny i fazowy warstw zmieniają się w zależności od temperatury azotowania. Jednakże w przypadku procesu B otrzymane wartości gęstości warstw złożonych z TiN oraz TiO₂ są znacznie mniejsze w porównaniu do ich wartości liczonych teoretycznie. Efekt taki może być spowodowany relatywnie wysoką chropowatością powierzchni rozdzielającej obie warstwy TiN i TiO₂ sięgającą 40% grubości warstwy TiO₂.

Obserwacje przeprowadzone przy pomocy mikroskopu elektronowego potwierdziły wyniki otrzymane metodami rentgenowskimi (RYS.2). W procesie A warstwa TiN składa się z nano-ziarn o średniej średnicy wynoszącej ok. 4 nm. Pod warstwą TiN zidentyfikowano warstwę Ni₃Ti. Grubość tej warstwy zmienia się od 38 do 52 nm. W wyniki podwyższenia temperatury azotowania do 700°C grubość warstwy



RYS.2. Przekrój warstw otrzymanych w procesie A (a) i B (b).

FIG.2. Cross-section of the layers obtained in process A (a) and B (b).

temperatures: 400°C (process A) and 700°C (process B). The phase identification of the layers was carried out using high resolution electron microscopy and the grazing incident beam diffraction technique (GIXD). The thickness, surface roughness, interface roughness and density of the layers were determined from X-ray reflectivity measurement.

Results and discussion

The surface of nitrided NiTi alloy, upon a visual inspection, was smooth and golden colored, which is characteristic for titanium nitride. The X-ray diffraction patterns registered using GIXD technique (FIG.1), in which the angle between incident beam and samples was 0.15, 0.20, 0.30, 0.5 and 0.8 deg, reveal that in both processes mainly TiN layer is formed on the top of the alloy. In consequence of the titanium diffusion from metal matrix to its top also additional sublayers are formed. Dependently on the nitriding temperature Ni₃Ti or Ti₂Ni phases were formed in processes A and B, respectively. Additionally, the TiO₂ phase was identified in the sample nitrided at 700°C.

TABLE 1 shows thickness, surface roughness and density of the nitrided layers and metal matrix, which were determined from X-Ray reflectivity measurements (XRR). Results revealed that the thickness, morphology, chemical and phase composition of the layers change with increasing of the nitriding temperature. However, for the process B, calculated density of the TiN and TiO₂ significantly decreased when compare to its theoretical value. It can be due to the fact, that roughness of surface between TiN and TiO₂ reached almost 40% of TiO₂ thickness.

Observation, carried out using electron microscope, confirms results obtained from X-ray diffraction (FIG.2). In the process A, the TiN layer is formed from nano-grains 4 nm of average diameter. Under the TiN layer Ni₃Ti phase was found. The thickness of the Ni₃Ti layer varies from 38 to 52

	Grubość		Chropo	Chropowatość		Gęstość	
	Thickness		Surface roughness		Density		
Lovor	[nm]		[nm]		[g/cm ³]		
Layer	process	process	process	process	process	process	
	А	В	А	В	А	В	
Podłoże Matrix	-	-	1.3	2.6	4.49	6.15	
TiN	46.1	244.4	1.7	1.7	5.05	3.09	
TiO ₂	-	4.7	-	0.5	-	2.13	

TABELA 1 Wyniki otrzymane z rentgenowskiej reflektometrii. TABLE 1 The results obtained from the XRR measurements.

2 Y N F E R

TiN wzrasta pięciokrotnie w stosunku do grubości warstwy otrzymanej w procesie A. Jednakże w przeciwieństwie do procesu A pod warstwą TiN tworzą się kolumnowe ziarna fazy Ti₂Ni, które rosną w kierunku od podłoża do powierzchni. Średnia grubość warstwy Ti₂Ni została oszacowana z obserwacji mikroskopowych i wynosi 410 nm.

Istotnym jest fakt że w wytworzonych warstwach wierzchnich nie identyfikowano faz zawierających atomy niklu.

Wnioski

Otrzymane wyniki badań można podsumować następująco:

o W wyniku azotowanie stopu NiTi metodą jarzeniową otrzymano jednorodne, nanokrystaliczne warstwy, głównie TiN. o Brak w warstwie wierzchniej faz zawierających nikiel zwiększa biokompatybilność stopu NiTi

o Wytworzenie, podczas azotowania w temperaturze 400°C, cienkich warstw TiN stwarza możliwość praktycznego zastosowania do ochrony implantów ze stopu NiTi wykazujących efekt pamięci oraz nadsprężystości..

Podziękowanie

Badania zostały sfinansowane z grantu PBZ-KBN-100/ T08/2003

Piśmiennictwo

[1] Assad M, Lemieux N, Rivard CH and Yahia LH Biomed Mat Eng 9 (1999) 1-12.

[2] Wever DJ, Veldhuizen AG, Sanders MM, Schakenraad JM and van Horn JR, Biomaterials 18 (1997) 1115-1120.

BIODEGRADOWALNE POLIME-RY OTRZYMANE NA BAZIE GLI KOLIDU, LAKTYDU, ε-KAPROLAKTONU I TMC W DŁUGO- TERMINOWYM, KONTROLOWANYM TRANS-PORCIE CYKLOSPORYNY A I SIROLIMUSU

Katarzyna Jelonek*, Janusz Kasperczyk*, Piotr Dobrzyński**

*Katedra i Zakład Biofarmacji, Śląska Akademia Medyczna, Narcyzów 1, Sosnowiec 41-200, Polska **Polska Akademia Nauk, Centrum Chemii Polimerów, M. Skłodowskiej-Curie 34, Zabrze 41-819, Polska

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),129-132]

Syntetyczne, bioresorbowalne kopolimery należą do coraz powszechniej stosowanych w kontrolowanym uwalnianiu leków, tworzeniu skafoldów w inżynierii tkankowej lub materiałów medycznych. W przypadku kontrolowanego uwalniania leków stanowią one niezwykle atrakcyjny materiał z uwagi na degradację do form nietoksycznych; zapewnienie precyzyjnie określonego czasu, stężenia i miejsca uwalnianego farmaceutyku oraz hydrolizę wewnątrz organizmu, eliminując tym samym problem chirurgicznego usuwania nm. Increasing of the nitriding temperature to 700°C leads to increasing of the TiN thickness. However, its thickness is almost 5 times higher than that one obtained in process A. Contrary to process A, the Ti₂Ni columnar grains were growing under the TiN layer in direction from the NiTi matrix to the top of surface. Average thickness of the Ti₂Ni layer was estimated from electron microscope observation as 410 nm. It is worthy to notice that in both process the surface is free from the nickel atoms.

Conclusions

Obtained results can be summarized as follow:

o Nitriding of the NiTi alloy using glow discharge technique leads to obtaining homogenous, nanocrystalline layers, which mainly consists of TiN.

o Lack of the Ni atoms in surface increases biocompatibility of the NiTi alloy.

o Thin layers produced at 400°C are promising for practical use for surface protection of NiTi implants, which reveal shape memory effect and superelasticity.

Acknowledgement

The studies were financially supported from the grant PBZ-KBN-100/T08/2003.

References

[3] Fili P, Lausmaa J, Musialek J and Mazanec K Biomaterials 22 (2001) 2131-2138.

[4] Ryhänen J, Kallioinen M, Serlo W, Perämäki P, Junila J, J Biomed Mat Res 47 (1999) 472-480.

BIODEGRADABLE POLYMERS BASED ON GLYCOLIDE, LACTIDE, ε-CAPROLACTONE AND TMC FOR LONG – TERM CONTROLLED DELIVERY OF CYCLOSPORINE A AND SIROLIMUS

Katarzyna Jelonek*, Janusz Kasperczyk, Piotr Dobrzyński**

*Department of Biopharmacy, Medical University of Silesia, Narcyzów 1, Sosnowiec 41-200, Poland **Polish Academy of Sciences, Centre of Polymer Chemi-

STRY, M. SKLODOWSKIEJ-CURIE 34, ZABRZE 41-819, POLAND

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),129-132]

Synthetic bioresorbable copolymers are commonly used for controlled drug release, creating scaffolds in tissue engineering and to manufacture temporary medical devices. They are very attractive in the use for special drug delivery as they can be degraded to non-toxic forms inside the body; provide targeted and sustained release of the drug and are hydrolyzed in the body, so surgery is not required for their removal after complete drug release [1].These features are especially important for discovering the alternative delivery systems for drugs which the available dosage forms cause many side effects like Cyclosporine A (CyA) and Sirolimus. They are extensively used immunosuppressive

nośnika po skończonej terapii [1]. Właściwości te są szczególnie istotne w opracowywaniu alternatywnych systemów transportu leków, których dostępne formy powoduja wiele efektów ubocznych, jak Cyklosporyna A (CyA) i Sirolimus. Immunosupresanty te stosowane są w transplantologii, w celu zapobiegania odrzutom przeszczepów allogenicznych, jak również w leczeniu chorób immunologicznych. Wyeliminowanie efektów ubocznych i polepszenie aktywności immunosupresyjnej poprzez długoterminowe, miejscowe wprowadzenie leku, osiągnięte dzięki polimerowym nośnikom, wydaje się być wartościowym rozwiązaniem. W literaturze opisano wprowadzanie Cyklosporyny A do materiałów kopolimerowych i w rezultacie otrzymanie różnego rodzaju nośników, takich jak PLGA nanoczastki (NP), czy mikrosfery (MS) [2], PLA-PEG NP oraz MS przeznaczone do podania doustnego i donosowego [3]. Prowadzono również badania nad uwalnianiem Sirolimusu z biodegradowalnych matryc wykonanych z poli(D,L-laktydu), poli(D,L-laktydu-coglikolidu) [4], jakkolwiek większość z nich koncentruje się na uwalniających ten lek stentach. Wciąż jednak brakuje informacji na temat polimerów długotrwale uwalniających substancję leczniczą, szczególnie pożądanych w przypadku leków o działaniu immunosupresyjnym. Celem tej pracy była analiza mikrostruktury pięciu różnych kopolimerów w celu wyselekcjonowania długo - degradujących materiałów i otrzymania optymalnego profilu uwalniania dwóch badanych leków immunosupresyjnych: Cyklosporyny A i Sirolimusu.

Materiały i metody

Matryce zawierające 10% Cyklosporyny A lub Sirolimusu (LC Laboratories) sporządzono z pięciu rodzajów kopolimerów: 1) 90:10 poli(ε-kaprolaktono-ko-glikolid) (PGA10%-PCL90%, Mn=63.000; D=2.1); 2) 85:15 poli(Llaktydo-ko-glikolid) (LPLA 85% - PGA 15%, Mn=75.600; D = 2.0); 3) 70:30 poli(L-laktydo-ko-ε-kaprolakton) (LPLA 70% - PCL 30%, Mn=60.300; D=2.1); 4) 70:30 poli(L-laktydo-kotrimetylenoweglan) (LPLA 70% - TMC 30%, Mn=36.000; D=2.6); 5) 30:70 poli(L-laktydo-ko-trimetylenoweglan) (LPLA 30% - TMC 70%, Mn=17.500; D=2.0). Wszystkie one zostały zsyntezowane z zastosowaniem Zr(Acac), jako nietoksycznego inicjatora reakcji kopolimeryzacji. Charakterystyke mikrostruktury kopolimerów na wstępnym etapie oraz analizę zmian podczas procesu degradacji przeprowadzono na podstawie parametrów wyznaczonych z widm 1H oraz ¹³C NMR: procentowego udziału jednostek kopolimerowych, średniej długości bloków, wewnątrzcząsteczkowej transestryfikacji oraz współczynnika randomizacji łańcucha, według równań przedstawionych w literaturze [5-9]. Widma ¹H NMR (300 MHz) oraz ¹³C NMR (75 MHz) badanych kopolimerów wykonano przy użyciu spektrometru Varian Unity Inova w 5mm ampułach. Jako rozpuszczalnik zastosowano CDCl₃ lub osuszony DMSO-d₆ (w przypadku kopolimerów zawierających glikolid). Widma protonowe wykonano przy czasie akwizycji 3.74sek. i szerokością impulsu PW=7 µs, 4.7 sek. odstępem między impulsami, a węglowe z czasem akwizycji 1.8 sek., szerokości impulsu PW=9 µs i odstępem między impulsami 3 sek. Masy cząsteczkowe kopolimerów (Mn) oraz polidyspersyjność (D) wyznaczono przy użyciu chromatografu żelowego Phisics SP 8800, stosując chloroform jako eluent.

Polimerowe filmy o średnicy 1,2 cm przygotowane zostały poprzez rozpuszczenie każdego z kopolimerów w chlorku metylenu i dodaniu 10% jednego z badanych leków (CyA lub Sirolimusu). Roztwór wylewano na płytę szklaną i pozostawiono w temperaturze pokojowej do czasu odparowania rozpuszczalnika. Zważone próbki polimerowych filmów umieszczono w szczelnie zamykanych butelkach, agents in prevention of transplant rejection or in treating immunological diseases. To avoid side effects and improve the immunosuppressive activity of the drug, long - term, local administration provided by polymeric drug carriers is a valuable approach. The literature data describe incorporating Cyclosporine A into copolymers to obtain different kinds of drug carriers as - PLGA nanoparticles (NP) and microspheres (MS) [2], PLA - PEG NP and MS for oral and nasal administration [3]. There were also studies on release of Sirolimus from biodegradable matrices made of poly(D,Llactide), poly(D,L-lactide-co-glycolide) [4], but most studies concerning this agent, are concentrated on Rapamycine eluting stents. However, there are not any information about long releasing drug polymers, which are especially desirable in case of immunosuppressants. The aim of this study was to analyze microstructure of five different copolymers to select the long - degradable materials for obtaining the optimal release profile of two studied immunosuppressants: Cyclosporine A and Sirolimus.

Materials and methods

Five kinds of copolymers were used to prepare matrices containing 10% of Cyclosporine A and Sirolimus (LC Laboratories): 1) 90:10 poly(ɛ-caprolactone-co-glycolide) (PGA10%-PCL90%, Mn=63.000 D=2.1); 2) 85:15 poly(Llactide-co-glycolide) (LPLA 85% - PGA 15%, Mn=75.600, D = 2.0); 3) 70:30 poly(L-lactide-co-ε-caprolactone) (LPLA 70% - PCL 30%, Mn=60.300, D=2.1); 4) 70:30 poly(L-lactide-co-trimethylene carbonate) (LPLA 70% - TMC 30%, Mn=36.000, D=2.6); 5) 30:70 poly(L-lactide-co-trimethylene carbonate) (LPLA 30% - TMC 70%, Mn=17.500; D=2.0). All of them were synthesized with the use of Zr(Acac), as non toxic initiator of copolymerization reaction. The characteristic of copolymers microstructure on the beginning and analysis of the changes during the degradation process was conducted based on the parameters determined from 1H and 13C NMR spectra: the percentage content of copolymer units, the average length of the blocks, intermolecular transesterification and the ratio of chain randomization according to the equations presented in literature [5-9]. The ¹H NMR (300 MHz) and ¹³C NMR (75 MHz) spectra of the copolymers were recorded on a Varian Unity Inova spectrometer in 5 mm sample tubes. Dried DMSO-d₆ (for copolymers with glycolide) or CDCl, were used as a solvent. The proton spectra were obtained with 3.74s acquisition time and 7µs pulse width and 4.7s delay time between pulses, and the carbon spectra with 1.8s acquisition time, 9µs pulse width and 3s delay time between pulses. The molecular weights (Mn) and polydyspersity (D) of the copolymers were determined by gel permeation chromatography method using a Physics SP 8800 chromatograph with chloroform as eluent.

The 1,2 cm diameter films were prepared from solution of each kind of copolymer in methylene chloride with 10% of one of the two studied drugs (CyA or Sirolimus). The solution was cast by means of a standard casting device on a glass plate and evaporated at ambient temperature. Than, the films were dried under reduced pressure. The weighted samples of the polymeric films were placed in well closed flasks containing physiological saline. The flasks were incubated at 37°C and constantly shacked. Systematically, the physiological saline was replaced and drug concentration was determined in collected samples. After 2, 5, 10 and 26 weeks of the experiment one sample was excluded to assess the degradation process in polymeric matrices. The concentration of the drug release from polymeric matrices in in-vitro environment was determined by means of UV- VIS spectroscopy for 35 weeks (Spectrophotometer V-570, UV-

Copolymer Drug	PGA/PCL (8/92)	PGA/PLA (15/85)	PLA/PCL (75/25)	PLA/TMC (70/30)	PLA/TMC (30/70)	
	F _{GG} (%) = 7.9	F _{LL} (%) = 85	F _{LL} (%) = 75	F _{LL} (%) = 72	F _{LL} (%) = 27	
	L _{GG} = 0.75	L _{GG} = 1.63	L _{LL} = 5.64	L _{LL} = 5.41	L _{LL} = 1.47	
Cyclosporine A	L _{Cap} = 4.05	L _{LL} = 9.24	L _{Cap} = 1.71	L _T = 2.07	L _T = 4.18	
	T ₁₁ =1.1	T ₁₁ =0.2	R = 0.67	T ₁₁ =1.99	T =0.55	
	R = 1.7	R = 0.41		R = 0.57	R = 0.58	
	F _{GG} (%) = 7.9	F _{LL} (%) = 85	F _{LL} (%) = 75	F _{LL} (%) = 70	F _{LL} (%) = 27	
	L _{GG} = 0.72	L _{GG} = 1.81	L _{LL} = 5.87	L _{LL} = 4.8	L _{LL} = 1.56	
Sirolimus	L _{Cap} = 4.1	L _{LL} = 10.26	L _{Cap} = 1.71	L _T = 1.9	L _T = 4.15	
	T ₁ =1.07	T ₁₁ =0.2	R = 0.65	T ₁ =2.91	T ₁₁ =0.63	
	R = 1.6	R = 0.37		R = 0.64	R = 0.56	
FGG, FLL – procentowa zawartość glikolidu lub laktydu / - the percentage content of glycolide or lactide						
LLL, LGG, LCap, LT – średnia	a długość (odpowiednio –	laktydowych, glikolidylow	ych, kaproilowych oraz w	eglanowych) bloków w łar	hcuchu kopolimerowym	

the average length of (lactidyl, glicolidyl, caproyl or carbonate, respectively) blocks in copolymer chains

TII - TII [CapGCap] – współczynnik transestryfikacji drugiego stopnia (sekwencje CapGCap) / yield of the second mode of transesterification (sequences CapGCap)

R – współczynnik randomizacji / randomization ratio





ryny A i Sirolimusu z różnego rodzaju matryc polimerowych w czasie 246 dni.

FIG.1. The percentage amount of released Cyclosporine A and Sirolimus from different polymeric matrices after 246 days.

zawierających sól fizjologiczną, które inkubowano w 37°C stale mieszając. W regularnych odstępach czasu wymieniano roztwór soli fizjologicznej, a w zebranych próbach oznaczano stężenie leku. Po 2, 4, 5 i 10 tygodniach trwania eksperymentu wyłączano jedną z próbek w celu zbadania procesu degradacji matrycy polimerowej. Stężenie uwolnionego z matrycy leku w warunkach in vitro oceniano przy zastosowaniu spektroskopii UV-VIS w czasie 35 tygodni (Spektrofotometr V-570, UV-VIS – NIR – JASCO). W przypadku Cyklosporyny A absorbancję mierzono przy 202nm, natomiast Sirolimusu – 276nm.

Wyniki i dyskusja

W przypadku wszystkich badanych kopolimerów stwierdzono długi okres uwalniania leku immunosupresyjnego - po 246 dniach ilość uwolnionej substancji leczniczej nie przekroczyła 40%, jak przedstawiono na RYS.1.

Za wydłużony czas uwalniania odpowiadała niewątpliwie odpowiednia struktura polimeru, determinująca tempo degradacji, która przebiegała w odmienny sposób dla każdego z dwóch badanych farmaceutyków. Różnice w strukturze matryc polimerowych po dwóch tygodniach trwania eksperymentu wykazano w TABELI 1.

Oprócz silnie zrandomizowanego kopolimeru 8% PGA /



RYS.2. Sumaryczna ilość uwolnionego Sirolimusu z kopolimeru 30/70 poli(L-laktydu-co-TMC) z uwzględnieniem charakterystyki mikrostruktury polimeru po 2 (1), 5 (2), 10 (3) i 26 (4) tygodniach przebiegu procesu degradacji.

FIG.2. Cumulative release of Sirolimus from 30/70 poly(L-lactide-co-TMC) copolymer and characteristic of the polymer degradation process after 2 (1), 5 (2), 10 (3) and 26 (4) 26 weeks of degradation process.

VIS – NIR – JASCO). For Cyclosporine A, the absorbance was measured at 202nm and for Sirolimus at 276nm.

Results and discussion

All of the studied copolymers provided long period release of immunosuppressive agents, so that after 246 days the released amount of whole incorporated dose didn't exceed 40%, as presented in FIG.1.

The prolonged release was provided by polymer structure determining the degradation rate, but proceeded differently

BIOMATERIAŁÓW

92% PCL, charakteryzującego się także silną tarnsestryfikacją drugiego stopnia, pozostałe wykazywały strukturę . . . semiblokowa. Parametry opisujące strukture polimeru ulegały zmianie wraz z postępem degradacji, zaobserwowano jednak, iż większe ich wahania powodowały znaczniejsze różnice stężenia leku w medium. Stwierdzono odmienny przebieg degradacji w przypadku matryc zawierających Cyklosporynę A i Sirolimus, co może być związane z różnicami masy cząsteczkowej (1202.64 dla CyA i 914.19 dla Sirolimusu), odmiennymi grupami funkcyjnymi leków lub innymi właściwościami, jak hydrofobowość. Bardziej stabilny profil uzyskano w przypadku Sirolimusu, szczególnie dla kopolimeru PLA/TMC (30/70), zobrazowany na RYS.2. W wyniku powolnej i nierównomiernej degradacji matrycy wykonanej z 15%PGA/85%PLA stwierdzono niestabilne stę-

żenie zarówno uwalnianej CyA jak i Sirolimusu, obejmujące także okresy, kiedy nie stwierdzano leku w medium.

Wnioski

Zaobserwowano bardzo powolny przebieg procesu degradacji oraz ścisły związek między sposobem, w jaki zachodziła, z profilem uwalniania leku. Za najbardziej odpowiednie dla uwalniania Cyklosporyny A uznano kopolimery zawierające ϵ -kaprolakton: 85%PLA/15%PCL oraz 8%PGA/92%PCL, a dla Sirolimusu: 75%PLA/25%PCL i 30%PLA/70%TMC.

Podziękowania:

Badania zrealizowano w ramach badaniach statutowych ŚIAM (projekt nr NN-1-283/05) for the studied two kinds of drug. The determined structure of polymeric matrices after two weeks of degradation is shown in TABLE 1.

Apart from the 8% PGA / 92% PCL highly random copolymer with strong transesterification of the second mode, the other ones characterized semiblock structure. The parameters changed along with the degradation process, however the more significant changes were observed, the bigger variations in detected drug concentration in the medium were found. The degradation proceeded differently for Cyclosporine A and Sirolimus, which could be associated with difference in molecular weight (1202.64 for CyA and 914.19 for Sirolimus), various functional groups in the drugs or features like hydrophobicity of the drug. The more stable release profile was obtained for Sirolimus than Cyclosporine A, especially for PLA/TMC (30/70) copolymer, which is presented in FIG.2.

Slow and irregular degradation of 15%PGA/85%PLA matrix resulted in unstable release CyA and Sirolimus with period when no drug was detected in the medium.

Conclusions

For all of the studied copolymers very slow degradation process was observed and strong association between the way of degradation and drug release profile. The most appropriate for Cyclosporine A release seem copolymers with ϵ -caprolactone: 85%PLA/15%PCL and 8%PGA/92%PCL and for Sirolimus: 75%PLA/25%PCL and 30%PLA/70%TMC.

Acknowledgement

This study has been supported by the research program of ŚIAM (project number NN-1-283/05).

Piśmiennictwo

[1] Pillai O., Panchagnula R.: Polymers in drug delivery, Current opinion in Chemical Biology, 5 (2001), pp 447 – 451

 [2] Chacón M., Molperces J., Berges L., Guzman M., Aberturas M.
 R.: Stability and freeze – drying of cyclosporine loaded poly(D,L lactide – glycolide) carriers, European Journal of Pharmaceutical Science, 8 (1999), pp 99 – 107

[3] Gref R., Quellec P., Sanchez A., Calvo P., Dellacherie E., Alonso M. J.: Development and characterization of CyA – loaded poly(lactic acid)-poly(ethylene glycol) PEG micro- and nanoparticles. Comparsion with conventional PLA particulate carriers, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 51 (2001), pp 111 – 118

[4] Alexis F., Venkatraman S., Rath S.K., Boey F.: In vitro study of release mechanisms of paclitaxel and rapamycin from drug – incorporated biodegradable stent matrices, Journal of Controlled Release, 98 (2004), pp 67 – 74

[5] Dobrzynski P., Kasperczyk J., Janeczek H., Bero M.: Synthesis of Biodegradable Copolymers with the Use of Low Toxic Zirconium Compounds. 1. Copolymerization of Glycolide with L-Lactide Initited by Zr(Acac)4, Macromolecules 2001, 34, 5090 – 5098 [6] Kasperczyk J.: Microstructural analysis of poly[(L,L-lactide)-co-(glycolide)] by 1H and 13C n,m.r. spectroscopy, Polymer Vol 37, No 2, pp 201 – 203, 1996

References

[7] P. Dobrzyński, S. Li, J. Kasperczyk, M. Bero, F. Gasc, M. Vert, Structure – property relationships of copolymers obtained by ring – opening polymerization of glycolide and ϵ -caprolactone. Part 1. Synthesis and Characterization, Biomacromolecules 6 (2005) 483-488.

[8] P. Dobrzyński, J. Kasperczyk, M. Bero, Synthesis of biodegradable copolymers with low-toxicity zirconium compounds. V. Multiblock and random copolymers of L-lactide with trimethylene Carbonate obtained in copolymerization initiated with zirconium (IV) acetylacetonate. Journal of Polymer Science Part A:Polymer Chemistry, Vol. 44 (2006) 3184-3201; Published online in Wiley Inter Science (www.interscience.wiley.com)

[9] J. Kasperczyk, M. Bero, The role of transesterification in the copolymerization of L,L-lactide and ϵ -caprolactone, Makromol. Chem. 194 (1993) 913-925.

WARSTWY C:N:H I SICXNY(H) NA POWIERZCHNI TYTANU I STOPU TI – 6AL – 4V

MARTA JANUŚ*, BARBARA STYPUŁA**

Akademia Górniczo – Hutnicza; *Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki **Wydział Odlewnictwa al. Mickiewicza 30; 30 – 059 Kraków; Polska e – mail: martaj@uci.agh.edu.pl

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),133-135]

Tytan i jego stopy ze względu na szczególne właściwości fizyczne, chemiczne oraz dobrą biozgodność w środowiskach ludzkich komórek i tkanek znajdują coraz szersze zastosowanie w różnych dziedzinach medycyny [1–3]. Wyparły one niemal całkowicie kwasoodporne stale austenityczne i tzw. stopy Vitalium (Co–Ni–Mo). Widoczne jest to w wielu aspektach medycyny: leczeniu urazów (endoprotezy, wszczepy, płytki stabilizacyjne); komforcie prowadzenia zabiegów (instrumentarium, narzędzia, aparatura) [4–9].

Tytan, a także jego stopy, charakteryzują się bardzo dobrą odpornością na korozję chemiczną.

Nie reagują z wieloma związkami chloru, a także z siarczkami, siarczanami i chloranem (I) sodu w szerokim zakresie stężeń i temperatur. Ponadto metal ten jest odporny na działanie wody morskiej, kwasu azotowego o dowolnym stężeniu i w różnych temperaturach, roztopionej siarki, siarkowodoru, dwutlenku siarki, amoniaku i nadtlenku wodoru. Nadmienić należy, że istnieją związki organiczne i

nieorganiczne, które mogą wywołać korozję na powierzchni tytanu. Generalnie jednak tytan i jego stopy wykazują dobrą na korozję wżerową, międzykrystaliczną i naprężeniową.

W przypadku zastosowań w medycynie materiały te muszą być modyfikowane w związku z przechodzeniem składników stopu do otaczających tkanek. Jest to szkodliwe dla organizmów zjawisko metalozy i wielu innych schorzeń. Stosuje się tu techniki zmieniające właściwości powierzchni, takie jak: azotowanie, utlenianie, nawęglanie czy węgloazotowanie [10] lub nakładanie warstw o odpowiednim składzie chemiczny.

Obecnie, coraz większe znaczenie w kształtowaniu właściwości biomateriałów odgrywają warstwy tlenku aluminium – Al₂O₃, hydroksyapatytu, tlenku cyrkonu – ZrO₂, a także nanokrystalicznego diamentu. Warstwy te wytwarzane są różnymi metodami, między innymi: natryskiwania cieplnego, zol – żel oraz fizycznymi i chemicznymi metodami osadzania z fazy gazowej. Wymienione powyżej warstwy nie zamykają listy pokryć modyfikujących powierzchnię biomateriałów. Poszukuje się wciąż nowych materiałów warstwowych, często o złożonym składzie chemicznym, zawierających pierwiastki z różnych grup układu okresowego, takich jak: węgiel, wodór, krzem, azot [11].

Niniejsza praca zawiera wyniki badań nad modyfikacją powierzchni tytanu i jego stopu Ti–6Al–4V warstwami typu C:N:H i SiC_xN_y(H). Warstwy te otrzymano w procesie, odpowiednio, RFCVD (13,56MHz, 60W) oraz MWCVD (2,45GHz, 800W), przy użyciu reaktywnych mieszanin gazowych zawierających CH₄, N₂, SiH₄, H₂ wprowadzanych do reaktorów w różnych proporcjach.

Morfologię powierzchni i skład chemiczny warstw badano stosując odpowiednio metody SEM i EDS. Warstwy są jednorodne, dobrze przyczepne do podłoża.

Właściwości tribologiczne otrzymanych materiałów badano przy użyciu urządzenia Micro – Combi – Tester (twardość i

C:N:H AND SICXNY(H) LAYERS ON METALLIC TITANIUM AND TI-6AL-4V ALLOY SURFACE

MARTA JANUŚ*, BARBARA STYPUŁA**

AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY *FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS **FACULTY OF FOUNDRY ENGINEERING AL. MICKIEWICZA 30; 30 – 059 KRAKÓW; POLAND E – MAIL: MARTAJ@UCI.AGH.EDU.PL

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),133-135]

Titanium and its alloys are very attractive materials for applications in various areas of medicine. This is with regard for their unique physical and chemical properties as well as good biocompatibility in the environment of human cells and tissues [1-3]. They have replaced acid resistant steels and so-called Vitalium alloys (Co–Ni–Mo). It can be seen in many fields of medicine such as comfort of surgical procedures (apparatus) and treatment of injuries (for example: endoprosthesis and artificial limbs, implants, plates of stabilization) [4-9].

The very distinctive property of titanium and titanium alloys is that of significant resistance to chemical attack. For wide temperature and concentration range they do not react with most chlorine compounds (sodium chlorine) as well sulfides and sulfates. They also posses high resistance to sea water action and to the action of nitric acid, molten sulfur, hydrogen sulfide, sulfur dioxide, ammonia and hydrogen peroxide – in any concentration and at various temperatures. While it is true that there are some both organic and inorganic compounds that can cause corrosion of titanium but generally both titanium and its alloys exhibit really unique resistance to etching as well as intercrystalline and stress-originated corrosion.

Unfortunately, despite above exceptional properties, the titanium and titanium alloys when used in human body may bring about undesired toxic effects caused by diffusion of alloy components to the surrounding issues. This is why the surface of the implants and other products for application in medicine should be modified. With the object of this requirement, various surface techniques are applied. A family of mostly used methods includes: nitrogenation, oxygenation, carbonation or carbo-nitrogenation [10] and deposition of various types of the layers of carefully tailored chemical composition.

At present, a research interest focuses mainly on the applications of the following types of the layers: aluminum oxide (Al_2O_3) , hydroxyapatite, zirconium oxide (ZrO_2) and a family of diamondlike layers. They are deposited with the use of diverse technologies. There are among the most often used: thermal spraying, sol - gel as well as physical and chemical vapor deposition techniques.

The sorts of the coatings that are listed above do not close a list of the layered materials that can be successfully used for medicine needs. There is growing interest in looking for new coats, often of complex composition – containing elements from various groups and rows of periodic table. The ones containing carbon, hydrogen, silicon and nitrogen seem to be very promising ones [11].

This consideration has prompted the authors of the present work to undertake the respective studies concerning modification of the surface of Ti and Ti-6Al-4V alloy with C:N: H and SiC_xN_y(H) layers. The layers have been deposited using plasma chemical techniques: RFCVD (13,56MHz,

.

134

)	•		

Load [mN]	Podłoże Substrate	C:N:H-Katoda C:N:H-Cathode	C:N:H-Anoda C:N:H-Anode	SiC _x N _y (H)
	Ti 266	102	149	276
20	Ti–6Al–4V 365	132	170	553
	Ti 278	128	203	277
100	Ti–6Al–4V 335	170	277	361

TAB.1. Twardość powierzchni dla próbek z warstwami nałożonymi na tytanie i stopie Ti–6AI–4V [HV]

TAB.1. Hardness of the metallic Ti and the Ti-6AI-4V alloy samples with and without deposited layers [HV].

moduł Younga) – TAB.1 i TAB.2, oraz tribotesteru typu kula – tarcza (badania tarciowo - zużyciowe) – RYS.1 (przeprowadzone zgodnie z normami ASTM i ISO).

Dla obydwu podłoży warstwy C:N:H/katoda i C:N:H/anoda mają twardość niższą od podłoży przy czym najniższe wartości zmierzono dla próbki z warstwą C:N:H/katoda. Warstwy SiC_xN_y(H) w nieznacznym stopniu podnoszą twardość powierzchni. Dla każdej z warstw mierzona twardość i moduł Younga jest wyższa dla warstwy nałożónej na stopie Ti-6Al-4V niż na czystym tytanie.

Nie stwierdzono zasadniczych różnic w wartości współczynnika tarcia pomiędzy warstwami nałożonymi na tytanie a warstwami na stopie Ti-6Al-4V. Wśród próbek, których podłożem jest tytan najmniejszy współczynnik tarcia posiada próbka z warstwą SiC_xN_y(H) ok. 0,05 (podłoże Ti – 0,27), dla podłoża ze stopu - ok. 0,06 (podłoże Ti6Al4V – 0,28). Nałożone warstwy zwiększają odporność na zużycie materiału podłoża. Największą odporność na zużycie wykazują warstwy SiC_xN_y(H) zarówno na Ti jak i Ti-6Al-4V.

Przeprowadzońo również badania polaryzacyjne (Voltamperometryczne) stosując VoltaLab PGZ301 zarówno na próbkach surowych jak i pokrytych warstwami.

Nałożone warstwy zmieniają również właściwości korozyjne tytanu i stopu Ti6AI 4V.Ich wpływ zaznacza się w przebiegu krzywych polaryzacyjnych LSV (RYS.2 i RYS.3 oraz TAB.3), głównie w wielkościach gęstości prądu anodowego roztwarzania oraz wartościach potencjału korozyjnego.

W przypadku tytanu najkorzystniejsze właściwości korozyjne posiada warstwa SiC_xN_y(H), wykazując najniższe wartości gęstości prądu anodowego roztwarzania (i_a). W przypadku



RYS.1. Profil przekroju poprzecznego bruzdy dla warstw: a) na podłożu tytanowym, b) na podłożu ze stopu Ti–6AI–4V po tarciu kulką Al₂O₃ (1mm) przy Fn=0,2N; n=60obr/min; N=500 cykli, R=3mm.

FIG.1. Profiles of transverse section of the layers: a) on the titanium substrate b) on the Ti-6Al-4V alloy. The results taken after friction action with the Al_2O_3 (1mm) ball at Fn=0,2N; n=60cycles/min; N= of 500 cycles, R=3mm.

Load [mN]	Podłoże	C:N:H-Katoda	C:N:H-Anoda	SiC N (H)	
	Substrate	C:N:H-Cathode	C:N:H-Anode	x y, ,	
	Ti 111	81	71	123	
20	Ti-6Al-4V	45	88	171	
	145	45	00	17.1	
	Ti 106	82	67	106	
100	Ti-6Al-4V	70	100	140	
	142	79	109	142	

TAB.2. Wartość modułu Younga dla próbek z powłokami nałożonymi na tytanie i stopie Ti–6AI– 4V [GPa] TAB.2. Young module of the metallic Ti and the Ti-6AI-4V alloy samples with and without depo-

sited layers [GPa].

60W) and MWCVD (2,45GHz, 800W) with application of CH₄, N₂, SiH₄ and H₂ gas mixture introduced to the reactor at various proportions.

The obtained layers have been carefully investigated in a view of possible applications in medicine. The morphology and surface quality of the layers have been analyzed with typical tools: SEM and EDS. The results show that both C: N:H and SiC_xN_y(H) layers are homogeneous and well adhesive to the substrate. Tribological properties of received materials have been evaluated in the measurements of hardness and Yang module (Micro-Combi-Tester) and in the test performed with application of a tribotester of the "sphere-shield" type. The respective results are presented in tables I – II and illustrated in FIG.1. For comparison the norms of ASTHMAS and ISO are given.

The measured values indicate that both types of the C:N:H layers, i.e. the ones deposited on a cathode (C:N:H/cathode) and the others obtained on a anode (C:N:H/anode) exhibit lower hardness than uncoated substrates. The lowest value has been found for the C:N:H/cathode layer. Simultaneously the SiCxNy(H) layer rises hardness of modified surfaces. It can be also seen that the deposited layers improve both the hardness and Young module of the Ti - 6AI - 4V alloy. The effect is better than in the case of the layers used on titanium.

Simultaneously no effects have been observed concerning the friction for the layers deposited on both types of the substrates. For the layers deposited on titanium, the SiCxNy(H) layer exhibits the lowest friction coefficient. The respective value is about 0,05, while for the layer on the alloy – it is 0,06. The values for the uncoated substrates are: 0,27 for Ti and 0,28 for Ti 6Al 4V - 0,28.

This means that the layers improve the substrate resistance-to-waste. The highest resistance has been found for the coatings with the $SiC_xN_y(H)$ layers – both on Ti and on Ti-6Al-4V.

To gather more results, the investigations of polarization for both uncoated and coated substrates have been performed with application of voltamperometry method (VoltaLab PGZ301).

It results from the shape of the polarization LSV curves (FIG.2-3, Table III) that the deposited layers improve corrosive properties of the titanium and the Ti6-AI-4V alloy - as can be seen from the anode current density and the corrosion potential.

In the case of titanium, the best corrosive properties has $SiC_xN_y(H)$ layer, that exhibits lowest values of the anode current density (i_a). For the alloy, the lowest value of ia has been found when the C:N:H/anode and $SiC_xN_y(H)$ layers have been deposited.

The series of the performed experiments indicate the $\text{SiC}_{_x}N_{_v}(H)$ layers as very good coatings for modification



RYS.2. Krzywe polaryzacyjne powierzchni Ti: krzywa A - próbka wyjściowa, krzywa B – z warstwą C:N:H – katoda, krzywa C - z warstwą C:N:H – anoda, krzywa D - z warstwą SiC_xN_y(H); w 0,1m NaCI.

FIG.2. Polarization curves of the Ti surface: curve A - initial uncoated sample, curve B – sample coated with C:N:H/cathode layer, curve C - with C:N:H/anode layer, curve D - with $SiC_xN_y(H)$ layer; in 0,1m NaCl.

stopu najniższe wartości ia wykazała warstwa C:N:H –anoda i w kolejności warstwa SiC_xN_y(H). Z pośród badanych warstw modyfikujących powierzchnię tytanu i stopu Ti-6AI-4V najlepsze właściwości użytkowe (twardość, odporność na ścieranie i odporność na korozję) uzyskano w przypadku warstwy SiC_xN_y(H).

Próbka Sample	Potencjał bezprądowy Potential without current E _o [·10 ⁻³ V]	Próbka Sample	Potencjał bezprądowy Potential without cur- rent E ₀ [·10- ³ V]
Ti	19	Ti – 6Al – 4V	1,5
Ti (C:N:H/cathode)	-50	Ti – 6AI – 4V (C:N:H/cathode)	114
Ti (C:N:H/anode)	-78	Ti – 6Al – 4V (C:N:H/anode)	120
Ti (SiC _x N _y (H))	-54	Ti – 6AI – 4V (SiC _x N _y (H))	6,0

TAB.3. Parametry polaryzacji anodowej próbek wyjściowych i pokrytych warstwami w 0,1m NaCI. TAB.3. Parameters of anodal polarization of coa-

ted and uncoated samples (in 0,1m NaCl).

Piśmiennictwo

[1] S. Błażewicz, L. Stoch; "Biomateriały"; ed. M.Nałęcz; "Biocybernetyka i Inżynieria Biomedyczna 2000"; tom 4; Akademicka Oficyna Wydawnicza EXIT; Warszawa; 2003.

[2] J. Marciniak; "Biomateriały"; Wydawnictwo Politechniki Śląskiej; Gliwice; 2002.

[3] T. Wierzchoń, E. Czarnowska, D. Krupa; "Inżynieria powierzchni w wytwarzaniu biomateriałów tytanowych"; Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej; Warszawa; 2004.

[4] J.B. Bruski, A.F. Moccia, S.R. Pollack, E. Kerastoff; J. Dent. Res.; 58;1979;1953.

[5] B.D. Boyan, T.W. Humbert, K. Kiestrett et al.; Cells Mat.; 5; 1995; 323.



RYS.3. Krzywe polaryzacyjne powierzchni stopu Ti – 6AI – 4V: krzywa A - próbka wyjściowa, krzywa B – z warstwą C:N:H – katoda, krzywa C - z warstwą C:N:H – anoda, krzywa D - z warstwą SiC_xN_y(H); w 0,1m NaCI.

FIG3. Polarization curves of the Ti-6AI-4V alloy surface: curve A - initial uncoated sample, curve B – sample coated with C:N:H/cathode layer, curve C - with C:N:H/anode layer, curve D - with SiC_vN_v(H) layer; in 0,1m NaCI.

> of the surface of Ti and the Ti-6Al-4V alloy for medical applications. They exhibit best usable parameters such as good hardness, high resistance to abrasion and resistance to corrosion.

References

[6] B.D. Boyan, S. Lassdorfer, L. Wang et al.; Eur. Cel Mater.; 3; 2003; 15.

[7] D.L. Cohran, P.V. Numikowski, F.L. Higgenbottom et al.; Chin. Oral. Implants Res.; 7; 1996; 240.

[8] D. Buser, R. Herieslene – Stern, J.P. Bernard et al.; Chin. Oral. Implants Res.; 8; 1997; 161.

[9] J. Breme; Mem. Sci. Rev. Metall.; 10; 1988; 625.

[10] J.J.A.M. van Raay, P.M. Rozing et al.; "Titanium in Medicine";

Springer – Verlag; Berlin; Heidenberg; 2001. [11] E. Broitman, W. Macdonald, N. Hellgren et al.; Diamond and Related materials; 9 (2000); 1984 - 1991.
¹³⁶ BIOAKTYWNOŚĆ IN VITRO ZDEFORMOWANEJ PRZEZ GIĘCIE ANODOWEJ WARSTWY WIERZCHNIEJ STOPU TI6AL4V ELI

Agnieszka Kierzkowska, Elżbieta Krasicka-Cydzik

UNIWERSYTET ZIELONOGÓRSKI, UL. PODGÓRNA 50, 65-246 ZIELONA GÓRA

Słowa kluczowe: stop tytanu, bioaktywność, warstwa anodowa, gięcie, impedancja [Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),136-139]

Wprowadzenie

Stop Ti6Al4V ELI jest najczęściej używanym implantowym stopem dwufazowym α+β. Stop ten jest ulepszonym odpowiednikiem stosowanego wcześniej stopu Ti6Al4V, o niższej zawartości pierwiastków międzywęzłowych żelaza, wodoru i tlenu oraz nieco gorszych wskaźnikach wytrzymałościowych. Charakteryzuje się natomiast ulepszoną odpornością na korozję naprężeniową i dobrą kombinacją cech użytkowych: obrabialnością, podatnością do obróbki cieplnej i spawania [1].

W celu poprawy bioadhezji i odporności na korozję, implanty tytanowe są często poddawane obróbce anodowej [2,3]. Proces ten może również wpłynąć na właściwości mechaniczne stopu implantowego [4,5]. W poprzednich pracach [4,6] badano wpływ gięcia na stan powierzchni i odporność korozyjną stopu Ti6Al4V ELI w roztworze Ringera. Celem obecnej pracy jest badanie zmian bioaktywności odkształconej przez gięcie warstwy anodowej na implantowym stopie Ti6Al4V ELI podczas przechowywania w sztucznym płynie fizjologicznym (SBF) na podstawie zmian impedancji aktywowanej mechanicznie powierzchni w strefie oddziaływania maksymalnych naprężeń rozciągających.

Materiały i metody

Badano próbki walcowe ze stopu tytanu Ti6Al4V ELI (skład chemiczny: C: 0.08, O: 0.2, H:0.015, V: 3.95, Al: 6.20, pozostałe pierwiastki: 0.3 wt.%, Ti: reszta) o średnicy 6 mm i długości 40 mm, które anodowano w 0,5 M roztworze kwasu fosforowego [2,3]. Plastyczne odkształcenie przez gięcie (o kąty 10°, 20°, 30°) wykonano z zachowaniem analogii do śródoperacyjnego kształtowania prętów chirurgicznych. Część próbek pozostawiono w stanie nieodkształconym. Do pomiarów eksponowano 0,3cm² powierzchni (w strefie występowania maksymalnych naprężeń rozciągających). Szczegółowy opis przygotowania próbek przedstawiono poprzednio [4,6].

W pracy oceniano przebieg zmian parametrów elektrochemicznych (potencjałów korozyjnych i charakterystyk impedancyjnych), dla zdeformowanej warstwy wierzchniej na stopie implantowym po zanurzeniu w sztucznym płynie fizjologicznym SBF [7]. Wykonano także badania mikroskopowe z mikroanalizą pierwiastków (SEM+EDS). Testy elektrochemiczne (E_{kor}, EIS) przy użyciu zestawu ATLAS 9831 prowadzono po 1h od zanurzenia, a następnie kontynuowano po 1, 3, 6, 9 i 12 dniach przechowywania w SBF. Charakterystyki impedancyjne rejestrowano dla sygnału 5 mV w zakresie częstotliwości od 105Hz÷0.18Hz. Otrzymane spektra EIS interpretowano po dopasowaniu metodą najmniejszych kwadratów (R²=0,03÷0,15) do zastępczego

BIOACTIVITY IN VITRO OF DEFORMED BY BENDING ANODIC SURFACE LAYER ON TI6AL4V ALLOY

Agnieszka Kierzkowska, Elzbieta Krasicka-Cydzik

UNIVERSITY OF ZIELONA GORA, UL. PODGORNA 50, 65-246 ZIELONA GORA

Keywords: titanium alloy, bioactivity, anodic layer, bending, electrochemistry [IEngineering of Biomaterials, 58-60,(2006),136-139]

Introduction

The Ti6Al4V extra-low interstitial (ELI) alloy is the most widely used for biomaterial applications. The Ti6Al4V ELI, which is an α/β titanium alloy, has a good combination of strength and toughness. It also has a good balance of workability, heat treatability and weldability. The Ti6Al4V ELI alloy is the developed version of previously used in implantology the Ti6Al4V alloy of higher resistance to stress corrosion [1]. In order to improve the bioadhesion and the corrosion behaviour, titanium implant materials are often surface modified by anodizing [2,3]. These surface treatments can influence the mechanical properties of the implant alloy [4,5]. The life-time of the implant can be influenced by structural and morphological changes of the alloy surface. Thus, the characterization of mechanically induced surface damages such as microcracks is of major interest to satisfactorily predict the long term in vivo behaviour of implant materials. In our former works [4,6] the surface characteristics and the measurement of the free corrosion potential allowed the detection of surface damage in bending tests of anodized Ti6Al4V ELI alloy. The aim of the work is to evaluate the behaviour of the anodic layer on the Ti6Al4V ELI alloy, deformed by bending, during its immersion in simulated body fluid (SBF). The evaluation is based on the changes of the surface bioactivity and protective properties in the zone of the maximum tensile stresses.

Materials and method

The Ti-6AI-4V alloy (chemical composition: C: 0.08, O: 0.2, H:0.015, V: 3.95, Al: 6.20, other elements 0.3 wt.%, Ti: balance) cylindrical specimens of 6mm diameter were used. The test specimens were anodized with galvanostatic mode in phosphoric acid [2,3]. Plastic deformation of specimens (by bending at angles: 10°, 20° and 30°) was performed according to a pre-operative procedure of shaping the spinal rods. An area of approximately 0.3 cm² of the alloy surface (in max. tensile zone) was left uncovered for tests. The behaviour in vitro was estimated on the basis of the electrochemical parameter changes (corrosion potential Ecorr, impedance factors) after immersing the specimens into simulated body fluid (SBF) [7]. Impedance spectra (EIS) and corrosion potential E_{corr} measurements were performed after one hour and 1, 3, 6, 9 and 12 days after immersion in SBF with the use of ATLAS 9831. The measurement of the EIS was performed at the open circuit potential applying of 5mV (rms) wave in 105Hz÷0.18Hz frequency range across the cell. The EIS data could be well fitted with the equivalent circuit given in FIG.1, based on the consideration of a twolayer model for the surface film. The circuit represents the electrochemical behavior of a metal covered with a barrier



RYS.1. Układ zastępczy i model warstwy anodowej na stopie Ti6Al4V [3,8,9]. FIG.1. Equivalent circuit and model of surface layer on the Ti6Al4V.

układu elektrycznego (RYS.1). Według [3,8,9] ten typ modelu wskazuje na występowanie warstwy anodowej, złożonej z dwóch subwarstw: zwartej wewnętrznej i porowatej zewnętrznej zbudowanych głównie z tlenku tytanu TiO₂. Wielkości R_{bi} i C_{bi} reprezentują odpowiednio opór i pojemność warstwy zwartej pokrywającej metal (barrier layer), natomiast wielkości R_{pi} i C_{pi} reprezentują opór i pojemność warstwy porowatej (porous layer). Wielkość R_s jest oporem SBF na powierzchni i pomiędzy porami warstwy. Badania wykonywano dla podwójnych próbek, powtarzając każdy pomiar trzykrotnie (wielkość błędu nie przekraczała 5%).

Wyniki

W wyniku zginania próbek badanego stopu następowała mechaniczna aktywacja warstwy wierzchniej stopu objawiająca się spadkiem potencjałów korozyjnych E_{kor} zależnym od kąta gięcia (RYS.2). Najniższe wartości E_{kor} zanotowano dla powierzchni oddziaływania największych naprężeń rozciągających w próbce giętej pod kątem 30ş. W trakcie przechowywania w SBF zaobserwowano jednak tendencję do wyrównywania potencjałów korozyjnych próbek, które po 12 dniach mieściły się w zakresie 360÷420 mV. Jak widać na RYS.2 oznaczało to odpowiednio obniżenie E_{kor} dla słabo odkształconych próbek (0° i 10°) oraz wzrost E_{kor} dla próbek giętych pod wyższymi kątami (20° i 30°).

Różnicom w wartościach potencjałów korozyjnych próbek giętych pod różnymi kątami towarzyszyły różnice ich charakterystyk impedancyjnych (diagramy Bode, RYS.3 i 4). Krzywa Bode dla próbki nie odkształconej posiadała dwa czasy relaksacji (dwupoziomowa struktura warstwy: metal/ tlenek) (RYS.3a). Na pozostałych krzywych dla próbek giętych, podobnie jak dla próbki nie pokrytej ochronną warstwą anodową, występowała jedna stała czasowa, co wskazuje na prawdopodobieństwo kontaktu metalu z elektrolitem i przerwanie ciągłości warstwy anodowej. Wraz z kątem gięcia rośnie opór elektrolitu Rs i maleje kąt przesunięcia fazowego θ (RYS.3a i 5), potwierdzając wcześniejsze obserwacje [4,6] o cechach strukturalnych odkształconych warstw. W czasie przechowywania w SBF, jak widać na diagramach Bode dla próbki giętej pod kątem 20° (RYS.4), warstwa wierzchnia już po 36 godzinach wykazuj przebieg odpowiadający strukturze dwupoziomowej, a po 12 dniach w SBF (RYS.3b) każda z próbek charakteryzuje się bardzo wyraźnie taką strukturą. Zestawione w tabeli 1 wartości parametrów elektrycznych opisujących warstwy na próbkach po dopasowaniu do przyjętego modelu wskazują niekorzystny wpływ naprężeń rozciągających na stan warstwy anodowej bezpośrednio po gięciu. Przejawia się to obniżeniem oporu



RYS.2. Wartości potencjałów korozyjnych Ekor dla próbek ze stopu Ti6Al4V nie odkształcanych i po gięciu przechowywanych w SBF FIG.2. Corrosion potential Ecorr values of the Ti6Al4V alloy samples non-deformation and after bending recorded in SBF.



RYS.3. Wykresy impedancyjne Bode`a dla próbek ze stopu Ti6Al4V nie deformowanych i odksztalcanych po: a) 1 dniu, b) 12 dniach w płynie SBF (298 K, pH 7.4) FIG.3. Impedance spectra (Bode`a diagram) for anodized Ti6Al4V alloy non-deformed and deformed specimens after: a) 1 day, b) 12 days in SBF fluid (298 K, pH 7.4)



RYS. 4. Wykresy impedancyjne Bode`a dla próbki giętej pod kątem 20° otrzymane podczas przechowywania w płynie SBF (298 K, pH 7.4) FIG.4. Impedance spectra (Bode`a diagram) for specimen bending angle 20° recorded during immersion in SBF fluid (298 K, pH 7.4) **BIOMATERIAŁÓW**

137

.



RYS.5. Parametry Rs dla próbek ze stopu Ti6Al4V w czasie przechowywania w płynie SBF. FIG.5. Rs parameters for samples of Ti6Al4V alloy recorded during immersion in SBF fluid.

warstwy barierowej R_{bl} , wzrostem obu pojemności C_{bl} i C_{pl} oraz oporu elektrolitu pomiędzy porami R_s w miarę zwiększania kąta gięcia (RYS.5).

W trakcie przechowywania w SBF opory R_{bl} wykazują tendencję spadkową, natomiast pojemności C_{bl} wzrastają w przypadku próbek nie odkształconych oraz giętych pod kątem 10°, co wskazuje na zjawiska pogarszające jakość warstwy. Dla próbek giętych pod wyższymi kątami (20°, 30°) zanotowano nieznaczne zmiany pojemności C_{bl} oraz wyraźny wzrost oporu R_{bl} co z kolei świadczyć może o zwiększeniu grubości wewnętrznej warstwy barierowej lub poprawie jej szczelności przez pokrywanie tlenkami lub/i składnikami roztworu. Powyższe tendencje odpowiadają kierunkom zmian wartości E_{kor} przedstawionych wcześniej na RYS.2.

Wyniki testów impedancyjnych zostały potwierdzone rezultatami badań SEM i EDS. Na powierzchniach badanych próbek w strefie działania maksymalnych naprężeń po ich przechowaniu przez 12 dni w roztworze SBF (rys.6) stwierdzono liczne wydzielenia Ca-O-P (EDS) pokrywające zwłaszcza mikropęknięcia w warstwie anodowej.

Podsumowanie

Elektrochemiczna analiza stanu warstwy anodowej na

k	ąt/	R _s	C _ы ∙10 ⁻⁶	C _{pl} ·10⁻ ⁶	R _ы ·10⁴	R _{pl} ⋅10⁴
an	igle	[Ω·cm ²]	[F·cm ⁻²]	[F·cm ⁻²]	[Ω·cm ²]	[Ω·cm ²]
	1d	20.9	1.2	0.3	19.3·10 ¹⁶	7.0
	3d	20.7	1.4	0.5	90.5·10 ¹⁵	1.8
0°	6d	17.5	13.7	1.0	11.5·10 ¹⁵	1.5
	9d	16.6	24.5	1.8	63.0·10 ¹³	1.3
	12d	15.5	24.6	2.0	14.9·10 ¹¹	1.5
	1d	33.3	16.0	2.5	246.0	0.4
10°	3d	32.1	16.9	2.0	112.0	0.3
	6d	31.0	16.9	1.4	86.6	0.2
	9d	28.8	16.9	2.3	70.3	0.3
	12d	28.9	16.6	2.4	91.0	0.2
	1d	35.7	23.2	1.8	33.8	5.0
	<u>3d</u>	32.1	22.9	1.7	42.0	1.4
20°	<u>6d</u>	30.3	20.9	1.7	50.3	0.5
	9d	29.6	21.3	1.8	58.2	0.4
	12d	28.7	19.4	1.8	68.7	0.8
	1d	36.7	25.5	3.1	7.6	12.1
	3d	35.7	23.5	2.9	14.5	7.4
30°	6d	33.0	25.0	2.8	21.7	5.4
	9d	31.1	25.3	2.7	28.6	2.1
	124	20.6	24.4	25	20 5	15

TABELA 1. Wartości parametrów analizy EIS dla próbek bez gięcia i giętych wykonanych ze stopu. Ti6AI4V

TABLE 1. Parameters of EIS analysis for nonbent and bent samples of the Ti6AI4V alloy. and porous films [3,8,9]. The equivalent circuit consists of the following elements: a solution resistance $R_{\rm s}$ of the test electrolyte, the capacitances $C_{\rm bl}$ and $C_{\rm pl}$, the resistances Rbl and $R_{\rm pl}$ of the barrier and porous layers, respectively. The quality of fitting was judged by the error (of less than 5%) distribution vs. the frequency comparing experimental with simulated data for the model.

Results

Bending–induced surface damages can be detected more precisely with the electrochemical techniques and characterized by corrosion potential and impedance measurements. In FIG.2 the values of the open circuit potential as a function of the immersion time are shown for the anodically oxidized and bent specimens. The corrosion potential remain continuously decreasing for specimens bent at lower angles. With increasing bending angle, the initial decrease of the potential becomes more pronounced, but a slow increase and recovery of E_{corr} can be observed during the experiment. Referring to the results of E_{corr} measurements, it can be proposed that bending leads to a decrease of the protective properties of anodic layer of titanium alloy. The experimental setup allows the investigation of the impedance behaviour and measurements of potential in open circuit conditions.

Typical examples of the impedance spectra obtained at different exposure times are shown in FIGs.3 and 4. The differences in in corrosion potential values were accompanied by differences in Bode spectra (FIG.3), which correspond to layers on specimens bent at various angles. On Bode curves for not deformed specimen two time constants are observed (two-layer model metal/oxide). Other curves for deformed specimens, similarly as for not anodized specimen (FIG.3a) reveal only one-time constant, which very likely indicate the contact of metal with electrolyte and rupture of oxide. The electrolyte resistance Rs increases and $\boldsymbol{\theta}$ angle decreases with bending angle (FIG.3a and FIG.5), which confirms the previous observations [4,6] about a significant porosity of deformed surface layers. However, after about 36 h in SBF, as can be seen in FIG.4 for the specimen bent at angle 20°, the Bode diagrams show shapes corresponding to two-layer structure, and after 12 days in SBF solution all specimens show clearly the same characteristics. Values of the impedance parameters, summarized in TABLE 1, confirm the non advantageous effect of bending and the recovery of surface layer parameters due to immersion in SBF solution. It is evidenced by the decrease of barrier layer resistance Rbl, the increase of both capacities C_{pl} i C_{pl} , and the electrolyte resistance Rs with the increase of bending angle (FIG.5). SEM investigations on bending specimens were performed in order to determine the damage characteristics of anodically oxidized specimens due to bending and their appearance after immersion in SBF solution. FIG.6 is a scanning electron micrograph showing Ca-O-P deposits covered microcracks observed in maximum tensile stress zone of the specimen bent at 20° angle.

Conclusions

The interruption of the anodic layer of the anodized alloy Ti6A14V and micro-breaks on the metal surface were observed due to bending at angle exceeding 10°. These features of the surface layer, confirmed by lower corrosion potential values and characteristic changes of impedance parameters revealed that characteristic double-layer structure of anodic film on the surface was no longer observed after deformation. However, when immersed in SBF solution for at least 3 days the samples showed the recovery of the stopie Ti6Al4V ELI po odkształceniu wskazywała, że po przeprowadzeniu gięcia o kąt > 10° zanotowano obniżenie wartości potencjału korozyjnego Ekor w obszarach maksymalnych naprężeń rozciągających oraz takie zmiany parametrów impedancyjnych (pojemności i oporów), które świadczyły o zaniku w tych obszarach dwu-poziomowej struktury warstwy powierzchniowej metal-tlenek. Podczas przechowywania w roztworze SBF już po 2-3 dniach dochodziło do wyrównywania wartości Ekor oraz przywrócenia charakterystycznej dwupoziomowej struktury warstwy. Obserwacje SEM i analizy EDS dowiodły obecności licznych wydzieleń Ca-P-O w miejscach deformacji, a ich ilość oraz lokalizacja wskazały na zwiększoną skłonność aktywowanej mechanicznie powierzchni metalu do pokrywania się składnikami roztworu SBF w porównaniu do warstw na próbkach nie zginanych [10,11].

Obróbka wykańczająca (polerownie, anodowanie z polerowaniem elektrochemicznym) powoduje podwyższenie energii powierzchniowej stopu tytanu. Po zanurzeniu w SBF dochodzi do wymiany jonów w strefie kontaktu elektrolit/biomateriał związanej z rozpuszczaniem warstwy tlenkowej i osadzaniem składników elektrolitu. Powoduje to początkowo czasowe obniżenie własności ochronnych warstwy, w przypadku próbek nie odkształconych i giętych pod katem 10°, gdzie została zachowana ciągłość warstwy anodowej pokrywającej metal. Dla kątów o wyższych kątach gięcia, w wyniku przerwania "napiętej" w procesie obróbki technologicznej warstwy anodowej, pojawiają się mikropęknięcia i odsłania się tworzywo metalowe. Badania wykazały, że tak odkształcone anodowe warstwy wierzchnie na badanym stopie tytanu wykazują silne powinowactwo do wydzielania składników SBF, a więc dużą bioaktywność.

Wyniki badań wskazują, że procesy związane z deformacją warstwy anodowej na implantowym stopie tytanu wpływają na zwiększenie jej bioaktywności in vitro i pokrywania się porowatym hydroksyapatytem w miejscach odkształceń.

Podziękowanie

Praca naukowa finansowana przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższegow latach 2006-2007 jako projekt badawczy (nr 0484/T02/2006/30)



RYS.6. Obserwacje SEM i analiza EDS ze składnikami Ca-O-P w strefie rozciąganej na giętej próbce (kąt gięcia 20°). FIG.6. SEM and EDS results of EDS analysis for Ca-O-P deposits in the tensile stress zone of bent specimen (bending angle 20°).

layer structure and numerous Ca-P-O deposits on the surface [10,11]. The number and localization of the deposits showed the stimulating effect of the surface polarization (negative) and topography on the deposition of SBF components and formation of hydroxyapatite on the mechanically activated surface of the alloy.

The surface finishing (polishing and anodizing with electrochemical polishing) increases the surface energy of the alloy. After immersing in SBF the exchange of ions at electrolyte/biomaterial interface in two opposite processes: the oxide layer dissolution and the deposition of electrolyte components form the equilibrium of the system. Depending on the prevailing process during the first days of immersing, the decrease of the appropriate corrosion parameters are observed in case of the less deformed specimens, for which the anodic layers were not broken. As the result of breaking of anodic layer in case of higher bending angles, microcracks and naked metal appear, giving rise to the deposition of the electrolyte components.

Deformation of anodic layer on implant titanium alloy induces the increase of bioactivity in vitro and enhances the coating of deformed area by SBF components, which form porous hydroxyapatite and stimulate faster growth bone tissue.

Acknowledgements

The authors thank the Ministry of Science and Higher Education for the financial support of this work (0484/T02/2006/30).

References

Piśmiennictwo

[1] J. Marciniak, W. Chrzanowski, J. Żak, Engineering of Biomaterials; 30-33 (2003), 56-58.

[2] E. Krasicka-Cydzik, PL Patent 367556, 2003.

[3]. E.Krasicka-Cydzik, Formation of thin anodic layers on titanium and its implant alloys in phosphoric acid solutions, Zielona Gora, 2003.

[4] A.Kierzkowska, M.Malinowski; E. Krasicka-Cydzik, Journal of Achievements in Mat.and Manuf. Eng., Vol. 18 (2006), 139-142.
[5] I. Milosev, M. Metikos–Hukovic, HH. Strehlblow, Biomaterials, 2000;21(20):2103–13 [6] A. Kierzkowska, E. Krasicka-Cydzik, M. Jenek, Eng.of Biomaterials, 47-53 (2005), 146-148.

[7] T. Kokubo, H. Takadama; Biomaterials 27 (2006), 2907-2915.
[8] I.C. Lavos-Valereto, S. Wolynec; Journal of Materials Science, Mat. in Medic., 15 (2004), 55-59.

[9] R. Venugopalan, J.J.Weimer, M.A. George, L.C. Lucas; Biomaterials, 21 (2000), 1669.

[10] E. Krasicka-Cydzik, A. Kierzkowska; Eng.of Biomaterials; 37 (2004), 53-56. MATERIALÓW

140 OCENA ZAGROŻENIA ABSOR-PCJĄ WODORU W WARSTWIE ANODOWEJ STOPU TI6AL4V W WYNIKU DEFORMACJI PRZEZ GIĘCIE

ELŻBIETA KRASICKA-CYDZIK, AGNIESZKA KIERZKOWSKA

Uniwersytet Zielonogórski, ul. Podgórna 50, 65-246 Zielona Góra

Słowa kluczowe: stop tytanu, warstwa anodowa, gięcie, wodór [Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),140-143]

Wstęp

Tytan wykazuje wysoką skłonność do absorpcji wodoru i tworzenia fazy wodorowej. Zauważono koncentracje wodoru, które mogą pojawić się w implantach podczas ich produkcji i użytkowania (w czasie operacji kucia, procesu sterylizacji, kontaktu z płynami stawowymi). Doniesienia literaturowe wskazują na związek pomiędzy stanem naprężeń, a zmianami właściwości korozyjnych wywołanymi absorpcją wodoru w warstwie pokrywającej zdeformowany biomateriał. W pracach [1,2] podkreślono wpływ stanu i wartości naprężeń na szybkość wzrostu pęknięcia w stopie Ti6Al4V. Powstawanie pęknięć wiązane jest z absorpcją w warstwie wierzchniej wodoru powodującego na początku odkształcenia zmiękczenie stopu głównie poprzez ruchliwość dyslokacji, a następnie kruchość wodorową. Wyniki badań ciał stałych w skali nanoskopowej z wykorzystaniem zjawisk elektrochemicznych opisane w [3] dowiodły, że atomy wodoru ułatwiają jednorodną dyslokację. Korzystny wpływ naprężeń ściskających i negatywne skutki powierzchniowych naprężeń rozciągających z większą liczbą wakansów na stali 316 opisano w pracy [4]. Na niebezpieczeństwo występowania max. naprężeń rozciągających w stalach o wysokiej wytrzymałości zwracają uwagę autorzy w [5], gdzie materiał wykazuje szczególną zdolność do gromadzenia wodoru i powstawania pęknięć. Wg [5,6] naprężenia wpływają na obniżenie wewnątrz szczeliny pH i zwiększenie lokalnego ciśnienia wodoru prowadząc do rozerwania metalu. Wodór może absorbować na powierzchni metalu podczas procesów elektrochemicznych [5,7].

Wystąpienie wodoru warunkowane jest trzema stanami, które zwykle muszą wystąpić jednocześnie: 1) pH musi być mniejsze od 3 lub większe od 12; 2) przyłożone potencjały muszą mieć wartości niższe od –0,70V i 3) powierzchnia metalu musi być uszkodzona [7]. W zakresie pH 3÷12, warstwa tlenku na tytanie jest trwała i stanowi barierę dla penetracji wodoru. Sytuacja pogarsza się, gdy prądy w zakresie katodowym generują powstawanie wodoru bezpośrednio na powierzchni tytanu.

Najistotniejszą kwestią jest stan powierzchniowy materiału wynikający z deformacji warstwy wierzchniej, co jest przedmiotem rozważań przedstawionych w pracy. Wg [7-9] czyste naprężenia ściskające i uszkodzenia tlenków mogą wpływać na wzrost ilości wodoru przy niskich potencjałach. Mechaniczne rozerwanie warstwy ułatwia dostęp wodoru do znajdującego się pod spodem tytanu bez względu na poziom pH. W [8] wykazano związek pomiędzy generowaniem w warstwie anodowej na stopie tytanu naprężeń a absorpcją/desorpcją wodoru. W wyniku katodowego odchylenia potencjału (w zakresie od -0.2 do -0.75 V), w warstwie zaobserwowano wzrost naprężeń ściskających w wyniku zmiany

ESTIMATION OF THE RISK OF HYDROGEN ABSORPTION IN ANODIC LAYER ON TI6AL4V ELI DUE TO DEFORMATION BY BENDING

ELZBIETA KRASICKA-CYDZIK, AGNIESZKA KIERZKOWSKA

UNIVERSITY OF ZIELONA GORAI, UL. PODGORNA 50, 65-246 ZIELONA GORA

Keywords: titanium alloy, anodic layer, bending, hydrogen

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),140-143]

Introduction

itanium has been shown to be highly susceptible to hydrogen absorption and hydride phase formation in the presence of even minor quantities of hydrogen. There are many potential sources for hydrogen to be introduced into the implant during its manufacture and service (residual hydrogen in the ingot, hydrogen due to the forging operations, sterilization procedures, fluid in the joint cavity). Moreover, literature data show the relationship between the state of stresses and the change of protective properties of anodic layer due to the absorption of hydrogen in the deformed surface layer covering the biomaterial. The effect of stress on the rate of cracking due to hydrogen absorption in surface layer of the Ti6Al4V ELI alloy, which leads at the beginning to alloy softening and then to hydrogen embrittlement, has been described by Zielinski i.e [1,2]. According to Barnoush i.e [3] hydrogen atoms stimulate dislocations. Vignal [4] indicated advantageous effect of compressive stresses and negative influence of surface tensile stresses with higher number of vacances, caused by hydrogen, on properties of 316 SS. The risk of stress corrosion cracking is very high in zones of max tensile stresses in high strengh steels [5], which are very sussceptible to hydrogen uptake. Stresses in material decrease values of pH inside cracks and increase local hydrogen pressure, which break the metal [5,6]. Hydrogen may absorb on the surface due to electrochemical processes [5,7]. Three conditions must usually exist simultaneously for hydriding to occur: 1) the pH of the solution is less than 3 or greater than 12; 2) impressed potentials are more negative than -0.70V, or 3) the metal surface must be damaged [7]. Within the range pH 3 to 12, the oxide film on titanium is stable and presents a barrier to penetration by hydrogen. A more serious situation exists when cathodically or galvanically induced currents generate nascent hydrogen directly on the surface of titanium. Impressed currents involving cathodic potentials more negative than -0.7V in near neutral media can result in hydrogen pickup in long-term exposures. The most relevant to the conditions of material considered in this work is deformation of surface layer. There is some evidence that severe tensile stresses and breakdown of the oxide may promote hydriding at low potentials [7-9]. Mechanical disruption of the film facilitates access of available hydrogen to the underlying titanium metal at any pH level. Kim i.e [8] indicated evident relationship between generation of stresses in anodic layer on titanium and absorption/desorption of hydrogen. The shift of potential toward cathodic direction within -0.2÷-0.75 V, generates compressive stresses in anodic film due to hydrogen absorption, followed by the compositional change of anodic oxide film from TiO₂ to TiO₂ (OH), and the corresponding volume składu z TiO₂ do TiO_{2-x}(OH)_x wywołanej reakcją wchłaniania wodoru. I odwrotnie, przy zmianie naprężenia następowała zmiana wartości potencjału, odnoszona do odwrotnej przemiany: TiO_{2-x} (OH)_x = TiO₂+xH_{aq}⁺ + xe⁻. Udowodniono, że największe naprężenia w czasie absorpcji/desorpcji wodoru znajdują się w anodowej warstwie tlenku. Wyniki badań przedstawione przez Xie i in. [9] wykazały bardzo korzystny wpływ wody i plazmowej obróbki wodorowej na poprawę bioaktywności powierzchni w wyniku implantacji wodoru w pobliżu uszkodzeń. Po inkubacji w SBF zaobserwowano wytrącenia zarówno kości, jak i hydroksyapatytu.

Celem pracy jest analiza możliwych zagrożeń związanych z absorpcją wodoru w wyniku aktywacji mechanicznej implantowego stopu Ti6Al4V wywołanej gięciem -w strefach występowania maksymalnych naprężeń rozciągających (I) oraz ściskających (II) - po zanurzeniu w sztucznym płynie fizjologicznym (SBF) [10].

Materiały i metody

Próbki wykonane z implantowego stopu Ti6Al4V (o długości 40 mm i średnicy. 6 mm) anodowano w kwasie fosforowym wg [11]. Następnie odkształcano plastycznie (o kąty 10°, 20° i 30°) z zachowaniem analogii do śródoperacyjnej procedury kształtowania elementów prętowych. Do pomiarów eksponowano 0,3 cm² powierzchni próbek w strefie działania maksymalnych naprężeń rozciągających (I) oraz dla kąta gięcia 20° dodatkowo badaniom poddano strefę o działaniu maksymalnych naprężeń ściskających (II). Stan naprężeń w odkształconym pod różnymi kątami pręcie

oceniano w oparciu o metodę elementów skończonych MES, natomiast jakość stereometryczną warstwy wierzchniej analizowano w oparciu o pomiary chropowatości (2D i 3D) i obserwacje mikroskopowe z wykorzystaniem odpowiednio profilografometru PGM-1C i kamery AVT-HORN. Pomiary oraz testy elektrochemiczne w układzie trójelektrodowym, z nasyconą elektrodą kalomelową (NEK) i platynową elektrodą pomocniczą (E_{kor} , wykresy Bode w zakresie częstotliwości 10⁵ Hz÷0.18 Hz) przeprowadzone niezwłocznie po zanurzeniu w roztworze SBF wg [10] (pH=7.4, 25°C), posłużyły do oceny stopnia elektrochemiczno-mechanicznych zmian powierzchniowych w badanym stopie.

 ⁵ Hz÷0.18 Hz) przeprowadzone niezwłocznie po zanuteniu w roztworze SBF wg [10] (pH=7.4, 25°C), posłużyły o oceny stopnia elektrochemiczno-mechanicznych zmian owierzchniowych w badanym stopie.

b)

RYS.1. Wygląd powierzchni po zgięciu (kąt 20°): a) strefa rozciągana (I) i b) strefa ściskana (II) [12]

1 mm

1 mm

FIG.1. Surface appearance after bending (angle 20°): a) tensile stress zone (I) and b) compressive stress zone (II) [12]

expansion. Change of the layer strain causes the change of potential and generates the reverse reaction $TiO_{2-x}(OH)_x$ = $TiO_2 + xH_{aq}^+ + xe^-$. The authors evidenced that most of stresses generated during the hydrogen absorption/desorption reside in the anodic oxide film. Very recent work by Xie i.e [9] revealed very advantageous effect of water and hydrogen plasma treatment of titanium, which introduces near-surface damages that trap hydrogen implanted in the subsequent step to improve the surface bioactivity. After incubation in SBF bone-like hydroxyapatite was found to precipitate on samples and human osteoblast cells exhibited good adhesion and growth. The aim of the work is to evaluate the consequences of possible hydrogen absorption in the max tensile stress zones of mechanically activated by bending samples of the anodized Ti6Al4V ELI alloy after immersion in simulated body fluid (SBF) [10].

Materials and method

Anodic oxide films on were formed the Ti6Al4V ELI alloy rods (40 mm long, diam. 6 mm) used as the working electrodes at 60 V according to [11] in 0.5 M H₂PO₄ solution at room temperature. Plastic deformation (bending at 10°, 20° and 30° angles) of anodized Ti6Al4V ELI alloy was performed according to the typical pre-operative procedure of spinal rods. An area of approximately 0.3 cm² of two zones: the max tensile (I) and the max compressive stress (II) of the alloy surface was left uncovered for tests. The stress and deformation of the Ti6Al4V ELI alloy rod after the plastic bending was characterized by FEM analysis. The stereometry of surface layer was evaluated by roughness 2D and 3D measurements and microscopy observations with prophilograph PGM-1C and camera (AVT-HORN), respectively. The above results together with the electrochemical measurements (*E_{cor}*, impedance analysis), carried out after immersion in SBF fluid (pH=7.4, 25°C) were used to evaluate in vitro the electrochemical-mechanical characteristics of surface layer and the possible hydrogen uptake by bent samples after implantation.

Results

Due to bending the changes of surface properties were observed (FIGs.1 and 2), characterized by the increased parameteres of microhardness, the concentration of stresses [12] and microcraks. After immersing in SBF the decrease of corrosion potential was noticed (FIG.3) and corresponding changes of impedance characteristics observed (Fig.4). Not-anodized and not-deformed specimens acquire the lowest corrosion potentials $E_{corr} \approx -270$ mV (SCE) in SBF. In case of anodized and bent samples corrosion potentials



RYS.2. Stan naprężeń i odkształceń w pręcie ze stopu Ti6Al4V (gięcie pod kątem 20°), wg Von Misesa: a) naprężenia zredukowane, b)odkształcenia plastyczne [12]. FIG.2. Stress and strain distribution in rod made of Ti6Al4V (bending angle 20°), Von Mises: a) reduced stress, b) plastic deformation [12].

142 Wyniki

Gięcie wywołało zmiany powierzchniowe na próbkach (RYS.1 i 2), charakteryzowane zwiększającymi się w miarę wzrostu kąta wartościami parametrów chropowatości, występowaniem mikropęknięć oraz koncentracją naprężeń [12].

Po zanurzeniu próbek w SBF zanotowano niekorzystne spadki potencjałów korozyjnych E_{kor} (RYS.3) oraz zmiany charakterystyk impedancyjnych związane ze stopniem od-kształcenia plastycznego (RYS.4). Próbki nie anodowane i nie odkształcone przyjmowały najniższe wartości $E_{kor} \approx -270$ mV (NEK). Naruszenie warstwy wierzchniej w wyniku gięcia przejawiało się spadkiem potencjałów korozyjnych: od 570mV (NEK) dla anodowanej próbki bez gięcia do 419÷280mV w miejscach występowania naprężeń rozciągających. Przy czym obszary rozciągane (I) mały niższe wartości E_{kor} w porównaniu do stref ściskanych (II).

Na diagramach Bode – RYS.4 miejsce struktury dwupoziomowej (szczelna warstwa anodowa) obserwowanej dla powierzchni nie odkształcanej, zajęła jednopoziomowa warstwa porowata (jak dla próbki bez warstwy anodowej), charakteryzowana również za pomocą wielkości elektrycznych o gorszych wartościach, świadczących o przerwaniu warstwy tlenkowej i wystąpieniu mikropęknięć w rejonie odkształcenia. Charakterystyczne jest również obniżenie na krzywych kąta θ związane ze wzrostem gięcia przy najwyższych częstotliwościach badanego zakresu.

Podsumowanie i wnioski

Rezultaty badań dowodzą o zróżnicowaniu własności powierzchni na implantowym stopie tytanu Ti6Al4V, który został poddany gięciu, w zależności od rodzaju panującego naprężenia (ściskające/rozciągające). Wyniki wskazują, że najniebezpieczniejszym obszarem powierzchni pod względem możliwości generowania wodoru w wyniku naruszenia stanu warstwy anodowej, jest strefa występowania maksymalnych naprężeń rozciągających. W rejonie tym zanotowano największą koncentrację naprężeń oraz największy lokalny wzrost chropowatości ze zmianą charakterystyki i wystąpieniem mikropęknięć, a tym samym zwiększeniem powierzchni czynnej pod względem elektrochemicznym. Jednak zakres zmian potencjałów korozyjnych, które w wyniku gięcia obniżyły się maksymalnie do wartości od +280 mV dla próbek giętych pod największym kątem wykluczają ryzyko wystąpienia w warstwie anodowej koncentracji zaabsorbowanego wodoru z powodu obniżenia $E_{_{kor}}$

Gięcie elementów prętowych do maksymalnych wartości kątów wynikających z narzędzia chirurgicznego (30°) nie niesie za sobą niebezpieczeństwa wystąpienia niszczenia wodorowego implantowych stopów tytanu z ochronną warstwą. Przeciwnie, pojawiające się w warstwie anodowej w wyniku absorpcji wodoru naprężenia ściskające eliminują negatywne skutki zginania i polepszają bioaktywność [14].

Podziękowanie

Praca naukowa finansowana przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższegow latach 2006-2007 jako projekt badawczy (nr 0484/T02/2006/30)





FIG.4. Bode diagrams $-\theta = f(logF)$ for samples of Ti6Al4V alloy in SBF, non-deformed and deformed by bending: a) for (I) zone and b) for (I) and (II) zones (angle 20°)



RYS.3. Potencjał korozyjny Ekor dla próbek ze stopu Ti6Al4V po zanurzeniu w SBF. FIG.3. Ecorr values for samples of Ti6Al4V alloy after immersion in SBF.

fall down from 570mV (SCE) specimen to the potentials ranging from 419 to 280mV (SCE) for the tensile zones on bent specimens. The tensile zones of the specimens show the lower values of E_{cor} in comparison to the corresponding values in the compressive zones.

It can be seen from the Bode's diagrammes (FIG.4) that two-layer structure of barrier film of not bent specimen is replaced by one-layer porous film on bent specimens, characterised also by worse parameters of impedance analysis. The characteristic feature of that layer are also much lower values of θ angles at the highest frequences.

Conclusion

Results of the work confirm that areas of different mechanical and electrochemical properties, which are dependent on the kind of stresses (tensile/compressive), are formed on the surface of the Ti6Al4V ELI alloy. The most deleterious effect of bending was observed in the zone (I) of the largest tensile stresses and deformations, which were also the lowest microhardness and corrosion potential regions of the specimens. However, the corrosion potential values never fall below +280 mV, which excludes the possibility to generate cathodically or galvanically induced. Thus, pre-bending of the anodized Ti6Al4V ELI alloy specimens up to 30° (max bending angle of the surgical tool) do not bring the risk of hydrogen absorption. On contrary, the compressive stress generated by the increase of volume due to absorption of hydrogen in the anodic layer eliminates negative features of bending and improves bioactivity [14].

Acknowledgements

The authors thank the Polish Ministry of Science and Higher Education for the financial support of this work (0484/T02/2006/30).

143

References

Piśmiennictwo

[1]. A. Zieliński: Niszczenie wodorowe metali nieżelaznych i ich stopów. Gdańsk 1999.

[2]. N.R. Moody, W.W. Garberich, Mat.Trans.13A (1982) 1055-1061.

[3]. A. Barnoush, H. Vehoff, Scripta Materialia 55 (2006) 195-198.
[4]. V. Vignal, C. Valot, R. Oltra, M. Verneau, L. Coudreuse, Corrosion Science 44 (2002), 1477-1496.

[5]. J.Blaszkiewicz, M. Kamiński, Podstawy korozji materiałów.W-wa 1997.

[6]. H. Bala, Korozja materiałów-teoria i praktyka. Inżynieria materiałowa nr 5, Częstochowa 2002 r.

[7]. http://www.timet.com/cor-p22.htm

ODPORNOŚĆ RADIACYJNA AROMATYCZNYCH POLIURETANÓW PRZEZNACZONYCH DO ZASTOSOWAŃ MEDYCZNYCH

Ewa Kornacka*, Janusz Kozakiewicz**, Grażyna Przybytniak*

*Instytyt Chemii i Techniki Jądrowej, ul. Dorodna 16, 03-195 Warszawa, Poland **Instytut Chemii Przemysłowej, ul. Rydygiera 8, 01-793 Warsaw, Poland E-mail: przybyt@ichtj.waw.pl

Streszczenie

Metodą spektroskopii EPR zbadano wpływ promieniowania gamma na poli(siloksanouretan) zbudowany z giętnikch segmentów oligodimetylosiloksanowych i sztywnych aromatycznych segmentów uretanowych. Stwierdzono, że wszystkie rodniki indukowane promieniowaniem jonizującym ulegają w obecności tlenu konwersji do rodników nadtlenkowych, będących prekursorami wielu grup funkcyjnych zawierających tlen. Proces przebiega w zakresie temperatur odpowiadających przejściu szklistemu domen siloksanowych t.j. powyżej 150 K. Utlenianie zapobiega sieciowaniu zachodzącemu pomiędzy rodnikami z centrum zlokalizowanym na atomach węgla, natomiast inicjuje tworzenie nowych grup polarnych i mostków tlenowych pomiędzy łańcuchami. Zatem obróbka radiacyjna znacząco modyfikuje charakter poliuretanu, nawet wtedy jeśli jeden z jego segmentów (aromatyczne pierścienie segmentów uretanowych) wykazują wyjątkowo dużą odporność na promieniowanie jonizujące.

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),143-145]

Wstęp

Poliuretany o budowie segmentowej są w ostatnim okresie celem intensywnych badań ze względu na ich rosnące z każdym rokiem zastosowanie w medycynie [np.1,2]. Elastomery te charakteryzuje wysoka biokompatybilność i dobre właściwości mechaniczne. Jednym z interesujących przykładów takich materiałów są poliuretany zawierające giętkie segmenty siloksanowe, które wpływają na poprawę

....

[8]. J-Do Kim, Su-II Pyun, M. Seo, Electrochimica Acta, Vol. 48 (2003) 1123-1130.

[9]. Y. Xie, X Liu, A.Huang, C. Ding, PK Chu, Biomaterials, 26 (31) 2005, 6129-35

[10]. T. Kokubo, H. Takadama, Biomaterials 27 (2006), 2907-2915.

[11]. E. Krasicka-Cydzik, PL Patent No. 324134, Pol. Ziel., 2002. [12]. A. Kierzkowska, M. Malinowski, E. Krasicka-Cydzik; J. Achievements in Mat.and Manuf. Eng., Vol. 17 (2006) 89-92.

[13]. A. Kierzkowska, E. Krasicka-Cydzik, M. Jenek; Engineering of Biomaterials, 47-53 (2005) 146-148.

[14]. A. Kierzkowska, E. Krasicka-Cydzik, this journal, submitted.

RADIATION RESISTANCE OF AROMATIC POLYURETHANES FOR MEDICAL APPLICATIONS

Ewa Kornacka*, Janusz Kozakiewicz**, Grażyna Przybytniak*

*Institute of Nuclear Chemistry and Technology, ul. Dorodna 16, 03-195 Warszawa, Poland **Industrial Chemistry Research Institute, ul. Rydygiera 8, 01-793 Warsaw, Poland E-mail: przybyt@ichtj.waw.pl

Abstract

The influence of gamma-rays on poly(siloxaneurethane) constructed from the soft phase of polydimethylsiloxane chains and hard aromatic urethane segments, was studied by EPR method under cryogenic conditions. It was found that all radicals induced by irradiation convert to peroxyl radical, precursor of many groups containing oxygen. The process starts in the range of temperature corresponding to glass transition of the siloxane domains, i.e. above 150 K. Oxidation inhibits cross-linking between carbon-centred radicals and initiates both formation of additional polar groups and oxygen bridges between chains. Thus radiation treatment considerably modifies character of polyurethane even if one of its segment, i.e. aromatic rings of urethane, is extremely resistant towards irradiation.

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),143-145]

Introduction

. .

Recently segmented polyurethanes have been studied extensively due to their fast growth in biomedical applications [e.g.1,2]. These elastomers are characterized by biocompatibility and excellent mechanical properties. One of the interesting example of such materials are polyurethanes containing siloxane soft segments that provide hydrolytic stability, elasticity and chemical inertness. However, last studies revealed that aliphatic poly(siloxaneurethanes) are relatively susceptible to ionising radiation [3]. As before using many medical devices, implants and scaffolds applied in tissue engineering are radiation sterilized with a dose of about 25 kGy thus the free radical processes initiated by irradiation have to be analysed and elucidated before ap-

odporności na hydrolizę, wzrost elastyczności i odporności chemicznej. Jednak ostatnio prowadzone badania ujawniły, że poli(siloksanouretany) alifatyczne są stosunkowo wrażliwe na promieniowanie jonizujące [3]. Ponieważ wiele wyrobów medycznych, implantów czy rusztowań stosowanych w inżynierii tkankowej poddawanych jest sterylizacji radiacyjnej dawką ok. 25 kGy, zachodzi więc potrzeba, aby przed ich zastosowaniem procesy rodnikowe inicjowane promieniowaniem zostały szczegółowo poznane i wyjaśnione. Kontynuując prace nad modyfikacją poliuretanów napromieniowanych dawką sterylizującą, poddano badaniom materiał otrzymany w wyniku prepolimeryzacji metyleno di(p-fenyloizocyjanianu) tworzącego segment sztywny i oligosiloksanodiolu stanowiącego prekursor siloksanowych segmentów giętkich. Powszechnie sądzi się, że pierścienie aromatyczne posiadające wiele nisko leżących stanów wzbudzonych mogą rozpraszać część energii dostarczanej w czasie obróbki radiacyjnej przekształcając ją

w ciepło. Ż tego powodu zawierające grupy fenylowe poliuretany wykazują wyjątkową dużą odporność na promieniowanie jonizujące. Jednak obecność segmentów siloksanowych również determinuje właściwości makroskopowe polimeru, zatem zachodzi potrzeba zbadania stabilności radiacyjnej tak zbudowanego materiału.

Materiały i metody

Badany poliuretan był syntetyzowany z metyleno di (p-fenyloizocyjanianu), oligosiloksanodiolu i wody jako czynnika przedłużającego łańcuch. Proces był prowadzony metodą prepolimeryzacji [4].

Próbki badane metodą spektroskopii EPR napromieniowano w źródle gamma ⁶⁰Co (Issledovatel) dawką 6 kGy w warunkach kriogenicznych, tj. w 77K, gdyż generowane rodniki okazały się nietrwałe w temperaturze otoczenia. Badania EPR wykonano przy użyciu spektrometru Bruker ESP 300. Widma rejestrowano bezpośrednio po napromieniowaniu próbek oraz po ich ogrzaniu do temperatur wskazanych na rysunkach. Następnie sygnały były analizowane za pomocą programu komputerowego Apollo [5].

Dynamiczny kąt zwilżania mierzono w 23°C za pomocą tensometru K100C (Krüss) zaopatrzonego w przystawkę temperaturową. Podany wynik jest średnią arytmetyczną 6 pomiarów wykonanych metodą Wilhelmiego.

Dyskusja wyników

Dwa reprezentatywne widma EPR zarejestrowane dla poli(siloksanouretanu) przedstawiono na RYS.1. Sygnał otrzymany bezpośrednio po napromieniowaniu w 77 K jest superpozycją co najmniej z dwóch składowych. Główny udział w widmie ma triplet o rozszczepieniu nadsubtelnym 2,6 mT pochodzącym od dwóch plication. Continuing investigation on the modifications of segmented polyurethanes after exposure to sterilizing dose, we have focused our attention on the materials composed from methylene di(p-phenyl isocyanate) forming hard segments and oligodimethylsiloxanediol that creates siloxane soft segments. Generally it is accepted that aromatic rings, having many low lying excited states, are able to dissipate part of energy supplied during radiation treatment and to transform it into heat. Therefore polyurethane containing phenyl groups usually shows excellent resistance towards ionising radiation. The presence of siloxane units must influence properties hence the investigations concerning radiation stability of the final material have been undertaken.

Experimental

The polyurethane based materials were prepared from methylene di(p-phenyl isocyanate), oligosiloxanediols and



RYS.1. Lewa kolumna: widma EPR napromieniowanego poli(siloksanouretanu) w 77 K i po ogrzaniu do 160 K. Prawa kolumna: widma napromieniowanych substratów - (a) oligodimetylosiloksanodiolu i (b) metyleno di(p-fenylo izocyjanianu).

FIG.1. Left column: EPR spectra of irradiated poly(siloxaneurethane) at 77 K and upon annealing to 160 K. Right column: spectra of irradiated substrates - (a) oligodimethylsiloxanediol and (b) methylene di(p-phenyl isocyanate).



RYS.2. Zanik rodników poli(siloksanouretanu) w funkcji temperatury. FIG.2. Decay of radicals of poly(siloxaneurethane) in function of tempera-

ture.

water used as a chainextending agent. The synthesis was performed with the prepolymer method [4].

Samples investigated by EPR were irradiated to a dose of 6 kGy in a ⁶⁰Co gamma source (Issledovatel) under cryogenic conditions, i.e. at 77K, since free radicals appeared to be unstable at ambient temperature.

EPR measurements were performed on an X band Bruker ESP 300 spectrometer. Spectra were recorded directly upon irradiation of the samples and after their annealing to temperatures indicated in the figures. The signals were analyzed using Apollo software [5]. Radical concentration was determined by comparison of the spectral areas obtained by double integration.

Dynamic contact angle was measured at 23°C using Tensiometer K100C (Krüss) supplied with a thermostattable sample vessel. Applying Wilhelmy method six measurements were performed for each sample.

Discussion

Two representative EPR spectra recorded for studied polyurethane are shown in FIG.1. Directly following ir-

BIOMATERIAŁÓW

równocennych atomów wodoru. Podobny sygnał otrzymano dla napromienionego oligosiloksanodiolu, którego strukturę przedstawiono na schemacie. Porównanie obu widm prowadzi do wniosku, że triplet wskazuje na obecność rodnika alkilowego ≡SiCH2. Jego względny udział w populacji wszystkich rodników oszacowano na 55%. Widma innych produktów paramagnetycznych przybierają formę singletu, co uniemożliwia ich jednoznaczną interpretację, tym bardziej że już poniżej 160 K wszystkie rodniki obecne w układzie ulegaja konwersji do rodnika nadtlenkowego. Proces ten powoduje degradację oksydacyjną [6] lub sieciowanie z udziałem dwóch grup nadtlenkowych. Utlenianie zachodzi w przedziale temperatur 140-160 K, t.j. w zakresie przejścia szklistego domen siloksanowych. Zanik rodników, których obecność stwierdzono w 77K, jest nieznaczny aż do 180K. Jednak powyżej tej temperatury wszystkie indywidua paramagnetyczne ulegają gwałtownej przemianie w produkty trwałe, gdyż w 200K ich stężenie zmniejsza się do 2% początkowej zawartości wszystkich rodników. Analiza ilościowa widm EPR wskazuje, że prawie wszystkie rodniki obserwowane w 77K ulegają utlenieniu do rodników nadtlenkowych. Zatem wydajność sieciowania z udziałem rodników węglowych jest pomijalnie mała. Główny produkt radiolizy może ulegać utlenieniu zgodnie z przedstawioną sekwencją reakcji:



W wyniku badań tensometrycznych stwierdzono, że pomimo iż po napromieniowaniu dawką 25 kGy powstaje wiele grup polarnych, kąt zwilżania badanego poli(siloksanouretanu) wzrasta z 75 do 85°. Podobną tendencję obserwowano dla poliuretanów alifatycznych [2].

Wnioski

Napromienianie w warunkach kriogenicznych aromatycznych poliuretanów zawierających segmenty siloksanowe, a następnie ich ogrzewanie w atmosferze tlenowej, prowadzi do utworzenia nowych podstawników – nadtlenków i wodoronadtlenków, jak również produktów ich rozkładu, np. grup hydroksylowych i karboksylowych. Intensywne utlenianie uniemożliwia tworzenie wiązań sieciujących pomiędzy atomami węgla, które są odpowiedzialne za zmniejszenie szybkości biodegradacji. Tak więc w następnym etapie badań należy określić wpływ nowo utworzonych grup tlenowych na bioaktywność i szybkość rozkładu badanego poliuretanu.

Piśmiennictwo

[1] Gorna K., Gogolewski S., Polym. Degrad. Stab., 79, 2003, 465-474.

[2] Gogolewski S., Trends Polym. Sci., 1, 1991, 47-61.
 [3] Kornacka E., Kozakiewicz J., Legocka I., Przybylski J., Przybytniak G., Sadło J., Polym. Degrad. Stab. in press.

radiation at 77 K at least two components were found in the experimental signal. The dominant triplet of hyperfine splitting 2.3 mT can be assigned to alkyl radical \equiv SiCH₂ as a similar spectrum was observed for irradiated oligomeric siloxane terminated with hydroxyl groups, FIG.1a. Relative contribution of the radical is about 55%.

The other paramagnetic components reveal spectra in form of singlet therefore interpretation of the signals is unambiguous, specially that below 160 K all radicals convert to peroxyl radicals. Such a process can result in oxidative degradation [6] or cross-linking with participation of two peroxyl species. The oxidation occurs in the range of temperatures 140-160 K which corresponds to glass transition of siloxane domains. Decay of radicals detected at 77K is insignificant till 180K, FIG.2. However above this temperature all intermediates fast form stable products since at 200K the concentration of radicals decreases to 2% of the initial population.

Quantitative analysis of EPR spectra shows that almost all radicals observed at 77 K are oxidized to peroxyl radicals. Hence, the yield of cross-linking with contribution of carbon-centered radicals is negligible. The dominant intermediate might undergo oxidation according to the following sequence of reactions:



Tensiometrical study reveals that in spite of the production of several polar groups upon irradiation with a dose of 25 kGy, the contact angle of the poly(siloxaneurethane) increases from 75 deg to 85 deg. The observed tendency corresponds to that obtained for aliphatic polyurethanes.

Conclusions

The irradiation of aromatic polyurethanes containing siloxane segments, under cryogenic conditions and upon annealing in oxygen atmosphere, leads to formation of new substituents – peroxides, hydroperoxides, and products of their decomposition, e.g. hydroxyl and carboxyl groups. The efficient oxidation prevent carbon-carbon cross-linking, the process which eventually seems to result in slowing down the rate of biodegradation. Thus the effect of newly formed, oxygen containing groups on bioactivity and rate of decomposition in biomedical applications required further investigation.

References

[4] Kozakiewicz J. Advances in moisture-curable siloxane - urethane polymers. In: Frisch KC, Klempner D, editors. Advances in Urethane Science and Technology, vol. 14. Lancaster-Basel: Technomic Publ. Co. Inc., 2000. pp. 97-149.

[5] Dusemund B (1997) PhD Thesis, University of Saarlandes.
[6] Graiver D., Farminer K. W., Narayan R., J. Polym. Environ., 11 (4), 2003, 129-137.

146 WPŁYW STOPNIA KRYSTALICZNOŚCI NA STABILNOŚĆ RADIACYJNĄ UHMWPE

E. M. KORNACKA*, G. PRZYBYTNIAK*, W. ŚWIĘSZKOWSKI**

*Instytut Chemii I Techniki Jądrowej, 03-195 Warszawa, Dorodna 16 ** Politechnikai Warszawska, Wydział Inżynierii Materiałowej, 02-507 Warszawa, Wołoska 141 ewamaria@ichtj.waw.pl

Streszczenie

Wpływ promieniowania jonizującego na polietylen oceniano za pomocą spektrometrii EPR. Stwierdzono, że duża zawartość fazy krystalicznej w UHMWPE powoduje wzrost trwałości rodników alkilowych, zmniejszenie wydajności procesów utleniania, hamuje powstawanie rodników typu allilowego oraz sprzyja pękaniu łańcucha głównego w wyniku β-fragmentacji.

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),146-149]

Wstęp

Wpływ promieniowania jonizującego na UHMWPE należy rozpatrywać z dwóch punktów widzenia - jako wynik sterylizacji radiacyjnej oraz jako źródło modyfikacji polimeru pozwalające na poprawę jego właściwości mechanicznych [np.1,2]. W obu przypadkach ważny jest stan wyjściowy polimeru. Oprócz warunków napromieniowania, jednym z najważniejszych czynników determinujących końcowy efekt jest morfologia UHMWPE. Zmiany stopnia krystaliczności, wielkości krystalitów i ich dystrybucja pociągają za sobą różny wpływ dawki promieniowania i jej mocy [3]. Ogólnie wiadomo, że UHMWPE występuje w formie semikrystalicznej, i że uporządkowane krystality lamelli otacza amorficzna faza polimeru. Właściwości mechaniczne i zmęczeniowe zależą od zawartości fazy krystalicznej. Zmiany właściwości makroskopowych inicjowane promieniowaniem jonizującym są wynikiem różnorodnych procesów wolnorodnikowych. Pomimo, że we wszystkich rodzajach PE drugorzędowy rodnik alkilowy jest głównym pierwotnym produktem generowanym podczas radiolizy, jego reakcje następcze zależą ściśle od bezpośredniego otoczenia. Powszechnie sądzi się, że radiacyjne sieciowanie zachodzi głównie w fazie amorficznej, a wydajność tworzenia wiązań węgiel-węgiel w krystalitach jest znacznie mniejsza.

Materiały i metody

Zbadanoe dwie próbki wysokocząsteczkowego polietylenu. UHMWPE1 (Hifax 1900) otrzymano z Basell Polyolefines i użyto jako polimer wyjściowy. Stopień krystaliczności tej próbki wynosił 90%. Druga próbka, UHMWPE2, została przygotowana z oryginalnego UHMWPE1 poprzez ogrzewanie pod ciśnieniem w temperaturze 170°C przez kilka godzin aż do całkowitego stopienia polimeru. Następnie próbkę natychmiast schłodzono ciekłym azotem. Stopień krystaliczności tak przygotowanej próbki wynosił 53%. Przed badaniami próbki umieszczono w próżni pod ciśnieniem (10⁻⁵ mbar) przez 9 godz., a następnie napromieniowano w temperaturze pokojowej strumieniem elektronów akcelera-

THE INFLUENCE OF CRYSTALLINITY ON RADIATION STABILITY OF UHMWPE

E. M. KORNACKA*, G. PRZYBYTNIAK*, W. ŚWIĘSZKOWSKI**

*Institute of Nuclear Chemistry and Technology, 03-195 Warszawa, Dorodna 16, Poland **Faculty of Materials Science and Engineering, Warsaw University of Technology, 02-507 Warszawa, Wołoska 141, Poland e-mail: ewamaria@ichtj.waw.pl

Abstract

The influence of ionising radiation on polyethylene was investigated by EPR spectroscopy. It was found that high content of crystalline phase in UHMWPE induces: increase in stability of alkyl radicals, decrease in yield of oxidation processes, inhibition of the formation of allyl type radicals, and simultaneously facilitates scissions of the main chain as a result of β -fragmentation.

[IEngineering of Biomaterials, 58-60,(2006),146-149]

Introduction

The influence of ionising radiation on UHMW-PE is usually considered from two points of view as a consequence of radiation sterilization and as the effect of modification performed in order to improve some mechanical properties [e.g. 1, 2]. In both cases character of the initial material is crucial. Except radiation conditions, one of the most important factors determining final effect is morphology of UHMWPE. Changes in a degree of crystallinity, crystal thickness and its distribution involve various effects of integral radiation doses and dose rate [3]. UHMWPE occurs in semicrystalline form, therefore ordered crystalline lamellae are randomly embedded in the amorphous phase of polymer. Mechanical properties and fatigue strength depend on the content of crystalline regions. The alternations in physical properties upon irradiation result from different mechanisms of free radical processes. Although for all kinds of PE second ordered alkyl radical is the primary product generated upon irradiation, its fate depends strongly on the local surrounding. It is generally accepted that crosslinking predominantly occurs in amorphous domains and that the yield of production of carbon-carbon bonds in crystals is relatively low.

Experimental

Two samples of ultra high molecular weight polyethylene were studied. UHMWPE1 (Hifax 1900) was obtained from Basell Polyolefins and used as received. Degree of crystallinity of this sample was 90%. Second sample, UHMWPE2, was prepared from original UHMWPE1 by its heating for several hours under vacuum at 170 °C, until the polymer was completely melted. Then it was cooled immediately in liquid nitrogen. Degree of crystallinity of the sample obtained in this way was 53%. Before testing, each sample was kept under vacuum (10⁻⁶ mbar) for 9 h. Samples were irradiated in an electron beam accelerator Elektronika 10/10 to a dose of 25 kGy at room temperature. EPR measurements were performed on an X band Bruker ESP 300 spectrometer. Spectra of the samples were recorded upon irradiation as tora Elektronika 10/10 do dawki 25 kGy. Badania EPR wykonano w paśmie X w spektrometrze Bruker ESP 300. Pomiary przeprowadzono bezpośrednio po napromieniowaniu oraz w ciągu następnych trzech dni. Zastosowano następujące parametry pomiarów: szerokość pola magnetycznego 30,0 mT, moc mikrofalowa 1 mW, modulacja amplitudy 0,019 mT, stała czasowa 10 ms. Liczba skanów była dostosowana do intensywności eksperymentalnego widma, które analizowano za pomocą programu APOLLO [4].

Wyniki i ich dyskusja

Widma wolnych rodników rejestrowano przez trzy dni przy tych samych parametrach. Przykłady wybranych widm zarejestrowanych po napromieniowaniu przedstawiono na RYS.1.



RYS.1. Lewa strona: Widma EPR napromieniowanego UHMWPE1 i UHMWPE2 zmierzone bezpośrednio po napromieniowaniu. Prawa strona: Widma EPR napromieniowanego UHMWPE1 i UHMWPE2 zmierzone po ok. 50 h od napromieniowania.

FIG.1 Left: EPR spectra of irradiated UHMWPE1 and UHMWPE2 at RT immediately after exposure. Right: EPR spectra of irradiated UHM-WPE1 and UHMWPE2 ca. 50 h after exposure.

Kształt otrzymanych widm zmieniał się w czasie; początkowo sygnał rodnika alkilowego był dominujący. Jednak już pierwsze widma wskazują na obecność niewielkich ilości produktów utlenienia widocznych jako zmiana proporcji pomiędzy dwoma centralnymi liniami w porównaniu z typowym sygnałem rodnika alkilowego -CH₂CH[•]CH₂-, RYS. 2a. Po odjęciu widma otrzymanego bezpośrednio po napromieniowaniu i zmierzonego po ok. 1 godz. uzyskano sygnał, którego symulację przedstawiono na RYS. 2c. Szerokość widma i wartość jego czynnika g = 2,013 wskazuje na obecność rodnika, którego centrum zlokalizowane jest na atomie tlenu. Sygnał ten maleje, a po kilku godzinach znika całkowicie. Szybki zanik i charakterystyczny szeroki asymetryczny singlet wskazują, że sygnał ten nie należy do nadtlenkowego rodnika alkilowego, lecz allilowego. Taką interpretację zaproponowali Durant i Janah, którzy próbki UHMWPE poddawali cyklicznie działaniu atmosfery powietrza i obojętnego gazu, przez co różnicowali rodniki z centrum paramagnetycznym zlokalizowanym na atomie tlenu [5].

Wydaje się, że w napromieniowanym UHMWPE występują rodniki o widmach, których symulację przedstawiono na RYS.2.

Drugiego i trzeciego dnia po napromieniowaniu w próbce UHMWPE1 pojawił się nowy sygnał złożony z pięciu wąskich linii oddalonych od siebie o 2,28 mT, tj. o rozszczepieniu charakterystycznym dla rodników alkilowych. Wydaje się, że wyizolowany sygnał należy do jednego produktu przejściowego, gdyż podobne widmo uzyskano przy mocy soon as possible and during next 3 days. The typical EPR parameters for spectra acquisition were as follow: sweep width 30.0 mT, microwave power 1 mW, modulation amplitude 0.019 mT, time constant 10 ms. Number of scans was adjusted to intensity of the experimental spectra. All signals were detected at ambient temperature. EPR tube with the sample was inserted into resonant cavity and kept at the same position for the whole period of measurement. The signals were analyzed using Apollo software [4]. Radical concentration was determined by comparison of the spectral areas obtained by double integration.

Results and discussion

Free radical spectra were detected for three days at fixed parameters. Examples of the selected experimental spectra obtained after irradiation of UHMWPE are shown in FIG.1.

In the beginning signal of alkyl radical significantly dominates over other components. However already first scans reveal the presence of oxidation products as the proportion between two central lines is disturbed in comparison with typical -CH₂CH[•]CH₂- signal, FIG.2a. Subtraction of the spectra recorded directly following irradiation and after 1 h leads to the singlet that simulation is presented in FIG.2c. The shape of the spectrum and its g=2.013 indicates that this is oxygen-centered radical. The signal quickly diminishes and after a few hours disappears completely. Fast decay and characteristic shape of asymmetric singlet suggest that the signal is not supposed to be attributed to alkyl peroxyl radical but to allyl peroxyl radical. Such interpretation was proposed by Durant and Janah who exposed the sample of UHMWPE cyclically to air and inert gas and differentiated oxygen-centered radicals [5].



RYS.2. Symulowane widma rodników zidentyfikowanych w napromieniowanym UHMWPE. a) sekstet rodnika alkilowego, b) septet rodnika allilowego, c) singlet utlenionego rodnika allilowego, d) kwintet rodnika alkilowego.

FIG.2. Simulated spectra of radicals found in irradiated UHMWPE. a) sextet of alkyl radical, b) septet of allyl radical, c) singlet of oxidized allyl radical,

We suggest that in irradiated UHMWPE four radicals can be produced. Simulated spectra of the intermediates are presented on FIG.2.

On the second and third day upon exposure of UHMWPE1 to ionising radiation, a new signal consisting of five sharp lines separated by a distance 2.28 mT, typical for alkyl radicals, becomes distinct. It seems that the isolated spectrum belongs to one intermediate as a signal, measured at 50 mW, preserve also character of the quintet (taking into account increase of all line widths and that –CH₂CH°CH₂– spectrum is partly saturated). We believe that the five-line pattern might be assigned to radical –CH₂CH₂° formed after main chain scission. Such interpretation of the signal d in FIG.2, is consistent with following observations: (i) proportion among lines is characteristic for four equivalent protons, (ii) the same unchanged pattern of growing intensity was found in all measured spectra of UHMWPE1,

147

mikrofalowej 50 mW (biorąc pod uwagę wzrost szerokości wszystkich linii oraz to, że widmo -CH2CHCH2- jest częściowo nasycone). Wydaje się, że kwintet należy przypisać rodnikowi –CH2CH2 utworzonego w wyniku pęknięcia łańcucha głównego. Taka interpretacja widma d na rys. 2 jest zgodna z następującymi obserwacjami: (i) proporcje pomiędzy liniami wskazują na obecność 4 równocennych atomów wodoru, (ii) to samo, niezmienione widmo o rosnącej intensywności zostało zidentyfikowane we wszystkich otrzymanych widmach, (iii) sygnał otrzymany przy wyższej mocy mikrofalowej jest porównywalny z wyizolowanym kwintetem. We wszystkich otrzymanych widmach, nie znaleziono sygnału zawierającego 7 linii o rozszczepieniu nadsubtelnym ok.1,3 mT, charakterystycznym dla rodników typu allilowego. Pośrednio wyniki wskazują, że zawartość wiązań nienasyconych w UHMWPE1 jest ograniczona i że wszystkie rodniki allilowe konwertują do rodników nadtlenkowych, a następnie do produktów trwałych.

Na podstawie zmniejszającej się ilości rodnika alkilowego -CH2CHCH2- i równoczesnego narastania -CH2CH2 można przyjąć, że pierwszy rodnik jest bezpośrednim prekursorem drugiego, a oba procesy wydają się być komplementarne. Mechanizm reakcji jest jednak ciągle nieznany. Przeniesienie atomu wodoru z końcowej grupy łańcucha do rodnika drugorzędowego jest energetycznie nieprawdopodobne. Innym argumentem świadczącym przeciwko takiej interpretacji jest mała zawartość grup -CH, w UHMWPE. To oznacza, że dostępność końcowych grup łańcucha musi być znikoma. Wydaje się więc, że reakcja zachodzi raczej w wewnętrznych segmentach łańcucha, poprzez mechanizm β-eliminacji, czego wynikiem jest pękanie wiązań C-C. Podkreślić zatem należy, że nawet nieutlenione rodniki alkilowe mogą być odpowiedzialne za pęknięcie łańcucha polimeru, co pociąga za sobą poważne konsekwencje dla zastosowań praktycznych. Wzrastająca ilość nienasyconych wiązań powstających w wyniku β-eliminacji nie inicjuje przejścia centrum paramagnetycznego w kierunku C=C, gdyż w otrzymanych widmach nie pojawiają się sygnały pochodzące od rodników allilowych bądź enylowych.

W widmie UHMWPE2 zawierającym prawie 50% fazy amorficznej rodnik -CH2CHCH2- jest również dominującym składnikiem. Dodatkowo zidentyfikowano mała ilość rodników nadtlenkowych oraz widmo w formie septetu o odległościach pomiędzy liniami 1,3 mT, typowymi dla rodników allilowych.

Nieoczekiwanie w widmie drugiej próbki nie znaleziono sygnału w postaci kwintetu, który stwierdzono w widmach polietylenu wysokokrystalicznego. Ilość fazy krystalicznej w UHMWPE2 jest prawie, dwukrotnie mniejsza niż w UHMWPE1 więc można było oczekiwać proporcjonalnego zmniejszenia stężenia rodnika -CH2CH2. Brak tego indywiduum ujawnia, że względny udział fazy krystalicznej do amorficznej wpływa nie tylko na wydajności reakcji konkurencyjnych, lecz także na charakter produktów.

Sumaryczny zanik rodników w funkcji czasu wskazuje, że po trzech dniach całkowite stężenie produktów paramagnetycznych zmniejsza się prawie do 25% ich początkowej ilości, rys. 3. Stężenie rodników oznaczono w wyniku podwójnego całkowania pierwszej pochodnej absorpcji. Zmniejszenie ilości produktów przejściowych w polietylenie o mniejszym stopniu krystaliczności następuje szybciej niż w wysokokrystalicznym UHMWPE.

Wnioski

W pracy potwierdzono, że utlenianie rodnika jest w fazie amorficznej dominującym procesem z powodu łatwiejszego dostępu tlenu. Powstawanie w obszarach nieuporządkowanych rodników typu allilowego wynika ze zmniejszenia (iii) power saturation measurement reveals all five lines and the signal is comparable to isolated quintet. Furthermore, in all detected for UHMWPE1 spectra, there was no signal of hfs about 1.3 mT containing 7 lines, characteristic for allyl type radicals. Indirectly the results suggest that content of unsaturated bonds is limited and all allyl radicals convert to peroxyl radicals, and subsequently to stable products.

On a basis of the decrease in -CH₂CH[•]CH₂- population and simultaneous growth of -CH2CH2 it could be concluded that previous radical is a direct precursor of the later one and that both processes seem to be complementary. A mechanism of the process is unknown. Transfer of hydrogen atom from the terminal group to the second ordered radicals is energetically improbable. The other argument against such a reaction is negligible population of $-\mathrm{CH}_{\!_3}$ groups in UHMWPE. Thus it seems that the contribution of terminal groups in the radical processes must be insignificant. We suggest that the reaction occurs in the inner segments of chain, probably via β -fragmentation, and results in the breakage of C-C bonds. Therefore, even unoxidized alkyl radicals might be responsible for the breakage of polymer chain and such a conclusion is of great practical importance. Production of the unsaturated bonds as a result of β -scission does not facilitate transfer of the radical centres to the vicinity of C=C since in detected spectra there is no allyl or enyl signals.

UHMWPE2 containing almost 50% of amorphous regions following irradiation shows spectra that comprise -CH₂CH[•]CH₂- signal as a dominant component. Additionally, small contribution of peroxyl radical was identified together with the spectrum that reveals features of septet with separation between the lines of 1.3 mT, typical for allyl radical.

Unexpectedly, there is no signal in form of quintet in the spectra recorded for the second sample. The amount of crystalline phase in UHMWPE2 is about twice smaller than in UHMWPE1 and one might expect proportional reduction of the -CH₂CH₂• concentration. Lack of the radical reveals that the relative amounts of crystalline/amorphous phases determine not only yields of consecutive reactions but also character of products.

Overall decay of radicals as a function of time indicates that after three days total concentration of paramagnetic species decreases to almost 25% of the initial population, Fig.3. The radical concentration was determined by double integration of the first derivative of absorption. Decrease of paramagnetic intermediates in the samples at low crystallinity is faster than in UHMWPE of high crystallinity.



stężenie wszystkich rodników UHMW-PE1 i UHMWPE2 w funkcji czasu. FIG.3. Relative concentration of all radicals in UHMWPE1 and UHMWPE2 as a function of time.

Conclusions

In this study it was confirmed that oxidation predominantly occurs in disordered regions as a result of easier access of

148

• •

sterycznych przeszkód dla swobodnego poruszania się centrów rodnikowych. Wydaje się, że wiązania nienasycone tworzą się również w fazie krystalicznej, ale według innego mechanizmu. Względnie duża ilość rodników kończących łańcuch, powstających w wyniku β-fragmentacji, świadczy o powstawaniu podwójnych wiązań. Z drugiej strony ograniczona ilość rodników typu allilowego w UHMWPE1 wskazuje na małe prawdopodobieństwo lokalizacji spinu na tym fragmencie głównego łańcucha. Brak –CH₂CH₂• w próbce UHMWPE2 jest spowodowany szybką rekombinacją centrów rodnikowych, czego wynikiem jest gwałtowne zmniejszanie się całkowitej ilości rodników w UHMWPE2 w porównaniu z UHMWPE1.

Podziekowania

Praca częściowo finansowana przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego (Decyzja No 134/E-365/SPB/COST/ KG/DWM 68/2005-2008) oxygen and that formation of allyl type radicals in this phase is facilitated due to reduced restrictions for the mobility of radical centres. It seems that unsaturated bonds are produced also in crystalline regions but via different mechanism. Relatively large contribution of scission type radicals in UHMWPE1, resulting probably from β-fragmentation, shows that simultaneously some fraction of double bond must appear in the system. Limited amount of allyl type radicals in this sample confirms that the localisation of spin at this fragment of main chain hardly occurs. Remarkable is lack of -CH₂CH₂ radicals in the UHMWPE2 sample. The radical centres in this case faster combine what results in prompt decrease of total radical concentration in UHMWPE2 in comparison with UHMWPE1.

Acknowledgement

Research B 2005, 236, 160-165.

The authors would like to thank Prof. Luigi Costa for providing the materials for this study.

This work was partly financially supported by Polish Ministry of Science and Higher Education (Decision No 134/E-365/ SPB/COST/KG/DWM 68/2005-2008)

[4] Dusemund B. (1997) PhD Thesis, University of Saarlandes.

[5] Durant J., Jahan M.S.: EPR power saturation techniques and

spectral differentiation are used to isolate and simulate radical

species in UHMWPE. Nuclear Instruments and Methods in Physics

References

Piśmiennictwo

[1] Rimnac C.M., Kurtz S.M.: Ionizing radiation and orthopaedic prostheses. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 2005, 236, 30-37.

[2] Oral E., Malhi A.S., Muratoglu O.K.: Mechanisms of decrease in fatigue crack propagation resistance in irradiated and melted UHMWPE. Biomaterials 2006, 27, 917-925.

[3] Stephens C.P.,Benson R.S.,Martinez-Pardo M.E.,Barker E.D.,Walker J.B.,Stephens T.P.: The effect of dose rate on the crystalline lamellar thickness distribution in gamma-radiation of UHMWPE. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 2005, 236, 540-545.

ODPORNOŚĆ KOROZYJNA PŁYT STOSOWANYCH W LECZENIU LEJKOWATEJ KLATKI PIERSIOWEJ

A. KRAUZE*, J. MARCINIAK*, J. DZIELICKI**

*Instytut Materiałów Inżynierskich i Biomedycznych, Wydział Mechaniczny Technologiczny, Politechnika Śląska, ul. Konarskiego 18a, 44-100 Gliwice, **Akademickie Centrum Chirurgii Małoinwazyjnej dla doro-

Stych I Dzieci, 41-800 Zabrze,

E-MAIL: ANITA.KRAUZE@POLSL.PL

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),149-152]

Wprowadzenie

Leczenie operacyjne zniekształcenia klatki piersiowej łączyło się z dość rozległym zabiegiem chirurgicznym przedniej ściany klatki piersiowej [1]. Występowanie tego typu wady w ogólnej populacji szacuje się na ok. 2%, z czego ok. 0,5% chorych wymaga chirurgicznego leczenia. Deformacja ta występuje prawie dwukrotnie częściej u chłopców, niż u dziewcząt [1÷3]. W 1998 roku Donald Nuss przedstawił nową, minimalnie inwazyjną technikę operacji lejkowatej klatki piersiowej, uwzględniając korekcję znie-

CORROSION RESISTANCE OF PLATE USED IN PECTUS EXCAVATUM TREATMENT

A. KRAUZE*, J. MARCINIAK*, J. DZIELICKI**

*Institute of Engineering Materials and Biomaterials, Silesian University of Technology, 44-100 Gliwice, Poland **Academic Center of Minimally Invasive Surgery of Adults and Children, 41-800 Zabrze, Poland

E-MAIL: ANITA.KRAUZE@POLSL.PL

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),149-152]

Introduction

Surgical treatment of the pactus excavatum used to be an extensive surgical procedure of the anterior chest wall [1]. Occurrence of this defect is about 2% but surgical treatment is necessary for about 25% of patients. This type of deformation is almost 2 times frequent in boys than girls [1÷3]. In 1998 Donald Nuss introduced a new, minimally invasive technique of funnel chest treatment without a need of ribs resection [4]. The aim of this work was evaluation of corrosion resistance of plates fixating funnel chest after various time of implantation with different surface roughness. 150

kształcenia jej przedniej ściany przy zastosowaniu techniki małoinwazyjnej, nie wymagającej zabiegów resekcyjnych części kostnych [4].

Celem pracy była ocena odporności korozyjnej płyt po różnym czasie implantacji o różnym stopniu uszkodzenia powierzchni.

Metodyka

Do badań wytypowano 149 płyt stabilizujących klatkę piersiową po implantacji stosowanych w operacyjnej technice Nuss'a wytworzonych ze stali austenitycznej Cr-Ni-Mo [5]. Przed przystąpieniem do badań korozyjnych sprawdzono chropowatość powierzchni próbek za pomocą profilagrofometru Surtronic 3+. Pomiar chropowatości przeprowadzono na długości 5 odcinków elementarnych. Dla implantów metalowych chropowatość powierzchni nie może przekroczyć R₂<0,16 µm.

Kolejnym etapem badań było zbadanie odporności uszkodzonych powierzchni płyt na korozję wżerową. Przed przystąpieniem do badań dokonano oceny makroskopowej uszkodzeń powierzchni płyt po różnych okresach implantacji, co pozwoliło ustalić rodzaj i ilość uszkodzeń powstałych w wyniku przedoperacyjnego ich modelowania do anatomicznej krzywizny klatki piersiowej oraz podczas ich usuwania. Okres przebywania implantów w organizmie mieścił się w okresie od 7÷38 tygodni i wynosił średnio 24 miesiące. Ocena uszkodzeń mechanicznych obejmowała obserwację makroskopową wytypowanych powierzchni 76 płyt. Na podstawie tych obserwacji wytypowano charakterystyczny odcinki płyt do badań korozyjnych. Badania odporności korozyjnej przeprowadzono metodą potencjodynamiczną [6,7] na potencjostacie firmy VoltaLab, typu PGP 201 - RYS.1. Badania przeprowadzono w roztworze fizjologicznym Tyrode'a w temperaturze 37±1°C o pH=6,8÷7,4.

Składniki roztworu Solution compo- nents	NaCI	CaCl ₂	ICN	NaHCO ₃	NaH₂PO₄	MgCl ₂ 6H ₂ O
Stężenie, g/l wody destylowanej Concentration, g/l distilled water	8,00	0,20	0,20	1,00	0,05	0,10

TABELA 1. Skład chemiczny roztworu Tyrode'a [8].

TABLE 1. Tyrode's physiological solution [8].

Wyniki

BIOMATERIAŁÓW

W obserwacjach makroskopowych powierzchni płyt zaznaczyły się bardzo wyraźne uszkodzenia mechaniczne powierzchni. Liczne, głębokie rysy powstały głównie w wyniku doginania narzędziem chirurgicznym płyt do krzywizny anatomicznej klatki piersiowej. Największe uszkodzenia powierzchni zaobserwowano w części środkowej płyt po ich zewnętrznej, odginanej stronie, jak również na ich końcach w obszarach zakończonych otworami - RYS.2, TAB.2. Badania odporności na korozję wżerową wykazały, że wartość potencjału korozyjnego E_{kor} ustalała się średnio po 45 minutach i mieściła się w zakresie -66 ± +83 mV

po 45 minutach i mieściła się w zakresie -66 ÷ +83 mV. W kolejnym etapie badań, podczas rejestracji krzywych polaryzacji anodowej płyt obserwowano inicjację procesów korozyjnych wynikających z uszkodzenia warstwy pasywnej



RYS.1. Stanowisko do badania odporności na korozję wżerową. FIG.1. Diagram of the corrosion tests stand.

Methodology

The research was performed on 149 plates used in funnel chest treatment after different times of implantation. The chemical composition of the stainless steel used for the plates met the PN ISO 5832-1 standard on plates made of the austenitic stainless steel (Cr-Ni-Mo) [5]. Before corrosion tests the surface roughness of plates was checked with the use of the Surtronic 3+ profilographometer. The roughness was calculated on the length of five elementary sections. For plates in initial state the surface roughness can not exceed the value of R_a<0,16 μ m.

The next stage of the work was evaluation of pitting corrosion resistance of the plates. Macroscopic observations of the surface damage was done before the corrosion test. The damage was caused by the fitting of the to the anatomical curvature of chest and their removal. The implantation time was in the range 7÷38 weeks. The evaluation of the mechanical damage included macroscopic observations of surface of the 76 plates. On the basis of these observations the characteristic sections of the plates were selected for potentiodynamic tests [6,7]. The VoltaLab® PGP 201 system for electrochemical tests was applied - FIG.1. The test consisted in the recording of the anodic polarization curves. Before the tests the samples were cleaned with the ethyl alcohol in the ultrasound washer. The tests were performed in the Tyrode's physiological solution - TABLE 1, at the temperature of $37\pm1^{\circ}C$ and pH = $6,8 \div 7,4$.

Results

Macroscopic observations of the implant surfaces showed mechanical damage. Numerous, deep scratches appeared as the result of fitting of the plates to the anatomical curvature of chest with the use of the surgical tool. The most damaged surface was observed in the middle part of the plates (outer side) as well as at the ends (holes) – FIG.1. The pitting corrosion tests revealed that the corrosion potential E_{cor} was set in 45 min and was in the range -66 ÷ +83mV. In the next stage of the test, during the recording of anodic polarization curves, the initiation of corrosion processes was observed. The corrosion was caused by the damage of the passive layer for the potential in the range +312÷+990 mV – TABLE 2. A histeresis loop characteristic for the pitting corrosion was observed. The repasivation potential were in range -149÷+54 mV.

Conlusions

On the basis of the obtained results it can be stated that the mechanical damage of the plates' surfaces are caused by incorrect preparation before implantation, especially during the prebending. The surface damages in the form of deep scratches are the sites of the pitting corrosion initiation. The corrosion rate depends on the amount and the size of the surface damage as well as on the implantation time [10]. The quality of implantation has an influence on the course of



RYS.2. Przykład uszkodzenia powierzchni płyty. FIG.2. Plate with the surface damage.

przy potencjałach z przedziału +312 ÷ +990 mV – TABELA 2. Na krzywych polaryzacji zaobserwowano pętle histerezy charakterystyczne dla przebiegu korozji wżerowej. Analiza krzywych polaryzacji umożliwiła określenie potencjału repasywacji E_{cn}, który mieścił się w zakresie -149 ÷ +54 mV.

Podsumowanie

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że uszkodzenia powierzchni płyt inicjowane są podczas ich implantowania, a w szczególności w momencie doginania ich do anatomicznej krzywizny klatki piersiowej. Uszkodzenia powierzchni występujące w postaci głębokich rys są miejscami inicjowania korozji wżerowej, której rozwój zależy od ilości i wielkości uszkodzenia powierzchni oraz czasu przebywania implantu w organizmie [10]. Jakość implantacji, a więc ilość i wielkość uszkodzeń mechanicznych powierzchni implantów, a także okres ich użytkowania mają wpływ na przebieg procesów korozyjnych implantów, z którymi wiążą się niewątpliwie niekorzystne reakcje i powikłania pooperacyjne bowiem produkty korozji infiltrują do tkanek powodując reakcje okołowszczepowe lub też mogą być transportowane z płynami fizjologicznymi do organów detoksycyjnych, wywołując reakcje ogólne [8]. W celu zminimalizowania tych efektów modelowanie przedoperacyjne powinno być prowadzone umiejętnie, stosując narzędzia chirurgiczne o odpowiednio wyprofilowanych częściach roboczych oraz na większych powierzchniach odkształconych. W ten sposób minimalizowane mogą być uszkodzenia powierzchni implantów.

Czas implantacji Implantation time	Nr płyty / No of plate	Symbol próbki Symbol of sample	Chropowatość powierzchni, Surface roughness, Ra, µm	Potencjał korozyjny Corrosion potential E _{ko} , mV	Potencjał przebicia Breakdown potential, E _{ne} mV	Potencjał repasywacji Repassivation potential E _{a,} mV
	21	KN KN S	0.64 0.64 0.38	+46 +3 +45	+606 +551 + <u>623</u>	-35 -41 -95
24 miesiące 24 month	52	KN S	1.76 0.46 0.24	+64 +38 -62	+755 +656 +695	-125 +10 -35
	80	KN KN S	0.74 0.50 0.28	+83 +63 +72	+492 +559 +644	-100 +23 -80
	57	KN KN S	0.56 0.90 0.18	+52 +32 +20	+456 +400 +591	0 -115 -30
25 miesięcy 25 month	71	KN S	0.88 0.52 0.18	+43 +66 +32	+418 +601 +576	-145 +27 -135
	117	KN KN S	1.10 1.60 0.30	+30 +43 -66	+554 +536 +623	-100 +23 -80
	135	KN S	1.30 0.54 0.16	+34 +24 +34	+510 +668 +542	-5 +5 -10
26 miesięcy 26 month	137	KN KN S	0.82 0.54 0.12	+17 +83 +28	+570 +826 +990	-80 -150 +54
	149	KN KN S	0.34 0.18 0.16	+63 +61 +72	+531 +719 +656	-180 -50 -30
30 miesięcy, od		KN KN	>1.20 >1.96	0 -29	+312 +384	-149 -125
max. uszko- dzenia 30 month, max. da- mage	58	S	0,30	-13	+393	-98
K, KN – końce płyt (okolice otworów), S – część środkowa K, KN – ends of plates. S – middle site						

TABELA 2. Wyniki badań odporności na korozję wżerową wytypowanych płyt [9]. TABLE 2. Results of research on the pitting corrosion resistance of selected plates [9].

corrosion processes of implants related to the unfavorable periimplantive reactions and postoperative complication because corrosion products infiltrate surrounding tissues causing negative inflammatory reactions [8]. In order to minimize these negative effects the prebending of the plates should be done properly with the use of dedicates tools. In this way the implants' surface damage can be minimized.





RYS.3. Przykładowe krzywe polaryzacji anodowej płyt: a) nr 58:—58S,—58K,—58KN; b) nr 137:—137S,—137 K,—137KN.

FIG.3. Anodic polarization curves of plates: a)no 58:—58S,—58K,—58KN, b) no 137: —137S,—137K, —137KN. MATERIAŁÓW

151

....

Piśmiennictwo

[1] Rimnac C.M., K[1]. Dzielicki J. Korlacki W. Sitkiewicz T.: Małoinwazyjna metoda Nussa w leczeniu lejkowatej klatki piersiowej, Polski Przegląd Chirurgiczny, 2000, 72, 6, ss. 524-530.

[2] Bohosiewicz J., Kudela G., Koszutski T.: Results of Nuss procedures for the correction of pectus excavatum, European Jurnal of Pediatric Surgery 2005, Vol.15, No.1, pp. 6-10.

[3] Adamczak J. Pawlak K., Zieliński P., Dyszkiewicz W.: Wczesne wyniki leczenia lejkowatej klatki piersiowej metodą Nussa. Kardiochirurgia i Torakochirurgia Polska, maj 2004, t. 1, nr 2, ss. 84-93.
[4] Nuss D., Kelly R.E., Croitoru P., Katz M.E.: A 10-year of minimally invasive technique for the correction of pectus excavatum. Journal of Pediatric Surgery, 1998, 33(4), pp. 545-552.

[5] PN - ISO 5832-1, Implants for surgery metallic materials, Part

I: Wrought stainless steel, (1997).

OCENA ODPORNOŚCI KOROZYJNEJ STOPU Ni-Ti PRZEZNACZONEGO NA STENTY UROLOGICZNE

W. KAJZER, J. MARCINIAK

Instytut Materiałów Inżynierskich i Biomedycznych, Wydział Mechaniczny Technologiczny, Politechnika Śląska, ul. Konarskiego 18a, 44-100 Gliwice, e-mail: wojciech.kajzer@polsl.pl

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),152-155]

Wprowadzenie

W urologii stenty wykorzystywane są zarówno w celu wyeliminowania zwężeń cewkowych, jak i moczowodowych. Zabieg założenia stentu do cewki moczowej przy jej okluzji spowodowanej łagodnym rozrostem stercza (BPH) opisał po raz pierwszy Fabian w 1980 roku [1,2]. Aktualnie metoda endoskopowej implantacji stentów przy łagodnym przeroście stercza znalazła zastosowanie w leczeniu zwężeń cewki moczowej spowodowanej przez różnego rodzaju schorzenia typu zapalenia bądź też przebyte wcześniejsze zabiegi i operacje na układzie moczowo-płciowym [3÷5].

Bardzo istotną rolę w odporności korozyjnej implantu odgrywa jakość jego powierzchni. Ilościowy i jakościowy opis procesów korozji zachodzącej w środowisku sztucznego moczu determinuje skuteczność zastosowania implantu w praktyce klinicznej, jak również wpływa na minimalizację komplikacji pooperacyjnych [6÷10].

Metodyka

BIOMATERIALÓW

Badania odporności na korozję wżerową przeprowadzono na próbkach wykonanych ze stopu Ni-Ti, spełniającego wszystkie wymagania dotyczące składu chemicznego i struktury dla biomateriałów przeznaczonych do produkcji implantów. Próbki poddano szlifowaniu, a następnie modyfikacji powierzchni polegającej na polerowaniu elektrolitycznym oraz polerowaniu elektrolitycznym i pasywacji chemicznej w warunkach opracowanych przez autorów. Do wyznaczenia chropowatości powierzchni zastosowano profilografometr mechaniczny typu Surtronic 3+ oraz profilometr optyczny WYKO – NT 1100, firmy VEECO. Badanie odporności na korozję wżerową przeprowadzono metodą

References

[6] ASTM F746-87, Standard test method for pitting or crevice corrosion of metallic surgical implant materials, (1999).

[7] ASTM G5-94, Standard reference test method for making potentiostatic and potentiodynamic anodic polarization measurements, (1999).

[8] Marciniak J.: Biomateriały, Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice (2002), ss. 116, 219-229, 238-252.

[9] Kosieniak Sz.: Badania uszkodzeń korozyjnych implantów stosowanych do leczenia operacyjnego lejkowatej klatki piersiowej, Praca Magisterska, Gliwice 2006.

[10] A. Krauze, W. Kajzer, W. Walke, J. Dzielicki: Physicochemical properties of fixation plates used in funnel chest treatment. Journal of Achievements in Material and Manufacturing Engineering, Vol 18, Issue 1-2, September October 2006, pp. 151-154.

EVALUATION OF CORROSION RESISTANCE OF NI-TI ALLOY INTENDED FOR UROLOGICAL STENTS

W. KAJZER, J. MARCINIAK

Institute of Engineering Materials and Biomaterials, Silesian University of Technology, ul. Konarskiego 18a, 44-100 Gliwice, e-mail: wojciech.kajzer@polsl.pl

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),152-155]

Introduction

Stents in urology are used either to eliminate narrowing of the urethra or ureter. Stent insertion to urethra, while urether was narrowed by the Bening Postatic Hyperpalsion (BPH), was described for the first time in 1980 by Fabian [1,2]. Nowadays endoscopic stent implantation method which is used to treat the BPH is also used to treat narrowing of bulbar urethra caused by instrumentation, trauma, inflammation or congenital problems [3÷5].

The quality of the surface layer also plays important role. A qualitative and a quantitative description of corrosion processes in artificial urine will determine the efficiency and the clinical usefulness of implants and will impinge on postoperative complications. For this reasons a surface treatatment of the Ni-Ti alloy is presented in this work. The surface treatment is important because of corrosion resistance minimizing reactions and postoperative complications [6÷10].

Methods

The tests were carried out on samples of the following surfaces: grinded, electropolished and electropolished and chemically passivated in conditions worked by the authors. In order to measure the roughness the Surtronic 3+ surface analyzer and optical surface analyzer WYKO – NT 1100 produced by VEECO was applied. The pitting corrosion tests were realized by recording of anodic polarization curves with the use of the potentiodynamic method. The VoltaLab® PGP 201 system for electrochemical tests was applied [11,12]. The saturated calomel electrode (SCE) of KP-113 type was applied as the reference electrode. The tests were carried out in electrolyte simulating urine at the

Składniki A Ingredients A	g/l wody de- stylowanej g/l distiled water	Składniki B Ingrediends B	g/l wody de- stylowanej g/l distiled water
CaCl ₂ 2H ₂ O	1.765	NaH ₂ PO ₄ 2H ₂ O	2.660
Na ₂ SO ₄	4.862	Na ₂ HPO ₄	0.869
MgSO ₄ 7H ₂ O	1.462	Na ₃ Cit·2H ₂ O	1.168
NH₄CI	4.643	NaCl	13.545
KCL	12.130		

TABELA 1. Roztwór sztucznego moczu wykorzystany w badaniach potencjodynamicznych [13, 14].

TABLE 1. Artificial urine (A : B= 1:1) [13, 14].

temperature of 37±1 °C and pH = 5,4÷6,0. The electrolyte consisted of two solutions A and B mixed together in the • ratio of 1:1 – TABLE 1. The tested material met implantation requirements concerning the chemical composition, the structure and mechanical properties.

Results

Influence of the surface modification on the Ra parameter was shown by means of roughness contact tests and optical profilometry R_a. For grinded sampels average roughness R_a=0.31±1µm, electropolished average roughness R_a=0.31±1µm, electropolished and chemically passivated average roughness R_a=0.14±1µm – FIG.1.

Results of electrochemical tests have revealed the influence of surface preparation of the Ni-Ti alloy on the corrosion



RYS.1. Przykładowe profile powierzchni próbek ze stopu NiTi: a) polerowana elektrolitycznie, b) polerowana elektrolitycznie i pasywowana chemicznie.

FIG.1. Surface profiles of Ni-Ti: a) electropolished sample, b) electropolished and chemically sample.

potencjodynamiczną. Rejestrowano krzywe polaryzacji anodowej przy wykorzystaniu potencjostatu VoltaLab® PGP 201 [11,12]. Jako elektrodę odniesienia zastosowano elektrodę kalomelową, typu (SCE) KP-113. Badania były przeprowadzone w elektrolicie symulującym środowisko moczu człowieka o temperaturze 37±1°C i pH=5.4÷6.0. Roztwór sztucznego moczu składał się z dwóch wcześniej przygotowanych roztworów wymieszanych ze sobą w stosunku 1:1 – TABELA 1.

Wyniki

W wyniku przeprowadzonych pomiarów chropowatości powierzchni metodą pomiaru stykowego oraz za pomocą profilometrii optycznej wykazano wpływ modyfikacji powierzchni na parametr chropawatości R_a. Dla próbek szlifowanych parametr ten wynosił średnio R_a=0.31±1 µm, polerowanych elektrolitycznie R_a=0.10±1 µm i polerowanych elektrolitycznie i pasywowanych chemicznie R_a=0.14±1 µm – RYS.1.

Wyniki badań elektrochemicznych wykazały wpływ modyfikacji powierzchni stopu Ni-Ti na odporność korozyjną. Otrzymane wyniki przedstawiono w TABELI 2.

Dla próbek szlifowanych rejestrowany potencjał korozyjny mieścił się w przedziale E_{kor} =-210÷-196mV – RYS.2a. Polaryzacja próbek spowodowała gwałtowny wzrost gęstości prądu dla potencjałów transpasywacji w zakresie E_{TP} =+1372÷+1478mV – RYS.2b. Opór polaryzacyjny dla próbek szlifowanych mieścił się w zakresie R_p=348÷397kΩcm². Dla próbek polerowanych elektrolitycznie rejestrowany potencjał korozyjny mieścił się w przedziale E_{kor}=-55÷-48mV – RYS.2a. Polaryzacja próbek spowodowała gwałtowny wzrost gęstości prądu dla potencjałów transpasywacji w zakresie E_{TP}=+1449÷+1520mV – RYS.2b. Opór polaryzacyjny dla próbek szlifowanych mieścił się w zakresie R_a=782÷1001kΩcm². Natomiast dla próbek polerowanych

Surface prepa- ration method	Corrosion potential E _{kor} , mV	Transpasiv- ation potential Ε _{τρ} , mV	Polarization resistance R _p , kΩcm²
Grinded	-210÷ -196	+1372 ÷ +1478	348 ÷ 397
Electropolished	-55 ÷ -48	+1449 ÷ +1520	782 ÷ 1001
Electropolished and passivated	+73 ÷ +135	+1471 ÷ +1501	950 ÷ 3590

TABELA 2. Wyniki badań odporności stopu Ni-Ti na korozję wżerową.

TABLE 2. Pitting corrosion resistance of Ni-Ti alloy.

resistance - TABLE 2.

For the grinded samples, the corrosion potential was in the range E_{kor}=-210÷-196mV - FIG.2a. Polarization of samples caused the increase of anodic current for potentials in the range E_{TP} =+1372÷+478mV – FIG.2b. Polarization resistance of the samples was equal to $R_p=348 \div 397 k\Omega cm^2$. For the electropolished samples, the corrosion potential was in the range Ekor=-55÷-48mV - FIG.2a. Polarization of samples caused the increase of anodic current for potentials in the range E_{TP} =+1449÷+1520mV – FIG.2b. Polarization resistance of the samples was equal to $R_{2}=782 \div 1001 k\Omega cm^{2}$. For the electropolished and passivated samples, the corrosion potential was in the range E_{kor}=+73÷+135mV – FIG.2a. Polarization of samples caused the increase of anodic current for potentials in the range E_{TP} =+1471÷+1501mV – FIG.2b,. Polarization resistance of the electropolished and passivated samples was equal to R₂=950 ÷ 3590 kΩcm².

The recorded curves of the anodic polarization were mainly characterized by the decrease of the anodic current dens-

elektrolitycznie i pasywowanych chemicznie rejestrowany potencjał korozyjny mieścił się w przedziale E_{kor} = +73 + +135 mV - rys. 2a. Polaryzacja próbek spowodowała gwałtowny wzrost gęstości prądu dla potencjałów transpasywacji w zakresie E_{TP}=+1471÷+1501mV – RYS.2b. Opór polaryzacyjny dla próbek szlifowanych mieścił się w zakresie R_=950÷3590kΩcm².Rejestrowane krzywe polaryzacji anodowej charakteryzowała zmniejszająca się gęstość prądu anodowego w zakresie potencjałów występujących w organizmie człowieka 0+400mV. Najmniejsza gęstościa prądu w rozpatrywanym zakresie potencjałów cechowały się próbki poddane polerowaniu elektrolitycznemu i pasywacji chemicznej - RYS.3.

ity in the range of human body potentials ie. 0÷0,4 V The smallest density was observed for the electropolished and passivated samples -FIG.3.

Summary

The obtained results have shown favorable influence of the applied surface treatment process on the corrosion resistance of samples made of the Ni-Ti alloy. The tests have revealed that the passive layer created in the electropolishing and the chemical passivation process improves the corrosion resistance of the investigated alloy.

In spite of the clear influence of the surface condition on

the corrosion resistance of the Ni-Ti alloy, further research



RYS.2. Przykładowe wyniki badań potencjodynamicznych: a) zmiana potencjału korozyjnego w czasie, min, b) krzywe polaryzacji anodowej, dla różnych sposobów przygotowania powierzchni. FIG. 2. Potentiodynamic test results: a) corrosion potential changes in time after diverse surface preparation b) anodic polarization curve after diverse surface preparation.



RYS.3. Krzywe polaryzacji anodowej stopu Ni-Ti dla różnego sposobu przygotowania powierzchni.

FIG.3. Anodic polarization curves of Ni-Ti samples after diverse surface preparation.

terial, appropriate for application in urogenital system, seems to be necessary. In order to fully characterize the corrosion resistan-

on metallic bioma-

ce of Ni-Ti alloy additional tests of electropollshed and chemically passivated samples after sterilization are needed. Sterilization conditions should reflect the conditions applied for the final product.

Podsumowanie

Celem przeprowadzonych badań była ocena przeprowadzonej modyfikacji powierzchni stopu Ni-Ti przeznaczonego na stenty stosowane w urologii.

Uzyskane wyniki wskazują, iż modyfikacja powierzchni wpływa korzystnie na odporność badanego stopu na korozję wżerową. Najlepszymi parametrami antykorozyjnymi charakteryzowały się próbki poddane polerowaniu elektrolitycznemu i pasywacji chemicznej ponad to próbki te charakteryzowały najmniejsze wartości gęstości prądu anodowego w zakresie potencjałów 0÷400 mV. Na badanych próbkach nie stwierdzono występowania wżerów, co świadczy o dobrej odporności korozyjnej stopu Ni-Ti w środowisku sztucznego moczu.

W celu lepszego scharakteryzowania odporności korozyjnej badanego stopu należało by przeprowadzić badania odporności korozyjnej próbek polerowanych elektrolitycznie i pasywowanych chemicznie poddanych sterylizacji w warunkach od-

zwierciedlających warunki sterylizacji podczas wykonywania wyrobu finalnego przeznaczonego do implantacji.

Podziękowania

Badania zostały sfinansowane w ramach grantu promotorskiego 3 T08C 002 28 ufundowanego przez Ministerstwo Nauki i Informatyzacji.

Acknowledgements

The work was realized within the confines of the research project 3 T08C 002 28 funded by the Minister of Science and Information Society Technologies.

BI MATERIALÓV

155

References ****

Piśmiennictwo

[1] Lam J.S., Volpe M.A., Kaplan S.A.: Use of Prostatic Stents for the Treatment of Bening Prostatic Hyperplasia in High-risk Patients, Current Science, Inc. 2001, 2, pp.277-284.

[2] Fabian K.M.: Per intraprostatische "Partielle Katheter" (Urologische spirale). Ueologe 1980, 19, pp.236.

[3] G.H. Madlani, S.M. Press, A. Defalco, J.E. Oesterling, A.D. Smith: Urolume endourethral prosthesis for the treatment of urethral stricture disease: Long-term results of the North American multicenter urolume trial. Urology, May 1995, Number 5, pp.846-856.

[4] Barbalias G.A., Siablis D., Liatsikos E.N., Karnabaditis D., Yarmenitis S., Bouropoluos K., Dimapoulos J.: Matal stents a new treatment of malignant urateral obstruction. J.Urol. 1997, 158(1), pp.54-58.

[5] Pauer W., Eckerstorfer G.M.: Use of self-expanding permanent endoluminal stents for benign ureteral strictures: mind-term results. J.Uro. 1999, 162(2), pp.319-322.

[6] W.Kajzer, W.Chranowski, J. Marciniak: Corrosion resistance of Cr-Ni-Mo steel intended for urological stents. 11th International Scientific Conference on Contemporary Achievements in Mechanics, Manufacturing and Materials Science, Gliwice – Zakopane 2005.

[7] Marciniak J., Chrzanowski W., Żak J.: Structure modification of surface layer of Ti6Al4V ELI. Proceedings of the 13th Scientific Conference "Biomaterials in medicine and veterinary", Rytro, 2003, Biomaterial Engineering, nr 30÷33, 2003, s.56-58. (in polish) [8] Chrzanowski W., Marciniak J., Szewczenko J., Nawrat G.: Electrochemical modification of Ti_eAl₄V ELI surface. Proceeding of the 12th International Scientific Conference "Achievements in Mechanical and Materials Engineering 2003", Gliwice-Zakopane, 2003, s.157-160.

[9] M. Kaczmarek, W. Simka, A. Baron, J. Szewczenko, J. Marciniak: Electrochemical behavior of Ni-Ti alloy after surface modification. Journal of Achievements in Material and Manufacturing Engineering, Vol 18, Issue 1-2, September October 2006, pp.111-114.

[10] W. Kajzer, A. Krauze, W. Walke J. Marciniak: Corrosion resistance of Cr-Ni-Mo steel in simulated body fluids. Journal of Achievements in Material and Manufacturing Engineering, Vol 18, Issue 1-2, September October 2006, pp.115-118.

[11] Standard: ASTM F-746-81:1999. Standard test metod for pittiong or crevice corrosion of metallic surgical implant materiale.

[12] Standard: ASTM G5-94:1999. Standard reference test method for making potentiostatic and potentiodynamic andodic polarization measurements.

[13] M. Multanen, M. Talja, S. Hallanvuo, A. Siitonen, T. Valimaa, T.L.J. Tammela, J. Seppala, P. Tormala: Bacterial adherence to ofloxacin- blended polylactone- coated self- reinforced – lactic acid polymer urological stents. BJU International, 86,2000, pp.966-969.

[14] T. Valimaa, S. Laaksovirta: Degradation behaviour of self- reinforced 80L/20G PLGA devices in vitro. Biomaterials 25 (2004), pp.1225-1232.

MECHANICZNE WŁASNOŚCI SPAWANYCH DRUTÓW NITI UŻYTYCH W MODELOWANIU SKLEPIENIA CZASZKI

Z. Lekston*, H. Morawiec*, K. Kobus**, M. Węgrzyn**, J. Drugacz***

*Instytut Nauki o Materiałach, Uniwersytet Śląski, 40-007 Katowice, Bankowa 12 **Szpital Chirurgii Plastycznej, 57-320 Polanica Zdrój, Jana Pawła II/2 ***Klinika Chirurgii Szczękowo-Twarzowej, ŚAM, 40-027 Katowice, Francuska 20/24

Streszczenie

W pracy przedstawiono badania mechaniczne spawanych, nadsprężystych drutów NiTi z których wykonano okrągłe sprężyny użyte w eksperymentalnym leczeniu ścieśnienia czaszki u dzieci. Druty w temperaturze pokojowej mają strukturę fazy macierzystej B2. Na krzywych DSC spoin laserowych i po zgrzewaniu oporowym pojawiły się dodatkowe efekty cieplne świadczące o zmianach struktury pod wpływem procesu spawania. W próbach rozciągania wykazano słabszą wytrzymałość na zerwanie drutów spawanych laserowo na zakładkę i drutów zgrzewanych doczołowo na zgrzewarce zwarciowej w porównaniu z drutami nie spawanymi. Wielokrotne uginanie do kształtu elipsy pierścieni spawanych laserowo nie powodowało wyraźnych zmian własności sprężystych i uszkodzeń spawów.

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),155-158]

MECHANICAL PROPERTIES OF WELDED NITI WIRES USED IN CRANIAL VAULT RESHAPING

Z. Lekston*, H. Morawiec*, K. Kobus**, M. Węgrzyn**, J. Drugacz***

*Institute of Materials Science, University of Silesia, 40-007 Katowice, Bankowa 12 **Clinic of Plastic Surgery, 57-320 Polanica Zdrój, Jana Pawła II/2 ***Clinic of Maxillofacial Surgery, Silesian Medical Academy, 40-027 Katowice, Francuska 20/24

Abstract

The article presents mechanical experiments on superelastic NiTi welded wires out of which round springs used in experimental treatment of craniostenosis in children were made. XRD analysis proved that the wires in room temperature had the structure of B2 parent phase. On DSC curves of laser welds and after resistance welding additional thermal effects showing structural changes of the structure under the influence of the process of welding appeared. Tensile tests showed smaller tensile strength of laser overlap welded wires and butt welded wires on a short-circuit welder in comparison with samples of non-welded wires. Multiple bending of laser-welded rings to the shape of an ellipse did not result in the clear changes of elastic properties and damages of welds.

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),155-158]

MATERIAL(

156 Wstęp

Do obróbki powierzchniowej metali, cięcia lub spawania stosuje się techniki laserowe. W technologii wytwarzania wyrobów medycznych wykonanych zwłaszcza z tytanu lub jego stopów do precyzyjnego spawania wykorzystuje się laser neodymowo-yagowy. Technologie spawania tym laserem z powodzeniem wykorzystano do łączenia elementów ze stopów NiTi wykazujących pamięć kształtu lub nadsprężystość [1-3]. Przemiany fazowe i własności tych stopów silnie zależą od składu chemicznego, obróbki termomechanicznej oraz innych czynników technologicznych [4]. Również spawanie może wpływać na przemiany fazowe, zdefektowanie struktury i własności użytkowe.

W chirurgii remodelowania czaszki stosowane są metalowe sprężyny wspomagające [5-7]. W kraju w eksperymentalnym leczeniu kraniostoz zastosowano sprężyny ze stopów NiTi. Dla zmniejszenia inwazyjności zabiegów aktualnie stosuje się sprężyny w postaci spawanych laserowo pierścieni, które przymocowane podskórnie do czaszki odkształcone do kształtu elipsy zapewniają podczas rozprężania skuteczną korekcję deformacji czaszki [8]. Bardzo ważne jest wykonanie spawów o dobrej jakości, wytrzymałych na zginanie ponieważ ewentualne pęknięcie może spowodować komplikacje i konieczność wymiany dystraktora.

Celem tej pracy jest przedstawienie wpływu spawania na strukturę i własności mechaniczne nadsprężystych drutów NiTi oraz spawanych sprężyn przeznaczonych do plastyki czaszki.

Materiał i metody badań

W badaniach użyto nadsprężyste druty NiTi o średnicach 1,0 i 1,2 mm ze stopu o składzie chemicznym Ti-50,8% at. Ni. Sprężyny do korekcji sklepienia czaszki formowano z prostych drutów, które po wygięciu do kształtu okręgów spawano pulsacyjnie wiązką laserową na zakładkę, w atmosferze argonu, przy użyciu lasera Nd:Yag 2002 S. Badano również druty zgrzewane doczołowo na zgrzewarce zwarciowej ZDZ-06.

Skład fazowy drutów i spoin określono metodą rentgenograficzna. Dyfraktogramy rejestrowano na dyfraktometrze Philips X'Pert z monochromatorem grafitowym w promieniowaniu CuK_a. Przebieg przemian fazowych i temperatury charakterystyczne określono metodą DSC przy użyciu kalorymetru Perkin-Elmer podczas chłodzenia i nagrzewania próbek z szybkością 10°C/min. Własności nadsprężyste i wytrzymałość spawów badano w próbach rozciągania na maszynie wytrzymałościowej Instron oraz podczas cyklicznego zginania spawanych dystraktorów na specjalnie skonstruowanym stanowisku pomiarowym wyposażonym w tensometryczny przetwornik siły i transformatorowy różnicowy czujnik przemieszczeń liniowych. Skład chemiczny drutów spawanych laserowo określono przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego JSM 6480 wyposażonego w detektor EDS firmy IXRF stosując standardową metodę kalibracji.

Wyniki badań i dyskusja

Metodą rentgenograficzną stwierdzono, że w stanie dostarczenia druty miały strukturę fazy macierzystej B2. Na dyfraktogramach spoin laserowych i zgrzewanych oporowo występowały również tylko linie dyfrakcyjne fazy B2.

Na krzywych DSC zarejestrowanych podczas chłodzenia i nagrzewania drutów w stanie dostarczenia (0) i próbek wyciętych ze spoin laserowych (1) i zgrzewanych oporowo (2) widoczne są zmiany w przebiegu przemian fazowych

Introduction

The laser-based techniques have been used in surface metalworking, cutting and welding. The technology applied in the production of medical goods made mainly of titan or its alloys uses the neodymium-yag laser. Those welding technologies have been successfully used in welding of the shape memory or superelastic NiTi elements [1-3]. Phase changes and mechanical properties of these alloys depend highly on the chemical composition, thermomechanical treatment and other technological factors [4]. Welding can also have influence on phase changes, structural failures and functional properties.

The surgery of skull remodeling makes use of metal aiding springs [5-7]. In Poland in the experimental treatment of craniostosies NiTi-alloy springs were used. To diminish the surgical invasiveness, presently the springs in the form of laser welded rings are used. They are subcutaneously fixed onto the skull while being squeezed to the shape of an ellipse and therefore in the process of expansion they provide successful correction of the cranial deformation [8]. It is crucial to perform welds of good quality and resistant to bending because a potential fracture might result in serious complications and make it necessary to provide a new distractor.

The aim of the study is to present the influence of welding on the structure and mechanical properties of superelastic NiTi wires and welded springs used in cranioplasty.

Materials and research methods

The superelastic NiTi welded wires with the diameters of 1,0 and 1,2 mm made of the Ti-50,8%at.Ni alloy were tested The springs for the cranial vault correction were formed from straight wires which, after being shaped into circles, were treated with laser pulsating and overlap welding in the argon atmosphere with the use of Nd:Yag 2002 S laser. Wires butt welded on ZDZ-06 short-circuit welder were also tested.

Phase composition of wires and welds were determined with the use of an X-ray method. Diffraction patterns were registered on the Philips X-Pert with a graphite monochromator in CuK_a radiation. Phase changes were recorded by DSC metod with the use of Perkin-Elmer calorimeter during cooling and heating of the samples at the rate of 10° C/min. Superelastic properties and the strength of welds were measured both by tensile tests on the Instron strength machine and during cyclic bendig of welded distractors on a specially constructed measure station, equipped with an Hottinger force converter and a linear variable differential transformer. Chemical composition determination of laser welded wires was carried out using the energy dispersive spectrometer (EDS) IXRF attached to SEM (JSM 6480) applying the standard calibration method.

Test results and discussion

The X-ray method made it possible to determine that in the state of delivery the wires had the structure of a B2 parent phase. On the diffractograms of the laser and resistant-welded welds there were also only the diffraction lines of the B2 phase.

The DSC curves registered during cooling and heating of wires in the state of delivery (0) and samples cut out from laser (1) and resistant-welded (2) welds show changes in phase transformations caused by the process of welding (FIG.1). In the laser welds, both during cooling and heating, phase transformations occurs with the contribution of intermediate



RYS.1. Krzywe DSC zarejestrowane podczas chłodzenia (a) i nagrzewania (b) próbek wyciętych z drutów poza strefą spawania i ze spoin laserowych i zgrzewanych doczołowo. FIG.1. DSC curves recorded during cooling (a) and heating (b) of the samples cut out from wire outside welding zone and from laser and frontally welded welds.



RYS.2.Krzywe rozciągania drutów spawanych na zakładkę wiązką laserową (1,2) oraz zgrzewanych doczołowo (3,4,5,6,7). FIG.2. Tensile tests of overlap laser-welded (1, 2) and electric butt welded wires (3,4, 5,6, 7).

spowodowane procesem spawania (RYS.1). W spoinach po spawaniu laserowym zarówno podczas chłodzenia jak i nagrzewania przemiany zachodzą z udziałem pośredniej fazy romboedrycznej R. Zmiany sekwencji przemian są prawdopodobnie spowodowane zdefektowaniem struktury i niejednorodnym polem naprężeń w strefie spawu.

Podczas rozciągania drutów spawanych obydwoma sposobami już przy niewielkich odkształceniach (około 2 %) następowało zrywanie drutów tuż przy spawie (RYS.2). W laboratoryjnych próbach wielokrotnego uginania okrągłych sprężyn spawanych laserowo przeznaczonych do plastyki czaszki przy odkształcaniu siłą nie przekraczającą 10 N nie stwierdzono przypadków rozerwania spawów (RYS.3).

Badania za pomocą mikroskopu skaningowego i liniową analizę składu chemicznego metodą EDX przeprowadzono na zgładach przekroju poprzecznego spawu. Wyniki tych badań przedstawiono na RYSUNKU 4. W obszarze jeziorka spawalniczego widoczne są kryształy (ziarna) promieniowo zorientowane wzdłuż kierunku odprowadzenia ciepła. Poza tym obszarem widoczna jest strefa mikro-nieciągłości w postaci por, odpowiedzialna za obniżenie własności me-



RYS.3. Wielokrotne, cykliczne zginanie spawanego laserowo pierścienia NiTi. FIG.3. Multiple cyclic bendig of laser welded NiTi ring.

R rhombohedral phase. The changes of transformation sequences are probably caused by structure deformations and non-homogeneous stress field in the welding zone. During stretching of wires welded with the use of both methods the wires were broken at near welding zone (Fig. 2) even when small deformations (about 2%) occurred. In laboratory tests of multiple bending of circular laser-welded springs used in cranioplasty with the deformation force below

10N breaking of welds did not occur (Fig. 3).

Electron scanning microscope observation and linear chemical analysis by EDX was carried out on cross section of the weld. The results are shown in Fig. 4. The area of the welding puddle shows the radial orientation of the crystals in accordance to the heat transfer direction. Outside of this area a zone of micropores is seen. It is responsible for observed lowering mechanical properties. The chemical composition across the weld as seen in Fig. 4b doesn't shows any inhomogeneity of nickel, titanium or oxygen. 158



RYS.4. Mikrostruktura (a) i skład chemiczny wzdłuż linii w poprzek spawu laserowego (b). FIG.4. Microstructure (a) and linear chemical composition across the laser weld (b).

chanicznych. Pomiary składu chemicznego wzdłuż linii w poprzek spawu (RYS.4b) nie wykazały istotnych różnic analizowanej zawartości niklu, tytanu i tlenu.

Wnioski

• Druty wykorzystane do wykonania prototypowych dystraktorów czaszkowych w temperaturze pokojowej mają strukturę fazy macierzystej B2 i wykazują dobre własności mechaniczne i pożądaną nadsprężystość.

• Druty spawane laserowo i zgrzewane oporowo wykazują niższą wytrzymałość na rozciąganie w porównaniu z materiałem w stanie dostarczenia spowodowaną mikroporowatością spoin.

 Zastosowanie spawania laserowego na zakładkę zapewnia wystarczającą wytrzymałość sprężyn przeznaczonych do modelowania sklepienia czaszki.

Conclusions

• The wire used for the production of the prototype skull distractors in room temperature have the B2 parent phase and display good mechanical properties and required super-elasticity.

• Laser and resistance welded wires show smaller tensile strength in comparison with the material at the moment of delivery caused by the microporosity of the welds.

• The use of overlap laser welding provides sufficient endurance of springs used for cranial vault modeling.

Piśmiennictwo

[1] A. Schussler., Proc. Sec. Int.. Conf. SMST., California (1997) 143

[2] P. Schlossmacher, T. Haas, A. Schussler., J. Phys. IV France 7 (1997) C5-251

[3] A. Tuissi, S. Besseghini, T. Ranucci, F. Squatrito, M. Pozzi.,Mater. Sci. Eng. A 273-275 (1999) 813 [5] C. Lauritzen, Y. Sugawara, O. Kocabalkan, R. Olsson., Scand. J. Plast. Reconstr. Hand Surg. 32 (1998) 331

[6] J. Guimaraes_Ferreira, F. Gewalli, L. David, R. Olsson, H. Friede, C. K. C. Lauritzen., Scand. J. Plast. Reconstr. Hand Surg. 37 (2003) 208

[7] L. David, P. Proffer, W. Hurst, S. Glazier, L. Argenta., J. Cranial Surg., 15 (5) (2004) 810

[8] H. Morawiec, Z. Lekston, K. Kobus, M. Węgrzyn, J. Drugacz., J. Mat. Sci.: Med. Mat. – in press.

STRUKTURA I WŁAŚCIWOŚCI WARSTW TLENOAZOTOWANYCH NAKŁADANYCH NA STOP Ni-Ti

T.Goryczka*, P.Pączkowski*, J.Lelątko*, T.Wierzchoń**, Z.Paszenda***, H.Morawiec*

*Istytut Nauki o Materiałach, Uniwersytet Śląski, 40-007 Katowice, Bankowa 12, Polska, **Politechnika Warszawska, Wydział Inżynierii Materiałowej, 02-507 Warszawa, Wołowska 141, Polska *Politechnika Śląska, Centrum Inżynierii Biomedycznej, 44-100 Gliwice, Akademicka 2A, Poland jlelatko@us.edu.pl

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),159-161]

Wprowadzenie

Z uwagi na takie właściwości jak efekt pamięci kształtu, pseudosprężystość i dobra biokompatybilność, stopy NiTi znajdują szerokie zastosowanie jako biomateriały w takich dziedzinach jak ortopedia, ortodoncja czy małoinwazyjana chirurgia [1]. Jednakże wysoka zawartość niklu oraz możliwość uwalniania jonów niklu do tkanki wciąż budzi obawy przed stosowaniem stopu w medycynie [2]. W celu zmniejszenia tego zagrożenia oraz poprawy odporności biologicznej, stosuje się nakładanie warstw ochronnych na powierzchnię stopu. Szczególnie dobre rezultaty poprawy biozgodności uzyskuje się poprzez wytworzenie warstwy tlenków i azotków tytanu na powierzchni stopu [3,4].

W pracy zbadano właściwości warstw tlenoazotowanych wytworzonych na powierzchni stopu NiTi. Badania zostały nakierowane na poznanie struktury oraz odporności korozyjnej tych warstw.

Eksperymenty

Warstwy wytwarzano na stopie NiTi (50.6 at%Ni) w temperaturach 350, 380 i 400°C.metodą azotowania jarzeniowego. Dodatkowo w końcowej fazie procesu atmosfera azotu została wzbogacona w niewielkie ilości tlenu

Identyfikacja fazowa naniesionych warstw została przeprowadzona w oparciu o wysokorozdzielczą mikroskopie elektronową i technikę dyfrakcji promieni rentgenowskich przy stałym kącie padania wiązki pierwotnej. Przy pomocy techniki reflektometrii rentgenowskiej została wyznaczona grubość, gęstość oraz chropowatość tlenoazotowanych

warstw oraz osnowy. Skład chemiczny został wyznaczony przy użyciu spektroskopii dyspersji energii.

Wyniki

Wyniki pomiarów grubości, gęstości oraz chropowatości warstw tlenoazotowanych wyznaczone techniką reflektometrii zostały umieszczone w TABELI 1.

Wyznaczony model struktury fazowej i chemicznej warstw tlenoazotowanych zmienia się wraz ze wzrostem tempe-

War- stwa	Grubość [nm] Thickness [nm]			Chropowatość po- wierzchni [nm] Surface roughness [nm]			Gęstość [g cm-³] Density [g cm-³]		
Layer	350°C	380°C	400°C	350°C	380°C	400°C	350°C	380°C	400°0
Ni ₃ Ti				39.3	46.6		7.355	7.181	
Ni ₂ Ti ₄ O	9.3	19.2	24.2	30.9	34.4	19.9	3.713	4.172	3.84
TiN	9.9	9.5	45.3	25.4	28.9	11.9	5.388	5.406	4.57
Ti ₃ O ₅	8.9	9.7	18.1	7.4	9.1	6.9	2.887	2.743	2.44

TABELA 1. Wyniki pomiarów reflektometri rentgenowskiej.

TABLE 1. The results obtained from the XRR measurements.

STRUCTURE AND PROPERTIES OF NITRIDED/OXIDIZED LAYERS COVERING A Ni-Ti SHAPE MEMORY ALLOY

T.Goryczka*, P.Pączkowski*, J.Lelątko*, T.Wierzchoń**, Z.Paszenda***, H.Morawiec*

*Institute of Material Science, University of Silesia, 40-007 Katowice, Bankowa 12, Poland, **Warsaw University of Technology, Faculty of Materials Science and Engineering, 02-507 Warsaw, Wołowska 141, Poland ***Silesian University of Technology, Biomedical Engineering Center, 44-100 Gliwice, Akademicka 2A, Poland Jlelatko@us.edu.pl

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),159-161]

Introduction

The characteristic properties of NiTi alloy like shape memory effect, superelasticity and good biocompatibility, make possible to use it as an excellent biomaterial for orthopedics, dental application, vascular and organ surgeries [1]. However, high nickel content in NiTi alloy and potential nickel ions release often stimulates some concerns for their medical use [2]. To decrease this menace and improve the biological resistance, surface of NiTi alloy has been covered by protective layers. Titanium oxide and nitride has been found as a good candidate for layers, which sufficiently protect human body [3,4]. Moreover, combining the sequence of the layers increases corrosion resistance and biocompatibility.

In the present work the nitride-oxide layers covered the NiTi alloy were investigated. The studies were focused on structure of the layers and their corrosion resistance.

Experimental

The nearly-equiatomic NiTi (50.6 at%Ni) alloy was nitrided at temperatures: 350, 380 and 400°C using glow discharge method. Additionally, at the end of the process some amount of oxygen was added.

The phase identification of the layers was done using high resolution electron microscopy and the X-ray grazing technique. The thickness, surface roughness, interface roughness and density of the nitrided layers and metal matrix

were calculated from X-ray reflectivity measurement. The chemical composition of the layers was determined using energy dispersive spectrometer.

Results

Thickness, roughness and density of the nitrided layers were determined from X-Ray reflectivity measurements and collected together in TABLE 1. Results revealed that the thickness, morphology, chemical and phase BIOMATERIALÓW

160



RYS.1. Mikrostruktura warstw tlenoazotowanych w temperaturze 380°C: (a) przekrój poprzeczny warstwy; (b) obraz dyfrakcyjny. FIG.1. Microstructure of the cross-section of the

layer, which was nitrided at 380° (a) and selected area diffraction pattern (b).

ratury azotowania. Zewnętrzna warstwa jest zbudowana z fazy Ti_3O_5 . oraz TiN.

Następnie identyfikowano warstwę Ni₂Ti₄O. Faza przejściowa pomiędzy warstwą a osnową została oznaczona jako Ni₃Ti. Wyniki badań rentgenowskich potwierdzono badając skład chemiczny metodą EDS oraz prowadząc obserwacje przy pomocy mikroskopu elektronowego i identyfikację fazową wykonaną w oparciu o obrazy dyfrakcyjne i obrazy FFT uzyskane z obrazów wysokorozdzielczych. Obliczona w modelu wysoka chropowatość pomiędzy subwarstwami może wskazywać na płynne przejście jednej fazy w drugą ze wzrostem głębokości.

Warstwy wytworzone na wszystkich trzech próbkach posiadają podobną budowę oraz skład fazowy. Warstwa zewnętrzna o grubości ok. 20 nm (FIG.1a A) posiada budowę nanokrystaliczną o rozmiarze ziaren kilku nm. Dodatkowo na zdjęciach wysokorozdzielczych widoczna jest również faza amorficzna, zanikająca wraz ze wzrostem głębokości. Grubość poszczególnych warstw rośnie wraz ze wzrostem temperatury azotowania. W warstwie wierzchniej zaobserwowano nanoziarna Ti₃O₅ otoczone niewielką ilością fazy amorficznej. Średnia wielkość tych ziaren wynosi od 2 do 8 nm i zmienia się wraz ze zmianą warunków azotowania. Grubość fazy przejściowej Ni₃Ti, pomiędzy warstwą zewnętrzna a osnową, rośnie wraz ze wzrostem temperatury nakładania od około 20 nm do 50 nm. Ziarna mają budowę kolumnową o szerokości kilkunastu nm

Pomiary korozyjne wskazują na wysoką odporność korozyjną azotowanych próbek. Najwyższa wyznaczona wartość potencjału korozyjnego E_{corr}=- 66mV oraz potencjału przebicia E_{br}=+2143mV, zostały uzyskane dla warstwy nakładanej w temperaturze 400°C. Wartości te są dwukrotnie wyższe niż uzyskane dla warstw pasywowanych [5]. Odporność korozyjna została zmierzona w roztworze Tyroda wprocesie cyklicznej potencjodynamicznej polaryzacji.

Wnioski

. W wyniku azotowanie stopu NiTi metodą jarzeniową w temperaturze 350–400°C otrzymano cienkie, jednorodne, nanokrystaliczne warstwy, złożone głównie z TiN

2. Wprowadzenie, w końcowym etapie procesu, tlenu skutkuje wytworzeniem się na powierzchni warstwy fazy $\rm Ti_3O_5,$ co powinno wpłynąć na poprawę biokompatybilności stopów NiTi

3. Zewnętrzna warstwa zbudowana głównie z TiN oraz niewielkiej ilości ${\rm Ti}_3{\rm O}_5$ jest wolna od atomów niklu.

4. Tlenoazotowanie stopu NiTi metodą jarzeniową w temperaturze 350–400°C znacznie podwyższa odporność korozyjną tych stopow.



RYS.2. Obraz wysokorozdzielczy warstwy A (400°C) (a) oraz obraz FFT z zaznaczonego obszaru z dopasowanym symulowanym obrazem dyfrakcyjnym dla fazy Ti_3O_5 (b).

FIG.2. Microstructure of the cross-section of the layer, which was nitrided at 400°C (a), HREM image from the zone A (b) and the FFT pattern from the selected area with simulated diffraction pattern of the Ti_3O_5 phase (c).

composition of the layers change with increasing of the nitriding temperature.

The outer sub-layers contain Ti_3O_5 and TiN phase followed by the Ni_2Ti_4O phase. The Ni_3Ti phase was found between the outer layer and the matrix.

The model of multilayer sequence has been confirmed by the chemical composition measurement, which was carried out using EDX system. The fluently change of the phase composition can explain the high surface roughness between sub-layers and the matrix. The TEM observations of the layers also proved that the outer layer is approximately 20 nm of thickness (FIG.1a - zone A). The surface layer (zone A and B) has a nanocrystalline structure with the grain size of a few nm. Moreover, some amount of the amorphous phase was stated from the HRTEM images. The phase identification of the sub-layers was carried out using the selected area diffraction patterns and the FFT patterns obtained from the high resolution images. Once again it confirms the results obtained from X-ray diffraction. Regardless the temperature of glow discharge, the sequence of the phases is the same in all samples. However, thickness of the layers increases with increase of the nitriding temperature. It was also observed that the outer zone is a mixture of the Ti₃O₅ nano-grains (FIG.2) surrounded by the amorphous phase which amount decreases with increasing the nitriding temperature. The average diameter of the Ti₃O₅ nano-grains was estimated as 2 nm and 8 nm for samples nitrited at 350°C and 400°C, respectively. The thickness of Ni, Ti intermediate layer was estimated from the TEM images and varies from 20 to 50 nm corresponding to the rising of the temperature of the nitriding process. The grains have a columnar shape of several nm width.

The results obtained from corrosion measurement show high corrosion resistance of the nitrided samples. The best established value were E_{corr} =- 66mV and breakdown potential E_{br} =+2143mV for the process at 400°C. These values are twice times higher than that one obtained for TiO₂ layers after passivation [5]. The corrosion resistance was tested in the physiological Tyrod's solution using the cyclic potentiodynamic polarization.

Conclusions

1. The nitriding of the NiTi surface using glow discharge method produces continuous, homogenous and nanocrystalline layers with complex microstructure.

2. The surface layer, which consists of the TiN and $\text{Ti}_{3}\text{O}_{5}$ phase, is free from the nickel atoms.

3. The nitriding of the NiTi alloys results in increasing its corrosion resistance.

Podziękowania

Niniejsza praca była finansowana z grantu PBZ-KBN-100/T08/2003.

Piśmiennictwo

 C.M. Wayman, J. Met., 6 (1980) 129
 J. Rychänen, Proc. of the third Intern. Conf. on Shape Memory and Superelastic Technologies, California, SMST-2000, p. 251
 D. Starosvetsky, I.Gotman, Surface and Coatings Technology, 148 (2001) 268-276

MODELOWANIE STANU NAPRĘŻEŃ PINCETY W ASPEKCIE POPRAWY JEJ ERGONOMII

Piotr Lacki[®] Józef Jasiński[®], Leopold Jeziorski[®], Małgorzata Lubas[®], Michał Szota[®], Marcin Dyner^{®®}

*Politechnika Częstochowska,

Wydział Inżynierii Mechanicznej i Informatyki, Instytut Obróbki Plastycznej, Inżynierii Jakości i Bioinżynierii, **Politechnika Częstochowska,

Wydział Inżynierii Procesowej, Materiałowej i Fizyki Stosowanej, Instytut Inżynierii Materiałowej,

***FABRYKA NARZĘDZI MEDYCZNYCH CHIRMED® W RUD-NIKACH K/CZĘSTOCHOWY

LACKI@IOP.PCZ.CZEST.PL

Streszczenie

Proces projektowania pincety wymaga optymalizacji wielu parametrów, należy rozważyć wiele funkcji jakie powinna spełniać, a także uwzględnić ograniczenia projektowe. Należy również uwzględnić hierarchię ich ważności. W niniejszej pracy zaprezentowano część metodyki rozwiązania tego typu problemów. Zwrócono szczególną uwagę na problem ergonomiczności Zaprezentowane w niniejszej pracy procedury analizy pincet pozwalają na dokładne określenie wymiarów geometrycznych zgodnie z wymaganiami funkcjonalnymi jakie musi spełnić pinceta. Prezentowana analiza numeryczna opisuje nieznaczny obszar zastosowań pincet, jednak zastosowany algorytm postępowania można dostosować do każdego typu pincet.

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),161-164]

Wprowadzenie

Pincety są jednym z najpopularniejszych narzędzi medycznych. Wykorzystuje się je w wielu dziedzinach medycyny takich jak stomatologia, laryngologia, chirurgia, farmakologia, genetyka, . Oprócz medycyny pincety stosowane są w takich dziedzinach jak elektronika, protetyka, filatelistyka, montaż drobnych elementów, badania laboratoryjne i wiele innych. W zależności od przeznaczenia pincety mają różne kształty i wymiary. Najbardziej typowym przykładem są standardowe pincety anatomiczne, które mają płaskie szczęki chwytne i typowy kształt ramion. Pincety te w zależności od przeznaczenia występują z różnymi szerokościami końcówki

Acknowledgement

The studies were financially supported from the grant PBZ-KBN-100/T08/2003.

References

[4] Ying Fu, Xingfang Wu, Yuew Wang, Bin Li, Si-ze Yang, Applied Surface Science, 157 (2000) 167-177
[5] H. Morawiec, J. Lelątko, G. Stergioudis, T. Goryczka, A. Winiar-

ski, P. Pączkowski, Engineering of Biomaterials, 37 (2004) 32-35.

SIMULATION OF THE STRESS STATE IN THE FORCEPS IN ORDER TO IMPROVE ITS ERGONOMICS

Piotr Lacki' Józef Jasiński", Leopold Jeziorski", Małgorzata Lubas", Michał Szota", Marcin Dyner'''

*Politechnika Częstochowska,

Wydział Inżynierii Mechanicznej i Informatyki, Instytut Obróbki Plastycznej, Inżynierii Jakości i Bioinżynierii, **Politechnika Częstochowska,

Wydział Inżynierii Procesowej, Materiałowej i Fizyki Stosowanej, Instytut Inżynierii Materiałowej,

***FABRYKA NARZĘDZI MEDYCZNYCH CHIRMED® W RUD-NIKACH K/CZĘSTOCHOWY

LACKI@IOP.PCZ.CZEST.PL

Abstract

In order to design forceps properly it is necessary to optimise many parameters and consider the functions, which forceps should fulfil. Of course, some simplifications are necessary respecting calculation methodology. In the paper solution procedure of such a problem has been presented.

The presented solution allows for precise determination of the geometrical dimensions according to the functional requirements that forceps should fulfil. The presented numerical analysis describes small range of the forceps application but the used algorithm can be applied in any other type of forceps.

The carried out calculations allow for determination of the geometrical parameters with reference to the expected spring rate. The charts elaborated on the basis of the calculations are very useful during a design process. The numerical calculations show an essential problem, namely change in contact surface as a function of load. The observed phenomenon can affect the forceps functioning badly.

[IEngineering of Biomaterials, 58-60,(2006),161-164]

Introduction

Forceps are one of the most popular medical tools. They are used in many medical fields such as: stomatology, laryngology, surgery, pharmacology, genetics etc. Moreover, forceps are applied in other domains such as: electronics, prosthetics, philately, assembly of tiny elements, laboraroboczej wahającej się od 1 mm do 5 mm. Całkowita długość pincety może oscylować od 67 mm do 490 mm [1]. W mikrochirurgii i genetyce używa się pincet o proporcionalnie dużej szerokości ramion w stosunku do ostro zakończonej szczęki chwytnej. Niektóre pincety np. laryngologiczne mają zakrzywione ramiona robocze ułatwiające obserwację pola operacji. Liczną grupę pincet stanowią pincety specjalistyczne spełniające określone zadania. Ich kształt ramion i szczęk chwytnych jest zależny od przeznaczenia pincety. Szczęki robocze niektórych z pincet mogą mieć specjalistyczne końcówki szczęk roboczych zaprojektowanych do realizacji określonych funkcji medycznych [2,3,4]. Pincety mogą być wykonywane w zależności od przeznaczenia ze stali kwasoodpornej, stali nierdzewnej, tytanu, lub stali niemagnetycznej. Zdarza się że pokrywane są azotkiem tytanu. Części robocze pincety mogą być pokryte diamentem lub wykonane z węglików spiekanych.

Analiza numeryczna pincety stomatologicznej

Analizie numerycznej poddano pincetę stomatologiczną dla której zbudowano trójwymiarowy (3D) model geometryczny. Rozważono trzy warianty proponowanej geometrii pincety. Na RYS.1 pokazano analizowane warianty geometrii pincety. Widok pokazany na Rys.1a przedstawia geometrię podstawowa pincety stomatologicznej, która został zmodyfikowana. RYS.c,d przedstawia widoki zmodyfikowanych części pincety. Zaproponowane zmiany dotyczyły zmiany grubości w tej części pincety, w której zostaje przyłożona siła. Zmiana grubości miała na celu uzyskanie bardziej ergonomicznego kształtu, oraz kształtowanie siły ściskania pincety. Geometria modyfikowana była dla jednego ramiona pincety.

Poprzez analizę numeryczną starano się uzyskać informację o stanie naprężenia w elementach pincety. Dodatkowo w modelu numerycznym zastosowano elementy kontaktowe na zakończeniu szczęk roboczych. Wprowadzenie kontaktu pozwoliło na dokładniejszą analizę zachowania się końcówek szczęk roboczych pincety. Wyniki analizy numerycznej pincety posłużą do właściwego zaprojektowania geometrii pincety, określenia siły ściskania i procesu obróbki cieplnej. Do obliczeń zastosowano stal 1.4024 (oznaczenie wg. EN) o właściwościach przedstawionych w TABELI. 1.

Model numeryczny [5,6] zakładał sprężyste właściwości analizowanego materiału pincety. Siatka MES zbudowana była z 27-węzłowych elementów sześciennych 3D. W sumie do zamodelowania pojedynczej pincety użyto średnio 42 000 węzłów. Przyjęta ilość elementów i węzłów zapewniała prawidłowe odwzorowanie geometrii, oraz optymalne wyniki obliczeń.

Na RYS.2. zaprezentowano rozkład naprężeń zredukowanych dla analizowanych przypadków geometrii, wraz z pokazaniem sposobu ich obciążenia. Do ramiona pincety przyłożono siłę F=10 N. Siła F była rozłożona na dwa węzły siatki MES. Z rozkładu naprężeń wynika, że dla podstawotory tests etc. Generally, shape and dimensions of forceps depend on their application. Anatomical forceps characterising by the flat holder jaws and classic arm shape are the most representative example of the forceps. These forceps may have different working tips with a thickness of 1÷5 mm. The whole forceps length ranges from 67 to 490 mm [1]. In microsurgery and genetics the forceps with a large width of the arms in proportion to the pointed holder jaws are used. Some forceps e.g. laryngological ones have curved working arms in order to secure better observation of the surgical field. There is also a group of the specialistic forceps, which characterise by a special shape of the arms and holder jaws depending on their destiny. Some forceps have working jaws with the specialistic holder tips, which are designed for execution the special medical functions [2,3,4]. The forceps can be made of the acid resistant steel, stainless steel, titanium or non-magnetic steel. It depends on the forceps destiny. Some forceps are covered with TiN layer. The working parts can be covered with diamond or made of sintered carbides.

Numerical analysis of the dental forceps

A numerical simulation of the dental forceps was carried out. 3D geometrical model was created. Three variants of the forceps geometry were analysed. Figure 1 shows these variants. In Fig. 1a) a basic geometry of the dental forceps is presented. Next the geometry was modified. In Figure 1c and 1d the views of the forceps parts, which were subjected to modification, were shown. The changes concerned thickness of the forceps part, where the load was applied. Thickness change aims at receiving more ergonomical shape and more favourable load of the forceps. The modification was made only for one forceps arm.

Thanks to the numerical simulation information on the stress state in the forceps elements is possible [5,6]. Additionally in the numerical model contact elements at the working tips were applied, what allows for more precise analysis of behaviour of the working tips. Analysis results will be used during deign of the forceps geometry, determination of the compressive force and heat treatment. In the calculation material data for 1.4024 steel (according to EN standards) were assumed. In TABLE 1 some mechanical properties and chemical constitution are presented.

Elastic properties of the forceps material were assumed in the numerical model. Mesh of the finite elements was created from 27-node 3D elements. In order to model the forceps about 42 000 nodes were used. The assumed number of the elements and nodes secure the right image of geometry and optimum calculation results.

In FIG.2 the stress distribution for the analysed geometry and the way of their load is presented. The forceps arm was load with force F=10N. F force was distributed among two nodes of the FEM mesh. According to the calculations there is a difference between stress distributions resulting from the forceps geometry.

Differences in reduced stresses appear only for modified forceps parts. In the area of the compressive force action (for the case of the forceps showed in FIG.1d) an increase in reduced stresses in relation to the stresses for the basic geometry was observed. The increase in stresses resulted from a decrease in the local thickness of the forceps arm. For the forceps shown in Figure 1c there was no essential change in the stress state. Thickness

slatki MES. 2 rozkła wych elementów pincety tzn. szczęk roboczych i sprężyny, rozkład naprężeń się nie zmienia. Obserwowane zmiany naprężeń zredukowanych dotyczą jedynie modyfikowanych elementów pincety. W przypadku

Skład chemiczny Chemical constitution				Właściwości mechaniczne w temperaturze otoczenia Mechanical properties in room temperature				
C%	Si%	Mn %	Cr %	R _{0.2} [MPa]	R _r [MPa]	E [MPa]	v	Twardość Hardness
0,12- 0,17	≤1,0	≤1,0	12,0- 14,0	250	600	2,2·10 ⁵	0,29	225 HV

TABELA.1. Właściwości stali 1.4024 (EN). TABLE. 1. Material data for 1.4024 steel (EN).

modyfikacji pincety pokazanej na RYS.1d w obszarze działania siły ściskającej obserwowano wzrost naprężeń zredukowanych w stosunku do geometrii podstawowej. Wzrost naprężeń w tym miejscu był związany ze zmniejszeniem się grubości pincety w tym miejscu. W przypadku pincety pokazanej na Rys.1c nie zarejestrowano istotnych zmian stanu naprężeń. Grubość pincety w tym przypadku była większa w porównaniu do pincety podstawowej. W żadnym z rozważanych przypadków nie zaobserwowano przekroczenia naprężeń zredukowanych ponad granicę wytrzymałości zdefiniowaną dla przyjętego materiału.

Maksymalne naprężenia w obszarze szczęk roboczych pincety stanowią około 25% granicznej wytrzymałości na rozciąganie dla przyjętego materiału i nie są niebezpieczne. Po obciążeniu siłą F na samym końcu pincety nie ma dużych naprężeń mimo, że w tym obszarze dochodzi do bezpośredniego kontaktu między szczękami roboczymi. Jest to związane z niewielką zmianą geometrii szczęk roboczych. Zjawisko to będzie szczegółowo omawiane w dalszej części pracy. Naprężenia w obszarze szczęk roboczych koncentrują się na ich zgięciu i tam osiągają lokalne maksimum. Charakter naprężeń zredukowanych jest podobny dla wszystkich rozpatrywanych wariantów geometrii.

W końcowej części szczęk roboczych na przeciwległych ramionach pincety znajdują się odpowiednio otwór i kołek. Elementy te stanowia zabezpieczenie pincety przed niedokładnym prowadzeniem. Ze względu na rozkład naprężeń elementy te stanowią rodzaj karbu i wprowadzają koncentrację naprężeń. Na powierzchni pincety można zaobserwować lokalne koncentracje naprężeń zredukowanych w obszarze otworu. W prezentowanym przykładzie wartość naprężeń nie jest duża i nie stanowi zagrożenia, jednak w przypadku wykonania zbyt dużego otworu w stosunku grubości pincety w tym miejscu może dojść do pęknięć. Na przeciwległym ramieniu znajduje się kołek ustalający pincety. Ze względu na poziom naprężeń łączenie kołka z ramieniem pincety nie stanowi zagrożenia, natomiast jest to miejsce szczególnie narażone na rozwój korozji. Na ogół kołki ustalające są wykonywane z materiału o mniejszej zawartości węgla w stopie, ma to na celu między innymi polepszenie odporności korozyjnej.

Podsumowanie

Środowisko pracy instrumentarium medycznego nakłada nowe ograniczenia na ich procedurę projektowania. Między innymi przy zachowaniu wszystkich parametrów wytrzymałościowych należy uwzględnić problem korozji materiałowej, i odporności na zróżnicowane warunki sterylizacji narzędzi medycznych.

W celu poprawy ergonomiczności pincety stomatologicznej zaproponowano dwa typy rozwiązań: pincetę z pocienieniem w obszarze działania siły, oraz z pogrubieniem w tym samym obszarze. Zaproponowane rozwiązania w tym zakresie poddano analizie numerycznej w celu określenia stanu naprężeń. Wyniki obliczeń wskazują, że zaproponowane rozwiązania nie zmienią w istotny sposób rozkładu naprężeń w pincecie, a jednocześnie poprawią ergonomiczność pincety poprzez dokładniejsze i bardziej dopasowane uchwycenie pincety przez człowieka. Z uwagi na to, że modyfikacja dotyczy tylko jednego ramienia istnieje możliwość rozróżnienia poszczególnych ramion poprzez dotyk. Rozwiązanie takie pozwoli na odpowiednie ułożenie pincety w dłoni bez konieczności odwracania wzroku od pola operacji. Cecha ta bedzie szczególnie użyteczna dla pincet o budowie niesymetrycznej, w których ułożenie pincety w dłoni ma istotne znaczenie.



RYS.1. Analizowane przypadki geometrii pincety, a) geometria podstawowa – widok całej pincety, b) geometria podstawowa widok części modyfikowanej, c) pogrubienie w modyfikowanej części, d) pocienienie w modyfikowanej części

FIG.1. The analysed forceps geometry a) basic geometry – a view of the whole forceps, b) basic geometry – a view of the forceps part, which undergoes modification, c) thickening in the modified part, d) thinning in the modified part.



RYS.2. Rozkład naprężeń zredukowanych dla analizowanych przypadków, MPa FIG.2. Distribution of the effective stresses for the analysed variants, MPa.

tion these elements pose some kind of notch and result in stress concentration. At the forceps surface in the vicinity of the hole there is local concentration of the effective stresses. When the hole is too big in relation to the forceps thickness this place can be affected by crack. The other arm with the pin is not affected by crack but it is exposed to corrosion development. In order to improve corrosion resistance pins are generally made of the material with lower carbon content.

Summary

The environment, in which medical instrumentarium works, imposes new restrictions on the procedure of design. Among other things, material corrosion and resistance to different sterilisation conditions must be taken into consideration, of course with keeping all mechanical parameters. In order to improve ergonomics of the dental forceps the two following solutions were proposed:

- forceps with thinning in the area of the force action, - forceps with thickening in the same area.

Calculation results suggest that the stress distribution do

M Z Y N F E R J A MATERIAŁÓW

164 Podziękowania

Praca naukowa finansowana ze środków Ministra Nauki, wykonana w ramach realizacji Programu Wieloletniego pt. "Doskonalenie systemów rozwoju innowacyjności w produkcji i eksploatacji w latach 2004 – 2008" – PW 004/ ITE/02/2005

Piśmiennictwo

[1] CHIRMED® Katalog Ogólny. Fabryka Narzędzi Medycznych \www.chirmed.pl\

[2] Peled I. Hooked forceps. Ann Plast Surg 1984; 12:385 6.
[3] Frankel DH. The use of a combination skin hook and tissue forceps: A new instrument for dermatologic surgery. J. Dermatol Surg Oncol 1988; 14: 497-9.

OTRZYMYWANIE I WŁAŚCIWOŚCI RUREK POLIMEROWYCH Z PRZEZNACZENIEM DO REGENERACJI USZKODZONYCH NERWÓW

J. LASKA*, A. FRĄCZEK*, H. YOLSAL*, S. BŁAŻEWICZ*, D. SZAREK**, A. SOBCZAK*, J. CHŁOPEK*

*Akademia Górniczo-Hutnicza, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki Al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków **Akademia Medyczna we Wrocławiu, Zakład Chorób Układu Nerwowego ul. Traugutta 116, 50-458 Wrocław

Streszczenie

Niniejsza praca przedstawia wstępne badania nad otrzymywaniem rurek polimerowych, które mogłyby być zastosowane jako implanty w regeneracji uszkodzonych nerwów (NGCs). Do otrzymywania rurek zastosowano nowy biozgodny terpolimer - polipropylen-co-polidifluoroetylen-co-politetrafluoroetylen. Otrzymane rurki o średnicy wewnętrznej ok. 1.5 mm scharakteryzowano przy pomocy mikroskopu optycznego, elektronowego mikroskopu skaningowego oraz przeprowadzono wstępne badania ich morfologii i właściwości mechanicznych.

Słowa kluczowe: regeneracja nerwów, implanty rurkowe, mikrostruktura, właściwości mechaniczne [Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),164-166]

Wprowadzenie

Regeneracja uszkodzonych nerwów to trudne wyzwanie badań klinicznych. W ostatnich latach opracowano kilka metod, z których najprostsza polega na połączeniu końców przerwanego włókna nerwowego. Metoda ta pozwala jednak na odbudowę tylko bardzo małych ubytków, a i tak pełne odzyskanie funkcji danego nerwu jest niezwykle rzadkie. Regeneracja większych ubytków, a szczególnie powyżej 10 mm, wymaga zastosowania dodatkowego rusztowania. W tym celu przebadanych zostało wiele materiałów naturalnych not change essentially, but ergonomics of the forceps is better - it is easer and more comfortable to take hold of the forceps by men.

Modification concerns only one forceps arm, what gives possibility of the easy and proper hold of the forceps in the hand without looking away from the operative field. It is especially important in the case of the asymmetric forceps, for which proper position in the hand is essential.

References

[4] Lalonde DH. Hook forceps. Ann Plast Surg 1991; 26: 597-7.
[5] K.J. Bathe, *Finite Element Procedures*, Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ, 1996.

[6] ADINA R& D, Theory and Modeling Guide Volume I: ADINA Solids & Structures Inc. Report ARD 05-7 October 2005.

MANUFACTURING AND CHARACTERIZATION OF POLYMER TUBES DESIGNED FOR NERVE REGENERATION

J. Laska^{*}, A. Frączek^{*}, H. Yolsal^{*}, S. Błażewicz^{*}, D. Szarek^{**}, A. Sobczak^{*}, J. Chłopek^{*}

*AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS, AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW, POLAND **MEDICAL UNIVERSITY OF WROCLAW, INSTITUTE OF NERVOUS SYSTEM DISEASE, *UL. TRAUGUTTA 116, 50-458 WROCLAW, POLAND*

Abstract

The presented work demonstrates preliminary results of manufacture of the polymer nerve guidance channels (NGCs) for nerve reparation. New biocompatible material, polypropylene-co-polydifluoroethylene-co-polytetrafluoroethylene terpolymer, was applied for the preparation of the tubes. The obtained tubes with the inner diameter of ~1.5 mm were characterized with optical and scanning electron microscopy, and mechanical properties and morphology of the obtained tubes were investigated.

Keywords: nerve guidance channels, NGCs, microstructure, mechanical properties

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),164-166]

Introduction

Nerve regeneration is a difficult clinical challenge. Several methods have been elaborated during past years. The simplest one is a coaptation of the two ends of a fractured nerve. However, only very small lesions can be restored with this method, and even then complete function recovery is rare. Greater gaps, especially over 10 mm, must be supported with an artificial scaffold. Natural materials, like bones, artery, veins and collagen as well as synthetic polymers, like silicone, polyethylene, polytetrafluoroethylene or acrylates were investigated for this purpose. Unfortunately, bridging transected nerve with these materials usually leads to changes in morphology of the newly grown nerve [1]. takich jak kości, aorty, żyły, kolagen oraz syntetycznych polimerów np. polisiloksany, polietylen, politetrafluoroetylen czy akrylany. Niestety na nowo odtworzony nerw na ogół charakteryzuje się trochę inną morfologią w porównaniu z nerwem nieuszkodzonym [1]. Obecnie najbardziej intensywne badania skierowane są na opracowanie kanalików łączących końce uszkodzonego nerwu i jednocześnie ułatwiających jego odrost [2]. W niniejszej pracy opracowana została bardzo prosta metoda wytwarzania elastycznych rurek polimerowych charakteryzujących się biozgodnością oraz stosunkowo dobrymi właściwościami mechanicznymi.

Opis eksperymentu

Rurki polimerowe otrzymano poprzez pionowe zanurzenie rurki kapilarnej o średnicy 1.45 mm w 20% roztworze terpolimeru w acetonie. Aby uzyskać porównywalną grubość ścianki na całej długości rurki należy po wyciągnięciu kapilary z roztworu obracać ją poziomo przez 3-4 minuty. Po wysuszeniu powłoki polimerowej rurkę umieszczano na dwie godziny w gorącej wodzie (~70°C), a następnie pozostawiano całość w temperaturze pokojowej do następnego dnia. Rurki scharakteryzowano przy pomocy mikroskopu optycznego Olympus CX41, skaningowego mikroskopu elektronowego The Nova Nano SEM 200, FEI Company oraz aparatu do pomiaru właściwości mechanicznych Zwick model-1435.



RYS. 1. Zdjęcia SEM wewnętrznej powierzchni a) rurki z terpolimeru, b) rurki modyfikowanej włóknami z PVA.

FIG. 1. SEM image of the inner surface of a) the terpolymer tube, b) the terpolymer tube modified with PVA fibers.

Dyskusja wyników

Opracowano bardzo prostą metodę otrzymywania elastycznych rurek polimerowych, które mogą służyć jako implanty do regeneracji nerwów. Zastosowano metodę pokrywania szklanej rurki kapilarnej o odpowiedniej średnicy poprzez zanurzanie jej w 20% roztworze terpolimeru statystycznego (polipropylen-co-polidifluoroethylen-co-politetrafluoroetylen). Aby otrzymać różne grubości ścianki proces zanurzania powtarzano kilkakrotnie. Pokrycie kapilary jedną lub więcej warstw rozpuszczalnego w wodzie poli(alkoholu winylowego) ułatwia zdjęcie rurki polimerowej. Pomimo iż zastosowany terpolimer charakteryzuje się biozgodnością np. w zastosowaniach ortopedycznych, to nie był on nigdy stosowany do regeneracji nerwów. Z tego względu konieczne sa szczegółowe badania in vitro. Badania mikroskopowe i SEM pokazały, że rurki charakteryzują się bardzo gładką powierzchnią wewnętrzną (RYS.1a), aczkolwiek zarówno morfologia powierzchni jak i porowatość ścianki może być modyfikowana przez dodatek rozpuszczalnych w wodzie włókien (RYS.1b).

Presently, the most intense research is directed towards developing channels serving as guidance for a restoring nerve [2]. In this work we elaborated a simple method of manufacturing of elastic polymer tubes showing reasonably good mechanical characteristics and smoothness of the inner surface.

Experimental

The polymer tubes were prepared by subsequent dipcoating of the glass capillary tube of diameter 1.45 mm in a 20 wt% terpolymer solution in acetone. After withdrawing the capillary tube from the solution it was rotated horizontally for 3-4 minutes to obtain similar wall thickness along the axis of the tube and to evaporate the solvent. The dry coated capillary tubes were immersed in hot water (~70°C) for 2 hrs and then left in water overnight. The polymer tubes were slipped off the glass capillary and characterized using Olympus CX41 optical microscope, scanning electron microscope The Nova Nano SEM 200, FEI Company, and Zwick model-1435 apparatus for mechanical properties determination.



RYS.2. Wytrzymałość na rozciąganie rurek z terpolimeru. Liczby w nawiasach, zamieszczone w legendzie, oznaczają grubość ścianki rurek w μm.

FIG.2. Tensile strength of the terpolymer tubes. Numbers in brackets in the legend show the wall thickness of the tubes in μ m.

Results and discussion

This work shows a very simple method of producing elastic polymer tubes, which can will be verified as nerve guidance biomaterials. The tubes were prepared of polypropylene-co-polydifluoroethylene-co-polytetrafluoroethylene statistical terpolymer by dip-coating of the glass capillary of a given diameter. To obtain different wall thickness, the dip-coating of the capillary tube was repeated several times. To facilitate the separation of the polymer tube from the glass one, first layer was made of PVA which is soluble in water. In spite that the terpolymer is known as biocompatible, it never before was applied for nerve reparation. Hence, careful in vitro studies are in course. Microscopic and SEM study show that the inner surface of the tubes is very smooth (FIG.1a). However, both morphology of the surface or porosity of walls can be modified by addition of water soluble fibers (FIG.1b).

1ATERIALÓW

Mikrogeometria powierzchni prawdopodobnie ma znaczący wpływ na wzrost nowego nerwu. Wpływ taki był obserwowany przez Bellamkomdę [2], który stwierdził, że jeśli uszkodzony nerw zostanie umieszczony w żelu agarozowym wypełnionym włóknami nylonowymi, to proces wzrostu przebiega głównie na włóknach. Rezultatem naszych badań są więc także rurki (kable) z wieloma kanalikami o średnicy kilkudziesięciu mikronów, równoległymi do osi rurki. Prezentowane badania są wstępne i wymagają dalszej pracy. Właściwości mechaniczne otrzymanych rurek są wystarczająco dobre, tzn. rurki są bardzo giętkie i elastyczne. Zszywanie i klejenie nie powoduje ich rozrywania. Wytrzymałość rurek na rozciąganie, niezależnie od grubości ścianki, jest podobna (RYS.2). Wydłużenie przy zerwaniu dla wszystkich rurek wynosi ok. 50%.

Piśmiennictwo

References

[1] P. Weiss Biomaterials 19 (1998) 1919-1924

[2] R.V. Bellamkomda *Biomaterials* **27** (2006) 3515-3518 (and references cited therein)

BADANIA UWALNIANIA FLUORU ZE STAŁYCH WYPEŁNIEŃ STOMATOLOGICZNYCH

Joanna Mystkowska*, Jan R. Dąbrowski*, Grażyna Marczuk-Kolada*, Elżbieta Łuczaj-Cepowicz**

*Politechnika Białostocka, Wydział Mechaniczny, Białystok, **Akademia Medyczna, Zakład Stomatologii Dziecięcej, Białystok, joasia@pb.białystok.pl

Streszczenie

W pracy przedstawiono wyniki badań uwalniania fluoru, chropowatości powierzchni i aktywności antybakteryjnej wypełnień stomatologicznych. Badaniom poddano dwa handlowe materiały: cement szkłojonomerowy Fuji IX i kompozyt modyfikowany polikwasem Dyract AP. Uwalnianie jonów fluorkowych mierzono metodą potencjometrii bezpośredniej. Aktywność antybakteryjną oceniano przy wykorzystaniu procesu dyfuzji w podłożu agarowym. Analizowano topografię powierzchni materiałów przy pomocy elektronowego mikroskopu skaningowego.

Słowa kluczowe: materiały stomatologiczne, uwalnianie fluoru, chropowatość, aktywność przeciwbakteryjna

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),166-169]

Wprowadzenie

Wśród wielu wymagań stawianych materiałom na stałe wypełnienia stomatologiczne ważną cechą jest przeciwdziałanie procesom próchnicowym. W tym odniesieniu ważną rolę spełnia fluor. Jego głównym zadaniem jest remineralizacja szkliwa oraz zębiny [1]. Liczne badania wskazują, że fluor może być także inhibitorem kariogennego działania It was assumed that differences in surface microgeometry influence nerve growing process. Recently it was observed by Bellamkomda [2] that if the regenerating nerve is placed in agarose gel filled with nylon fibers, the growing process occurs on the surface of the fiber. Therefore, we elaborated a method for polymer cables with very thin channels along the mandrel. The results, however, are preliminary and further research has to be done. Mechanical properties of the tubes are reasonably good, i.e. they show very high flexibility and elasticity. They can be both sutured or glued without break. Strength of the tubes is practically independent on the wall thickness which means the uniform microstructure in all cases (FIG.2). The elongation at break for all tubes is around 50%.

FLUORIDE RELEASE FROM DENTAL MATERIALS

Joanna Mystkowska*, Jan R. Dąbrowski*, Grażyna Marczuk-Kolada*, Elżbieta Łuczaj-Cepowicz**

*BIALYSTOK TECHNICAL UNIVERSITY, FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING, BIALYSTOK

** Medical University of Bialystok, Department of Dental Prosthetics, Bialystok

JOASIA@PB.BIALYSTOK.PL

Abstract

This work present results of research of fluoride release, surface roughness and antibacterial activity of dental materials. Two commercial restorative materials were investigated: glassionomer cement Fuji IX and polyacid-modified composite resin Dyract AP. Fluoride release was measured using direct potentiometry method. The antibacterial activity was evaluated with agar diffusion test. The topography of materials surface was observed using electron scanning microscope.

Keywords: dental materials, fluoride release, surface roughness, antibacterial activity

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),166-169]

Introduction

Among a lot desirable requirements of materials for dental fillings, significant quality is anticariogenic effect. Fluoride ions play key role in this process. The main task of fluoride is dental and enamel remineralisation [1]. Numerous researches show that fluoride can also be an inhibitor of cariogenic effect of microorganisms. The influence of fluoride for anticariogenic effect is especially characteristic in case of applying of glassionomer and compomer materi-

drobnoustrojów. Jego wpływ na efekt przeciwpróchnicowy jest charakterystyczny szczególnie w przypadku stosowania materiałów glass-jonomerowych i kompomerowych. Materiały te cechują się sporymi ilościami uwalniania jonów fluorkowych [2-4]. Zmniejsza to ryzyko powstawania próchnicy w tkankach bezpośrednio przylegających do wypełnienia. Przeprowadza się liczne badania właściwości antybakteryjnych polegające na określeniu strefy zahamowania wzrostu bakterii na podłożu agarowym [5,6]. Jednocześnie proces uwalniania fluoru zmienia strukturę materiału. Określa się wiec właściwości fizykochemiczne, mechaniczne i analizuje powierzchnię materiału [7,8].

Celem pracy była ocena wpływu uwalniania jonów fluorkowych na chropowatość i strukturę powierzchni oraz aktywność antybakteryjną wypełnień stomatologicznych.

Materiał i metody badań

W niniejszej pracy badaniom poddano dwa handlowe materiały na stałe wypełnienia stomatologiczne. Należały do nich: cement szkłojonomerowy - Fuji IX uwalniający fluor ze szkła wapniowo-glino-fluoro-krzemowego i kompomer – Dyract AP zawierający szkło strontowo-fluoro-krzemowe i fluorek strontu.

W pierwszym etapie badań oceniano uwalnianie jonów fluorkowych z wybranych materiałów. Próbki utwardzano w specjalnie przygotowanych formach o wymiarach 13,5mmX1mm. Po wypolerowaniu klimatyzowano je przez 24 h w temp 37°C. Następnie zostały umieszczone w roztworze buforu fosforanowego o pH=6,8 w naczyniach polietylenowych i cały czas klimatyzowane w temperaturze 370C. Do oznaczania zawartości jonów fluorkowych uwalnianych z badanych materiałów użyto metodę potencjometrii bezpośredniej z kombinowaną elektrodą fluorkową firmy ORION. Badania przeprowadzono po 1,4,7,14,30 i 60 dniach przetrzymywania próbek w roztworze kontaktowym. Każdorazowo do badań brano po 3 roztwory z próbkami danego materiału. Do analizowanych roztworów przed badaniem dodawano buforu TISAB. Stabilizowało to pH roztworu oraz eliminowało wpływ jonów obcych podczas badania. Po badaniach emisji jonów fluorkowych oceniano chropowatość próbek przy użyciu profilografometru Talysurf 10. Obserwacje struktury analizowanych materiałów realizowane były za pomocą mikroskopu skaningowego Hitachi S 3000N.

W dalszych badaniach przeprowadzono ocenę aktywności antybakteryjnej badanych materiałów. Próbki do tej oceny przygotowano w warunkach aseptycznych przy wykorzystaniu półkolistych foremek o średnicy 9mm. Do badań mikrobiologicznych wykorzystano zaadaptowaną metodę dyfuzji na podłożu agarowym, stosowaną do oceny aktywności antybiotyków. W ocenie użyto standardowe szczepy bakteryjne. Po upływie 24 godzin mierzono w mm strefy zahamowania wzrostu bakterii testowych. Brak hamowania wzrostu określano, tak jak w pracy Vermeersch [6] wielkością średnicy próbki, czyli w naszym przypadku 9mm.

Wyniki badań i dyskusja

Wyniki badań uwalniania fluoru obrazuje RYS.a. Przedstawiono je w postaci zależności ilości uwolnionego fluoru z 1 mm² powierzchni próbek wypełnień w funkcji czasu. Uzyskane wyniki potwierdziły wyraźne tendencje uwalniania jonów fluorkowych przez handlowe materiały stosowane na stałe wypełnienia stomatologiczne. Zarówno cement szkłojonomerowy - Fuji IX, jak i kompomer - Dyract AP wykazują kumulatywny wzrost ilości fluoru w roztworze. Badania ujawniły, iż najwyższy poziom emisji fluoru do roztworu w als. These materials release much more fluoride ions than others [2-4]. It decreases the risk of caries forming in tissues direct adjacement to the filling material. Numerous investigations of antibacterial properties in which determine the zone of bacterium growth using agar base are evaluated [5,6]. This fluoride release may change the material structure. So mechanical, physicochemical properties and analyse of material surface are described [7,8].

The main aim of this work was determination of the influence of fluoride release on surface roughness, material structure and antibacterial activity of filling materials.

Materials and research methods

In this paper, tests were performed on two commercial restorative materials. The materials include: glassionomer cement Fuji IX release fluoride from Ca-AI-F-silicate glass fillers and polyacid-modified composite resin Dyract AP contain Sr-F-silicate glass and strontium fluoride.

The first stage of the work consisted of determine of fluoride release from selected materials. The specimens were hardened in special forms with dimensions 13,5mmX1mm. After polish they were conditioned for 24 h at temp. 37°C. Next, they were put in to polyethylene vessels with phosphate buffer solution with pH=6,8 and were all the time conditioned at temp. 37°C. For the purpose of determination of the content of fluoride ions released from the examined materials, method of direct potentiometry with combined fluoride electrode, manufactured by Orion, was used. The tests were performed after 1,4,7,14,30 and 60 days of keeping the samples in agent solution. Each time 3 solutions with samples of given material were used. Before analyse to each test solution the TISAB buffer was added. It stabilize the pH solution and eliminate the influence of other ions during measure. After fluoride release measures the surfaces roughness of the samples was examined using Talusurf 10 appliance. The surface of tested materials were observed using scanning microscope Hitachi S 3000N.

In the next stage, the antibacterial activity of examined materials was determined. Samples were prepared in aseptic conditions using half-round plates with 9mm dimension. Microbiological tests were defined using agar diffusion testing, apply to determine the antibiotic active. In tests, popular bacterial strain were evaluated. After 24 h, the diameters in mm of the growth-inhibition zones of test bacterias were measured. No inhibition zone was determine as in Vermeersch [6] work using sample dimension, in our case 9mm.

Results and discussion

FIGURE 1a presents fluoride ions emission. The relationship between cumulative fluoride released from 1 mm² of sample surface and time of release is presented. The results confirm visibly tendency of fluoride release from commercial restorative materials. Both glassionomer cement-Fuji IX and compomer - Dyract AP show cumulative amount of fluoride in analysed solutions. Tests show that the highest amount of released to solution fluoride ions from both materials begins in the 7th day. Similarly as at work of Hattab [7], the amount of released fluoride stabilize after 7 day of research. Solution with sample of Fuji IX filling characterise the higher amount of fluoride ions. About 0,7 μg of fluoride ions released from 1mm² of sample surface. Slightly less amount of fluoride (0,5µg/mm²) was released from compomer surface. The differences in fluoride release rate are the consequence of diverse chemical composition of both materials and other release mechanisms. From glassionomer fluoride ions are liberate from the glass particles. Compomer clearly release

TERIAL



RYS.1. Wyniki pomiarów uwalniania fluoru (a) i chropowatości powierzchni (b). FIG.1. Amount of fluoride release (a) and surface roughness (b).

przypadku obu materiałów następował w 7 dniu badania. Następowała jednocześnie stabilizacja jego poziomu w roztworze, podobnie jak w pracy Hattaba i wsp.[7] Roztwór z próbką wypełnienia Fuji IX charakteryzował się wyższym poziomem ilości jonów fluorkowych. Z 1 mm2 powierzchni próbki uwalniało się około 0,7 µg jonów fluoru. Nieco mniejsza ilość została uwolniona z kompomeru i wynosiła 0,5µg/mm². Różnice w poziomie uwalniania fluoru wynikają z odmiennego składu chemicznego obu materiałów, a jednocześnie innymi mechanizmami jego uwalniania. Z cementu szkłojonomerowego fluor uwalniany był na drodze dyfuzji z cząsteczek szkła4. Kompomer natomiast uwalniał wolniej fluor z uwagi na zachodzący proces wiązania żywicy i słabszą reakcję kwas-zasada. Po miesiącu przetrzymywania próbek obu materiałów nastąpił spadek ilości fluoru w roztworze.

Porównanie chropowatości powierzchni próbek przed i po procesie uwalniania fluoru przedstawione na RYS.1b wskazują na zdecydowanie większy jej wzrost w przypadku materiału Fuji IX. Jest to prawdopodobnie skutek obecności jonów wapnia w cząsteczkach szkła cementu szkłojonomerowego, powodujących szybszy proces jego rozpuszczania. Natomiast światłoutwardzalna żywica obecna w strukturze kompomeru w większym stopniu zabezpiecza jego powierzchnię przed wpływem rozpuszczalnika. Potwierdzeniem jest analiza zdjęć powierzchni badanych materiałów widoczna na RYS.2. Materiał Fuji IX (RYS.2b) cechował się niejednorodną powierzchnią z licznymi mikropęknięciami

less fluoride because of resin bonding process and weaker acid-base reaction than in glassionomer cements. After one month of storage of analyse samples in solution the amount of fluoride decreased.

The comparison of surface roughness of samples before and after fluoride release presented on FIG.1b show clearly high increase this parameter in case of Fuji IX restorative. Probably, it is the effect of presence of calcium ions in glass fillers of glassionomer cement which accelerate the dissolve of cement. The compomer consist of photo-polymerizable resin which protect it's surface from solvent influence. It is confirmed through analyse the surfaces of materials show on FIG.2. The Fuji IX material (FIG.2b) characterize heterogenous surface with a lot of structure microcracks.



RYS.2. Struktura powierzchni materiałów Dyract AP (a) i Fuji IX (b) po uwalnianiu fluoru. FIG.2. Structure of Dyract AP (a) and Fuji IX (b) materials after fluoride release.



Rys.3. Średnie strefy zahamowania wzrostu bakterii próchnicowych tuż po utwardzeniu materiałów (a) i po 7 dniach uwalniania fluoru (b). FIG.3. Mean inhibition zones of cariogenic bacterias just after material hardening (a) and after 7 days fluoride release (b). w jego strukturze. Widać jednocześnie odsłonięte ziarna cząstek wypełniacza proszkowego. Matryca kompomeru pozwala zachować bardziej jednolitą strukturę materiału (RYS.2a).

Wyniki uwalniania fluoru skłoniły do przeprowadzenia badań strefy zahamowania wzrostu w dwóch etapach: tuż po utwardzeniu materiałów i po 7 dniach przetrzymywania próbek w roztworze buforu fosforanowego (RYS.3). Po upływie doby od związania materiałów cement szkłojonomerowy Fuji IX wykazywał działanie antybakteryjne w przypadku obu drobnoustrojów. Dyract AP nie wykazywał takiego efektu. 8 dni od utwardzenia materiałów hamowanie wzrostu bakterii wykazywały oba wypełnienia, lecz tylko w przypadku jednej z nich - Streptococcus sanguis. Świadczy to o gatunkowej wrażliwości bakterii na jony fluorkowe. Dokładniejsze wyniki badań umieszczone są w artykule Marczuk-Kolady i wsp.[9].

Podsumowanie

W pracy badano dwa handlowe materiały stomatologiczne: cement szkłojonomerowy Fuji IX i kompomer Dyract AP. Określono wpływ procesu uwalniania fluoru na chropowatość i strukturę materiałów oraz hamowanie wzrostu bakterii próchnicowych. Na podstawie wykonanych badań można sformułować następujące wnioski:

• cement szkłojonomerowy uwalnia więcej jonów fluorkwoych w porównaniu do kompomeru,

 stabilizacja uwalniania fluoru następuje po 7 dniu przetrzymywania próbek w roztworze,

 stwierdzono zmiany chropowatości i struktury materiałów w wyniku oddziaływań z roztworem kontaktowym,

 uwalnianie jonów fluorkowych ma wpływ na aktywność antybakteryjną materiałów stomatologicznych.

Ze względu na posiadane właściwości, zarówno Fuji IX jak i Dyract AP mogą być polecane jako stałe wypełnienia ubytków próchnicowych biorąc pod uwagę profilaktykę próchnicy wtórnej.

Piśmiennictwo

[1] Forsten L.: Uwalnianie fluoru z glass-ionomerów, Stomatologia Współczesna, vol.2, 3, 1995, 219-225

[2] Xu X., Burgess J.: Compressive strength, fluoride release and recharge of fluoride-releasing materials, Biomaterials, 24, 2003, 2451-2461

[3] Itota T., Carrick T.E., Yoshiyama M., McCabe J.F.: Fluoride release and recharge in giomer, compomer and resin composite, Dental Materials, 2004, 20, 789-795

[4] Vermeersch G., Leloup G., Vreven J.: Fluoride release from glass-ionomer cements, compomers and resin composites, Journal of Oral Rehabilitation, 28, 2001, 26-32.

[5] Friedl K-H, Schmalz G., Hiller K-A, Shams M.: Resin-modified glass ionomer cements: fluoride release and influence on Streptococcus mutans growth, Eur. J. of Oral Sciences, 105, 1997, 81-85

Uncover glass particles were also observed on it's surface. Compomer matrix permit to save more homogenous material structure (FIG.2a).

The results of fluoride release induce to determine the inhibition zone at two stages: just after materials hardening and after 7-day keeping of samples at phosphate buffer solution (FIG.3). In the first case glassionomer cement Fuji IX induced an antibacterial effect in case of two microorganisms. There was no inhibition zone around Dyract AP. 8 days after material hardening an antibacterial activity was observed for each of them, but only for one bacteria - Streptococcus sanguis. It can be explained by bacteria sort sensitivity for fluoride ions. More information is characterise at Marczuk-Kolada [9] article.

Summary

In this paper investigate two commercial restorative materials: glassionomer cement Fuji IX and compomer Dyract AP. The influence of fluoride release on surface roughness, material structure and antibacterial activity was evaluated. On the basis of the performed examinations, the following conclusions have been formed:

• the amount of fluoride release is higher in glassionmer cement than in compomer,

• the stabilize effect of fluoride release is observed after 7 days of restoring tested materials in solution.

• it was found that surface roughness and material structure changed during contact with tested solution,

• fluoride release influence on antibacterial effect of restorative materials.

In view of Fuji IX and Dyract AP properties these materials may be used as filling materials for dental caries considering inhibit recurrent caries formation.

References

[6] Vermeersch G., Leloup G., Delmee M., Vreven J.: Antibacterial activity of glass-ionomer cements, compomers and resin composites: relationship between acidity and material setting phase, J. of Oral Rehabilitation, 32, 2005, 368-374

[7] Hattab F.N., Amin W.M.: Fluoride release from glass ionomer restorative materials and the effects of surface coating, Biomaterials, 22, 2001, 1449-1458

[8] Geurtsen W., Leyhausen G., Garcia-Godoy F.: Effect of storage media on the fluoride release and surface microhardness of four polyacid-modified composite resins ("compomers"), Dental Materials, 15, 1999, 196-201

[9] Marczuk-Kolada G., Jakoniuk P., Mystkowska J., Łuczaj-Cepowicz E., Waszkiel D., Dąbrowski J.R., Leszczyńska K.: Uwalnianie jonów fluorkowych i aktywność antybakteryjna wybranych materiałów stomatologicznych, Postępy Hig. i Med. Dośw., w druku

170 OPTYMALIZACJA WARUNKÓW WIĄZANIA GENTAMYCYNY NA RÓŻNYCH TYPACH PROTEZ NACZYNIOWYCH

MONIKA OSIŃSKA-JAROSZUK*, GRAŻYNA GINALSKA**

*Zakład Biochemii, Uniwersytet M. Curie-Skłodowskiej, 20-031 Lublin, Polska **Katedra i Zakład Biochemii, Akademia Medyczna, Lublin,

Polska

E-MAIL:MONIOSI@POCZTA.ONET.PL

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),170-172]

W chirurgicznych zabiegach rekonstrukcji naczyń obok autogennych materiałów wszczepiennych stosuje się syntetyczne protezy naczyniowe wykonane z biomateriałów polimerowych (polietylenotereftalanu, polimetylometakrylanu, politetrafluoroetylenu i poliuretanu). Istotnym problemem występującym przy zastosowaniu tego typu biomateriałów jest pojawianie się zakażeń pooperacyjnych, które niejednokrotnie mogą prowadzić do amputacji kończyny bądź zgonu pacjenta. Obecnie, w celu zapobiegania infekcjom pooperacyjnym stosuje się nasączanie protez odpowiednim antybiotykiem, bądź tworzy się słabe połączenia o charakterze jonowym. Implanty takie charakteryzują się jednak brakiem stabilności wiązania antybiotyku i w związku z tym krótkotrwałym efektem leczniczym. [1-3]

Głównym celem pracy było sprawdzenie możliwości wiązania gentamycyny oraz optymalizacja warunków tego procesu na różnych typach protez naczyniowych wykorzystywanych w angioplastyce naczyń.

Immobilizację gentamycyny z wybranym biomateriałem przeprowadzono zgodnie z procedurą opisaną w zgłoszeniu patentowym Nr P958934 naszego autorstwa [4]. W badaniach wykorzystano firmowe protezy naczyniowe wykonane z poliestru powlekane dwoma typami białek żelatyną bądź kolagenem. Ilość gentamycyny związanej do poszczególnych typów biomateriałów oraz wydajność procesu immobilizacji określono metodą spektrofotometryczną z dialdehydem ftalowym [5]. Uzyskane wyniki przedstawia TABELA I.

Stwierdzono możliwość wiązania gentamycyny do wszystkich badanych protez naczyniowych, przy czym spośród

Rodzaj protezy Kind of prosthesis	Stężenie gen- tamycyny przed immobili- zacją Concentartion of gentamicin before immobi- lization	Wydajność immobili- zacji Immobili- zation yield	Gentamycyna związana z protezą Gentamicin bound to pros- thesis
	[mg/ml]	[%]	[mg/g]
Hemashield Gold™			
(Bost. Scient.)	1.58	12.0	1.14
Wovex [™] (Bard)	1.60	26.3	2,52
Gelsoft [™] (Vascutek)	1.75	38.2	4.02
Uni-Graft ® DV straight			
(Braun)	1.77	37.8	4.02
Tricogel® (Tricomed)	1.07	56.7	3.64

TABELA I. Rezultaty immobilizacji gentamycyny na poliestrowych protezach naczyniowych. TABLE I. Results of gentamicin immobilization of polyesther vascular prostheses.

OPTIMIZATION OF CONDITIONS OF GENTAMICIN BONDING ON DIFFERENT TYPES OF VASCULAR PROSTHESES

Monika Osińska-Jaroszuk*, Grażyna Ginalska**

*DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY, MARIA CURIE-SKŁODOWSKA UNIVERSITY, 20-031 LUBLIN POLAND **CHAIR AND DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY, MEDICAL UNIVERSI-

TY, LUBLIN, POLAND

E-MAIL:MONIOSI@POCZTA.ONET.PL

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),170-172]

In surgical vessels reconstructions, aside of autogenous implantable materials, synthetic vascular prostheses made of polymeric biomaterials (polyethylene terephtalate, polymethacrylate, polytetrafluoroethylene and polyurethane) are frequently used. The important problems appearing while using these types of biomaterials are postoperative infections which may repeatedly lead to limb amputations or even to patient's death. Presently, in order to avoid the postoperative infections, the prostheses are soaked in appropriate antibiotic solution to create weak adsorptive or ionic interactions. Such implants, however, lack the appropriate stability of antibiotic –matrice bonds and therefore lack the long-lasting antibacterial effect [1-3].

Main aim of this work was verification of possibility of gentamicin bonding to different types of vascular prostheses used in vessel angioplastics and optimization of this process.

Immobilization of gentamicin on selected biomaterials was performed according to procedure described in our Patent pending no P 958934 [4]. Vascular prostheses tested in experiments were made of polyesther and sealed by manufactures with two types of protein: gelatin or collagen. Amount of gentamicin bound to each type of biomaterials and immobilization yield was estimated according to spectrophotometric method with phtaldialdehyde. The results were presented in TABLE I.

A was found that gentamicin binds to all examined vascular prostheses although the best results were obtained

Rodzaj buforu Kind of buffer		Gentamycyna związana z protezą Gentamicn bound with prosthesis [mg/g]]
0,1 M bufor Sörensena	рН 5.0 рН 6.0 рН 7.0 рН 7.4	1.10 1.14 1.15 1,17
0,1 M bufor fosforanowy	рН 5.0 рН 6.0 рН 7.0 рН 7.4	6.08 8.32 11.04 12.15
0,1 M buforowany roztwór soli (PBS)	рН 6.0 pH 7.0 pH 7.4	9.04 13.20 17.04

TABELA II. Dobór optymalnego typu buforu do immobilizacji gentamycyny. TABLE II. Optimization of type of buffer for gentamicin immobilization.

MATERIAŁÓW

wybranych do badań biomateriałów najlepsze rezultaty immobilizacji uzyskano w przypadku protez powlekanych żelatyną. W następnym etapie badań dokonano doboru odpowiedniego rodzaju i pH środowiska reakcji wiązania gentamycyny do poliestrowych biomateriałów (TABELA II). Najlepsze rezultaty immobilizacji uzyskano dla buforowanego roztworu soli (PBS), pH=7.4.

W kolejnym eksperymencie określono optymalne czasy procesu wiązania gentamycyny do poszczególnych typów badanych protez. Uzyskane wyniki przedstawiono na RY-SUNKU 1.

W przypadku wszystkich badanych biomateriałów optymalnym czasem immobilizacji gentamycyny jest czas 18 godzin, dalsze wydłużanie czasu wiązania wydaje się niekorzystne ze względu na możliwość utraty stabilności antybiotyku i jego właściwości bakteriobójczych.

Następnie sprawdzono wpływ stężenia gentamycyny na ilość wiązanego antybiotyku i wydajność procesu immobilizacji (TABELA III a, b, c, d, e)

Zaobserwowano, że wraz ze wzrostem stężenia gentamycyny rośnie ilość związanego z protezą antybiotyku, maleje zaś wydajność immobilizacji. Przy małych stężeniach gentamycyny otrzymujemy małe ilości związanego antybiotyku i większą wydajność procesu. Wykazano również mniejszą zdolność wiązania gentamycyny do protez kolagenowanych

w porównaniu z protezami powlekanymi żelatyną.

Reasumując: wykazano możliwość immobilizacji gentamycyny do biomateriałów naczyniowych. Zoptymalizowano warunki procesu wiązania gentamycyny w celu uzyskania najbardziej efektywnego wiązania antybiotyku z protezami naczyniowymi. Ustalono między innymi: optymalne środowisko reakcji (buforowany roztwór soli PBS pH=7.4), czas wiązania antybiotyku (18h) oraz optymalne stężenia poszczególnych reagentów bioracych udział w procesie immobilizacji gentamycyny z wybranymi biomateriałami.

Podziękowania

Praca wykonana w ramach projektu badawczego Nr 3 T09B 052 29 (2005), finansowanego przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

	Ilość gentamycyny przed immobilizacją (mg/g protezy) Amount of gentamicin before immobilization (mg/g of prosthesis)	Ilość gentamycyny związanej do protezy (mg/g protezy) Amount of gentamicin bound to prosthesis (mg/g of prosthesis)	Wydajność immobilizacji % Immobilization yield %
	2.88	1.91	66.46
a) proteza	6.43	3.64	56.72
prosthesis	15.42	7.90	51.11
Tricogel	28.32	9.94	35.06
-	46.02	10.26	22.29
	88.26	13.92	15.77
b) proteza prosthesis Gelsoft	2.64	1.20	45.4
	3.96	1.56	39.3
	10,50	4.02	38.2
	20.46	4.45	21.7
	42.60	7.20	16.9
	90.42	22.32	24.6
	2.76	0.72	26.0
c) proteza	4.98	1.56	31.3
prosthesis	10.62	4.02	37.8
Uni-Graft	20.46	6.96	34.0
	38.28	10.56	27.5
	82.56	18.78	22.7
	3.00	1.20	40.0
d) proteza	4.62	0.72	15.5
prostnesis	9.48	1.14	12.0
Hemashield	20.16	3.12	15.4
Gold	39.60	4.32	10.9
	82.02	6.24	7.6
	2.76	1.56	56.5
e) proteza	4.14	1.92	46.3
prosthesis	9.60	2.52	26.3
Wovex	20.64	4.38	21.2
	41.58	6.60	15.8
	68.22	6.72	9.8

TABELA III Optymalizacja stężenia gentamycyny w procesie immobilizacji.

 TABLE III Optimization of gentamicin concentration for immobilization process.



RYS.1 Zależność ilości związanej gentamycyny od czasu reakcji.

FIG.1. Dependence of amount of bound of gentamicin upon a time of immobilization process.

for gelatin-sealed ones. Then, the type of buffer and its pH for gentamicin binding to polyesther biomaterials were optimized (TABLE II). The best results were observed for

PBS, pH=7.4.

Next, the optima time of gentamicin bonding process to all prostheses types was found. The results are presented on FIGURE 1.

In case of all prostheses, the optima time for gentamicin immobilization is 18 hours; the prolonged time seems to be unprofitable because of the possibility of antibiotic stability and its antibacterial activity loss.

Next, the influence of initial antibiotic concentration on amount of immobilized gentamicin and the yield of the process was tested (TABLE III a, b, c, d, e).

It was observed that the higer was initial gentamicin concentration the higer was the amount of bound gentamicin and lower was immobilization yield. Therefore, for low gentamicin concentration, the amount of bound antibiotic was also low but with higher immobilization yield. Moreover, collagen-sealed prostheses showed lower ability for gentamicin bonding than gelatin-sealed ones.

To recapitulate: the possibility of gentamicin immobilization to vascular prostheses was shown. The conditions of gentamicin immobilization were optimized for most effective antibiotic bonding to the prostheses. Optimized parameters were: reaction buffer (phosphate buffered saline –PBS –pH7.4), time of antibiotic immobilization (18 h) and optimal initial concentration of gentamicin used for immobilization process.

Acknowledgements

The work was supported by Polish grant No 3 T09B 052 29 (2005), financed by the Minister of Science and Higher Education. BIOMATERIALÓV
Piśmiennictwo

[1] F. Sardelic, P.Y. Ao, D.A. Taylor, J.P. Fletcher, Prophylaxis against Staphylococcus epidermidis vascular graft infection with rifampicin – soaked, gelatin-sealed Dacron, Cardiovasc. Surgery 4 (1996) 389-392.

[2] M. Vícaretti, W.J. Hawthorne, P. Y. Ao, J.P. Fletcher, An increased concentration of rifampicin bonded to gelatin sealed Dacron reduces the incidence subsequent graft infection following a staphylococcal challenge, Cardiovasc. Surgery 6 (1998) 268-273.

[3] A. Haverich, S. Hirt, M. Karak, F. Sialari, H. Wahling, Prevention of graft infection by bonding gentamicin to dacron prostheses, J. Vasc. Surg. 15 (1998) 187-193.

OKREŚLENIE OPTYMALNYCH WARUNKÓW IMMOBILIZACJI AMIKACYNY NA MATERIAŁACH NACZYNIOWYCH

MONIKA OSIŃSKA-JAROSZUK*, GRAŻYNA GINALSKA**

*Zakład Biochemii, Uniwersytet M. Curie-Skłodowskiej, 20-031 Lublin, Polska

**Katedra i Zakład Biochemii, Akademia Medyczna, Lublin, Polska

E-MAIL:MONIOSI@POCZTA.ONET.PL

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60, (2006), 172-174]

Immobilizowane formy antybiotyków od lat budzą duże zainteresowanie zarówno w przemyśle biotechnologicznym jak i w medycynie. W naszych wcześniejszych badaniach wykazaliśmy możliwość trwałego wiązania gentamycyny i amikacyny do biomateriałów poliestrowych wykorzystywanych w angioplastyce naczyń [1-3]. Uzyskanie tego typu wiązania wydaje się mieć istotne znaczenie w ewentualnym leczeniu infekcyjnych powikłań pooperacyjnych, ze względu na możliwość utrzymywania odpowiedniej dawki leczniczej antybiotyku na powierzchni protezy naczyniowej w określonym czasie.

Głównym celem pracy było zoptymalizowanie warunków procesu immobilizacji amikacyny na różnych typach protez naczyniowych wykorzystywanych w chirurgii naczyniowej.

Wiązanie amikacyny z wybranymi biomateriałami naczyniowymi przeprowadzono zgodnie z procedurą opisaną w zgłoszeniu patentowym naszego autorstwa [4]. Badania przeprowadzono na firmowych protezach naczyniowych wykonanych z polietylenotereftalanu uszczelnianych białkami (żelatyna badź kolagenem). Stężenie amikacyny określano metoda spektrofotometryczna z dialdehydem ftalowym z detekcją UV przy długości fali 335 nm opracowana przez nas na podstawie metody oznaczania gentamycyny [5].Wstępne badania nad optymalizacją procesu wiązania amikacyny obejmowały określenie środowiska reakcji poprzez dobór odpowiedniego typu buforu i jego pH. Wykazano, że najodpowiedniejszym References

[4] Ginalska G. Uryniak A., Łobarzewski J., Osińska M., A method of antibiotics immobilization. Polish Patent no P-358934, (2003), Biuletyn Urzędu Patentowego 18 (2004) (801) s.124.

[5] Frutos Cabanillas P., Dičz Peńa E., Barrales-Rienda I.M. and Frutos, G.: Validation and in vitro characterization of antibiotic-loaded bone cement release. Int. J. Pharm. 209 (2000)15-26.

ESTIMATION OF OPTIMAL CONDITIONS FOR AMIKACIN IMMOBILIZATION ON VASCULAR BIOMATERIALS

MONIKA OSIŃSKA-JAROSZUK*, GRAŻYNA GINALSKA**

*Department of Biochemistry, Maria Curie-Skłodowska University, 20-031 Lublin Poland

**CHAIR AND DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY, MEDICAL UNIVERSI-TY, LUBLIN, POLAND

E-MAIL:MONIOSI@POCZTA.ONET.PL

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),172-174

Immobilized antibiotic for years attract the interest of both biotechnological industry and medicine. In our earlier works [1-3] we have shown the possibility of durable and stable bonding of gentamicin and amikacin to polyesther biomaterials used in vessel angioplastics. Such a modification seems to be a great importance in likely treatment of postoperative infections, because such modified prostheses retain the appropriately high antibiotic concentaration in sufficient time after the implantation.

The main aim of this work was optimization of conditions of amikacin immobilization on different types of prosthe-

Rodzaj buforu Kind of buffer		Amikacyna związana z protezą Amicacin bound with prosthesis [mg/g]]
0,1 M bufor Sörensena	рН 5.0 рН 6.0 рН 7.0 рН 7.4	0.98 1.26 1.34 1,15
0,1 M bufor fosforanowy	рН 5.0 рН 6.0 рН 7.0 рН 7.4	2.98 3.67 5.24 5.67
0,1 M buforowany roztwór soli (PBS)	рН 6.0 рН 7.0 рН 7.4	3.91 4.25 6.56

TABELA I. Dobór optymalnego typu buforu do immobilizacji amikacyny.

 TABLE I. Optimization of type of buffer for amikacin immobilization
 surgery. Immobilization of amikacin on selected vascular prostheses was performed according to procedure described in our patent pending [4]. The vascular prostheses were all made of polyethylene terephtalate and sealed either with gelatin or with collagen. Concentration of amikacin was estimated by spectrophotometric method with phtaldialdehyde and UV-detection at 335 nm. optimized for our conditions on base of gentamicin estimation method [5].Pilot exper-

ses used in vascular



RYS.1 Zależność ilości związanej amikacyny od stężenia aldehydu glutarowego. FIG.1. Dependence of amount of bound amikacin upon a concentration of glutaraldehyde.

typem buforu jest buforowany roztwór soli Na-K o pH=7.4, który umożliwia uzyskanie najwyższego stopnia związania amikacyny do wszystkich badanych typów protez (TABELA I).W dalszym etapie badań sprawdzano wpływ stężenia aldehydu glutarowego wykorzystywanego w procedurze

wiązania amikacyny na ilości związanego z biomateriałami antybiotyku. Dla poszczególnych typów badanych protez uzyskiwano różne optymalne stężenia aldehydu glutarowego: 20% dla protezy Tricogel,15% dla protez kolagenowamych: Hemashield i Wovex i 10% dla pozostałych badanych protez (RYS.1). Następnie dokonano optymalizacji czasu immobilizacji amikacyny do poszczególnych typów protez. Wykazano, iż optymalnym czasem wiązania antybiotyku jest czas 18 h dla wszystkich badanych biomateriałów z wyjątkiem protezy Uni-Graft, dla której czas ten wyniósł 5 h (RYS.2).

W kolejnym eksperymencie badano wpływ stężenia amikacyny na ilość związanego antybiotyku i wydajność procesu immobilizacji. Uzyskane rezultaty wskazują na zależność statystyczną polegającą na wiązaniu małych ilości amikacyny przy zastosowaniu małych stężeń wyjściowych antybiotyku w procesie immobilizacji, ale z jednoczesnym uzyskaniem wysokiej wydajności procesu i na odwrót (TA-BELA II a, b, c, d e). Stwierdzono ponadto, że rodzaj białka uszczelniającego protezy ma wpływ na ilość leku unieruchamianego na biomateriale. W tym przypadku protezy pokryte kolagenem wiążą mniejszą ilość amikacyny w porównaniu z protezami żelatynowanymi. Reasumując: wykonano pro-

	Ilość amikacyny przed immobilizacją (mg/g protezy) Amount of amikacin before immobili- zation (mg/g of prosthesis)	Ilość amikacyny związanej do protezy (mg/g protezy) Amount of amikacin bound to prosthesis (mg/g of prosthesis)	Wydajność immobilizacji mmobiliza- tion yield %
	0.13	0.66	60.4
a) proteza	0.47	2.97	78.0
nrosthesis	0.91	1.48	20.1
Tricogel	2.63	4.96	23.5
mooger	5.65	6.06	13.2
	11.25	10.30	11.2
	0.36	1.01	35.1
b) proteza pros-	0.65	1.14	22.0
thesis	1.32	2.71	25.5
Gelsoft	2.63	3.02	14.3
	5.44	9.38	21.5
	10.94	15.70	17.8
	0.18	1,11	76.9
c) proteza pros-	0.45	2,02	55.4
thesis	1.03	2,75	33.4
Uni-Graft	2.40	6,30	32.7
Oni-Oran	5.17	9,47	22.8
	11.07	18,03	20.3
	0.41	0.85	25.9
d) proteza pros-	0.65	0.74	14.3
thesis Hemoshield	1.32	0.93	8.8
Gold	2.55	1.78	8.7
Gold	5.11	2.00	4.8
	10.41	10.58	12.6
	0.31	0.80	32.2
	0.58	1.36	29.3
theorie	1.29	1.76	17.0
Mercer	2.45	3.52	17.9
vvovex	4.21	4.48	13.3
	10.96	11.20	12.7

TABELA II. Optymalizacja stężenia amikacyny w procesie immobilizacji.

TABLE II. Optimization of amikacin concentration for immobilization process.



RYS.2 Zależność ilości związanej amikacyny od czasu reakcji. FIG.2. Dependence of amount of bound amikacin

upon a time of reaction with prosthesis.

iment on amikacin immobilization method included: estimation of optimal type of buffer and its pH. It was shown that the most appropriate buffer is Na-K phosphate buffered saline pH 7.4 which allow for obtaining of the highest amounts of immobilized amikacin for

all tested prostheses (TABLE I). Next, the influence of glutaraldehyde concentration (in prosthesis activation step) on amount of bound amikacin was tested. We have obtained different concentration of optimal glutaraldehyde solution for particular vascular prostheses: 20% for Tricogel,15% for collagen sealed: Hemashield i Wovex prostheses and 10% for the remaining ones (FIG.1) Then, the immobilization time was optimized for all prostheses types. It was shown that the optimal time of amikacin bonding to prostheses is 18h for all biomaterials except of Uni-Graft prosthesis (5h) (FIG.2).

In next experiment concerned the effect of initial amikacin concentration on amount of antibiotic bound to prostheses and immobilization yield. Obtained results suggest the statistic correlation between the low initial concentration of antibiotic and low amounts of bound amikacin with high immobilization yields (TABLE II a, b, c, d, e). Moreover, we observed that kind of protein used for prosthesis sealing affects the amounts of drug immobilized on the biomaterial. In our experiments, collagensealed prostheses bound lower amounts of amikacin than gelatin-sealed ones.

To recapitulate: the procedure

cedurę optymalizacji wiązania amikacyny do wybranych komercyjnych protez naczyniowych w celu uzyskania optymalnych parametrów procesu. Określono między innymi odpowiednie środowisko reakcji, stężenia poszczególnych reagentów i czasy reakcji wiązania antybiotyku.

Podziękowania

Praca wykonana w ramach projektu badawczego Nr 3 T09B 052 29 (2005), finansowanego przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Pismienictwo

 Osińska M., Ginalska G., Uryniak A. Immobilizacja amikacyny na różnych typach protez naczyniowych. Immobilization of amikacin to several vascular prostheses from different sources. Inżynieria Biomateriałów, Engineering of Biomaterials (2005), 47-53, 107-109.
 Ginalska G., Osińska M., Uryniak A. A Covalent Method of Gentamicin Bonding to Silica Supports. J. Biomater. Applic., . (2004),18, (4), 279-289. of amikacin immobilization on selected commercial vascular prostheses was optimized. The appropriate reaction buffer, pH, concentrations of reagents used in the procedure and time of antibiotic immobilization were estimated.

Acknowledgements

The work was supported by Polish grant No 3 T09B 052 29 (2005), financed by the Minister of Science and Higher Education.

References

[3] Osińska M., Ginalska G., Belcarz A. Antyinfekcyjne właściwości żelatynowanych protez naczyniowych modyfikowanych gentamycyną. Anti-infection properties of gelatinated vascular prostheses modified by covalent gentamicin immobilization. Inżynieria Biomateriałów, Engineering of Biomaterials (2004), 38-42, 97-99.

[4] Ginalska G. Uryniak A., Łobarzewski J., Osińska M., A method of antibiotics immobilization. Polish Patent no P-358934, (2003), Biuletyn Urzędu Patentowego 18 (2004) (801) s.124.

[5] Frutos Cabanillas P., Dičz Peńa E., Barrales-Rienda I.M. and Frutos, G.: Validation and in vitro characterization of antibiotic-loaded bone cement release. Int. J. Pharm. 209 (2000) 15-26.

OCENA CYTOTOKSYCZNOŚCI KOMPOZYTU POROWATEJ CERAMIKI KORUNDOWEJ Z POLI(ALKOHOLEM WINYLU) I WANKOMYCYNĄ

Stanisław Pielka*, Danuta Paluch*, Wojciech Woźny**, Joanna Karaś***,Leszek Solski*

*Zakład Chirurgii Eksperymentalnej i Badania Biomateriałów Akademii Medycznej we Wrocławiu

**Okręgowy Szpital Kolejowy we Wrocławiu, Oddział Chirurgii Ogólnej i Onkologicznej

***INSTYTUT SZKŁA I CERAMIKI W WARSZAWIE

Streszczenie

Obecnie trwają intensywne prace mające na celu udoskonalenie nośników miejscowej antybiotykoterapii w przewlekłym zapaleniu kości. Poszukiwane są materiały, które oprócz roli miejscowego dostarczyciela antybiotyku będą również spełniały funkcję podporową i uzupełniały powstałe w trakcie trwania procesu chorobowego ubytki kości.

W pracy zostały przedstawione wyniki badań cytotoksyczności kompozytu porowatej ceramiki korundowej z poli(alkoholem winylu) (PAW) i Wankomycyną

W przeprowadzonych badaniach porównywano oddziaływanie kompozytu ceramiki korundowej z PAW i Wankomycyną na fibroblasty mysie 3T3 Balb/C, z oddziaływaniem kompozytu nie zawierającego anty-

THE CYTOTOXICITY EVALUATION OF POLIVINYL ALCOHOL (PVOH) CORUNDUM POROUS COMPOSITE CERAMIC CONTAINING WANKOMYCINE

Stanisław Pielka*, Danuta Paluch*, Wojciech Woźny**, Joanna Karaś***,Leszek Solski*

*Department of Experimental Surgery and Biomaterials Research, Medical University of Wrocław; **The Regional Railway Hospital in Wrocław, Department of General and Oncology Surgery; ***Institute of Glass and Ceramics, Warsaw.

Summary

The main target of the present intensive work is to improve the drug carriers for local antibiotic therapy in the chronic bone inflammation. The sought after materials should present not only the function of local antibiotic supplier but also should play the scaffold role for the new bone formation.

In this work we present the results of cytotoxicity evaluation of polivinyl alcohol porous composite corundum ceramic containing wankomycine.

During this assessment we compared the influence of polivinyl alcohol porous composite corundum ceramic with wankomycine on mouse fibroblasts 3T3 Balb/C, with the influence of the same composite material without antibiotics and with matrix culture.

On the basis of our investigation we can stated that the composite under study do not cause the

174

• •

biotyku oraz z hodowlą macierzystą.

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że badany kompozyt nie wywołuje działania cytotoksycznego i warto podjąć badania na zwierzętach, celem oceny wpływu tych kompozytów na reakcję miejscową tkanek po implantacji.

Słowa kluczowe: zapalenie kości, wszczep korundowy, kompozyt z poli(alkoholem winylu), nośnik leku, cytotoksyczność

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60, (2006), 174-178]

Wstęp

Coraz częściej prowadzone są badania nad łączeniem biozgodnych materiałów w kompozyty celem ulepszenia parametrów wytrzymałościowych końcowego produktu, jak również w celu rozszerzenia ich funkcji, na przykład zastosowanie ich jako nośniki leków [1].

Przewlekłe zapalenie kości jest schorzeniem w którym, w przebiegu zakażenia bakteryjnego dochodzi do zmian martwiczych i ubytków tkanki kostnej. W leczeniu stosowana jest zazwyczaj długotrwała antybiotykoterapia. Antybiotyki podawane ogólnie w niewielkim stopniu przenikają do objętej procesem zapalnym kości, a wysokie dawki stosowanych leków mogą doprowadzić do wystąpienia szeregu niepożądanych efektów. W związku z tym poszukiwane są alternatywne sposoby antybiotykoterapii, między innymi miejscowe podawanie leków [2,3].

Obecnie trwają prace mające na celu udoskonalenie nośników miejscowej antybiotykoterapii w przewlekłym zapaleniu kości [4]. Równocześnie rozwijane są dwa kierunki rozwiązań. Przede wszystkim badane są nośniki wykonane z biomateriałów resorbowalnych, takich jak: ceramiki zbudowane z fosforanów wapnia, ceramiki węglanowe, resorbowalne polimery o budowie opartej na kwasie mlekowym i masłowym, polialkohole, włókna kolagenowe [5–9]. Jednocześnie poszukiwane są materiały, które oprócz roli miejscowego źródła antybiotyku będą również spełniały funkcję podporową i uzupełniały powstałe w trakcie trwania procesu chorobowego ubytki kości. Takie implanty muszą charakteryzować się odpowiednią kinetyką uwalniania leku, a także spełniać wysokie wymagania wytrzymałości mechanicznej.

Przykładem nośnika polimerowego jest poli(alkohol winylu) (PAW), odznaczający się szczególnymi własnościami. Jest rozpuszczalny w wodzie i w alkoholach wielowodorotlenowych jak gliceryna i glikole. Posiada wysoką odporność na ścieranie, jest niewrażliwy na oleje, tłuszcze i rozpuszczalniki organiczne oraz jest nietoksyczny.

Materiałem, który potencjalnie mógłby połączyć funkcję podporową z odpowiednią kinetyką uwalniania antybiotyku jest kompozyt porowatej ceramiki korundowej z poli(alkoholem winylu) [10–11].

Celem pracy była ocena cytotoksyczności kompozytów porowatej ceramiki korundowej z poli(alkoholem winylu) nie zawierającej antybiotyku i kompozytu z Wankomycyną.

Materiał i metody badań

Materiał kompozytowy przeznaczony do badań został opracowany w Zakładzie Badawczo – Produkcyjnym Bioceramiki, Instytutu Szkła i Ceramiki w Warszawie. Materiał korundowy o porowatości otwartej około 65%, był formowany metodą spieniania chemicznego.

Przygotowanie kompozytu polegało na próżniowym nasączaniu materiału korundowego nośnikiem polimerowym zawierającym antybiotyk. Zastosowanym nośnikiem polimerowym był poli(alkohol winylu) (PAW) Poval PA cytotoxicity effects, and as such could be the subject of the further assessment on live animals to evaluate of the local tissue reaction after implantation of those materials.

Key words: bone infections; corundum implants; PVOH composites; drugs carriers; cytotoxicity [Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),174-178]

Introduction

Presently there is the tendency to investigate the possibilities to combine the various biocompatible materials into the composites to receive the final product of better strength and with its additional function, e.g. as a drug carriers. [1]. During the chronic bone inflammation very often we have to deal with bacterial infections and subsequent necrosis with bone defects. In the treatment usually a long antibiotic therapy is administered. Antibiotics administered by general ways only in minor degree penetrate into infected bones, and at the same time the high dosage of those antibiotics could cause undesired side effects. Therefore the alternative methods of treatment are evaluated including the local delivery systems. [2, 3].

Presently the main target in this field is to improve the carriers of antibiotics for local therapy in chronic bone infections.[4] The two possibly solutions of this problem are under investigation. The first choice are the carriers made of resorbable materials such as calcium phosphate ceramic, carbonate ceramic, resorbable polymers on the basis of lactic and butter acids, poly-alcohols and collagen fibers [5–9]. The second possibility is to look after new kind of materials which will served not only as antibiotic carriers but at the same time will create the scaffold for the new bone formation. Such implants should have the proper characteristic of the antibiotic release kinetic and shall fulfill the high demands for mechanical resistance.

As the good example of polymer carries could serve polivinyl alcohol (PVOH), which presents some particular properties. It is soluble not only in the water but in high-hydrated alcohol as well (e.g. in glycols, glycerin). It has high grind ability resistance and is resistant for oils, fats and organic solvents and is non toxic.

As such material, which could have the desired scaffold property and good kinetics of antibiotic release we choose the composite of porous corundum ceramic containing polivinyl alcohol (PVOH)[10–11].

The main target of the presented paper was the assessment of the citotoxicity of the porous corundum ceramic composite containing the PVOH as the carrier, with and without the antibiotic wankomycine.

Materials and methods

The composite material, which was subject of the assessment presented in this paper was worked out at the Scientific Department of the Bioceramics which is the branch of Glass and Ceramic Institute in Warsaw. It is the corundum materials with the open porosity of nearly 65%, was formed by the method of chemical foaming.

The preparing of this composite was done by vacuum saturation of corundum materials with the polymer carrier containing the antibiotic. In our case the chosen carrier was of plyvinyl acohol Poval PA – 05 produced by Shin – Etsu. Each sample contained 0,00165g of wankomycine in the form of chlorhydrate under the trade name of Edicin made by Lek. The samples immediately after saturation were all frozen at -18°C, and subsequently dried by lyofphilization. As control material the corundum materials with PVOH but

– 05 firmy Shin – Etsu. Każda próbka zawierała 0,00165g
 Wankomycyny w postaci chlorowodorku o nazwie handlowej Edicin firmy Lek. Bezpośrednio po nasączeniu próbki zamrożono w temperaturze -18° C, a następnie suszono metodą liofilizacji.

Do badań kontrolnych zastosowano kompozyt ceramiki korundowej z PAW nie zawierający antybiotyku, przygotowany w analogiczny sposób.

Wszystkie próbki miały postać walców o wymiarach ok.5 x 5,5 mm i poddane były sterylizacji radiacyjnej, dawką napromieniowania 28^{±20%} kGy.

Badania przeprowadzono na referencyjnej linii komórkowej – fibroblastach mysich 3T3/Balb otrzymanych z Banku Tkanek Instytutu Immunologii i Terapii doświadczalnej PAN we Wrocławiu. Komórki były przechowywane w ciekłym azocie, z dodatkiem 10% DMSO. Po rozmrożeniu komórki były dwukrotnie pasażowane przy użyciu roztworu o składzie: 0,05% trypsyny + 0,02% EDTA w PBS, o pH 7,2 (firmy SIGMA). Komórki hodowano w warunkach zalecanych przy prowadzeniu hodowli tkankowych, w inkubatorze HEREUS posiadającym parametry: 5% CO₂, 37°C, stałe nawilżanie komory.

Badanie działania cytotoksycznego próbek przeprowadzono metodą bezpośredniego kontaktu zgodnie z normą PN-EN ISO 10993 – 5 [12].

Komórki fibroblastów mysich zostały założone na płytkach Petriego w ilości 0,5 x 10⁶ każda. Po 24 godzinach komórki przykleiły się do podłoża i podzieliły, pokrywając około 50% powierzchni płytki. Po tym czasie pożywkę hodowlaną usunięto, a do każdego z naczyń dodano nowe medium. Na hodowle komórkowe nałożono próbki kompozytu porowatej ceramiki korundowej z poli(alkoholem winylu) i Wankomycyną oraz kompozytu nie zawierającego antybiotyku. Każdy materiał oceniano na 9 hodowlach komórkowych.

Zmiany ilościowe i morfologiczne w hodowlach komórkowych oceniono po 24, 48 i 72h. W celu określenia ilości komórek martwych zastosowano barwienie błękitem trypanu. Hodowle analizowano w mikroskopie odwróconym kontrastowo – fazowym. Stopień toksyczności materiałów oceniono na podstawie zmian w morfologii komórek, ich przeżywalności i zdolności do proliferacji.

Wyniki badań poddano analizie statystycznej testem t-Studenta. Przyjęto, że współczynniki korelacji są istotne przy *p <0.05, **p<0.01, ***p<0.001.

Wyniki

ATERIALOV

Po 24, 48 i 72 h w hodowlach kontrolnych i z próbkami z porowatego tworzywa korundowego z nośnikiem PAW



RYS.1. 48 h hodowla macierzysta fibroblastów 3T3/Balb. FIG.1. The matrix culture

of fibroblasts 3T3/Balb, after 48h.

RYS.3. 48 h hodowla fibroblastów 3T3/Balb z implantem z porowatego tworzywa korundowego z nośnikiem PAW z dodatkiem Wankomycyny. FIG.3.The fibroblast culture after 48h contact with porous corundum containing PVOH and wankomycine without the antibiotic were used. The basic preparation was the same as stated above.

All samples were in the shape of roller of the 5mm in diameter and 5,5mm high. All underwent the x-ray sterilization at the dose of $28^{\pm 20\%}$ kGy.

The assessment was made on the reference line of cells – mouse fibroblasts 3T3/Balb received from the Tissue Bank of the Institute of Immunology and Experimental Therapy of Polish Academy of Science in Wrocław. Cells were stored in liquid nitrogen with 10% DMSO added. After refrozen all cells were passaged twice with the following solution: 0,05% trypsine + 0,02% EDTA in PBS, of pH 7,2 (SIGMA made). Cells were cultured under the conditions recommended for standard cell cultures in the incubator HEREUS at 5% CO₂, 37°C, with the permanent moisturize of the chamber.

All cytotoxicity teste were done by the method of direct contact according to the standard PN-EN ISO 10993 – 5 [12]. The cell cultures of mouse fibroblast were set up on Petri dishes with 0.5×10^6 cells on each. After 24h. cells adhered to the ground and well proliferated covering up to 50% of each dish. After this time the breeding culture was removed and a new medium was added into each dish. Directly in the breeding culture of the cells the tested samples of porous corundum ceramic with polyvinyl alcohol with and without wankomycine were added. Each of the tested materials was evaluated on 9 cells' cultures.

The quantity and morphological changes in cell cultures were assessed and noted after 24, 48 and 72 h. To show and count the dead cells the dying with tripane blue was applied. All culture cells were analyzed under the reverse contrast-phase microscope. The level of cytotoxicity were evaluated on the basis of the cells' morphological changes, their survival rate and proliferation ability.

The results were the subject of statistic analysis by t-Student test. It was accepted the correlation factors are important at p < 0.05, p < 0.01, p < 0.001.



RYS.2. 48h hodowla fibroblastów 3T3/Balb z implantem z porowatego tworzywa korundowego z nośnikiem PAW. FIG.2. The fibroblast culture after 48h contact with porous corundum containing PVOH.



WYKRES 1. Proliferacja fibroblastów mysich 3T3 Balb w hodowlach macierzystych i w hodowlach z kompozytami porowatej ceramiki korundowej. GRAPH 1. Proliferation of mouse 3T3 Balb fibroblasts in matrix cullture and cultures with tested materials.

176

bez dodatku antybiotyku komórki przylegały do podłoża i miały prawidłowe cechy morfologiczne. Nie stwierdzono aglutynacji, wakuolizacji, oddzielania od podłoża ani lizy błon komórkowych. Proliferacja komórek była prawidłowa. Ilość komórek martwych wynosiła w kontroli 2%, a w próbie badanej 3% całkowitej liczby fibroblastów (RYS.1,2; wykres 1).

Po 24 h w hodowlach po kontakcie z próbkami z porowatego tworzywa korundowego z nośnikiem PAW z dodatkiem wankomycyny, komórki przylegały do podłoża i miały prawidłowe cechy morfologiczne. Nie stwierdzono aglutynacji, wakuolizacji, oddzielania od podłoża ani lizy błon komórkowych. Gęstość komórek/ml była porównywalna z gęstością komórek w hodowli macierzystej i nieco wyższa niż po kontakcie z próbkami z nośnikiem PAW bez antybiotyku. W hodowlach nie stwierdzono komórek martwych. Po 48 i 72 h we wszystkich hodowlach obserwowano pojedyncze powiększone komórki z ziarnistościami cytoplazmatycznymi. Po 72 h stwierdzono 5 % komórek martwych (RYS.3; WYKRES 1).

Omówienie wyników i dyskusja

Badanie cytotoksyczności materiałów jest wstępną eliminacją materiałów, o niekorzystnym wpływie na tkanki żywego organizmu. Zgodnie z normą ISO 10933 – 5 pozytywny wynik badania cytotoksyczności biomateriału jest warunkiem podjęcia dalszych badań eksperymentalnych na zwierzętach [12].

Istotnym problemem terapeutycznym, wymagającym zastosowania intensywnej systemowej i miejscowej antybiotykoterapii, są zakażenia tkanek miękkich i kości [6]. W zakażeniach tkanek miękkich ewidentną korzyść daje zastosowanie wchłanialnych nośników antybiotyków, których główną zaletą jest całkowita resorpcja implantu i zbędność ponownego operowania pacjenta [7,8,13–15]. W przypadku infekcji tkanki kostnej, po wygaszeniu zakażenia, pozostaje problem ubytku kości. Przewlekły proces zapalny doprowadza niekiedy do znacznych ubytków kości, uniemożliwiających samoistną regenerację [9,16–18]. Stosowane dotychczas techniki operacyjne, służące ograniczaniu ognisk infekcji, takie jak drenaż przepływowy są obecnie zastępowane przez miejscową antybiotykoterapię.

Kompozyt porowatej ceramiki korundowej z poli(alkoholem winylu), nasączony Wankomycyną, poddany badaniom przedklinicznym w przedstawionej pracy, może spełniać dwojaką funkcję w leczeniu przewlekłego zapalenia kości: po pierwsze eliminację infekcji bakteryjnej, a po drugie uzupełnić ubytek kości. Struktura porowatego materiału ceramicznego oraz doskonałe parametry fizyko – chemiczne, predysponują go do zastosowań rekonstrukcyjnych w ubytkach kości [19].

W przeprowadzonych badaniach, podczas których porównywano oddziaływanie kompozytu ceramiki korundowej z PAW i Wankomycyną nafibroblasty mysie 3T3 Balb/C, z oddziaływaniem kompozytu nie zawierającego antybiotyku oraz z hodowlą macierzystą, stwierdzono, że badane kompozyty nie wywierały działania cytotoksycznego. Po 24,48 i 72 godzinach w hodowlach stwierdzono prawidłową proliferację komórek. Po 24 godzinach w hodowlach nie stwierdzono komórek martwych, natomiast po 48 i 72 godzinach liczba komórek martwych, w porównaniu z hodowlą macierzystą nie była statystycznie istotna. We wszystkich hodowlach z ceramiką korundową z PAW i Wankomycyną obserwowano pojedyncze powiększone komórki z ziarnistościami cytoplazmatycznymi. Po 24,48 i 72 godzinach cytotoksyczność badanych kompozytów została oceniona na najniższym poziomie w pięciostopniowej skali (0-4).

Results

After 24, 48 and 72h in both kind of cultures, i.e. control ones and that with tested samples without antibiotic all cells were adhered into ground and all showed the proper morphological characteristic. The were no agglutination, vacuolisation, separation from the ground neither cell wall lysis noted. The cell proliferation went properly. The number of dead cells as referred to the total number of fibroblast for control cultures and cultures with tested samples were at the level of 2% and 3% respectively. (FIG.1,2; graph 1). After 24h in the cultures with the tested samples of corundum materials with PVOH and with wankomycine all cells were adhered into ground and all showed the proper

morphological characteristic. The were no agglutination, vacuolisation, separation from the ground neither cell wall lysis noted. The density of cells was comparable with that one noted for matrix culture and only slightly higher then at the culture with PVOH but without antibiotic. There were no dead cells observed in those cultures. After 48 and 72h in all cultures single, enlarged cells with some granulation in cell cytoplasma were observed. After 72 h 5 % dead cells were noted (FIG.3; GRAPH 1).

Results review and discussion

The biomaterials assessment for their possibly cytotoxicity allows for the preliminary elimination of those materials which could have disadvantageous influence on live tissues. According with the standard ISO10933 part 5, the positive result for cytotoxicity is the basic condition under which the further assessment on live animals could be undertaken [12]. The soft tissue and bone infections pose a serious therapeutic problem, which demand the intensive systemic treatment

problem, which demand the intensive systemic treatment along with the local antibiotic treatment [6]. Particularly in the treatment of the soft tissue infection the good results are achieved with the use of absorbable carriers of antibiotics, which have the main advantage of full resorption of that implant without the necessity of surgical removal of such carrier. [7,8,13–15]. In the cases of bone infections, after such infection is fully cured, still remains the trouble of bone defect. The chronic bone infection very often leads to large bone defects, what make the full bone repair almost impossible. [9,16–18]. The surgery techniques presently in use to treat such focus of inflammation (e.g. flow through drainage) are rather ineffective and are replaced by local antibiotic therapy.

The composite of corundum porous ceramic with added polivinyl alcohol and wankomycine, could have twofold functions in the treatment of the chronic bone infections: at first the proper elimination of bacterial infection and secondly to fulfill the bone defects. The internal structure of this porous ceramic material and its very desirable physical and chemical characteristics make it very proper materials for reconstructive surgery in bone infections treatment.[19].

In our evaluation during which we compared the influence of composite corundum ceramic materials with plivinyl acohol (PVOH) and with wankomycine on the mouse fibroblasts 3T3 Balb/C, with the same materials but without antibiotic added and with the pure matrix cell culture we noted that no one of the tested samples had cytotoxic effect. After 24, 48 and 72h the proper cell proliferation in the all cultures were observed. After 24h there were no dead cells in the culture, while after 48 and 72h the quantity of dead cells as compared to matrix cell culture was of no statistic importance. In all cell cultures with some single enlarged cells with granulation in their plasma were noted. After 24, 48 and 72h the cytotoxicity of all tested samples was evaluated at lowest the level in the five-level scale (0–4).

178 Wnioski

- kompozyt porowatej ceramiki korundowej z nośnikiem PAW z Wankomycyną oraz bez dodatku antybiotyku nie wywołują działania cytotoksycznego.

- warto podjąć badania na zwierzętach, celem oceny wpływu tych kompozytów na reakcję miejscową tkanek po implantacji.

Piśmiennictwo

[1] Lewandowski R., Rutowski R., Staniszewska-Kuś J., Pielka S., Wnukiewicz B.: Odczyn tkankowy po implantacji biomateriałów ceramicznych z wprowadzonym na powierzchnię potencjałem elektrokinetycznym zeta; Polimery w Medycynie 34 (2004) 13 - 25

[2] Hryniewicz W.; Antybiotykoterapia wobec problemu narastajacej oporności drobnoustrojów; Mikrobiologia Medycyna 1 (1994) 19 - 23

[3] Stengel D., Bauwens K., Sehouli J.; Systematic review and meta-analysis of antibiotic therapy for bone and joint infections; Lancet Infectious Diseases 1 (2001) 175-188

[4] Dash A., Cudworth II G.; Therapeutic Applications of Implantable Drug Delivery Systems; Journal of Pharmacological and Toxicological Methods 40 (1998) 1-12

[5] Neut D., Van de Beltc H., Van Horn J.; Residual gentamicin-release from antibiotic-loaded polymethylmethacrylate beads after 5 years of implantation; Biomaterials 24 (2003) 1829-1831

[6] Ruszczak Z., Friess W.; Collagen as a carrier for on-site delivery of antibacterial drugs; Advanced Drug Delivery Reviews 55 (2003) 1679- 1698

[7] Huneault L., Lussier B., Dubreuil P.; Prevention and treatment of experimental osteomyelitisin dogs with cipro.oxacin-loaded crosslinked high amylose starch implants; Journal of Orthopaedic Research 22 (2004) 1351-1357

[8] Kanellakopoulou K., Giamarellos - Bourboulis E.; Carrier Systems for the Local Delivery of Antybiotics in Bone Infections; Drugs 59 (2000) 1223 - 1232

[9] Jones M., Karlowsky J., Draghi D.; Antibiotic susceptibility of bacteria most commonly isolated from bone related infections: the role of cephalosporins in antimicrobial therapy; International Journal of Antimicrobial Agents 23 (2004) 240-246

CHARAKTERYSTYKA DRUTÓW **PROWADZĄCYCH STOSOWA-**NYCH W PRZEZSKÓRNEJ **NEFROLITOTRYPSJI**

JOANNA PRZONDZIONO*, JANUSZ SZALA**, JAN KAWECKI***

POLITECHNIKA ŚLASKA W KATOWICACH

*KATEDRA MODELOWANIA PROCESÓW I INŻYNIERII MEDYCZNEJ **KATEDRA NAUKI O MATERIAŁACH

***SZPITAL IM. PROF. MICHAŁOWSKIEGO W KATOWICACH MAILTO: JOANNA.PRZONDZIONO@POLSL.PL

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),178-180]

Wprowadzenie

Endourologia jest dziedziną urologii, obejmującą zabiegi diagnostyczne i lecznicze wykonywane w obrębie dróg moczowych przy użyciu sprzętu endoskopowego (wzierników optycznych), bez konieczności operacyjnego dotarcia do narządu (nerka, moczowód), zawierającego kamień. Istotą zabiegów endourologicznych w kamicy moczowej jest uzyskanie dostępu do kamieni za pomocą specjalnych przyrządów i usuniecie ich w całości lub rozkruszenie i usuniecie

Conclusions

- the composite of porous corundum ceramic with PVOH carrier and with or without added wankomycine did not cause any cytotoxicity effects;

- this is worth to continue the assessment of those materials on live animals to evaluate the local effects on tissue reaction after implantation of these tested composites.

References

[10] Bieniek J., Święcicki Z., Rosiek G.; Właściwości i zastosowanie kliniczne porowatej ceramiki korundowej; Szkło i Ceramika (1998) 49

[11] Bieniek J., Oleszkiewicz L.; Porowata ceramika korundowa w zastosowaniu klinicznym; Chirurgia Narządu Ruchu Ortop. Pol. 50 (1985) 378 - 384

[12] PN - EN ISO 10933-5 (2001): Biologiczna ocena wyrobów medycznych - Część 5: Badania cytotoksyczności in vitro

[13] Nelson C., McLaren S., Skinner R.; The treatment of experimental osteomyelitis by surgical debridement and the implantation of calcium sulfate tobramycin pellets; Journal of Orthopaedic Research 20 (2002) 643-647

[14] Radina S., El-Bassyounia G., Vresilovic E.; In vivo tissue response to resorbable silica xerogels as controlled-release materials; Biomaterials 26 (2005) 1043-1052

[15] Juszkiewicz W.; Badania odczynu tkankowego na wszczepy cementu nieorganicznego z Wankomycyną; Rozprawa Doktorska; Wrocław 2001

[16] Lew D., Waldvogel F.; Osteomyelitis; Lancet 364 (2004) 369-379

[17] Haas D., McAndrew M.; Bacterial Osteomyelitis in Adults: Evolving Considerations in Diagnosis end Treatment; American Journal of Medicine 101 (1996) 550-561

[18] Parsons B., Strauss E.; Surgical management of chronic osteomyelitis; The American Journal of Surgery 188 (Suppl. to July 2004) 57S-66S

[19] Klawitter J., Hulbert S.; Application of porous ceramics for the attachment of load bearing internal orthopedic applications; Biomed. Mater. Res. Symp.; 2 (1971) 161 - 229.

CHARACTERISTICS OF GUIDEWIRE USED IN PERCUTANEOUS **NEPHROLITHOTRIPSY**

JOANNA PRZONDZIONO*, JANUSZ SZALA**, JAN KAWECKI***

SILESIAN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY IN KATOWICE * DEPARTMENT OF PROCESS MODELLING AND MEDICAL ENGINEE-RING

**DEPARTMENT OF MATERIALS SCIENCE

*** PROF. MICHAŁOWSKI HOSPITAL IN KATOWICE

MAILTO: JOANNA.PRZONDZIONO@POLS.PL

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),178-180]

Introduction

Endourology is a branch of urology that comprises diagnostic and treatment performed within the area of urinary tract by means of endoscopic equipment (endoscopes), without the necessity of surgery in order to reach the organ (kidney, ureter) that contains stones. The essence of endourological treatment in urolithiasis is to reach the stones using special devices and to remove them unbroken or

wszystkich odłamków. Wcześniej kamienie z nerek i moczowodów można było usunąć jedynie operacyjnie. Nowe metody postępowania zabiegowego w kamicy wprowadzono do praktyki klinicznej na przełomie lat 70. i 80. XX wieku. Obecnie u wiekszości chorych wymagających usunięcia kamieni moczowych stosuje się tzw. metody małoinwazyjne - kruszenie kamieni falami uderzeniowymi (ESWL) oraz zabiegi endourologiczne, tzn. przezskórną nefrolitotrypsję (PCNL) i ureterorenoskopię (URS) [1÷3]. Przezskórna nefrolitotrypsja (PCNL) polega na usuwaniu kamieni przy pomocy nefroskopu z układu kielichowo-miedniczkowego nerki lub górnego odcinka moczowodu przez przetokę wytworzona metodą nakłucia. Przed wytworzeniem przetoki nerkowej wykonuje się cystoskopię i wprowadza cewnik moczowodowy do miedniczki nerkowej, aby wstrzyknać przezeń środek cieniujący w celu uwidocznienia układu kielichowo miedniczkowego na ekranie monitora telewizyjnego sprzeżonego z lampa rentgenowska. Po ułożeniu chorego na brzuchu, nakłuwa się wybrany kielich nerkowy i rozszerza kanał wkłucia. Przez przetokę wprowadza się nefroskop. Złogi kruszy się, a ich drobne fragmenty usuwa [4]. Drut wiodący wprowadza się do układu kielichowo-miedniczkowego nerki przez pochewkę igły punkcyjnej. Wzdłuż drutu wprowadza się rozszerzadła. Druty miękkie składają się ze sprężyny, wewnątrz której znajduje się rdzeń stalowy. Koniec drutu jest elastyczny i łatwo się zwija we wnętrzu nerki. Tego rodzaju drut stosuje się jako tzw. drut bezpieczeństwa. Jako prowadnik dla rozszerzadeł jest mało przydatny z powodu nadmiernej wiotkości. Najbardziej użyteczne są sztywne druty wiodące z giętkim końcem donerkowym (druty typu Lunderquista). Końcowa, giętka część drutu jest połączona z półsztywnym stalowym trzonem. Część donerkowa może mieć zakończenie proste lub zagięte w kształcie litery J. Miękki koniec drutu nie uszkadza ścian układu kielichowomiedniczkowego, zaś część półsztywna zapobiega zboczeniu rozszerzadła z kierunku wkłucia.

W pracy przedstawiono charakterystykę drutów prowadzących stosowanych w przezskórnej nefrolitotrypsji. Pomiarów drutów dokonano metodami metalografii ilościowej wspomaganej komputerowo. Przy pomocy elektronowego mikroskopu skaningowego z emisją polową FE SEM S-4200 HITACHI współpracującego ze spektrometrem Voyager 3500 NORAN INSTRUMENTS przeprowadzono jakościową i ilościową analizę składu chemicznego. Ustalono właściwości mechaniczne i technologiczne drutów.

Badania drutów stosowanych w przezskórnej nefrolitotrypsji

Badaniom poddano następujące rodzaje drutów: • drut sztywny (średnicy 0,98 mm, długości 650 mm), • drut elastyczny (średnicy 0,98 mm, długości 800 mm).

Drut sztywny stosowany w PCNL

RYS.1 ilustruje odcinek drutu sztywnego średnicy 0,98 mm przeznaczonego do zabiegu przezskórnej nefrolitotrypsji. Zdjęcie wykonano na elektronowym mikroskopie skaningowym z emisją polową FE SEM S-4200 HITACHI



RYS.1. Odcinek drutu sztywnego średnicy 0,98 mm stosowanego w PCNL. FIG.1. Section of stiff wire with diameter of 0,98 mm used for PCNL. crush them and remove smaller pieces. In the past it was possible to remove stones from kidneys or ureter only by means of a surgery. New treatment in urolithiasis was put in medical practice on the turn of the 70s and the 80s of the XX-th century. Nowadays most patients who need to have uroliths removed are treated with so called low-invasive methods - extracorporeal shock Wave Lithoripsy (ESWL) and endourological treatment, i.e. PCNL (percutaneous nephrolithotripsy) and URS (ureterorenoscopy) [1÷3]. PCNL consists in removing uroliths from kidney pyelocalyceal system or the upper part of ureter by means of nephroscope, through fistule developed with puncture method. Prior to kidney neostomy, cystoscopy is carried out and ureteral catheter is inserted to the renal pelvis in order to inject diodrast, which enables to visualize the pyelocalyceal system on display screen connected with an X-ray apparatus. Patient is in prone position, a chosen renal calyx is punctured and then the channel of puncture is widened. Nephroscope is inserted through this fistule. Deposits are crushed and the resultant small elements are removed [4]. Guidewire is inserted to the kidney pyelocalyceal system through the sheath of puncture needle. Dilatators are inserted along the wire. Soft wires consists of a spring inside which there is a steel core. The tip of the wire is flexible and it coils easily inside the kidney. This type of wire is used as a so called safety wire. Due to its extensive flexibility it is not very useful as a guide for dilatators. Stiff guidewires with elastic intrakidney tip (floppy tip guidewires) are the most useful ones. Intra-kidney part can have a straight or J-shaped tip. Soft tip of the wire does not damage the walls of the pyelocalyceal system and semi-stiff part prevents the dilatator from changing the direction of the puncture.

This paper presents characteristics of guidewires used in PCNL. The measurement of wires was made by means of computer-aided quantitative metallography. Using the electron scanning microscope with field emission FE SEM S-4200 HITACHI in cooperation with spectrometer Voyager 3500 NORAN INSTRUMENTS qualitative and quantitative analysis of chemical constitution were made. Wire mechanical and technological properties were determined.

Testing of wire used in PCNL

The following types of wire were tested:

- stiff wire (diameter 0,98 mm, length 650 mm),
- flexible wire (diameter 0,98 mm, length 800 mm).

Stiff wire used in PCNL

FIG.1 presents a a section of stiff wire with diameter of 0,98 mm used for PCNL treatment. The picture was taken

		Element	k-ratio	ZAF	Aton X	Element
			(calc.)			Ht I
	-	Si-K	0.0044	1.632	1.40	0.72
-		Cr-K	0.2293	0.901	21.83	20.67
	-	Fe-K	0.6600	1.017	66.02	67.13
	-	N1-K	0.1079	1.064	10.75	11.49
	1 immuli WM	- Total			100.00	100.00

RYS.2. Widmo promieniowania rentgenowskiego zarejestrowane dla próbki drutu ze stali chromowo-niklowej (lewa strona) oraz wyniki ilościowej oceny składu chemicznego tej stali (prawa strona).

FIG.2. X-rays spectrum recorded for a sample of wire made of chrome-nickel (on the left) and the results of quantitative analysis of steel chemical constitution (on the right).

MATERIALÓW

180

współpracującym ze spektrometrem Voyager 3500 NORAN • • INSTRUMENTS.

Analiza jakościowa i ilościowa wykonana na mikroskopie elektronowym skaningowym wykazała, że drut wykonany został z kwasoodpornej stali chromowo-niklowej (RYS.2). Badania właściwości mechanicznych wykonane na maszynie wytrzymałościowej firmy Instron wykazały, że drut charakteryzuje się:

wytrzymałością na rozciąganie R_m =1355 MPa,

wydłużeniem względnym A₁₀₀ 7 %.

Liczby przegięć L_n oraz skręceń L_s wynosiły odpowiednio L_=6 oraz L_=7.

Drut elastyczny stosowany w PCNL

Drut elastyczny składa się z trzech odcinków:

· uformowanej na kształt litery "J" elastycznej sprężyny długości 55 mm,

prostego, sztywnego drutu długości 345 mm,

· sprężyny długości 400 mm wykonanej z drutu okrągłego.

Odcinek początkowy (giętka sprężyna) wprowadzany jest do przetoki nerkowej. Jest on połączony z drutem prostym (sztywnym) przy pomocy lutowia cynowego. W analogiczny sposób wykonane jest połączenie drutu prostego ze sprężyną długości 400 mm. Badania wykazały, że wewnątrz giętkiej sprężyny znajdują się dwa druty - okrągły i płaski. Z uwagi na niewielkie wymiary mierzonych obiektów pomiarów drutów rdzeniowych dokonano metodami metalografii ilościowej wspomaganej komputerowo. Stwierdzono, że średnica drutu okrągłego wynosi 392 µm, natomiast wymiary drutu płaskiego są następujące: szerokość wynosi 278 µm, a grubość 58 µm. RYS.3 przedstawia kolejno połączenie drutu prostego ze sprężyną, odcinek drutu sztywnego, sprężynę długości 400 mm oraz tę samą sprężynę z drutami rdzeniowymi.

Analiza jakościowa i ilościowa wykonana na mikroskopie elektronowym skaningowym wykazała, że wszystkie części drutu elastycznego przeznaczonego do PCNL wykonane zostały ze stali chromowo-niklowej typu 18-8.

Właściwości mechaniczne drutów są następujące:

- drut sztywny R_m=688 MPa, A₅₀=4,8%,
- rdzeniowy drut okrągły $R_m = 2088 \text{ MPa}, A_{50} = 3,6\%$,
- rdzeniowy drut płaski R_m=2400 MPa, A₅₀= 3,3%.

by an electron scanning microscope with field emission FE SEM S-4200 HITACHI in cooperation with spectrometer Voyager 3500 NORAN INSTRUMENTS.

Qualitative and quantitative analysis of chemical constitution made by means of an electron scanning microscope showed that the wire was made of acid proof chrome-nickel steel (FIG.2).

Tests of mechanical properties made on a resistance measuring machine by Instron showed that the wire is characterised by:

• tensile strength R_m = 1355 MPa,

• unit elongation $A_{100} = 7\%$.

The number of inflexion L_p and detortion L_s equalled L_p=6 oraz L₂=7.

Flexible wire used in PCNL

Flexible wire consists of three sections:

- J-shaped elastic spring 55 mm long,
- straight, stiff wire 345 mm long,
- · spring 400 mm long, made of round wire.

The first section (flexible spring) is inserted to kidney fistula. It is connected with straight wire (stiff) by means of tin solder. The connection between straight wire and spring 400 mm long is made analogically. Tests proved that inside the flexible spring one can find two wires – round and flat. In consideration of small dimensions of measured objects the measurement of wires was made by means of computer-aided quantitative metallography. It was determined that the diameter of the round wire was 392 µm, whereas the dimensions of the flat wire were as follows: width 278 µm and thickness 58 µm. FIG.3 shows respectively the connection between straight wire and the spring, section of stiff wire, 400 mm long spring and the same spring with flux-cored wires.

Qualitative and quantitative analysis made by means of electron scanning microscope proved that all elements used for PCNL were made of chrome-nickel steel type 18-8.

Wire mechanical properties are as follows:

- stiff wire R_m =688 MPa, A_{50} =4,8 % flux-cored round wire R_m =2088 MPa, A_{50} =3,6%,
- flux-cored flat wire R_m=2400 MPa, A₅₀=3,3%.



RYS.3. Drut elastyczny stosowany w PCNL. FIG.3. Flexible wire used in PCNL.

Piśmiennictwo

[1] Whitfield H.N.: Postępowanie w kamicy moczowodowej. Część II: leczenie. BJU International. 1999, 6, 28-34 [2] Aldana J.P.: Kamica dolnego bieguna nerki. Wybór najlepszej metody leczenia. Contemporary Urology. 2003, 8, 4-9

References

[3] Monga M.: Ureterorenoskopy giętkie – współczesne możliwości ich zastosowania oraz technika zabiegu. Contemporary Urology. 2003. 4. 13-18

[4] Borkowski A., Borówka A.: Nowe metody leczenia kamicy górnych dróg moczowych. Wyd. Lekarskie PZWL, Warszawa 1994

WŁAŚCIWOŚCI DRUTÓW STOSOWANYCH W URETERORENOSKOPII

Edyta Grzegorczyk, Beata Młocek, Anna Sołtysek, Anna Szuła, Joanna Przondziono

STUDENCKIE KOŁO NAUKOWE MEDITECH POLITECHNIKA ŚLĄSKA W KATOWICACH MAILTO:JOANNA.PRZONDZIONO@POLSL.PL

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),181-183]

Wprowadzenie

Interdyscyplinarne badania łączące medycynę, nauki ścisłe oraz techniki i technologie wytwarzania zaowocowały dynamicznym rozwojem endoskopowych metod leczenia zarówno kamicy, jak i innych chorób urologicznych. Od prawidłowego rozwiązania problemów technologicznych w zakresie wytwarzania narzędzi i instrumentarium zależy sukces realizowanego leczenia endourologicznego. Jedną z powszechnie stosowanych metod leczenia endoskopowego jest ureterorenoskopia.

Ureterorenoskopowe usuwanie kamieni moczowodowych (URS) odbywa się pod kontrolą wzroku przy użyciu urządzenia zwanego ureterorenoskopem. Wprowadza się je do moczowodu przez cewkę moczową i pęcherz (ureterorenoskopia wstępująca) lub przez przezskórną przetokę nerkową (ureterorenoskopia zstępująca). Ureterorenoskopię wykonuje się na stole urologicznym umożliwiającym ułożenie chorego w pozycji ginekologicznej oraz pozwalającym na obrazowanie dróg moczowych za pomocą aparatu rentgenowskiego. Do wykonania zabiegu niezbędny jest cystoskop, różnego rodzaju cewniki moczowodowe oraz zestaw moczowodowych drutów wiodących. Druty elastyczne do URS są znacznie dłuższe od tych, które stosowane są w przezskórnej nefrolitotrypsji. Mają średnicę ~0,9 mm. Końcówka drutu jest bardzo giętka. Na ogół używa się drutów z prostym zakończeniem, niekiedy jednak istnieje potrzeba użycia drutów z zagiętym końcem. Są one przydatne, jeśli istnieje potrzeba zagięcia moczowodu. Użycie drutu wiodącego ułatwia wprowadzenie ureterorenoskopu [1÷4].

W pracy przedstawiono charakterystykę drutów prowadzących stosowanych w ureterorenoskopii. Pomiarów drutów dokonano metodami metalografii ilościowej wspomaganej komputerowo. Przy pomocy elektronowego mikroskopu skaningowego z emisją polową FE SEM S 4200 HITACHI współpracującego ze spektrometrem Voyager 3500 NORAN INSTRUMENTS przeprowadzono jakościową i ilościową analizę składu chemicznego. Właściwości mechaniczne drutów ustalono na maszynie wytrzymałościowej firmy Instron.

Badania drutów wiodących stosowanych w ureteroskopii

Badaniom poddano drut elastyczny, którego długość wynosiła 1500 mm. Stanowi on sprężynę z rdzeniem składającym się z dwóch drutów: okrągłego oraz płaskiego. Początkowy fragment drutu stanowi giętki odcinek sprężyny (długości 90 mm), której rdzeń składa się z tego samego drutu płaskiego oraz pocienionego drutu okrągłego. Tę część drutu można bezpiecznie wprowadzać do cewki moczowej.

Na RYS.1 pokazano elastyczną sprężynę przeznaczoną do

PROPERTIES OF WIRE USED IN URETERORENOSCOPY

Edyta Grzegorczyk, Beata Młocek, Anna Sołtysek, Anna Szuła, Joanna Przondziono

SILESIAN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY IN KATOWICE MEDITECH MAILTO:JOANNA.PRZONDZIONO@POLSL.PL

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),181-183]

Introduction

Interdisciplinary research that connects medicine, science as well as production techniques and technologies resulted in a dynamic development of endoscopic treatment of both - lithiasis and other urologic diseases. The success of the applied urologic treatment depends on the right solution to technological problems connected with tools and instruments production. One of the commonly used methods of endoscopic treatment is ureterorenoscopy.

Ureterorenoscopic lithotomy (URS) takes place with visual control by means of a device called ureterorenoscope. It is inserted to ureter through urethra and urinary bladder (ascending ureterorenoscopy) or through transdermal kidney fistule (descending ureterorenoscopy). Ureterorenoscopy is performed on the urologic table, enabling to position the patient in obstetrical position and to make the image of patient's urinary tract by means of x-ray unit. To carry out this procedure one requires a cystoscope, various types of ureteral catherers and a set of ureteral guidewires. Flexible wires used for URS are much longer than those used in PCNL. Their diameter equals ~0,9 mm. Wire tip is very flexible (floppy tip). Generally, wires with straight tip are used, but occasionally it is necessary to use wires with bent tip. They are useful if it is necessary to bend the ureter. The use of guidewire facilitates insertion of ureterorenoscope [1-4]. This paper presents characteristics of guidewires used in ureterorenoscopy. The measurement of wires was made by means of computer-aided quantitative metallography. Using the electron scanning microscope with field emission FE SEM S 4200 HITACHI in cooperation with spectrometer Voyager 3500 NORAN INSTRUMENTS qualitative and quantitative analysis of chemical constitution were made. Wire mechanical and technological properties were determined thanks to resistance measuring machine by Instron.

Testing of guidewire used in ureterorenoscopy

Tests concerned flexible wire, 1500 mm long. It consists of a spring with core made of two wires: round and flat. The first wire section (90 cm) consists of spring the core of which is made of the same flat wire and thinned round wire. This part of wire can be safely inserted into urethra.

FIG.1 presents flexible spring used in URS treatment. Tests prove that it is made of flattened wire.

FIG.2 presents wire section inserted into the urethra – spring with flat wire and thinned round wire. It also shows a fragment of spring core with visible flat wire (FIG.3) and round wire (FIG.4). The pictures were made by means of an electron scanning microscope with field emission FE SEM S-4200 HITACHI in cooperation with spectrometer Voyager 3500 NORAN INSTRUMENTS.

182



zabiegów URS. Oględziny wykazują, że sprężyna wykonana jest z drutu płaszczonego.

Na RYS.2 zilustrowano odcinek drutu wprowadzany do cewki moczowej – sprężynę z drutem płaskim oraz pocienionym drutem okrągłym. Pokazano również fragment rdzenia sprężyny z widocznym drutem płaskim (rys.3) oraz drutem okrągłym (rys.4). Zdjęcia wykonano na elektronowym mikroskopie skaningowym z emisją polową FE SEM S-4200 HITACHI współpracującym ze spektrometrem Voyager 3500 NORAN INSTRUMENTS.



RYS.2. Początkowy odcinek drutu wiodącego do URS.

RYS.3. Sprężyna z widocznym drutem płaskim. RYS.4. Sprężyna z widocznym drutem okrągłym. FIG.2. Initial section of guidewire used in URS. FIG.3. Spring and visible flat wire. FIG.4. Spring and visible round wire.



RYS.5. Widmo promieniowania rentgenowskiego zarejestrowane dla próbki sprężyny wykonanej ze stali chromowo-niklowej (lewa strona) oraz wyniki ilościowej oceny składu chemicznego tej stali (prawa strona). FIG.5. X-rays spectrum recorded for a sample of spring made of chrome-nickel (on the left) and the results of quantitative analysis of chemical constitution of the steel (on the right).

Analiza jakościowa i ilościowa wykonana na mikroskopie elektronowym skaningowym wykazała, że wszystkie części drutu wiodącego wykonane zostały ze stali chromowo-niklowej typu 18-8 (RYS.5).

Pomiary drutów wykonane metodami metalografii ilościowej wspomaganej komputerowo wykazały, że średnica okrągłego drutu rdzeniowego wynosi ~484 µm, natomiast wymiary drutu płaskiego są następujące: 261x75,8 µm. Na RYS.6 pokazano przekrój drutów znajdujących się wewnątrz sprężyny.

Badania właściwości mechanicznych wykonane na maszynie wytrzymałościowej f-my Instron wykazały, że wytrzymałość na rozciąganie drutu okrągłego wynosi R_m=2400 MPa, a drutu płaskiego R_{m==}2298 MPa. Wydłużenie względne drutów jest następujące: A₅₀=4,6% (drut okrągły) oraz A₅₀=3,6% (drut płaski).

Podsumowanie

Powodzenie przeprowadzania zabiegów ureterorenoskopii związane jest m. in. z wyprodukowaniem drutów prowadzących, charakteryzujących się odpowiednimi właściwościami użytkowymi. Skomplikowana budowa drutów do URS powoduje konieczność opanowania wielu technik wytwarzania, m. in.:

 ciągnienia i obróbki cieplnej drutów okrągłych,

• płaszczenia drutów (o większych wymiarach w walcarkach



RYS.6. Przekrój drutów rdzenia sprężyny. FIG.6. Cross-section of wires inside the spring core.

Qualitative and quantitative analysis made by means of electron scanning microscope proved that all parts of guidewire were made of chrome-nickel steel type 18-8 (FIG.5).

The measurement of wires made by means of computeraided quantitative metallography proved that the diameter of round wire was 484 μ m, whereas dimensions of flat wire were as follows: 261 x 75,8 μ m. FIG.6 shows cross-section of wires inside the spring.

Tests of mechanical properties made on resistance measuring machine by Instron showed that round wire tensile strength is R_m =2400 MPa, and flat wire tensile strength is R_m =2298 MPa .Unit elongation is as follows: A_{50} =4,6% (round wire) and A_{50} =3,6% (flat wire).

Resume

The success of ureterorenoscopy is connected among other things with production of guidewire characterized by certain application properties. Complicated construction of

> URS wires calls for the necessity to master numerous manufacturing techniques, such as:

• round wire drawing and heat treatment,

• wire flattening (larger dimensions in rolling mills with flat rollers, with smaller dimensions – in ball rolling mill),

 spring winding together with core insertion.

Development and implemen-

MATERIALÓW

o walcach płaskich, o mniejszych - w walcarce kulowej),

nawijania sprężyn wraz z wprowadzaniem do ich wnętrza rdzeni.

Opracowanie i wdrożenie technologii wytwarzania drutów dla urologii pozwoliłoby na wyeliminowanie importu tych materiałów, a tym samym na zaopatrzenie krajowych ośrodków urologicznych w wyrób spełniający wymogi nowoczesnej endoskopii.

Piśmiennictwo

[1] Gliniewicz B., Kaliszczak A., Taraszkiewicz N.: Ureterorenoskopia w leczeniu kamicy moczowodowej. Przegląd Urologiczny, 2002, **4**, 96-98

[2] Aldana J.P.: Kamica dolnego bieguna nerki. Wybór najlepszej metody leczenia. Contemporary Urology. 2003, **8**, 4-9

BADANIA PROCESU DEGRA-DACJI KOPOLIMERÓW GLIKO-LIDU Z ε-KAPROLAKTONEM PRZY POMOCY SPEKTROSKOPII NMR I SPEKTROMETRII MASOWEJ ESI-MS

Joanna Jaworska*, Janusz Kasperczyk*, Piotr Dobrzyński*, Suming Li**, Grażyna Adamus*

*Centrum Chemii Polimerów, ul. Skłodowskiej- Curie 34., 41-800 Zabrze, Polska **Centre de Recherche sur les Biopolymers Artificiels, Faculte de Pharmacie, 15 avenue Charles Flahault, BP 14 491, 34093 Montpellier Cedex 05, France

Streszczenie

W pracy przedstawiono wyniki badań dotyczące hydrolitycznej degradacji resorbowalnych kopolimerów glikolidu z ε-kaprolaktonem. Produkty degradacji analizowano za pomocą spektroskopii NMR oraz spektrometrii masowej ESI-MS. Wysoko rozdzielczy NMR pozwala analizować mikrostrukturę łańcuchów kopolimerowych czyli rodzaj oraz udział ilościowy poszczególnych sekwencji komonomerycznych we wszystkich łańcuchach polimerowych. Zastosowana technika ESI-MS umożliwia obserwację oligomerów o maksymalnym stosunku m/z wynoszącym 2000, jednakże pozwala dokładnie określić udział i chemiczną strukturę oligomerów w badanym materiale. Wymienione techniki nawzajem się więc uzupełniają.

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),183-186]

Wstęp

W systemach biodegradowalnych lek, czy też aktywny składnik rozmieszczony jest w obrębie polimerowej matrycy, która może ulegać kontrolowanej degradacji w środowisku biologicznym. Podczas projektowania systemów biodegradowalnych należy wziąć pod uwagę czas degradacji polimeru jak i czas dyfuzji aktywnego składnika z materiału tation of technology used for production of wire for urology would enable to eliminate import of such materials and consequently to provide home urological centres with a product that meets the requirements of modern endoscopy. 183

References

[3] Monga M.: Ureterorenoskopy giętkie – współczesne możliwości ich zastosowania oraz technika zabiegu. Contemporary Urology. 2003, 4, 13-18

[4] Borkowski A., Borówka A.: Nowe metody leczenia kamicy górnych dróg moczowych. Wyd. Lekarskie PZWL, Warszawa 1994

DEGRADATION PROCESS OF GLYCOLIDE AND ε-CAPROLACTONE COPOLYMERS INVESTIGATED BY HIGH RESOLUTION NMR AND ESI-MS

Joanna Jaworska*, Janusz Kasperczyk*, Piotr Dobrzyński*, Suming Li**, Grażyna Adamus*

*CENTRE OF POLYMER CHEMISTRY,

34 Skłodowskiej- Curie St., 41-800 Zabrze, Poland "Centre de Recherche sur les Biopolymers Artificiels, Faculte de Pharmacie, 15 avenue Charles Flahault, BP 14 491, 34093 Montpellier Cedex 05, France

Abstract

The study presents the results of hydrolytic degradation of resorbable copolymers of glycolide and ε -caprolactone. Degradation products were examined by NMR spectroscopy and ESI-MS mass spectrometry. High resolution NMR spectroscopy allows to observe total microstructure of the copolymer chains with statistics distribution of comonomeric sequences, whereas using ESI-MS only oligomers up to 2000 m/z may be observed but it is possible to describe strictly the units distribution and chemical structures of oligomers. Thus, these two techniques can be complementary.

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),183-186]

Introduction

In biodegradable systems therapeutic agents are incorporated into a matrix composed of a polymer that will undergo controlled degradation within biological environment. Modeling of drug release from biodegradable systems requires consideration of the relative rates of polymer degradation and drug diffusion. It's of vital importance to have defined microstructure of devices that drugs are released from. It influences on the way of degradation- way of releasing particular drugs. Knowing how the polymer microstructure changes during degradation will let us design biodegradable systems properly- systems which will be well polimerowego. Istotna jest znajomość mikrostruktury użytego polimeru, z którego następuje uwalnianie leku, gdyż mikrostruktura łańcuchów polimerowych bezpośrednio wpływa na proces degradacji matrycy a przez to również na proces uwalniania leku. Znając przebieg zmian mikrostruktury w czasie procesu degradacji można we właściwy sposób projektować strukturę polimerowych systemów biodegradowalnych-systemów w pełni zsynchronizowanych z zaplanowanym czasem uwalniania leku.

Metody

Kopolimery glikolidu z kaprolaktonem otrzymano i degradowano zgodnie z opisem zawartym we wcześniejszej pracy[1]. Kopolimerom nadano postać folii, stosując znane techniki. W takiej postaci prowadzono degradację w roztworze buforu fosforanowego pH=7,4 w temperaturze 37°C przez 26 tygodni. Otrzymane produkty degradacji charakteryzowano technikami NMR (13-C i 1-H) a także GPC, DSC, X-ray, CZE, ESI-MS. Badano również spadek masy i chłonięcie wody.

Analizy ESI-MS wykonywano na aparacie Finnigan LCQ

Dyskusja

Otrzymano kopolimery glikolidu z kaprolaktonem o różnej mikrostrukturze łańcucha (diblokowej, semiblokowej, statystycznej) różniące się ponadto zawartością jednostek komonomerycznych. Stosowano

cyrkonowe i cynowe inicjatory reakcji. Temperatura reakcji wynosiła od 100°-150°C. Za pomocą spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego badano zmiany następujących wielkości w trakcie procesu degradacji: średnią długość bloków, stopień bezładności oraz zawartość sekwencji o odpowiedniej długości zbudowanych z jednostek komonomerycznych [1-2].

Proces degradacji analizowano dla dwóch wybranych próbek o tych samych zawartościach jednostek komonomerycznych GG/Cap=50/50, ale o różnej mikrostrukturze łańcucha.

Na podstawie analizy ESI-MS można opisać zmiany w mikrostrukturze łańcucha podczas procesu degradacji.

Na RYS.3 przedstawiono pełne widmo ESI-MS dla kopolimeru o strukturze blokowej wraz z wybranym zakresem 1030-1320 m/z (jony ujemne). Na widmie widoczne są zarejestrowane sygnały, którym przypisano struktury chemiczne: HO-[[-(CH₂)₅-COO]_m-[-CH₂ -COO]_n]Ż; w skrócie: HO-[C_m-G_n]Ż.

Na widmie ESI-MS (w obszarze do 2000 m/z) zarejestrowano sygnały jako funkcję intensywności oraz przypisano im różne struktury oligomerów. Można zauważyć zmiany w mikrostrukturze oligomerów podczas proconnected with desired time of drug release.

Materials and methods

Copolymers of glycolide and caprolactone were obtained and left to degrade according to [1]. The copolymers were manufactured in a form of foil by solvent casting. The resulting form of copolymers was submitted to degradation in phosphate buffer pH=7,4 at 37 °C for 26 weeks. The resulting copolymers and degradation process were characterized by NMR (C-13 and H-1) GPC, DSC, X-ray diffraction, CZE, ESI-MS water uptake profiles and weight loss profiles. Electrospray mass spectrometric analyses were performed using a Finnigan LCQ ion trap mass spectrometer (Finnigan, San Jose, CA, USA).Degradation of foils was performed in phosphate buffer at $37^{\circ}C$ [1]

Results and discussion

Copolymers samples with various chain microstructure (diblock, semiblocks and random) were obtained changing the feed mole fraction of comonomers and using zirconium and tin initiators of copolymerization and various conditions of reaction (temperature, solvent). Variation of the average lengths of blocks, degree of randomness (R) and contents of short, middle and longer sequences of corresponding co-monomeric units were monitored using high resolution NMR spectroscopy [1-2].



RYS.1. Zmiana udziałuu jednostki glikolidylowej (lewy) oraz średniej długości bloków (prawy) podczas degradacji analizowanych kopolimerów. FIG.1. FIG.1. Changes of glycolidyl units (left) and average lengths of lactidyl and glycolidyl blocks during degradation (right).



RYS.2. Zmiana stopnia bezładności (lewy) oraz zawartości sekwencji –CGC– (prawy) podczas degradacji analizowanych kopolimerów. FIG.2. FIG.2. Changes of degree of randomness (left) and CGC units (right) during degradation.



cesu degradacji. W przypadku kopolimeru blokowego w 7 i 10 tygodniu zauważono szybką degradację sekwencji mieszanych zbudowanych z jednostek Cap i jednostek G (jednostka Cap: -(CH,),-COO-, jednostka G: -CH,-COO-). Po całkowitej degradacji sekwencji mieszanych, na widmie ESI-MS obserwowano sygnały odpowiadające tylko i wyłącznie sekwencjom zbudowanym z jednostek G. (15 tydzień degradacji). Jest to zgodne z wnioskami wyciagnietymi na podstawie analizy techniką NMR i dyfrakcji rentgenowskiej, gdzie stwierdzono mały udział procesów transestryfikacji, wysoką średnią długość bloków glikolidylowych. Ponadto, na widmie rentgenowskim dla kopolimeru blokowego zauważono dwa intensywne sygnały odpowiadające krystalicznemu obszarowi PGA. Wskazuje to na to, iż kopolimer blokowy zawiera sekwencje zbudowane tylko z jednostek G skupione w obszarach o wysokiej krystaliczności. Dostęp wody do tych obszarów jest utrudniony, w związku z czym takie sekwencje pozostają w łańcuchu przez długi czas i ulegaja degradacji bardzo późno.

W przypadku kopolimeru statystycznego sekwencje zbudowane z jednostek mieszanych <u>Cap</u> oraz <u>G</u> są widoczne na widmie ESI-MS zarówno na początku degradacji jak również po upływie dłuższego czasu (nawet w 26 tygodniu Degradation mechanism was monitored for two samples with the same initial content of comonomeric units GG/Cap =50/50 but with various chain microstructure.

On the basis of ESI-MS spectra it is possible to describe changes in the chain microstructure during degradation.

FIGURE 3 presents ESI-MS spectra together with spectral expansions in the range m/z 1030-1320 acquired in negative-ion mode for block copolymer. The negative ESI mass spectr of this oligomers consist of numerous ions with general chemical structure: HO-[[-(CH₂)₅-COO]_m-[-CH₂ -COO]_]**ž**; what is abbreviated as: HO-[C_m-G₂]**ž**.

Different types of oligocopolymers are observed in whole region of recorded spectra (up to 2000 m/z) as a function of intensity. Changes of the chain microstructure during degradation can be noticeable.

In the case of block copolymer (**blockCop**) rapid degradation of short mixed sequenes (containing <u>C</u> as well as <u>G</u> units) is noticeable in 7th and 10th week of degradation. After total degradation of mixed sequences polymer chain start to release long sequences built only of <u>G</u> unit (15th week of degradation). This is in good connection with results obtained on the basis of NMR and X-ray diffraction spectra[1]: low appearance of transestrification processes,

nec-

degradacji). Oczywiście łańcuch kopolimeru statystycznego zawiera dużą ilość sekwencji zbudowanych z obydwu jednostek monomerów - dużo wiecej, niż w przypadku kopolimeru blokowego. Jednakże podczas procesu degradacji sekwencji mieszanych zbudowanych z jednostek Cap oraz <u>G</u> na widmie ESI-MS pojawiają się równocześnie sygnały, odpowiadające sekwencjom zbudowanym wyłącznie z jednostek G. (inaczej niż w przypadku kopolimeru blokowego, gdzie degradacji ulegały najpierw sekwencje mieszane a następnie sekwencje zbudowane z jednostek G). Jest to zgodne z wnioskami wyciągniętymi na podstawie analizy technika NMR i dyfrakcji rentgenowskiej [1], gdzie stwierdzono duży udział procesów transestryfikacyjnych, niską średnią długość bloków glikolidylowych (dwa razy niższą wartość w porównaniu z kopolimerem blokowym). Ponadto, na widmie rentgenowskim dla kopolimeru statystycznego również obserwuje się dwa sygnały odpowiadające krystalicznemu obszarowi PGA, jednak o znacznie niższej intensywności, niż w przypadku kopolimeru blokowego. Mikrostruktura łańcucha kopolimeru statystycznego, rzeczywiście wykazuje dużo mniejsze uporządkowanie. Sekwencje zbudowane tylko z jednostek G są skupione w obszarach o dużo niższej krystaliczności, niż w przypadku kopolimeru blokowego.

Wnioski

Metody wysoko rozdzielczego NMR i spektrometrii masowej ESI-MS są bardzo przydatnymi technikami w analizowaniu procesu hydrolitycznej degradacji kopolimerów. W pracy przedstawiono różnice w przebiegu procesu degradacji na podstawie obserwowanych różnic w mikrostrukturze łańcuchów wybranych kopoliestrów. Na podstawie widm NMR oraz ESI-MS zaobserwowano duże różnice w procesie degradacji kopolimeru blokowego i kopolimeru statystycznego. Hydrolityczna degradacja kopolimeru o wyższym współczynniku bezładności przebiega w szybszym tempie, niż dla kopolimeru o strukturze blokowej. Fragmenty łańcucha zawierające krótkie sekwencje powstałe w wyniku procesów transestryfikacji ulegają degradacji bardzo szybko. Jednakże, nieco dłuższe fragmenty zawierające przemienne segmenty mogą być bardziej stabilne, aniżeli bloki homopolimerowe zbudowane z jednego rodzaju jednostek monomerycznych. Dłuższe bloki obecne w łańcuchu kopolimerowym tworzą uporządkowane obszary o strukturze krystalicznej. Konsekwencją tego faktu jest utrudniony czy też zablokowany dostęp wody do wspomnianych obszarów. W związku z czym proces degradacji dla tych obszarów zachodzi znacznie wolniej.

Podziękowania

Joint French-Polish CNRS- PASc. Grant No 18256 and Project PBZ-KBN-070/T09/2001/6/ 2003-2006

Regionalny Fundusz Stypendiów Doktoranckich (EFS-2.6 ZPORR No. Z/2.24/II/2.6/17/04 RFSD).

Piśmiennictwo

[1] Li, S.; Dobrzynski, P.; Kasperczyk, J.; Bero, M.; Braud, C.; Vert, M.: Structure-property relationships of copolymers obtained by ring-opening polymerization of glycolide and ε-caprolactone. Part 2. Influence of composition and chain microstructure on hydrolytic degradation, Biomacromolecules, 6, (2005), 489-497 high average length of glycolidyl blocks. Besides, **blockCop** exhibits two intense peaks on X-ray diffraction spectrum due to PGA. It all suggests that chain of **blockCop** consists of long sequences containing only <u>G</u> units concentrated in crystal domains. Water penetration is limited in this area thus, these oligomers remain in the chain for a long period of time and are released very late.

In the case of random copolymer (randomCop) mixed sequences are released evenly. These sequences are still observed in 26th week of degradation, what suggests that copolymer chain of randomCop contains plenty of such structures- much more than blockCop. Besides, during degradation of short and mixed sequences we can observed that long sequences containing only G units are also released from the chain. This is in good connection with results obtained on the basis of NMR and X-ray diffraction spectra [1]: significant appearance of transestrification processes, low average length of glycolidyl blocks (two times lower than in the case of blockCop). Besides, randomCop exhibits also two peaks on X-ray diffraction spectrum due to PGA, but they are much lower than that observed in the case of blockCop. Microstructure of randomCop is, indeed, less organised than microstructure of blockCop. Sequences containing only G units are concentrated in domains, which are not as crystal as in the case of blockCop.

Conclusions

The high resolution NMR and ESI-MS are useful tools in monitoring of hydrolytic degradation of copolyester chains. The clear differences in degradation mechanism were observed according to various microstructures of copolyester chain. On the basis of NMR and ESI-MS spectra we observed completely different way of degradation process for random and block polyester copolymers. The hydrolytic degradation of the copolymer chains with higher degree of randomness proceeds faster than block copolymer chains. The fragments of chains containing short highly transesterificated random sequences are removed first. However the longer alternating segments may be more stable than homopolymer blocks. Longer blocks in copolymer chain provoke formation of ordered domains and in consequence possibility of the penetration of water molecules decrease and slower hydrolytic degradation of such fragments of copolymer chain is observed.

Acknowledgements

Joint French-Polish CNRS- PASc. Grant No 18256 and Project PBZ-KBN-070/T09/2001/6/ 2003-2006 RFSD Stipend Fund (EFS-2.6 ZPORR No. Z/2.24/ II/2.6/17/04 RFSD)

References

[2] Dobrzynski, P.; Li, S.; Kasperczyk, J.; Bero, M.; Gasc, F.; Vert, M.: Structure-property relationships of copolymers obtained by ring-opening polymerization of glycolide and ε -caprolactone. Part 1. Synthesis and characterization, Biomacromolecules, 6, (2005), 483-488.

[3] J.Kasperczyk "Copolymerization of glycolide with e-caprolactone Part I" Macromol. Chem. and Physics 903, **200**, (1999).

METODY NAKŁADANIA POWŁOK APATYTOWYCH NA STOPOWE PODŁOŻE TYTANOWE

M. ROKITA, A. STOCH, A. ADAMCZYK, E. DŁUGOŃ, A. BROŻEK

Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie Al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków e-mail: rokita@agh.edu.pl

Streszczenie

W pracy zaprezentowano różne sposoby nakładania warstw apatytowych na metaliczne podłoże stopowe Ti6AI4V. Opracowano metodykę nakładania warstw apatytowych metodą elektroforezy. Stosowano również sposoby wywodzące się z metody zol-żel; nanoszenie na podłoże stopowe powłok z wodnych roztworów prostych soli nieorganicznych (o składzie umożliwiającym powstanie, w wyniku reakcji chemicznych, fosforanów wapnia) z dodatkiem żelatyny zwierzęcej lub roślinnej oraz nakładanie powłok z zoli na bazie TEOS-u i TEOT-u, wzbogaconych cząstkami hydroksyapatytu (syntetycznego i naturalnego). Opracowano warunki obróbki termicznej otrzymanych powłok.

Wszystkie próbki poddano badaniom pod mikroskopem scanningowym z przystawką do mikroanalizy rentgenowskiej oraz badaniom spektroskopowym i rentgenowskim. Badania powtórzono dla całej serii próbek po termostatowaniu w sztucznym osoczu (SBF). Zaobserwowano narastanie apatytu na powierzchni próbek w wyniku termostatowania, potwierdzając przydatność tego typu powłok do modyfikacji podłoża implantów metalicznych.

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),187-190] Wstęp

Stop Ti6Al4V jest wykorzystywany w jako materiał na implanty o bardzo dobrych właściwościach mechanicznych. Ze względu na to, że zadawalającym właściwościom mechanicznym stopu nie towarzyszy bioaktywność materiału, korzystna jest modyfikacja powierzchni implantów w postaci powłok. Powłoki mają z jednej strony w pewnym stopniu izolować metaliczny, nieprzyjazny żywej tkance implant, z drugiej – stwarzać szansę lepszego zakotwiczenia implantu w tkance [1]. Zadania takie mają szansę wypełniać powłoki otrzymywane niskotemperaturowymi metodami takimi jak zol-żel, współstrącanie z roztworu (zolu) czy elektroforeza. Dobrze dobrana powłoka powinna przede wszystkim umożliwiać narastanie na jej powierzchni faz o składzie zbliżonym do składu żywej tkanki, a więc fosforanów wapnia (apatytów).

Preparatyka

Po uprzednim odtłuszczeniu i wytrawieniu blaszki ze stopu Ti6Al4V pokryto dwukrotnie podwarstwą zolu tytanowo-krzemionkowo (Si(OC_2H_5)₄ i Ti (OC_3H_7)₄ w etanolu), charakteryzującą się dobrą przyczepnością do podłoża [2]. Na blaszki pokryte utwardzoną termicznie podpowłoką nakładano warstwy właściwe.

Powłoki z wodnych roztworów prostych soli nieorganicznych z dodatkiem żelatyny zwierzęcej lub roślinnej

Zol do nanoszenia powłok apatytowych [3, 4] sporzą-

APATITE LAYERS ON TI6AL4V BASE – TECHNIQUES OF COVERING

M. Rokita, A. Stoch, A. Adamczyk, E. Długoń, A. Brożek

FACULTY OF MATERIAL SCIENCE AND CERAMICS AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW E-MAIL: ROKITA@AGH.EDU.PL

Abstract

Different techniques of apatite layers depositing on the titanium alloy Ti6Al4V are presented. The method of apatite layers formation by electrophoresis was worked out. Two ways derived from of sol-gel method were used. The layers on the alloy base were deposited from inorganic salt aqua solution (the composition of solution enabled the calcium phosphate formation as the result of chemical reaction) with the addition of animal or plant gelatine as well as from TEOS and TEOT sol with natural or synthetic hydroxyapatite particles. The conditions of heat treatment of obtained layers were worked out.

All the samples were examined using scanning microscopy with EDX as well as infrared spectroscopy and XRD equipment, before and after soaking in simulated body fluid (SBF). The apatite growing on the samples surface during soaking process was observed. This effect confirms usability of obtained materials for implant base materials modification.

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),187-190]

Introduction

The implants from titanium alloy TiAl6V4 have very good mechanical properties. However this material is not bioactive one, therefore the modification of base surface in the form of layers is desired. The layer should isolate metal material from alive tissue and improve bone fixation [1]. The layers obtained using low temperature methods like sol-gel, co-precipitation from solution (sol) or electrophoresis can perform the above conditions. The well chosen layer should enable the surface growing of calcium phosphates (apatites), as the phases of similar composition as alive tissue.

Experimental

After the degreasing and pickling process the Ti6Al4V alloy samples were twice covered by titanium silica gel sublayer (Si(OC_2H_5)_4 and Ti (OC_3H_7)_4 in ethanol). This sublayer is characterised by good adhesion to the base surface [2]. The proper layers were deposed no thermal heated sublayer.

The layers from inorganic salt aqua solution with the addition of animal or plant gelatine

The sol for depositing of apatite layer [3,4] was prepared from aqua solutions of Ca(NO₃)₂·4H₂O and (NH₄)₃PO₄· 3H₂O with agar or gelatine. pH of sols were stabilized using NH₄OH. The solutions were prepared keeping the proper molar ratio of Ca/P not less then 1,67 (like in hydroxyapatite Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂). The layers were deposited by dipping and heated in argon in temperature of 750°C.

The layers from hydroxyapatite (HAp) suspension Introducing the HAp particles to the layer should active

its biological properties [5]. Synthetic hydroxyapatite (Ele-

dzono z wcześniej przygotowanych roztworów wodnych $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2Oi(NH_4)_3PO_4 \cdot 3H_2O$ oraz agaru lub żelatyny, pH zoli ustalano przy pomocy NH₄OH. Roztwory wyjściowe sporządzono tak by zachować odpowiedni stosunek molowy Ca/P nie mniejszy niż 1,67 (jak w hydroksyapatycie $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$). Warstwy były nakładane metodą zanurzeniową, a następnie wygrzewane w argonie w temperaturze 750°C.

Powłoki z zawiesin zawierających drobne cząstki hydroksyapatytu (HAp)

Wprowadzone na powłokę cząstki HAp mają za zadanie biologiczne uaktywnienie powłoki [5]. Stosowano hydroksyapatyt handlowy (Elektromet – Rzeszów) oraz naturalny, uzyskany z kości zwierzęcych (metoda prof. Haberko, AGH, Kraków). Uzyskiwano powłoki hydroksyapatytowe metodą elektroforezy z zawiesiny HAp w etanolu. Regulowano grubość powłoki poprzez dobór czasu osadzania i parametrów elektrycznych elektroforezy. Otrzymano również powłoki tytanowo - krzemianowo - hydroksyapatytowe stosując zawiesinę cząstek HAp w zolu tytanowo - krzemianowym. Różne stężenia zolu oraz proporcji zol/HAp, jak również wielokrotne nakładanie, pozwoliły na otrzymanie powłok o zróżnicowanej grubości.

Termostatowanie w SBF

Wszystkie próbki pokryte powłokami termostatowano w SBF (osocze syntetyczne o składzie zbliżonym do osocza krwi ludzkiej) w temperaturze 37°C przez okres 14 oraz 30 dni (wymiana SBF co 7 dni).

Badania powłok

Badania rentgenowskie (XRD) powłok przeprowadzono przy pomocy dyfraktometru X`Pert firmy Philips (promieniowanie monochromatyczne o długości fali 1.5418Å, odpowiadajŕce linii CuK_α). Badania powłok przeprowadzono w dwóch wariantach: badając powłokę nałożoną na podłoże metodą proszkową lub GID (zespół optyki wiązki równoległej) lub badając sam materiał zdrapany z powłoki metodą proszkową.

Przy pomocy spektrometrów fourierowskich BioRad: FIR-FTS60v, MIR-FTS60v, Excalibur z mikroskopem UMA500, NIR-MIR FTS6000 z przystawką ramanowską i laserem Nd-YAG wykonano badania spektroskopowe zarówno stosowanych zoli i zawiesin (po uprzednim wysuszeniu bądź wygrzaniu) jak i powłok na podłożu metalicznym oraz materiału zdrapanego z powłok.

Przeprowadzono również badania z zastosowaniem mikroskopu scanningowego z przystawką do mikroanalizy rentgenowskiej (FEI/Philips ESEM XL30 TMP z EDX-EDAX).

Wyniki i dyskusja

Analiza rentgenowska otrzymanych powłok (metoda GID) wykazała, że są one słabokrystaliczne z domieszką fazy amorficznej, przy czym powłoki otrzymane odmiennymi technikami różnią się od siebie zarówno krystalicznością, jak i składem fazowym. Na RYS.1 przedstawiono przykładowe rentgenogramy powłok, po termostatowaniu w SBF. Powłoka apatytowa w agar-agar po 30-dniowym termostatowaniu w SBF jest dosyć gruba i szczelna, o czym świadczy niska intensywność pików pochodzących od podłoża (mimo wysokiej krystaliczności stopu TiAl6V4). Charakteryzuje się ona dużą zawartością hydroksyapatytu. Ze względu na specyfikę badania cienkich powłok na podłożu metalicznym nie można wykluczyć obecności w powłoce innych faz, lecz zawartość hydroksyapatytu jest tu zdecydowanie dominująca. Powłoka z cząstek HAp w zolu tytanowo-krzemianowym po 10 dniowym termostatowaniu w SBF jest zdecydowanie bardziej amorficzna (o czym świadczy charakterystyczne podniesienie tła rentgenogramu w zakresie 20-25°). Na podktromet – Rzeszów, Poland) as well as natural one, prepared from animals bones (prof. Haberko method, UST-AGH, Kraków, Poland) was used. The layers were obtained by electrophoresis from ethanol Hap suspension. The thickness of layer was controlled by selecting of depositing time and electric parameters of electrophoresis process. Besides the titanium – silica – hydroxyapatite layers were obtained using HAp suspension in titanium – silica sol. Different concentrations of sol and proportion sol/HAp as well as multiple deposition process enabled to obtain the different thickness of layers.

Soaking in SBF

All the samples were soaked in simulated body fluid (SBF) in temperature of 37°C during 14 and 30 days (changing of SBF every 7 days).

Research methods

The X-ray diffraction measurements were made using X Pert Philips and FPM Seifert XRD7 diffractometer (monochromatic radiance with wave length of 1.5418Å - CuK_{α} line). The two variants of measurements were realised: for the layer on the base material (GID and powder method) and for the powdered layer scraped from the base (powder method).

The infrared spectroscopy measurements were performed using BioRad fourier diffractometers: FIR-FTS60v, MIR-FTS60v, Excalibur with microscope UMA500 and NIR-MIR FTS6000 with Raman equipment and Nd-YAG laser.

The morphology, homogeneity and estimated chemical microanalysis were made using FEI/Philips ESEM XL30 TMP with EDX-EDAX scanning microscope with X-ray microanalyse detector.

Results and discussion

The XRD analysis of obtained layers (GID method) showed their fine – crystallinity or even amorphous character. The layers obtained using different techniques have different crystallinity and phase composition. The exemplary XRD patterns of layers after soaking in SBF are presented on FIG. 1. The apatite-agar-agar layer - after 30 days of SBF soaking is rather thick and hermetic. We can observe the low intensity if peaks characteristic for base material although the high crystallinity of Ti6Al4V alloy. There is rather high



RYS.1. Rentgenogramy powłok uzyskane techniką GID: a) powłoka apatytowa w agar-agar po 30dniowym termostatowaniu w SBF, b) powłoka z cząstek HAp w zolu tytanowo-krzemianowym po 10 dniowym termostatowaniu w SBF.

FIG.1. XRD patterns of layers: a) apatite-agar-agar layer - after 30 days of soaking in SBF, b)HAptitanium-silica sol layer after 10 days of soaking in SBF.



RYS.2. Morfologia powierzchni oraz analiza EDS warstwy apatytowej w żelatynie przed (a) i po (b) 30-dniowym termostatowaniu w SBF. FIG.2. SEM morphology and EDS analysis of apatite – gelatine layers before and after 30 days of soaking in SBF.

stawie analizy rentgenogramu można stwierdzić, że fazami krystalizującymi w tej powłoce są hydroksyapatyt i prawdopodobnie niewielkie ilości krzemianu wapnia Ca₂SiO₄. Dla poszczególnych powłok porównywano dyfraktogramy próbek przed i po termostatowaniu oraz dyfraktogramy wysuszonych zoli, w celu stwierdzenia, czy obecność fazy HAp jest związana z termostatowaniem próbek w SBF.

W celu potwierdzenia narastania na otrzymanych powłokach hydroksyapatytu w trakcie termostatowania w SBF przeprowadzono obserwacje próbek pod mikroskopem scanningowym oraz mikroanalizę EDS. Obecność na zdjęciu jasnych wytrąceń (RYS.2), w których składzie przeważa wapń i fosfor (przy czym zawartość wapnia powinna być wyższa niż fosforu) świadczy o obecności apatytu w próbkach. Obserwacje próbek przed i po cyklu termostatowania potwierdzają wzrost zawartości hydroksyapatytu.

Badaniom spektroskopowym w podczerwieni z zakresie MIR poddano zarówno wysuszone zole (RYS.3) (technika absorpcyjna) jak i powłoki na podłożu metalicznym (technika transmisyjna). O narastaniu apatytu w warstwie świadczy wzrost intensywności pasm przy ok. 565 i 600 cm⁻¹. W przypadku apatytu węglanowego na widmie zaznaczają się dodatkowo pasma w zakresie 1380-1400 cm⁻¹.

Wnioski

1. Równoczesne zastosowanie kilku metod badawczych (XRD, MIR, SEM z EDX) pozwala nie tylko na stwierdzenie obecności apatytu (bądź hydroksyapatytu) w badanych warstwach, ale również na określenie, czy w trakcie termostatowania w SBF nastąpił przyrost fazy apatytowej na powierzchni próbek.

2. Intensywne narastanie apatytu obserwowano w przy-

contents of hydroxyapatite on this layer. We can not exclude the presence of some other phases in this case, because of the specific character of XRD analysis of layers on metal base, but Hap phase dominate in this layer. The layer from HAp – titanium - silica sol after 10 days of soaking is more amorphous then the first one (see characteristic background rise in the range of 20-25°). On the base of XRD analysis we can state that the layer contains HAp phase and probably the little amount of calcium silicate Ca_2SiO_4 .

The XRD patterns of analogous samples before and after soakings and XRD patterns of dried sols were compared to state if the presence of HAp in layers is connected with SBF soaking process.

In order to confirm the growing of HAp during SBF soaking, the scanning microscope observations and EDS microanalysis were performed. The presence of light inclusions (FIG.2 - SEM morphology), where the contents of calcium and phosphorus dominate (the amount of calcium should be higher than phosphorus –FIG.2 – EDS analysis), testify to presence of apatite in samples. Observations of samples before and after SBF soaking confirm the growth of hydroxyapatite amount.

The dried sols (FIG.3) (absorbance technique) and layers on alloy base (transmission technique) were examined using infrared spectroscopy in the MIR region. The growth of bands intensity at about 565 and 600 cm⁻¹ confirms the growth of apatite amount. In case of carbonate apatite the presence of bands in range of 1380-1400 cm⁻¹ can be observed additionally.



RYS.3. Widma w podczerwieni (MIR) stosowanych zoli po wysuszeniu: zol 1 – zol tytanowo krzemionkowy, zol 2–zol tytanowo krzemionkowy wzbogacony zawiesiną HAp (1:1), zol 3–zol tytanowo krzemionkowy wzbogacony zawiesiną HAp (1:2).

FIG.3. MIR Spectra of dried sols: zo1 1- titanium silica sol, sol 2 – titanium silica sol with HAp suspension (1:1), sol 3 – titanium silica sol with HAp suspension (1:2).

Conclusion

1. The complementary use of several research methods (XRD, MIR, SEM z EDX) enable not only to confirm the presence of apatite (or hydroxyapatite) in examined layers. It allows to confirm the growth of apatite during SBF soakinf process, too.

BIOMATERIALÓW

padku powłok z wodnych roztworów soli nieorganicznych
 z dodatkiem żelatyny zwierzęcej lub roślinnej. Najsłabszy wzrost hydroksyapatytu następował na powłokach otrzymanych na drodze elektroforezy.

3. Hydroksyapatyt naturalny (najprawdopodobniej ze względu na lepsze rozwinięcie powierzchni, niższą krystaliczność i zawartość grup węglanowych) jest, w przypadku powłok o oczekiwanych własnościach bioaktywnych, dodatkiem korzystniejszym niż hydroksyapatyt syntetyczny.

4. W dalszych badaniach wydaje się celowe zwiększenie stosunku C:P w powłokach z żelatyną oraz zwiększenie zawartości HAp w stosowanych zawiesinach.

Podziękowania

Praca jest finansowana z grantu KBN nr 3 T08C 054 30.

Piśmiennictwo

G. L. de Lange K. Donath, Biomaterials 10 (1989) 121
 T. Hayashi, T. Yamada, H. Saito, J. Mat. Sci. 18 (1983) 3137.
 K. S. Tenhuisen, P. W. Brown, J. Biomol. Mater. Res. 28 (1994) 27.

BADANIA WPŁYWU DŁUGOTRWAŁEGO KONTAKTU Z TKANKĄ LUDZKĄ NA ZACHOWANIE BIOMATERIAŁÓW AUSTENITYCZNYCH

Stanisław Rymkiewicz, Beata Świeczko-Żurek, Piotr Tkaczyk

Politechnika Gdańska, Wydział Mechaniczny, Katedra Inżynierii Materiałowej ul. G. Narutowicza 11/12, 80-952 Gdańsk, e-mail: srymkiew@pg.gda.pl

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),190-192]

Wprowadzenie

Badania opierają się na studium pojedynczego przypadku dwóch wkrętów ze stali austenitycznej, które były implantowane do organizmu człowieka jako element łączący złamaną kość piszczelową. Oba wkręty zostały wkręcone w jednakowych warunkach, jednakową metodą w jednakowych czasie, odległość pomiędzy śrubami wynosiła około 3 cm. Zostały umieszczone w ludzkim organizmie na okres 1 roku, po którym miały zostać wyjęte. Na skutek komplikacji życiowej nosiciela wkręty te zostały usunięte dopiero podczas zabiegu po okresie 8 lat. Podczas zabiegu usuwania implantów pierwszy z wkrętów udało się wykrętość poz wiekszych problemów, drugi pato

udało się wykręcić bez większych problemów, drugi natomiast stawiał wyraźny opór i nie dało się go wykręcić przy użyciu zwykłego wkrętaka. Czas wykręcanie pierwszego implantu wyniósł minutę, drugiego natomiast 40 minut.

Stop austenityczny z którego były wykonane implanty jest podawany w literaturze jako okresowo bezpieczny (okres implantacji nie powinien przekraczać 30 dni) [1-5].

Stale austenityczne przeznaczone na implanty mają ściśle ustalone składy chemiczne, które zapewniają im para-

2. The intensive growth of apatite was observer in case of the layers from inorganic salt aqua solution with the addition of animal or plant gelatine. The poorest growth of HAp was observed in case of layers obtained using electrophoresis method.

3. Natural hydroxyapatite (probably because of better surface development, lower crystallinity and carbonate groups contents) is, in case of layers of potential bioactive properties, the more advisable addition than synthetic HAp

4. The increase of C/P ratio in case of layers with gelatine and amount of HAp in using suspensions is planed in further experiments.

Acknowledgements

This work is supported By Polish Committee for Scientific Research under grant no. 3 T08C 054 30.

References

[4] A. Stoch, W. Jastrzębski, E. Długoń, W. Lejda, B. Trybalska, G. J. Stoch, A. Adamczyk, J. Mol.Struct. 744-747 (2005) 633
[5] M. Rokita, A. Brożek, M. Handke J. Mol. Struct. 744-747 (2005) 589

THE INFLUENCE OF DURABLE CONTACT ON HUMAN TISSUE ON AUSTENITIC BIOMATERIALS BEHAVIOUR

Stanisław Rymkiewicz, Beata Świeczko-Żurek, Piotr Tkaczyk

The Department of Mechanical Engineering, Gdansk University of Technology, 80-952 Gdansk, Narutowicza 11/12, e-mail: srymkiew@pg.gda.pl

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),190-192]

Introduction

The research concerns two screws of austenitic steel, which were implanted into human body as a link joining the broken tibia bone. Both screws were tightened in the same conditions, in the same manner and time; the distance between the screws was about 3 cm. They were implanted into a human body for a year and then they were to be removed. However the screws remained in the body for 8 years.

During the intervention one of them came out immediately but the other turned out irremovable with a common screwdriver. The first implant was removed in a minute and the other in 40 minutes.

The austenitic alloy used for the implants is considered relatively safe (the time of remaining in the body should not be longer than 30 days) [1-5].

The austenitic steels used for implants have a strictly defined chemical composition, which results in paramagnetic structure. The mechanical properties of the steels can be formed with cold plastic treatment making by strain hardening [6 and 7]. The criteria of chemical components are contained in standards in accordance with the ASTM Medical Committee

magnetyczną strukturę. Własności mechaniczne tych stali kształtować można przez przeróbkę plastyczną na zimno, różnicując za pomocą wielkości gniotu stopień umocnienia [6,7]. Kryteria doboru ujęte zostały w normach przedmiotowych zgodnie z zaleceniami Medycznego Komitetu ASTM [8]. W ofertach wytwórców można znaleźć wyroby tego samego przeznaczenia funkcjonalnego różniące się umocnieniem [1,6, 7, 9, 10].

Badania własne

Przeprowadzono analizę składu chemicznego, badania makroskopowe i mikroskopowe powierzchni oraz mikroskopowe rdzenia. Analiza składu chemicznego wykazała, że jest to stop o strukturze austenitycznej (TAB.1).

Pierwiastek Element	Fe	Cr	Ni	Мо	Mn	Si
Zawartość Wright, pct [%]	59,57	16,93	14,07	6,04	2,63	0,77

TABELA 1. TABLE 1.

Analiza makroskopowa nie wykazała wyraźnych oznak powstania ognisk korozyjnych, brak jest również śladów uszkodzeń powierzchni gwintu. Regularna powierzchnia gwintu wskazuje na jednolity kontakt z tkanką i jednolite jej oddziaływanie.

Badania mikroskopowe powierzchni nie trawionej przeprowadzone były na skaningowym mikroskopie elektronowym przy powiększeniach 50x, 500x i 2000x, a trawionej przy powiększeniu 1500x.

Przy powiekszeniu 50x i 500x stwierdzono brak wyraźnych różnic na powierzchniach obu próbek. Oba wkręty przy tych powiększeniach wyglądały podobnie, bez oznak korozji. Obserwacje próbek przy powiększeniu 2000x dostarczają więcej informacji o powierzchni obu implantów. Powierzchnia wkrętu drugiego była bardziej chropowata, widać małe ślady jasnej substancji. Są to prawdopodobnie pozostałości tkanki kostnej, która silnie zrosła się z implantem w prze-

ciwieństwie do przypadku pierwszego wkrętu, gdzie takich zmian nie zaobserwowano. Możliwym jest, że powstał jakiś rodzaj wiązania pomiędzy tkanką a implantem. Jasne pozostałości znajdują się głównie przy powierzchni wzniesień, ułożone są dość regularnie w wyraźnych skupiskach (RYS.1).

Obserwacje mikroskopowe zgładów trawionych wykazały wyraźną strukturę austenityczną z bliźniakami oraz z wyraźnymi liniami i pasmami poślizgu (RYS.2).

Porównując obie próbki wyraźnie widać mniejsze ziarna austenitu w próbce drugiej.

Wnioski

Badania przeprowadzone na obu wkrętach dają ciekawe rezultaty. Mimo tego, że implanty są wykonane ze stali austenitycznej co w literaturze jest opisane jako okresowo bezpieczne, te wykazały dużo dalej idącą odpornością korozyjną. Brak wyraźnych śladów korozji jest bardzo niety[8]. Other manufacturers offer the same products; the only difference is in consolidation [1, 6, 7, 9 and 10].

Methods of research

The analysis of the chemical composition, the microscope and macroscopic examination of the surface layer and the microscope examination of the core ware made. The analysis of the chemical composition showed that it was an austenitic alloy (TABLE 1).



RYS.1. Widok próbki przy powiększeniu 2000x a) pierwszej, b) drugiej. FIG.1. The view of the specimen by 2000x a) the first, b) the second.

The macroscopic analysis did not reveal any corrosion focuses. There is no damage of a thread layer either. The regular surface of the thread proves the same contact with the tissue and its interaction. The microscope examination of the no etching surface was performed with an electronscanning microscope by enlarging 50x, 500x and 2000x and of the etching surface by enlarging 1500x.

After the enlargement of 50x and 500x there were no noticeable differences on the surfaces of either specimens. There was no difference between the screws, they looked exactly the same and showed no signs of corrosion.

The specimen's observation with 2000x etching gives more information about implants. The surface of the other screw was rougher and small traces of light substance were visible. They are probably the remnants of a bone tissue, which stuck to the implant unlike the first screw, where such changes were not perceived. It is possible that a new binding between the tissue and the implant was formed. The light remnants are mainly close to the surface of the upgrades and they are located in guite regular gatherings



RYS.2. Widok struktury austenitycznej próbki przy

FIG.2. The view of the austenitic structure of the

specimen by 1500x a) the first, b) the second.

powiekszeniu 1500x a) pierwszej, b) drugiej.

The microscope observation of the etching metallographic specimen showed an austenitic structure with twins as well as

The comparison of both specimens shows smaller grains of austenite in the second one.

(FIG.2)

Conclusions

The experiments carried out on the screws have given interesting results. Despite the fact that implants were made of austenitic steel, which literature regards as relatively safe, they showed far-reaching corrosion resistance. The absence of corrosion traces is very untypical of this alloy and such a long contact with human tissue (over 8 years). Additionally

powa jak na ten stop oraz tak długi okres kontaktu z tkanką
ludzką (ponad 8 lat). Dodatkowo badania wykazały, że są to wkręty z tego samego stopu, natomiast stopień umocnienia wywołany obróbką plastyczną jest różny dla obu wkrętów, co objawiło się różną wielkością ziarna. Świadczy to o różnej obróbce mechanicznej i cieplnej.

Przyczyn znacznie większego oporu podczas wykręcania implantu drugiego należy szukać w większej aktywności powierzchni metalu, co objawiło się śladami kontaktu z tkanką ludzką. Z kolei na powierzchni wkrętu który nie stawiał większych oporów śladów kontaktu nie było. Zwiększoną aktywność wywołało większe rozdrobnienie ziarna w próbce drugiej.

Piśmiennictwo

[1] Ashby M.F.: The engineering materials. Vol.2. WNT, Warszawa 1997

[2] Lewandowska – Szumiel M.: The possibility of in vitro estimation of implant materials bioagreement. The Medical Academy. Warszawa 2001

[3] Łaskawiec J., Michalik R.: The theoretical and application problems in implants. Publishing House of the Technical University of Silesia. Gliwice 2002

[4] Marciniak J.: The biomaterials. Publishing House of the Technical University of Silesia-2002

[5] Kuś H.: The biomaterials. WKiŁ 1990

BADANIA OBSZARÓW ZAGROŻO-NYCH ZNISZCZENIEM W BIOMATERIAŁACH KORON STOMATOLOGICZNYCH

STANISŁAW RYMKIEWICZ, ZDZISŁAW BEREZNOWSKI

Politechnika Gdańska, Wydział Mechaniczny, Katedra Inżynierii Materiałowej ul. G. Narutowicza 11/12, 80-952 Gdańsk Akademia Medyczna Gdańska, Zakład Implantoprotetyki Stomatologicznej e-mail: srymkiew@pg.gda.pl

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60, (2006),192-194]

Wprowadzenie

Dzięki zastosowaniu MES stomatologia poczyniła wielkie postępy w przewidywaniu i obliczaniu naprężeń w implantoprotetyce, ocenie zgryzu, umocowania i funkcji aparatów ortodontycznych, analizy naprężeniowej stałych i ruchomych uzupełnień protetycznych, badań tkanek zębowych i wypełnień [1,2].

Do analizy obszarów zagrożonych zniszczeniem w biomateriałach koron stomatologicznych zastosowano analizę strukturalną elementów skończonych MES. Opracowano dwu wymiarowy model korony stomatologicznej zamocowanej na kikucie zęba, w którym określono obszary występowania poszczególnych materiałów. Przyjęte do obliczeń numerycznych wartości modułu Younga i współczynniki Poissona odniesiono do rzeczywistych biomateriałów korony stomatologicznej. Geometria modelu korony stomatologicznej uwzględniała charakterystyczne karby strukturalne na siecznej, zakończeniach przyszyjkowych i wewnętrznej części czapeczki, modelując je poprzez promienie krzywizny. Tak określony model rozszerzono do geometrii 3D determinując grubość 5 mm modelu korony. Zastosowano the experiments have proven that the screws were of the same alloy, while the degree of strength hardening caused by plastic forming is different for both screws, which resulted in different sizes of grains. It proves that different mechanical and heat treatments were used.

The reason for the bigger resistance while screwing in the other implant is a bigger activity of the metal, which was caused by the reaction with a human tissue. No such contact was observed on the other screw. The bigger activity was a result of bigger breaking up in the second specimen.

References

[6] Blacharski M.: The material engineering. Steel. WNT, Warszawa 2004

 [7] Głowacka M.: The metal science – collective work. Publishing House of the Technical University of Gdansk. Gdansk 1996
 [8] PN-EN ISO 10993-1 /2004

[9] Błażewicz S., Stoch L.: The Biomaterials. Vol. 4 The Academic Publishing Outhouse Exit 2003

[10] Dobrzański L.: The basis of material and metal science. WNT. Warszawa 2002.

EXAMINATION OF AREAS EXPOSED TO DAMAGE IN BIOMATERIALS OF DENTAL CROWNS

STANISŁAW RYMKIEWICZ, ZDZISŁAW BEREZNOWSKI

GDANSK UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, DEPARTMENT OF MECHANI-CAL ENGINEERING,

ul. G. Narutowicza 11/12, 80-952 Gdańsk, Medical Academy of Gdansk, Institute of Prosthetic Dentistry e-mail: srymkiew@pg.gda.pl

[Engineering of Biomaterials, 58-60, (2006), 192-194]

Introduction

With the application of MES stomatology has made great progress in forecasting and computing stress in prosthetic dentistry, assessment of occlusion, mounting and functions of dental devices, stress analysis of fixed and movable prosthetic fillings as well as examination of dental tissues and fillings [1,2].

In order to analyse areas exposed to damage in biomaterials of dental crowns the structural analysis of finite elements MES has been applied. A two-dimensional model of a dental crown has been produced fixed on a tooth stump, where the areas of specific materials have been determined. The values of Young module and Poisson index adopted for numeric computing have been referred to actual biomaterials of a dental crown. The geometry of a dental crown model included the characteristic structural notches on a secant, cervix endings and internal part of the cap, modelling them with a curvature radii. The model determined in this manner has been extended to 3D geometry by determining the depth of 5mm of the crown model. The surface weight applied on

obciążenie powierzchniowe na ostrzu siecznej zęba, tak by symulowany nacisk dawał wypadkową siłę pod kątem 45° do osi głównej zęba.

Otrzymane wyniki symulacji komputerowej metodą elementów skończonych pozwoliły na określenie obszarów zagrożonych zniszczeniem.



RYS.1. Kierunki główne naprężeń rozciągających (prawa przyszyjkowa strona), ścinających (lewa przyszyjkowa strona i sieczna korony stomatologicznej) oraz ściskających w obszarze siecznej. FIG.1. The main directions of tensile stresses (the right cervix side), cutting (the left cervix side and the secant of the dental crown) and compressive stress in the secant area.

Wyniki analizy metodą mes

Analiza rozkładu naprężeń wykazała, że szczególnie duże spiętrzenia naprężeń występują w częściach przyszyjkowych oraz obszarze siecznej korony stomatologicznej (RYS.1).

W lewej przyszyjkowej części modelu korony występują największe naprężenia ścinające, których efektem mogą być odklejenia w adhezyjnym połączeniu pomiędzy czapeczką korony stomatologicznej, a zębiną. W prawej przyszyjkowej części modelu występują największe naprężenia rozciągające, szczególnie niebezpieczne dla ceramiki nieodpornej na tego typu obciążenia (RYS.2).

Naprężenia ścinające ciągną się aż do siecznej zęba. Tam materiał ceramiczny jest narażony również na największe naprężenia ściskające (RYS.3).

Weryfikacja doświadczalna

Weryfikację doświadczajną otrzymanych wyników metodą MES przeprowadzono na specjalnym do tego celu przygotowanym stanowisku wytrzymałościowym do prób ściskania i wolnozmiennego zmęczenia. Koronkę stomatologiczną zamocowano na specjalnym trzpieniu tak, by kąt działania siły do osi głównej wyniósł 45° (rys. 4). W próbie ściskania koronka uległa zniszczeniu przy sile 350N, a wolnozmienne zmęczenie w



RYS.4. Koronka osadzona na trzpieniu przed próbą ściskania.

FIG.4. The crown set on an arbour before the compression test.

the blade of the tooth secant in order to simulate the stress has given the resultant force at the angle of 45° to the main axis of the tooth.

The obtained results of a computer simulation with the method of finite elements have provided the determination of areas exposed to damage.

Results of analysis with the mes method

The analysis of the distribution of stress has shown that the particularly significant accumulation of stress occurs in the cervix sections and in the area of the secant of the dental crown (FIG.1).

In the left cervix section of the crown model there is the highest cutting stress, which may result in the unsticking in the adhesive connection between the dental crown cap and the dentine. In the right cervix section of the model there are the highest tensile stresses that are particularly hazardous for ceramics not resistant to this type of stress (FIG.2).

Cutting stresses extend as far as the secant of a tooth. Ce-



RYS.2. Naprężenia zredukowane w lewej przyszyjkowej stronie korony oraz rozciągające w prawej przyszyjkowej stronie korony.

FIG.2. Stresses reduced in the left cervix side of the crown and tensile stresses in the right side of the crown.



RYS.3. Naprężenia ścinające (lewa) i ściskające (prawa) w strefie siecznej korony. FIG.3. Cutting stresses (left) and compressive stresses (right) in the cervix side of the crown.

> ramic material is also exposed to the highest compressive stress there (FIG.3).

Experimental verification

The experimental verification of the results obtained with the MES method has been conducted on a specially prepared strength station for compression tests and slow-change fatigue. The dental crown has been fixed on a special arbour, so that the angel of the force to the main axis was 45° (FIG.4). **BIOMATERIALÓW**

zakresie od 50N do 250N dało zniszczenie po 16 cyklach. Zaobserwowano zniszczenie w części siecznej przebiegające aż do strefy przyszyjkowej lewej w płaszczyźnie na kierunku głównym ścinania oraz liczne spękania ceramiki po stronie prawej przyszyjkowej.

Wnioski

Badania potwierdziły przewidywania zagrożenia zniszczeniem korony stomatologicznej w strefach siecznej i przyszyjkowej narażonej na naprężenia ścinające oraz spękania ceramiki w strefie przyszyjkowej narażonej na naprężenia rozciągające.

Piśmiennictwo

[1] Kierklo A.: The concept of resistance analysis in tooth tissues and fillings in selected clinical cases with numerical methods. A postdoctoral thesis. Medical Academy in Białystok, Institute of Conservative Stomatology, 2002.

CHARAKTERYSTYKA POWIERZCHNI KOMPOZYTÓW CERAMICZNO–POLIMEROWYCH W SRODOWISKACH WODNYCH O RÓŻNYCH pH

Joanna Siejka – Kulczyk, Małgorzata Lewandowska, Krzysztof Jan Kurzydłowski (jsiejka@inmat.pw.edu.pl)

Politechnika Warszawska, Wydział Inżynierii Materiałowej, 02 – 507 Warszawa, ul. Wołoska 141

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60, (2006),194-197]

Wprowadzenie

Jednymi z najpopularniejszych materiałów, stosowanych obecnie na stałe wypełnienia stomatologiczne są kompozyty ceramiczno – polimerowe. Zastępują one amalgamat, ze względu na toksyczność rtęci. Ważnym aspektem eksploatacyjnym wypełnień stomatologicznych jest ich trwałość w środowisku jamy ustnej.

Jako osnowę kompozytów stosowanych na wypełnienia stomatologiczne powszechnie stosuje się mieszaninę żywic bis - GMA i TEGDMA. Prowadzone są badania wpływu środowiska na właściwości materiałów wypełnieniowych. Określono wpływ kwasów organicznych na twardość mieszaniny monomerów bis - GMA i TEGDMA. Zastosowano środowiska 100 % kwasu octowego oraz 100 % kwasu propionowego. Stwierdzono, że wymienione środowiska zmiękczają badane polimery [1]. Hosoda i inni [2] prowadzili prace nad wpływem środowiska alkalicznego na kompozyty dentystyczne. Próbki zanurzano na1 tydzień w 0,1M NaOH o temperaturze 60°C. Autorzy stwierdzili, że środowisko alkaliczne i pierwiastki alkaliczne w wypełniaczu (np. Ba), przyspieszają degradację kompozytów w wyniku rozpuszczania żywicy [2]. Badania strukturalne wykazały tworzenie pęknięć pomiędzy żywicą a wypełniaczem [3]. Żywica rozpuszczała się a cząstki wypełniaczy wypadały.

In the compression test the crown was damaged with the force of 350N, and the low-changing fatigue within the range from 50N to 250N resulted in the damage after 16 cycles. The damage of the secant section was observed as far as the cervix part in the surface in the direction towards the main cutting, together with numerous cracks of the ceramic on the right cervix side.

Conclusions

The examination has confirmed the forecast hazards of damaging a dental crown in the secant and cervix zones exposed to cutting stresses as well as cracking of ceramics in the cervix zone exposed to tensile stresses.

References

[2] Dobosz A., Panek H., Dobosz K.: The application of methods of finite elements for the analysis of stresses in hard tooth tissues. Dental and Medical Problems, no. 42, 4, 2005 [http://www.stom. am.wroc.pl/dmp/].

SURFACE CHARACTERIZATION OF THE DENTAL CERAMIC – POLYMER COMPOSITES AFTER AN EXPOSURE TO WATER ENVIRONMENTS WITH VARIOUS pH

Joanna Siejka – Kulczyk, Małgorzata Lewandowska, Krzysztof Jan Kurzydłowski (jsiejka@inmat.pw.edu.pl)

Warsaw University of Technology Faculty of Materials Science and Engineering 02 – 507 Warsaw, Woloska 141

[Engineering of Biomaterials, 58-60, (2006),194-197]

Introduction

The most popular materials currently used for dental fillings are ceramic – polymer composites, which increasingly replace amalgam due to the possible toxicity of mercury and the unpleasant dark color. Resin composites are promising materials, but have some disadvantages. These are: lower than for amalgams mechanical parameters and significant polymerization shrinkage. Very important for dental fillings is their durability in oral cavity environment.

As a matrix of these composites the mixture of acrylic resins: bis – GMA and TEGDMA was used. The influence of environments with various pH on resin composites has been a subject of several investigations [1,2]. Asmussen investigated the effect of organic acids on the mixture of bis – GMA and TEGDMA resins. It was claimed that these acids led to a significant softening at the tested polymers [1]. Hosoda et al. investigated the durability of dental composites under alkaline conditions [2]. The specimens were immersed in 0,1 NaOH solution with the temperature of 60°C for one week. It was found that both alkaline environment and alkaline earth elements in filler particles (e. g. Ba) accelerate degradation of the composite due to resin exfoliation. Structural changes in the surface of the resin composite were also spotted.

• •

Zaobserwowano także spęcznianie fazy organicznej. Celem badań była charakterystyka powierzchni kompozytów ceramika – polimer stosowanych jako stałe wypełnienia stomatologiczne na skutek ekspozycji w środowiskach wodnych o różnych pH.

Metodyka badań

Do badań wykorzystano materiały wytworzone na Wydziale Inżynierii Materiałowej Politechniki Warszawskiej we współpracy z Wydziałem Chemicznym Politechniki Warszawskiej, Instytutem Szkła i Ceramiki w Warszawie oraz Wydziałem Mechanicznym Politechniki Białostockiej. Osnowę kompozytów stanowiła żywica bis - GMA (% wag.: bis-GMA - 58, 81, TEGDMA- 40,49, fotoinicjator-0,16, aktywator-0,49, inhibitor-0,05). Na fazę ceramiczną składały się mikro - wypełniacz (SiO2-P2O2-Al2O3 BaO-SrO-ZnO-La₂O₂-Na₂O₋F) o średniej wielkości czastek ~ 5 µm oraz nanokrzemionka o średniej wielkości cząstek 40 nm. Udział objętościowy wypełniacza stanowił 60%. Wytworzono mikrokompozyt o zawartości 60 % mikro wypełniacza oraz nanokompozyt (50% mikrowypełniacza + 10% nanowypełniacza). Fazę ceramiczną poddano obróbce powierzchniowej, zwanej silanizacją. Miała ona na celu poprawę połączenia wypełniacza z osnową. Próbki kompozytowe szlifowano na papierach o różnej gradacji (180-1200) i polerowano na paście diamentowej, w celu uzyskania możliwie gładkiej powierzchni.

Próbki przetrzymywano w roztworach wodnych 0,1M NaOH (pH=13), 0,1M CH₃COOH (pH=3) oraz wodzie destylowanej (pH=7) przez 15 h, 80 h, 160 h. Następnie przeprowadzono obserwacje badanych materiałów za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego i porównywano je ze stanem wyjściowym. Do ilościowej charakteryzacji zmian powierzchni wykorzystano pomiar chropowatości metodą bezpośredniego kontaktu na profilografometrze firmy Mahr. Z pomiarów chropowatości wyznaczono wartości parametru Ra, definiowanego jako średnie arytmetyczne odchylenie profilu od linii średniej. Linia średnia jest teoretyczną linią, przy której suma kwadratów odległości wzniesień i zagłębień jest najmniejsza.

Wyznaczono parametr nazwany wzrost chropowatości, stosując zależność: W=(Ra_k-Ra_p)•100/Ra_p, gdzie: Ra_k – chropowatość w stanie wyjściowym, Ra_p – chropowatość po ekspozycji w roztworach wodnych przez 180 h.

Wyniki badań

Ekspozycja w środowisku wodnym o różnym pH powoduje zmiany powierzchni kompozytów. Najsilniejszy wpływ na badane kompozyty wywiera kwaśne środowisko. Już po czasie 15 h widać wyraźny ubytek ceramicznego mikro - wypełniacza. Może on następować w wyniku rozpuszczania cząstek wypełniacza lub osnowy polimerowej wokół cząstek i wypadanie cząstek. W celu określenia mechanizmu degradacji kompozytów w środowisku kwaśnym przeprowadzono następujący eksperyment. Tygle Szota suszono do stałej masy. Do tygli odważono po ok. 1 g szkła. Dodano 20 ml 0,1M kwasu octowego i pozostawiono na 16h. Po tym czasie roztwór odsączono, szkło przemyto wodą destylowaną. Tygle z osadem suszono do stałej masy. Obliczono, że wagowy ubytek masy wynosi 5,409 %. Stwierdzono zatem, że degradacja następuje w wyniku rozpuszczania cząstek wypełniacza. Zastosowany wypełniacz jest alkaliczny, zatem w środowisku kwaśnym rozpuszcza się. Oznacza to, że przy projektowaniu kompozytów na wypełniania stomatologiczne należy zwrócić szczególna uwagę na dobór szkła, które powinno charakteryzować się Crack formation between resin matrix and filler particles, partial dissolution and exfoliation of filler particles and swelling of polymer matrix were observed [3].

The goal of this work was surface changes evaluation of dental ceramic – polymer composites in water environments with various pH.

Materials and methods

Dental composites were fabricated at the Faculty of Materials Science and Engeenering of Warsaw Univsrsity of Technology (WUT) in cooperation with Faculty of Chemistry (WUT) and the Glass and Ceramics Institute in Warsaw. The mixture of acrylic resins: bis - GMA and TEGDMA was used as the matrix of these composites (percentage by weight: bis-GMA-58, 81, TEGDMA- 40,49, photo-initiator-0,16, activator-0,49, inhibitor-0,05). Ceramic phases were: micro – filler (SiO₂-P₂O₅-Al₂O₃ BaO–SrO–ZnO-La₂O₃-Na₂O–F) with an average particle size of 5 µm and nanosilica with an average particle size of 40 nm. Volume fraction of filler was 60%. Two types of composites were fabricated: micro composite containing 60% of microfiller and nanocomposite containing both 50% microfiller and 10% of nanofiller. The fillers were silanized in order to improve their bonding with the polymer matrix.

The composites' specimens were grinded (with abrasive papers 80-1200) and polished (diamond paste) in order to obtain the smoothest possible surface. Such prepared resin composites were exposed to water solutions: 0,1M NaOH (pH=13), 0,1M CH₂COOH (pH=3) and distilled water (pH=7). The exposure times were: 15 h, 60 h and 180 h. The microstructures of materials before and after each time of the exposure were examined using scanning electron microscope. In order to quantity the surface changes, the roughness was measured in direct contact method using profilographometer (Mahr). From the roughness profiles, the parameter Ra was determined. This parameter is defined as an average deviation of the profile from a mean line or it is the average distance from the profile to a mean line. A mean line is a theoretical line, for which the sum of distance square elevations and hollows is the lowest.

Result and discussion

Exposure to the water environments with different pH causes surface changes of resin composites (FIG.1). It was found that the acidic environment influences investigated materials the strongest. The loss of ceramic filler particles from the surface can be observed. This can be a result of dissolution of the filler or polymer matrix around the particles. In order to determine the degradation mechanism the following experiment was carried out. Shots crucibles were dried to constant mass. About 1 g of glass powder was put into the each crucibles. Twenty milliliters of 0,1M CH₂COOH was added. Such prepared samples were left to stand for 16 h. After this time the solution was filtered and the filler was washed by distilled water. Next shots crucibles with sediment were dried to constant mass. It was computed that the loss of weight is 5,409 %. That is why degradation of the composites results from the dissolution of the ceramic particles. Used filler is too alkaline. It means that designing composites for dental permanent fillings ought to give attention to filler selection. The glass with inert pH would be the most adequate. It is an essential problem, because acidic reaction occurs guite often in oral cavity.

Exposure to NaOH solution leads to a dissolution of the resin. Ceramic particles protrude above the resin surface (15 h, 16 h) (FIG.1). It seems that after exposure time of



RYS.1. Zmiany mikrostruktury mikrokompozytu po ekspozycji w roztworach wodnych o różnym pH.

FIG.1. Surface changes of the microcomposite after exposure to water solution with different pH.

odczynem zbliżonym do obojętnego. Jest to dość istotny problem, ponieważ kwaśne środowisko (pH = 3) dość czesto występuje w jamie ustnej.

Ekspozycja w roztworze NaOH powoduje natomiast ubytek żywicy. Cząstki fazy ceramicznej wystają nad powierzchnię (15h, 60h). Wydaje się, że po 180 h ekspozycji w roztworze zasadowym obserwujemy zmniejszenie udziału mikrowypełniacza na badanej powierzchni. Z literatury wiadomo, że w środowisku alkalicznym żywice akrylowe rozpuszczają się [2], co w początkowym stadium sprawia, że mikrowypełniacz wystaje ponad powierzchnie. Po dłuższym czasie ekspozycji następuje ubytek grubszej warstwy żywicy, na skutek czego wypadają cząstki szkieł ceramicznych. Na powierzchni wypełniacza widoczne są pęknięcia. Jednak środowisko o tak wysokim pH jest środowiskiem modelowym. pH=13 nie występuje w jamie ustnej.

Woda destylowana nie zmienia w sposób widoczny powierzchni badanych materiałów. Mikrostruktura wydaje się niezmieniona.

Zmiany powierzchni charakteryzowano w sposób ilościo-

wy mierząc chropowatość. RYS.2 przedstawia przykładowe profile chropowatości powierzchni badanego mikrokompozytu po 180 h ekspozycji w roztworach wodnych. Najwyższe odchylenia występuja dla materiału przetrzymywanego w środowisku kwaśnym. Maksymalna wartość bezwzględna piku dochodzi do około 3 µm. Szerokości pików wynoszą od kilku do 20 µm. Wielkości te odpowiadają rozmiarom cząstek wypełniacza ceramicznego. W przypadku środowisk zasadowego oraz wodnego maksymalne wysokości pików są zdecydowanie mniejsze i wynoszą

odpowiednio: 1,67 µm oraz 0, 66 µm.



RYS.2. Profile chropowatości powierzchni badanych mikrokompozytów po 180 h ekspozycji w roztworach wodnych o: a) pH=3, b) pH=7, c) pH=13

FIG.2. Surface roughness profiles of investigated materials after exposure to water solutions: a) pH=3, b) pH=7, c) pH=13 (exposure time 180 h).

180 h the reduction of filler content can be observed. It is known [2] that acrylic resins dissolve in a base environment. In the pictures (FIG.1), the partial dissolution of resin can be seen. As a consequence, some filler particles may fall out. Moreover, numerous cracks on the filler particles can be seen. However, the solution with such high pH is only a model environment. pH=13 does not occur in oral cavity. After exposure in distilled water, the microstructure of the composites remained unchanged.

In order to obtain quantitative description of surface changes roughness was measured. Examples of roughness profiles of micro - composite after 180 exposure time in water solutions are shown on FIG.2. The highest deviation for material exposed to acidic environment can be seen. Maximal absolute value of peaks reaches 3µm. Width of peaks ranges from several to 20 μ m. These values correspond to ceramic filer particles size. In case of alkaline and inert environments maximal heights of the peaks are resolutely lower and amount adequately to 1,67µm and 0,66µm. Width of peaks is also lower.



Based on roughness profiles parameter Ra was determined.

RYS.3. Wpływ czasu ekspozycji w roztworach wodnych na parametr R FIG.3. An influence of exposure time to water solutions on R parameter.

Mniejsze są również szerokości pików.

W oparciu o profile chropowatości wyznaczono parametr R_a. RYS.3 przedstawia wpływ czasu ekspozycji na wartość parametru R_a dla poszczególnych środowisk.

Zaobserwowano, że chociaż próbki były polerowane w ten sam sposób, nanokompozyt charakteryzuje się dwukrotnie mniejszą chropowatością niż mikrokompozyt. Wartość parametru R_a

zmierzona bezpośrednio po polerowaniu wynosi dla mikro kompozytu 0,2 μm, natomiast dla nanokompozytu 0,1 μm. Oznacza to, że dodatek nanowypełniacza poprawia polerowalno.ść materiałów kompozytowych. Największe zmiany chropowatości zachodzą w roztworze kwaśnym ze względu na zaobserwowane wypadanie cząstek wypełniacza. Woda nie wpływa na zmiany rozwinięcia powierzchni (RYS.2,3). Powierzchnie nanokompozytu charakteryzują się niższą chropowatością.

Wnioski

1. Dodatek nanokrzemionki poprawia polerowalność materiałów kompozytowych

2. Najsilniejszy wpływ na badane materiały ma wodny roztwór kwasu octowego. W bardzo krótkim czasie powoduje rozpuszczanie fazy ceramicznej

3. Pod wpływem środowiska alkalicznego następuje rozpuszczanie żywicy

4. Wytworzone kompozyty charakteryzują się stabilnością w środowisku neutralnym

5. Należy zaznaczyć, że opisane zmiany powierzchni kompozytów ceramiczno – polimerowych pod wpływem ekspozycji w środowisku kwaśnym i zasadowym będą wpływać na znaczne obniżenie ich trwałości, w szczególności w warunkach tarcia. Uzyskane wynik stanowią więc podstawę do optymalizacji składu chemicznego i mikrostruktury kompozytów na stałe wypełnienia stomatologiczne.

Podziękowania

Praca sfinansowana ze środków budżetowych na naukę w latach 2006 – 2009 jako projekt badawczy rozwojowy R08 027 01.

Piśmiennictwo

[1] Asmussen E.; Scandinavian Journal of Dental Research (1984) 92, 257–61

[2] Hosoda H, Yamada T, Horie K.; Japanese Journal of Conservative Dentistry (1987) 30, 863–82. FIG.3 shows an influence of the exposure time on value of this parameter for each environment.

Although the samples were polished in the same way, the nano composite is characterized by twice lower roughness than microcomposite. The value of Ra parameter just after polishing is 0,2 μ m for microcomposite and 0,1 μ m for nanocomposite. It means that nanofiller addition improves polishing ability of the composites.

The largest roughness changes occur in acidic solution for the sake of the loss of the filler particles. Destilled water does not change surface development. Surfaces of nanocomposites are characterized by lower roughness.

Conclusions

From the results presented above, following conclusions can be drawn:

1. Addition of nano - silica improves polishing ability.

2. Water solution of the acetic acid has the strongest influence on investigated materials. Environment with low pH causes ceramic phase dissolution in a very short period of time.

3. Alkaline environment results in a resin dissolution.

4. The surface of tested materials does not change significantly in neutral environment. (pH = 7).

5. It should be noted that the surface changes of dental ceramic – polymer composites result in a decrease of their durability, especially in wear conditions. So the obtained results are helpful for the optimization of chemical composition and microstructure of ceramic – polymer composites for dental permanent fillings.

Acknowledgement

This work was financially supported by Polish Ministry of Science and Higher Education (Grant No R08 027 01)

References

[3] Hosoda H, Yamada T, Inokoshi S; Japanese Journal of Conservative Dentistry (1987) 30, 1251–65.

MATERIALÓW

198 OSZACOWANIE MAKSYMALNEGO NAPRĘŻENIA KONTAKTOWEGO NA POWIERZCHNI PANEWKI ENDOPROTEZY STAWU BIODROWEGO PRZY UŻYCIU ROZMYTEGO SYSTEMU WNIOSKOWANIA

SYLWIA SOBIESZCZYK

Wydział Mechaniczny, Politechnika Gdańska, 80-952 Gdańsk, Narutowicza 11/12, ssobiesz@pg.gda.pl

Streszczenie

Artykuł przedstawia rozmyty system wnioskowania dla oszacowania maksymalnego naprężenia kontaktowego na powierzchni panewki endoprotezy stawu biodrowego. Maksymalne naprężenie kontaktowe zostało określone na podstawie kąta Wiberga oraz masy ciała pacjenta.

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60, (2006),198-200]

Wprowadzenie

Przyczyną obluzowania endoprotezy stawu biodrowego jest utrata stabilności trzpienia lub panewki implantu, co spowodowane jest przede wszystkim zbyt dużym naprężeniem kontaktowym na powierzchnię górną endoprotezy. Jako wartość graniczną (dopuszczalną) naprężenia najczęściej przyjmuje się 3 MPa [1]. W pracy przedstawiono metodę oszacowania maksymalnych naprężeń kontaktowych na powierzchni panewki, czyli obszaru przenoszenia obciążeń, biorąc pod uwagę wielkość kąta Wiberga (który określa wielkość powierzchni przenoszenia obciążenia) oraz masę ciała pacjenta. Zdecydowano się na wzięcie pod uwagę powyższych dwóch parametrów, ponieważ udowodniono, że wpływ wielkości kąta Wiberga, a zwłaszcza jego małe wartości odpowiadające zmniejszeniu się obszaru przenoszenia obciążenia, jak też i nadwaga pacjenta mogą doprowadzić do niekorzystnego zjawiska aseptycznego obluzowania endoprotezy, a w konsekwencji do konieczności przeprowadzenia ponownej operacji alloplastyki stawu biodrowego [1,2,3].

Metodyka badań

Rozmyty system wnioskowania umożliwia operowanie wiedzą jakościową, w przeciwieństwie do wykonywania obliczeń na danych i wykorzystywania skomplikowanych modeli matematycznych za pomocą tradycyjnych programów komputerowych [4,5].

Dziedziny zbiorów wejściowych ustalono w oparciu o dane literaturowe [6,7,8.9], gdzie zaobserwowano zakresy zmienności dla parametrów geometrycznych układu głowa kości udowej – kość miednicza. Zakres zmienności dla kąta Wiberga to (0°÷55°), natomiast dla masy ciała (40÷85kg), na podstawie badań przeprowadzonych dla danej grupy pacjentów [9]. Zbiory rozmyte wyjścia reprezentują maksymalne naprężenie kontaktowe na powierzchni panewki endoprotezy stawu biodrowego. Każdy ze zbiorów odpowiada pewnemu zakresowi naprężeń, któremu nadano nazwy lingwistyczne: "małe, średnie, duże" dla wcześniej

MAXIMUM CONTACT STRESS ESTIMATION ON ACETABULAR SURFACE IN TOTAL HIP REPLACEMENT USING FUZZY REASONING SYSTEM

SYLWIA SOBIESZCZYK

Faculty Of Mechanical Engineering, Gdańsk University Of TechnologY, 80-952 Gdańsk, Narutowicza 11/12, ssobiesz@pg.gda.pl

Abstract

The article presents a fuzzy reasoning system for maximum contact stress estimation on acetabular surface in total hip replacement. The maximum contact stress has been described based on Wiberg's angle and patient's body.

[Engineering of Biomaterials, 58-60, (2006),198-200]

Introduction

The reason of hip endoprosthesis loosening is the lost of implant stem or cup stability, which first of all, is the result of too high contact stress on upper part of endoprosthesis. As boundary (acceptable) value 3.0 MPa is assumed [1]. In the work, maximum contact stress on acetabular surface estimation method is presented, which means the area of load transfer on upper part of endoprosthesis taking into account Wiberg's angle (which describes the size of load transferring area) and patient's body weight. It has been decided to take into account above two parameters because it was proven that the size of Wiberg's angle, especially it's small values, which are adequate to reduction of load transferring area, as well as patient's overweight, can lead to unfavorable phenomenon of aseptic endoprosthesis loosening and in consequence to revision hip alloplasty operation [1,2,3].

Materials and methods

Fuzzy reasoning system enable to operate with quality knowledge, on the contrary to numerical calculations on data and using complicated mathematical models by traditional computer programs [4,5]. Domains of input sets have been established based on literature data [6,7,8,9] where variability ranges for geometrical parameters of femoral head - pelvis system were observed. Variability range for Wiberg's angle is (0°÷55°), and for body weight: (40÷85kg), based on research conducted on given group of patients [9]. Fuzzy output sets represent maximum contact stress on acetabular surface of the endoprosthesis. Each of the sets corresponds with certain stress range, with given linguistic names: "small, medium, large" for previously defined stress variability range (1.6÷12 MPa) [6]. Input and output variable domains were divided into fuzzy values, and membership functions for fuzzy sets were generated using triangular and trapezoidal membership function form [4,5]. Rule base corresponds with division of input and output space. It consists of 12 rules linking input values with output for certain parameters, which were introduced into Matlab environment, Fuzzy Toolbox [5]. Rules in the form of "if - then" can be

Wielkości wejściowe Input values	Masa ciała Body weight [kg]				
Kąt Wiberga	Zakresy zmienności Variability ranges	X [40÷60]	Y [50÷70]	Z [60÷85]	
Wiberg's	A [0÷10]	D	S	S	
angle	B [5÷20]	М	M	М	
[º]	C [10÷30]	М	М	М	
	D [20÷55]	М	М	М	

TABELA 1. Tablica decyzyjna bazy reguł rozmytych. TABLE 1. Decision table of fuzzy rule base.

określonego zakresu zmienności naprężenia (1,6÷12 MPa) [6]. Dokonano podziału dziedziny zmiennych wejściowych i wyjściowej na wartości rozmyte i wygenerowano funkcje przynależności dla zbiorów rozmytych, wykorzystując trójkątną i trapezoidalną postać funkcji przynależności [4,5]. Baza reguł odpowiada podziałowi przestrzeni wejść i wyjścia. Zawiera ona 12 reguł wiążących wartości wejść z wyjściem dla odpowiednich parametrów, które zostały wprowadzone do środowiska Matlaba, Fuzzy Toolbox [5]. Reguły postaci: "jeżeli –to" można przedstawić w postaci tablicy decyzyjnej (TAB.1). Wykorzystano metodę wyostrzania środka ciężkości do określenia wynikowej wartości wyjściowej maksymalnego naprężenia kontaktowego [4].

Wyniki badań i dyskusja

Dla wybranych wartości wielkości wejściowych zostało przeprowadzone wnioskowanie przybliżone, w wyniku którego na wyjściu otrzymano wynikowy zbiór wyjściowy (RYS.1). Po dokonaniu procesu wyostrzania została wybrana jedna wartość będąca odpowiedzią na zadane wielkości wejściowe.

Jako przykład, określono maksymalne naprężenie kontaktowe dla stawu biodrowego o kącie Wiberga v_{CE} =25° oraz masie ciała pacjenta W_B =75 kg. Otrzymane maksymalne naprężenie kontaktowe na panewkę implantowanego biodra wynosi p_{max}=3,62 MPa. Otrzymana wartość naprężenia jest zbliżona do wartości uzyskanej przy pomocy programu HIPSTRESS, która dla powyższych danych wynosi 3,2 MPa [1], więc użycie zaproponowanej metody zamiast specjalistycznego programu komputerowego powoduje wystąpienie błędu tylko w granicach 10%.

Wnioski

Przedstawiony w pracy rozmyty system wnioskowania pozwala na oszacowanie wartości maksymalnego naprężenia kontaktowego w stawie biodrowym dla wybranych i znanych wartości kąta Wiberga oraz masy ciała pacjenta. Zaletą przedstawionej metody jest brak konieczności tworzenia skomplikowanych modeli matematycznych oraz prostota użytkowania. System rozmytego wnioskowania, w przedstawionej formie, może zostać użyty jako wstępne narzędzie do oszacowania wielkości maksymalnych naprężeń kontaktowych na powierzchnię panewki endoprotezy, która przenosi obciążenia. Struktura utworzonego systemu pozwala na łatwą modyfikację poszczególnych jej modułów, co powinno w przyszłości zwiększyć dokładność otrzymanych wyników.



RYS. 1. Wynikowe maksymalne naprężenie kontaktowe p_{max}=3,62 MPa na podstawie wielkości wejściowych kąta Wiberga v_{ce}=25° oraz masy ciała W_B=75 kg [5]

FIG.1. Resultant maximum contact stress p_{max} =3,62 MPa based on the input Wiberg's angle magnitude v_{cE} =25° and body weight W_B=75 kg [5].

presented as decision table (TAB.1). For resultant output value of maximum contact stress determination, the center of gravity defuzzyfication method was used [4].

Results and discussion

As a result of approximate reasoning for chosen input variables values, the resultant output set have been received (FIG.1). After defuzzyfication process, only one value was chosen, in response to given input values. As an example, maximum contact stress for hip joint with Wiberg's angle of v_{CE} =25° and patient's body weight of W_B =75 kg, was determined. The received maximum contact stress on acetabular surface of the hip is p_{max} =3,62 MPa. The obtained stress value is similar to the value achieved by using computer program HIPSTRESS, which for above data is 3.2 MPa [1], thus by using proposed method instead of specialistic computer program causes an error of 10% only.

Conclusions

Fuzzy reasoning system presented in this work unable maximum contact stress estimation on acetabular surface in total hip replacement for chosen and given Wiberg's angle values and patient's body weight. The advantage of presented method is lack of necessity for complicated mathematical models creation and usage simplicity. The fuzzy reasoning system, in presented form, can be used as the introductory tool for maximum contact stress estimation on acetabular surface in total hip replacement, which transfers load. The structure of created system unable an easy modification of particular modules, which should increase obtained results accuracy in the future.

Piśmiennictwo

[1] Daniel M., Antolic V., Iglic A., Kralj-Iglic V.: Determination of contact hip stress from nomograms based on mathematical model. Medical Eng. & Physics 23 (2001) 347-357.

[2] Włodarski J., Szarek A.: Analiza naprężeń i odkształceń w układzie kość - implant. Biomechanics 2003, Poznań, 557-562

[3] Będziński R.: Biomechanika inżynierska. Zagadnienia wybrane. Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław, 1997.

[4] Łachwa A.: Rozmyty świat zbiorów, liczb, relacji, faktow, reguł i decyzji. Problemy współczesnej nauki, teoria i zastosowania. Akad. Oficyna Wyd. EXIT, Warszawa, 2001.

[5] Jang R., Gulley N.: Fuzzy Logic Toolbox User's Guide. The MathWorks, Inc. 1995.

[6] Czajkowski A., Cwanek J., Czajkowska M.: Stress values in the range of Wiberg angle of endoprosthesis cup in dependence from body weight of patient. Mechanika w medycynie 6, Rzeszów, 2002.

WPŁYW STERYLIZACJI NA WŁAŚCIWOŚCI BIOLOGICZNE WARSTW AZOTOWANYCH WYTWORZONYCH NA STOPIE TYTANU TI6AL4V W WARUNKACH WYŁADOWANIA JARZENIOWEGO

Sowińska A.*, Zajączkowska A.*, Cukrowska B.*, Godlewski M.M.***, Wierzchoń T.**, Czarnowska E.*

*Zakład Patologii, Instytut – Pomnik Centrum Zdrowia Dziecka 04-730 Warszawa, Al. Dzieci Polskich 20, **Wydział Inżynierii Materiałowej, Politechnika Warszawska, 02-507 Warszawa, Wołoska 141, ***Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, 02-787 Warszawa, ul. Nowoursynowska 166 e-mail: czarnowska@czd.waw.pl

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60, (2006),200-202]

Sterylizacja stanowi ostatni etap poprzedzający wszcze-

Wstęp

pienie implantu do organizmu. Z danych literaturowych jest wiadomo, że sterylizacja plazmowa powoduje m.in. wzrost energii powierzchniowej i przyczynia się do zmniejszenia grubości warstwy tlenkowej na powierzchni materiału [1,2]. Natomiast zastosowanie autoklawu wpływa na wzrost warstwy tlenkowej oraz zmiany składu chemicznego powierzchni sterylizowanych materiałów [3,4]. Procesy sterylizacyjne poprzez zmianę właściwości powierzchni biomateriałów moga wpływać na ich oddziaływanie z otaczajacym środowiskiem biologicznym, a przez to decydować o dobrej integracji wszczepu z tkankami. Celem przeprowadzanych badań była ocena wpływu sterylizacji na biozgodność stopu tytanu z wytworzoną w warunkach wyładowania jarzeniowego warstwą TiN+Ti₂N+αTi(N) z ludzkimi fibroblastami w warunkach in vitro pod katem adhezji komórkowej do próbek oraz aktywności biologicznej zaadherowanych komórek.

References

[7] Mavcic B., Pompe B., Antolic V., Daniel M., Iglic A., Kralj-Iglic V: Mathematical estimation of stress distribution in normal and dysplastic human hips. J. of Orthopaedic Research 20 (2002) 1025-1030.

[8] Genda E., Iwasaki N., Li G., MacWilliams B.A., Barrance P.J., Chao E.: Normal hip joint contact pressure distribution in single-leg standing-effect of gender and anatomic parameters. J. of Biomechanics 34 (2001) 895-905.

[9] Iglic A., Kralj-Iglic V., Daniel M., Macek-Lebar A.: Computer Determination of Contact Stress Distribution and Size of Weight Bearing Area in Human Hip Joint. Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Eng.5(2) (2002) 185-192.

THE EFFECT OF STERILIZATION ON BIOLOGICAL PROPERTIES OF NITRIDED SURFACE LAYERS PRODUCED ON THE TI6AL4V ALLOY UNDER GLOW DISCHARGE CONDITIONS

Sowińska A.*, Zajączkowska A.*, Cukrowska B.*, Godlewski M.M.***, Wierzchoń T.**, Czarnowska E.*

*Pathology Dept., The Children's Memorial Health Institute, 04-730 Warsaw, Al. Dzieci

POLSKICH 20 **Faculty of Materials Science and Engineering, Warsaw University of Technology, 02-507, Warsaw, Woloska 141, ***Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw Agricultural University, 02-787 Warsaw, Nowoursynowska 166 E-Mail: czarnowska@czd.waw.pl

[Engineering of Biomaterials, 58-60, (2006), 200-202]

Introduction

Sterilization is the final step of implant preparation before surgery takes place. It is known from literature that plasma sterilization causes of an increase surface energy and contribute to the decrease thickness of oxide layer on the material surface [1,2]. Autoclaving effects the increase of oxide layer thickness and change in chemical composition of sterilized material surfaces [3, 4]. Sterilization may optimise interactions of biomaterial with tissue by mean of change in its physico-chemical properties. Thus, it may improve the ability of biomaterial to integrate with a graft. In this study we investigated the effect of sterilization on biological properties of titanium alloy with nitrided surface layer $TiN+Ti_2N+\alpha Ti(N)$ produced under glow discharge conditions using human fibroblasts in term cell adhesion and physiological behaviour of adhered cells.

Materiały i metody

Wytwarzanie warstwy azotowanej

Badaniom poddano próbki ze stopu tytanu Ti6Al4V azotowane w warunkach wyładowania jarzeniowego w temperaturze 850°C, w atmosferze azotu, przy ciśnieniu 4 hPa. Próbki były płukane w alkoholu i w wodzie destylowanej, a następnie sterylizowane plazmowo w jednym cyklu (Sterrad 100 - H_2O_2 , 54°C, 7hPa,1h) lub w autoklawie w dziesięciu cyklach (para wodna, 134 °C, 1400hPa, 30min.).

Charakterystyka warstwy powierzchniowej

Wytworzone warstwy były poddane badaniom mikrostruktury (mikroskop metalograficzny Neophot 21), składu fazowego (dyfraktometr rentgenowski Philips, typ PW 1830) i chropowatości powierzchni (profilometr skanujący Form Talysurf Series 2).

Badania biologiczne.

Fibroblasty z ludzkiej skóry inkubowano na badanych próbkach przez 48 godzin według wcześniej opisanej procedury [5]. Analizowano liczbę zaadherowanych komórek, ich rozmieszczenie na próbkach, ekspresję fibronektyny i jej receptora α 5 β 10raz produkcję cytokin prozapalnych TNF α , IL1 β , IL6. W badaniach zastosowano laserowy cytometr skaningowy (LSC, CompuCyte) i mikroskop konfokalny (FV-500 system; Olympus).

Wyniki i dyskusja

Analiza mikrostruktury próbek azotowanych jarzeniowo wykazała obecność warstwy azotowanej o grubości około 40µm. W oparciu o badania składu fazowego stwierdzono obecność powierzchniowej fazy azotku tytanu (TiN) o grubości 4µm. Badania profilometryczne wykazały, że chropowatość powierzchni warstw azotowanych nieznacznie zwiększała się po sterylizacji plazmowej (RYS.1B), natomiast ulegała obniżeniu po sterylizacji w autoklawie (RYS.1C).

W badaniach poziomu cytokin prozapalnych uwalnianych do medium inkubacyjnego w hodowlach fibroblastów – bez względu na sposób sterylizacji - nie stwierdzono obecności TNF α , śladowe ilości IL1 β oraz niski poziom IL6, który obniżał się po 48h inkubacji.

Procesy sterylizacji zmieniając właściwości powierzchni biomateriałów wpływały na rozmieszczenie komórek zaadherowanych na próbkach. W hodowlach prowadzonych na próbkach sterylizowanych plazmowo 1x komórki były rozproszone na całej powierzchni biomateriału, podczas gdy na sterylizowanych w autoklawie 10x komórki tworzyły skupienia. Najwięcej komórek zaadherowało na próbkach azotowanych jarzeniowo poddanych sterylizacji plazmowej

Materials and methods

Nitrided surface layer preparation

The study was conducted on the Ti6Al4V alloy specimens nitrided under glow discharge conditions at temperature of 850°C, in atmosphere of nitrogen and under 4 hPa pressure. Samples were cleaned with ethanol and destilated water and sterilised in plasma (Sterrad 100; H_2O_2 , 54°C, 7hPa, 1h) for one cycle or in autoclave (steam, 134 °C, 1400hPa, 30min.) for ten cycles.

Surface layer characteristics

The surface layers were examined for their microstructure (Neophot 2 microscope), phase composition (x-ray diffractometer Philips PW 1830), surface topography (scanning profilometer Form Talysurf Series 2).

Cell behaviour

Human skin fibroblasts were cultured for 48 hours on samples according to previously described methods [5]. Number of adhered cells, cell arrangement, fibronectin and fibronectin receptor α 5 β 1 expression, and proinflammatory cytokine (TNF- α , IL-1 β , IL-6) production were analysed. These were examined by laser scanning cytometry (LSC, CompuCyte) and confocal microscopy (FV-500 system; Olympus).

Results and discussion

Analysis of microstructure showed the nitrided surface layers were about 40μ m thickness. Study of phase composition indicated an external phase of titanium nitride (TiN) was about 4 μ m thickness. Profilometric studies showed that the roughness of nitrided surface layers increased after plasma sterilization (FIG.1B) and decreased after steam autoclaving (FIG.1C).

No TNF- α , a traced amount of IL-1 β and low level of IL-6 (decreasing after 48h of incubation) were found in culture medium, regardless of sterilization type.

Sterilization processes changing properties of the biomaterial surface affected the cell spreading and activity. In cultures on plasma sterilized samples, cells were diffused on entire biomaterial surface, while on autoclave sterilized formed clusters. The highest number of cells adhered on plasma sterilized samples (FIG.2).

Adhered cells produced and secreted fibronectin, an important protein in cell adhesion, which formed fibrillar biofilm on a material surface. Fibroblasts cultured on plasma sterilized samples showed higher expression of fibronectin (FIG.3A) than those on autoclave sterilized. In contrast, a fibronectin receptor was higher expressed by cells adhered on autoclave sterilized samples, than sterilized by plasma





202 (RYS.2).

 Zaadherowane komórki produkowały i wydzielały fibronektynę – białko odgrywające znaczącą rolę w adhezji komórkowej - która tworzyła włókienkowy biofilm na powierzchni materiału. Większą ekspresją fibronektyny charakteryzowały się fibroblasty hodowane na próbkach sterylizowanych plazmowo (RYS.3A). Natomiast komórki zaadherowane na próbkach sterylizowanych w autoklawie wykazywały największą ekspresję receptora dla fibronektyny (RYS.3B).

> Przeprowadzone badania wykazały, że sposób sterylizacji wpływa na właściwości warstwy azotowanej, a przez to oddziałuje na adhezję i aktywność biologiczną zaadherowanych na niej komórek. Nierównomierne rozmieszczenie fibroblastów na powierzchni TiN po sterylizacji w autoklawie 10x prawdopodobnie było spowodowane występowaniem na niej osadów pochodzących z atmosfery sterylizatora, przyczyniających się do wygładzenia powierzchni próbek. Jednocześnie na tak sterylizowanych materiałach obserwowano mniejszą liczbę komórek, które charakteryzowały się niższą ekspresją fibronektyny. Obserwowana w tych populacjach ekspresja receptora dla fibronektyny prawdopodobnie wiązała się z różną aktywnością proliferacyjną komórek.

> Wysoka ekspresja fibronektyny w hodowlach prowadzonych na próbkach TiN sterylizowanych plazmowo mogła być wynikiem podwyższenia energii i zwilżalności ich powierzchni. Jest to zgodne z obserwacjami innych badaczy [6, 7]. Fibroblasty inkubowane na próbkach TiN po sterylizacji plazmowej, choć charakteryzowały się niższą ekspresją receptora $\alpha 5\beta 1$, wykazywały większą aktywność proliferacyjną.

> W świetle uzyskanych wyników wydaje się, iż sterylizacja plazmowa jest najbardziej optymalnym sposobem sterylizacji biomateriałów tytanowych z warstwą TiN.



RYS.3. Poziom ekspresji fibronektyny (A) i jej receptora $\alpha 5\beta 1$ (B) w fibroblastach hodowanych na próbkach azotowanych jarzeniowo (TiN) po sterylizacji plazmowej 1x (P1x) lub w autoklawie 10x (A10x)

FIG.3. Expression of fibronectin (A) and fibronectin receptor $\alpha 5\beta 1$ (B) in fibroblasts cultured on plasma sterilized 1x (P1x) or autoclave sterilized 10x (A10x) samples.



RYS.2. Histogram liczby komórek zaadherowanych na próbkach TiN sterylizowanych plazmowo 1x (P1x) lub w autoklawie (A10x). Pole powierzchni krążka 50,24 mm².

FIG.2. Number of adhered cells on plasma sterilized 1x (P1x) or in autoclave 10x (A10x) TiN samples. The surface disc 50,24 mm².

(FIG.3B).

Sterilization processes influenced cells adhesion and behaviour by changing properties of the nitrided surface layer. Irregular spreading fibroblasts on autoclave sterilized samples with TiN surface layer probably was caused by precipitates, which arised from atmosphere of sterilizator. Presence of precipitates led to smoothing of the sample surface. Summarising these observations, it can not be excluded that high expression of fibronectin receptor caused lower cell proliferation and activity in range of fibronectin synthesis and release.

Contradictionaly, cells in population cultured on plasma sterilized samples were characterized by high expression of fibronectin. This could be a result of high energy and wettability of biomaterial surface, which is in line with observations of other investigators [6, 7]. However expression of an integrin receptor $\alpha 5\beta 1$ on cells incubated on plasma sterilized samples was low, the cells exhibited a high proliferation activity.

In conclusion, our results showed that plasma sterilization is the most optimal type of sterilization of titanium biomaterial with TiN – outer zone of the produced surface layer.

Piśmiennictwo

 Swart K.M., Keller J.C., Wightman J.P., Draughn R.A., Stanford C.M., Michaels C.M. *J. Oral Implant*. 1992; 18: 130-137
 Thierry B., Tabrizian M., Savadogo O., Yahia L'H. *J. Biomed*.

Mater. Res. 2000; 49: 88-98 [3] Kaluber C., Lenz L.J., Henry P.J. Int. J. Oral Maxillofac. Implants

1990; 5(3): 264-271

[4] Vezeau P.J., Koorbusch G.F., Draughn R.A., Keller J.C. J. Oral Maxillofac. Surg. 1996; 54: 738-746

References

[5] Czarnowska E, Sowińska A, Cukrowska B, Godlewski M, Wierzchoń T. *Ann. Transplant.* 2004; 9(IA): 72-75
[6] Altankov G., Grinnell F., Groth T. *J Biomed. Mater. Res.* 1996;

30: 385-391 71 Baier R.F. Meyer A.F. Int. J. Oral Maxillofac, Implants 1988:

[7] Baier R.E., Meyer A.E. Int. J. Oral Maxillofac. Implants 1988;3: 9-20

RÓŻNE PROFILE UWALNIANIA ANTRACYKLIN JAKO WYNIK ODDZIAŁYWAŃ MIĘDZY LEKIEM I BIODEGRADOWALNĄ POLIMEROWĄ MATRYCĄ

K. Stokłosa^{*}, J. Kasperczyk^{*,**}, P. Dobrzyński^{**}, B. Kaczmarczyk^{**}

^{*}Śląska Akademia Medyczna, Katedra I Zakład Biofarmacji, Ul. Narcyzów 1, 41-200 Sosnowiec, Polska. ^{**}Polska Akademia Nauk, Centrum Chemii Polimerów, Curie-skłodowskie 34, 41- 800 Zabrze, Polska.

Streszczenie

W pracy przedstawiono wyniki badań uwalniania doksorubicyny i idarubicyny w fazie in vitro z bioresorbowalnej matrycy zawierającej kopolimer glikolidu i L,L-laktydu (PGLA) do sztucznego płynu mózgowordzeniowego (aCFS). Określono mikrostrukturę łańcucha polimerowego korzystając z magnetycznego rezonansu jądrowego (13C-NMR). Badano profile uwalniania doksorubicyny i idarubicyny z matryc zawierających kopolimery glikolidu i L,L-laktydu oraz glikolidu i ε-kaprolaktonu do aCFS w oparciu o spektroskopię UV-VIS. W przypadku matryc wykonanych z kopolimeru glikolidu z L,L-laktydem stwierdzono różnice w profilach uwalniania doksorubicyny i idarubiciny. Z matrycy zawierającej doksorubicynę lek uwalnia się bardzo wolno w pierwszych dniach eksperymentu z powolnym narastaniem do 90 dnia. Od tego dnia obserwowana jest zwiększona degradacja matrycy. Z matrycy zawierającej idarubicynę, 80% leku uwalnia się równomiernie przez 40 dni. Przeprowadzono analizę strukturalną powyższych matryc w oparciu o spektroskopię w podczerwieni (IR). Widma IR potwierdziły obecność oddziaływań strukturalnych tj. międzycząsteczkowe wiązania wodorowe między grupą hydroksylową w cząsteczce doksorubicyny a grupą karbonylową łańcucha polilaktydu. Takie oddziaływania są niemożliwe w przypadku idarubicyny, ponieważ w jej strukturze zamiast grupy hydroksylowej występuje grupa metylowa. [Inżynieria Biomateriałów, 58-60, (2006), 203-206]

Wstęp

Bioresorbowalne kopolimery glikolidu i laktydu, laktydu i ε-kaprolaktonu oraz glikolidu i ε -kaprolaktonu są powszechnie stosowane jako nici chirurgiczne, implanty kostne, a także gąbki. Wspomniane kopolimery były syntezowane z zastosowaniem inicjatora cynowego, który wykazuje właściwości neurotoksyczne. Zastosowane w badaniach uwalniania antracyklin kopolimery otrzymane były w obecności inicjatora cyrkonowego, którego niską toksyczność potwierdziły badania PLGA na liniach komórkowych [1]. Antracykliny wykorzystuje się w leczeniu chorób rozrostowych układu krwiotwórczego, chłoniaków złośliwych, raka: skóry, sutka, płuc, narządów moczowo-płciowych, żołądka i wątroby oraz mięsako-raków kości. W celu uniknięcia niepożądanych skutków stosowania antracyklin, tj. kardiotoksyczność można zastosować matrycę z biodegradowalnego polimeru z

VARIOUS RELEASE PROFILES OF ANTHRACYLINES AS A RESULT OF INTERACTIONS BETWEEN DRUG AND BIODEGRADABLE POLYMER MATRIX

K. Stokłosa^{*}, J. Kasperczyk^{*,**}, P. Dobrzyński^{**}, B. Kaczmarczyk^{**}

*Sliesian University OF Medicine, Department OF Biopharmacy, 1 Narcyzów St., 41-200 Sosnowiec, Poland. *Polish Academy Of Sciences, Centre Of Polymer Chemistry, 34 Curie-skłodowskiej St., 41-800 Zabrze, Poland.

Abstract

In this study presents the results of in vitro release of doxorubicin and idarubicin from bioresorbable matrix containing copolymer glycolide and L,L-lactide (PGLA) to artificial cerebrospinal fluid (aCFS). Microstructure of polymer chain was determined by ¹³C-NMR measurements. Profiles of doxorubicin and idarubicin release from matrices containing copolymers of glycolide and L,L-lactide, glycolide and *ε*-caprolactone to aCFS were studied by UV-VIS spectroscopy. In case of matrices performed from copolymer glycolide and L,L-lactide differences in doxorubicin and idarubicin release profiles were found. From matrix containing doxorubicin drug is released very slowly at first days of experiment with slowly accretion until ninetieth day. Until this day increase of matrix degradation is observed. From matrix containing idarubicin, 80% of drug is released evenly through 40 days. Structural analysis of above matrices was made by IR spectroscopy. IR spectra presence of structural interactions such as intermolecular hydrogen bonds between hydroxyl group in doxorubicin molecule and carbonyl group of polylactide were confirmed. In case of idarubicin such interactions are impossible because in idarubicin structure instead of hydroxyl group is presence methyl group.

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),203-206]

Introduction

Bioresorbable copolymers of glycolide and lactide, lactide and ε-caprolactone, glycolide and ε-caprolactone are commonly used as chirurgical sutures, bone implants and also scaffolds. Mentioned copolymers were synthesized with application of tin initiator, which neurotoxical properties were exhibited. Applied copolymers in release researches of anthracylines were synthesize in presence of zirconium initiator, which low toxicity of PLGA at line cultures were confirmed [1]. Anthracyclines are used in treatment of proliferative diseases of haemopoietic system, malicious lymphoma, cancers of: skin, breast, lung, genitourinary system, stomach, liver and rhabdosarcoma. In order to avoid side effects of anthracyclines treatment such as cardiotoxicity matrix from biodegradable polymer with chemiotherapeutic drug could applied directly to cancer tissue [2]. Commercial matrix containing copolymer of 1,3-bis(pphenoxycarboxy)propan and sebacic acid with carmustine is called Gliadel and is used in brain gliomas treatment [3]. The aim of this study was the analysis of structure influence

204

cytostatykiem podanego bezpośrednio do zmienionej nowotworowo tkanki [2]. Komercyjnie dostępna matryca, zawierająca kopolimer 1,3-bis(p-fenoksykarboksy)propanu i kwasu sebacynowego z karmustyną jest znana pod nazwą Gliadel i stosowana jest w leczeniu nowotworów mózgu [3]. Celem badań była analiza wpływu struktury antracyklin na profil uwalniania z matrycy zawierającej kopolimer glikolidu i *L*,*L*-laktydu do aCFS, co jest szczególnie istotne w ewentualnym zastosowaniu tychże nośników z lekiem do leczenia glejaków mózgu.

Materiały

Kopolimeryzację glikolidu z laktydem (Purac, Holandia) prowadzono w masie w temperaturze 110°C z wykorzystaniem inicjatora acetyloacetonianu cyrkonu (IV) Zr(acac)₄, przy stosunku molowym inicjator/komonomery wynoszącym 1/1000. Otrzymany kopolimer w celu usunięcia śladów nie przereagowanych komonomerów rozpuszczono w chloroformie i wytrącono w alkoholu metylowym, a następnie wysuszono pod próżnią do stałej masy [4]

Metody

Właściwości materiałów

Skład chemiczny badanego kopolimeru został potwierdzony przy pomocy ¹H-NMR a mikrostruktura łańcucha polimerowego określona za pomocą ¹³C-NMR (spektrometr firmy Varian Unity Inova, 300 MHz). Masy cząsteczkowe Mn i Mw kopolimeru wyznaczono stosując metodę chromatografii żelowej GPC (chromatograf Spectra Physics SP8800).

Badania uwalniania idarubicyny i doksorubicyny z matrycy polimerowej do aCSF

Z otrzymanej folii wycięto krążki o średnicy 1.2 cm i umieszczono w ampułkach. W każdej z ampułek znajdowało się 30 mg matrycy polimerowej z lekiem i 2 ml aCFS. Ekstrakty pobierano co 4 dni. Przez około 100 dni badano uwalnianie idarubicyny i doksorubicyny z matrycy polimerowej poprzez inkubację w cieplarce Memmert Precision Inkubator INE 400 w 37°C.

Pomiar absorbancji ekstraktów uwolnionej doksorubicyny i idarubicyny z matrycy polimerowej określony metodą spektroskopii UV-VIS

Analizowano stężenie uwolnionej idarubicyny [µg/ml] i doksorubicyny [µg/ml] z matrycy polimerowej przez pomiar absorbancji ekstraktów z cytostatykami w zakresie promieniowania widzialnego. Absorbancje mierzone były na spektrofotometrze V-570 UV-VIS-NIR firmy JASCO. Równanie krzywej wzorcowej pozwoliło określić ilość uwolnionej idarubicyny [µg] i doksorubicyny [µg].

Wyniki

Właściwości matryc

Analiza widm ¹H-NMR określiła skład kopolimeru glikolidu i *L,L*-laktydu: 85% jednostek laktydylowych i 15% jednostek glikolidylowych, a widma ¹³C-NMR potwierdziły mikrostrukturę łańcucha polimerowego. Metoda chromatografii żelowej wykazała, że liczbowo średnia masa cząsteczkowa kopolimeru wynosiła 119 kDa.

Analiza oddziaływań strukturalnych

RYS.2. przedstawia widmo w podczerwieni matrycy zawierającej kopolimer glikolidu i *L,L*-laktydu i 10% wag. idarubicyny. RYS.3 przedstawia widmo IR matrycy zawierającej kopolimer glikolidu i *L,L*-laktydu i 10% wag. of anthracyclines on release profile from matrix containing copolymer glycolide and L,L-lactide to aCFS, which is very important in prospective application this carriers with drug in brain gliomas treatment.

Materials

Copolymerization of glycolide and L,L-lactide (Purac, Netherlands) was performed in bulk with $Zr(acac)_4/molar$ ratio of 1/1000 at 110°C. The obtained copolymer was dissolved in chloroform in order to remove unreacted monomers and precipitated into methyl alcohol and then dried in a vacuum until constant weight [4].

Methods

Properties of materials

The copolymer composition was confirmed by ¹H-NMR measurements and microstructure of polymer chain was determined by ¹³C-NMR measurements (Varian Unity Inova 300 MHz spectrometer). The molecular masses Mn and Mw of copolymers were determined by gel permeation chromatography (Spectra Physics SP8800 chromatograph).

Investigations of idarubicin and doxorubicin release from polymer matrix to aCFS

From performed matrix discs with 1.2 cm diameter were cut out and put into ampoules. In each ampoules 30 mg of matrix with drug and 2 ml of aCFS were found. Extracts were sampling per four days. During incubation in Memmert Precision Inkubator INE 400 at 37°C release of idarubicin and doxorubicin from polymer matrix were examined for about 100 days.

Absorbance measurement of released doxorubicin and idarubicin extracts from polymer matrix determined by UV-VIS spectroscopy

Concentrations of released idarubicin and doxorubicin were analyzed by absorbance measurements of drug in visible range. Absorbance were measured by JASCO V-570 UV-VIS-NIR spectrometer. Equation of standard curve allowed to stand for determination of release amount of doxorubicin [µg] and idarubicin [µg]



RYS.1. Bioresorbowalne matryce poliestrowe zawierające antracykliny: doksorubicynę (po lewej) i idarubicynę (po prawej).

FIG.1. Bioresorbable polyester matrix containing anthracyclines: doxorubicin (left) and idarubicin (right).

Results

Properties of matrices

Composition of poly(glycolide-co-L,L-lactide) was determined by analysis of ¹H-NMR spectra: 15% glycolidyl units doksorubicyny. Pasma absorpcyjne charakterystyczne dla matrycy z doksorubicyną ulegają przesunięciu w stosunku do pasm występujących w widmie IR czystego leku. Dowodzi to, że w tym przypadku mają miejsce oddziaływania grupy hydroksylowej doksorubicyny z grupą karbonylową polilaktydu, w przeciwieństwie do matrycy z idarubicyną, dla której nie obserwuje się żadnych przesunięć.

Uwalnianie in vitro antracyklin do aCFS

RYS.4 przedstawia kumulacyjne profile uwalniania doksorubicyny i idarubicyny do aCFS z matrycy zawierającej



RYS.2. Widma IR matrycy zawierającej kopolimer glikolidu i *L,L*-laktydu z idarubicyną

FIG.2. IR spectra of matrix containing copolymer of glycolide and *L*,*L*-lactide with idarubicin

FTIR spectra of IDA: 1- IDA as KBr pellet, 2 – mixture of PGLA and IDA solution in CH_2CI_2 , 3 - mixture of PGLA and IDA solution in CH_2CI_2 (10 times soluble), 4 - mixture of PGLA and IDA (film after evaporating of CH_2CI_2), 5 - PGLA (film after evaporating of CH_2CI_2).



RYS.4. Wykresy kumulacyjne uwalniania *in vitro* antracyklin do płynu mózgowo- rdzeniowego z matrycy zawierającej kopolimer glikolidu i *L*,*L*laktydu: A – matryca zawierająca 10% wag. doksorubicyny, B – matryca zawierająca 10% wag. idarubicyny

FIG.4. *In vitro* cumulative release of anthracyclines to artificial cerebrospinal fluid from matrix containing copolymer of glycolide and *L*,*L*-lactide: A – matrix containing 10% w/w of doxorubicin, B – matrix containing 10% w/w of idarubicin

kopolimer glikolidu i *L,L*-laktydu i 10% wag. leku przez około 100 dni. Widoczny jest wpływ oddziaływań grupy hydroksylowej doksorubicyny na ilość uwolnionego leku w porównaniu do profilu uwalniania idarubicyny z matrycy zawierającej and 85% lactydyl units and microstructure of polymer chain was confirmed by ¹³C-NMR. Gel permeation chromatography showed number average molecular mass, Mn of copolymer was 119 kDa.

Analysis of structural interactions

FIG.2. presents IR spectrum of matrix containing copolymer glycolide and L,L-lactide and 10% w/w of idarubicin. FIG.3 presents IR spectrum of matrix containing copolymer glycolide and L,L-lactide and 10% w/w of doxorubicin. Absorption bands characteristic for matrix with doxorubicin



RYS.3. Widma IR matrycy zawierającej kopolimer glikolidu i L,L-laktydu z doksorubicyną. FIG.3. IR spectra of matrix containing copolymer of glycolide and L,L-lactide with doxorubicin. FTIR spectra of DOX: 1- DOX as KBr pellet, 2 – mixture of PGLA and DOX solution in CH₂Cl₂, 3 - mixture of PGLA and DOX solution in CH₂Cl₂ (10 times soluble), 4 - mixture of PGLA and DOX (film after evaporating of CH₂Cl₂), 5 - PGLA film after evaporating of CH₂Cl₂.



RYS.5. Wzory strukturalne antracyklin, oraz schemat matrycy z lekiem. FIG.5. Structures of anthracyclines and scheme

of matrix with drug.

were shifted in comparision to bands presence in FTIR spectrum of pure drug. It proves that the interactions between hydroxyl group in doxorubicin and carbonyl group of polylactide chain take place in opposite to idarubicin for which spectrum no changes are notice.

In vitro release of anthracyclines to aCFS

FIG.4 presents cumulative profiles of doxorubicin and idarubicin to aCFS from matrix containing copolymer gly-colide and L,L-lactide with 10% w/w of drug observed for

MATERIALÓW

kopolimer glikolidu i *L*,*L*-laktydu. Z matrycy zawierającej doksorubicynę lek uwalnia się bardzo wolno w pierwszych dniach eksperymentu z powolnym narastaniem do 90 dnia. Od tego dnia obserwowana jest zwiększona degradacja matrycy. Z matrycy zawierającej idarubicynę, 80% leku uwalnia się równomiernie w ciągu 40 dni. Po tym czasie ze względu na wyczerpanie się większej ilości leku znajdującego się w matrycy, jego szybkość uwalniania maleje.

Wnioski

Stwierdzono istotną różnicę w profilu uwalniania doksorubicyny z matrycy zawierającej kopolimer glikolidu i *L,L*-laktydu w stosunku do profilu idarubicyny. Widma IR potwierdziły jednoznacznie obecność międzycząsteczkowych wiązań wodorowych między grupą hydroksylową doksorubicyny i grupą karbonylową polilaktydu. Ten rodzaj oddziaływań ma istotny wpływ na kinetykę uwalniania badanych antracyklin.

Podziękowania

Badania były finansowane przez Fundację Rozwoju Nauk Farmaceutycznych, nr grantu (3/FB/2004) oraz Fundację na Rzecz Wspierania Rozwoju Polskiej Farmacji i Medycyny, nr grantu (II/206/2003).

Piśmiennictwo

[1] A.Czajkowska, M.Bero, Dobrzyński P., J.Kasperczyk. "Badanie biozgodności kopolimerów glikolidu i laktydu otrzymywanych z wykorzystaniem nowego inicjatora cyrkonowego lub cynowego w oparciu o badania in vitro", Inżynieria Biomateriałów, (2001), 17 [2] J.Kasperczyk,K.Stokłosa,K.Trzepietowska-Stępień,A.Wilczok,P. Dobrzyński,M.Bero,M.Sokół, W.Przybyszewski, M.Jurkowski: "Zastosowanie bioresorbowalnych materiałów polimerowych o modelowanej strukturze do kontrolowanego uwalniania antracyklin w terapii glejaka mózgu", Chemik, 2, (2006), 95-102

POLISILOKSANOWE POWŁOKI IMPLANTÓW MEDYCZNYCH. WPŁYW PLAZMY FLUOROWEJ NA SKŁAD CHEMICZNY I WŁAŚCIWOŚCI POLISILOKSANU

DARIUSZ SZMIGIEL*, KRZYSZTOF DOMAŃSKI*, PIOTR PROKARYN*, PIOTR GRABIEC*, ELŻBIETA PAMUŁA**, ANNA ŚCISŁOWSKA-CZARNECKA***, BARBARA PŁYTYCZ****

BIOMATERIALÓW

*Instytut Technologii Elektronowej, Al. Lotników 32/46, 02-668 Warszawa **Akademia Górniczo-Hutnicza, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, Al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków ***Akademia Wychowania Fizycznego, Wydział Anatomii, Al. Jana Pawła II 78, 31-571 Kraków ****Uniwersytet Jagielloński, Instytut Zoologii, Katedra Immunologii Ewolucyjnej, ul. Ingardena 6,30-060 Kraków e-mail: darek@ch.pw.edu.pl

> **Słowa kluczowe**: elastomer, polisiloksan, powłoki implantów medycznych, trawienie plazmowe, właściwości powierzchni Uniwniczja Diamaterialów 50 50 (2005) 205 2001

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),206-209]

about 100 days. Influence of interaction of hydroxyl group of doxorubicin on amount of release drug is visible in comparision to release profile of idarubicin from matrix containing copolymer of glycolide and *L*,*L*-lactide. From matrix containg doxorubicin drug is released very slowly at first days of experiment with slowly accretion until ninetieth day. Until this day increase of matrix degradation is observed. From matrix containg idarubicin, 80% of drug is released evenly through 40 days. After this time because of exhaustion of major amount of drug velocity of release is decreasing.

Conclusions

Differences of doxorubicin release profiles from matrix containing glycolide and *L*,*L*-lactide copolymer in comparison to idarubicin release profiles were noticed. IR spectra explicitly presence of intermolecular hydrogen bonds between hydroxyl group of doxorubicin and carbonyl group of polylactide were confirmed. This kind of interactions have essential influence for kinetics of investigated anthracyclines release.

Acknowledgements

This study was supported by Foundation of Pharmaceutical Sciences Development, grant (No 3/FB/2004) and Foundation for Polish Pharmacy and Medicine Development Support, grant (No II/206/2003)

References

[3] H.Brem, P.Gabikian. "Biodegradable polymer implants to treat brain tumors", Journal of Controlled Release, 74, (2001), 63-67
[4] P.Dobrzyński, J.Kasperczyk, H.Janeczek, M.Bero: "Synthesis of biodegradable copolymers with the use of low toxic zirconium compounds. 1. Copolymerization of glycolide with L-lactide initiated by Zr(acac)₄", Macromolecules, 34, (2001), 5090-5098

PLASMA TREATED POLYSILOXANE COATING FOR MEDICAL IMPLANTS

DARIUSZ SZMIGIEL*, KRZYSZTOF DOMAŃSKI*, PIOTR PROKARYN*, PIOTR GRABIEC*, ELŻBIETA PAMUŁA**, ANNA ŚCISŁOWSKA-CZARNECKA***, BARBARA PŁYTYCZ****

*Institute of Electron Technology, AL. Lotników 32/46, 02-668 Warsaw, Poland **AGH-UST, Faculty of Materials Science and Ceramics, AL. Mickiewicza 30, 30-059 Krakow, Poland *** Academy of Physical Education, Faculty of Anatomy, AL. Jana Pawła II 78, 31-571 Krakow, Poland ****Jagiellonian University, Institute of Zoology, Department of Evolutionary Immunobiology ul. Ingardena 6, 30-060 Krakow, Poland E-mail: Darek@ch.pw.edu.pl

Key words: silicone elastomer, polysiloxane, coating for medical implants, plasma etching, surface properties

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),206-209]

Wstęp

Dynamiczny rozwój mikrotechnologii umożliwia wytwarzanie coraz bardziej zaawansowanych miniaturowych przyrządów biomedycznych, np. niewielkich implantów. Układy mikroelektroniczne oraz mikromechaniczne stosowane w implantach muszą być pokryte szczelną powłoką dobrze tolerowana przez żywy organizm. W grupie materiałów znajdujących zastosowanie jako powłoki implantów znajdują się m.in. polisiloksany. Zaletą tych materiałów jest ich relatywnie niska cena oraz biozgodność. Jednakże trzeba brać pod uwagę, że różne etapy procesu technologicznego, np. trawienie plazmowe mogą wpływać na zmianę składu chemicznego oraz właściwości powłok polimerowych. Zmiany te mogłyby być przyczyną wystąpienia wadliwego działania implantu oraz różnych dolegliwości u pacjenta. Prezentowane wyniki dotyczą wpływu plazmy fluorowej na skład chemiczny oraz właściwości powierzchni wyjściowo biozgodnego elastomeru.

Metodyka badań

Badanym materiałem był elastomer (MED-6215), wytwarzany przez firmę Silicone Technology, będący kopolimerem polimetylosiloksanu z polidimetylosikoksanem. Dwa ciekłe komponenty elastomeru zostały zmieszane w stosunku 10:1 i odpowietrzone w eksykatorze. Następnie ciekły prekursor polimeru został wylany do specjalnie przygotowanych form z tworzywa sztucznego i wysuszony w temperaturze ok. 100°C. Otrzymane w ten sposób okrągłe kawałki folii o średnicy 3,8" i grubości 2 mm zostały usunięte z form i umieszczone na powierzchni 4" płytek krzemowych. Na powierzchni polimeru osadzono ~ 1 μ m warstwę aluminium (maska dla trawienia plazmowego) i zdefiniowano wzór testowy metodą fotolitografii. Z wybranych obszarów próbek usunięto aluminium metodą mokrego trawienia w mieszaninie kwasów fosforowego, azotowego oraz octowego.

Eksperymenty trawienia plazmowego wykonano przy użyciu reaktora typu RIE (Reactive Ion Etching - Reaktywne Trawienie Jonowe) - Plasmalab µP80. Warstwy polisiloksanu trawiono w plazmie fluorowej (SF, or CF,) zawierającej ok. 20% tlenu. Plazma o takim składzie pozwala na uzyskanie najwyższej szybkości (~ 1 µm/min) trawienia polisiloksanu [1]. Bezpośrednio po zabiegu trawienia plazmowego próbki były zanurzane w mieszaninie kwasów (fosforowego, azotowego i octowego) w celu usunięci maski aluminiowej. Zmiany morfologii polisiloksanu poddanego działaniu plazmy weryfikowano przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM). Pomiary kąta zwilżania powierzchni polimeru przed i po trawieniu plazmowym wykonano stosując analizator kształtu kropli DSA-Mk2 firmy Kruss. Analizę składu warstwy przypowierzchniowej polimeru o grubości rzedu kilku nanometrów przeprowadzono metoda spektroskopii fotoelektronów wybijanych promieniowaniem rentgenowskim używając analizatora VG Microlab 350.

W celu zweryfikowania przydatności polisiloksanu poddanego działaniu plazmy fluorowej dla celów biomedycznych przeprowadzono badania cytotoksyczności. Do badań komórkowych, materiały polimerowe wyjałowiono w autoklawie parowym i umieszczono w 24-dołkowej płytce hodowlanej (Nunc, Dania). Zawiesinę fibroblastów L929 w medium hodowlanym RPMI 1640 (Sigma, Niemcy) zawierającym 10% cielęcej surowicy płodowej (ICN, Niemcy) i antybiotyki (100 UI/ml penicyliny, 10 mg/ml streptomycyny i 25 μ g/ml amfoteryczny, Sigma, Niemcy) osadzono na każdej próbce i na szkiełkach nakrywkowych stanowiących kontrolę (gęstość komórek $3x10^4$ komórek/ml). Komórki hodowano przez 3 dni w inkubatorze (Nuaire, USA) w temperaturze

Introduction

Modern microfabrication methods allow producing increasingly advanced BioMEMS (Biomicroelectromechanical systems) devices e.g. various medical implants. Such devices need special coating in order to be safely implanted into a living body and remain there for many years. One of the materials considered as a proper coating is a silicone elastomer. The advantages of this material are its relatively low price and biocompatibility. Plasma treatment and other technological operations, however, can impart a range of physical and/or mechanical properties of polymer coating and can also induce specific biological responses when a device is placed in a body. This paper describes the effect of fluorine-based plasma treatment on surface properties of an initially biocompatible silicone elastomer.

Materials and methods

The investigated coating material was poly(methylhy drogensiloxane-co-dimethylsiloxane) elastomer, which is chemically similar to a widely known PDMS. The samples were prepared using commercially available silicone elastomer (MED-6215) made by Silicone Technology. Two liquid components of MED-6215 were mixed in the 10:1 ratio and subsequently the mixture was de-aired in a desiccator. The liquid precursor was cast into the special plastic molds and then dried. Subsequently, flexible circular foil pieces (~ 2 mm thick and 3.8" in diameter) were removed from the molds and placed onto the standard 4" silicone wafers. The polymer surface was sputter-deposited with aluminium (~ 1 μ m) and patterned using conventional photolithography. The etching windows were formed by removing aluminium with a mixture of phosphoric, nitric and acetic acids.

The etching experiments were carried out in a Plasmalab µP80 reactive ion etcher. The polysiloxane layers were etched using fluorine based plasma (SF₆ or CF₄) containing ca 20% of oxygen. Such chemistry leads to the highest etch rate (~ 1 µm/min) of the polysiloxane [1]. Directly after the plasma treatment the samples were immersed in the acid mixture to remove the aluminium mask. The morphology of the polymer etched surface was examined using a scanning electron microscope (SEM). Prior to SEM inspection a thin chromium or gold layer was deposited in order to avoid strong surface charging. Static water contact angles of the surfaces before and after plasma treatment were measured in an atmospheric environment using an automatic contact angle goniometer (Kruss, Drop Shape Analysis System DSA10-Mk2). The X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) analysis was done in a VG Microlab 350 with an analyizing depth of several nm.

Cytotoxity tests have been initiated in order to verify the usefulness of the plasma treated coatings in biomedical applications. For cell culture studies, the materials were steam-sterilized and placed into the 24-well culture dishes (Nunc, Danmark). A suspension of L929 fibroblasts in RPMI 1640 (Sigma, Germany) containing 10% foetal bovine serum (ICN, Germany), and antibiotics (100 UI/ml penicillin, 10 mg/ml streptomycin and 25 µg/ml amfotericin, Sigma, Germany) was seeded on each sample and on control glass coverslips (cell density 3x10⁴ cells/ml). The cells were cultured at 37°C in an incubator (Nuaire, USA) with humidified 5% CO₂ atmosphere for 3 days. The adhesion of cells was measured by crystal violet test (CV). The foils were rinsed with saline (PBS), fixed in 2% formalin (POCh, Gliwice, Poland) for 1h at 21°C and stained with 0.5 ml of crystal violet (0.5% in 20% methanol) for 5 min. After washing with water the materials were transferred to new
37°C w atmosferze zawierającej 5% CO₂. Adhezję komórek badano za pomocą testu wchłaniania fioletu krystalicznego (CV). Po przepłukaniu próbek w PBS, zaadherowane komórki utrwalono w 2% formalinie (POCh, Gliwice) przez 1h w 21°C i wybarwiono przez 5 min w 0.5 ml fioletu krystalicznego (0.5% w 20% metanolu). Po przepłukaniu wodą, próbki przeniesiono do nowej 24-dołkowej płytki hodowlanej i wyekstrahowano zaabsorbowany barwnik w 1 ml 100% metanolu (POCh, Gliwice). Następnie mierzono gęstość optyczną (OD) dla długości fali 570 nm za pomocą spektrofotometru Export Plus (Asys Hitach, Austria). Żywotność komórek określono za pomocą testu MTT. Do każdego dołka dodano 100 µl wodnego roztworu MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide; Sigma, Niemcy) o stężeniu 5mg/ml. Po 1-godninnej inkubacji w ciemności w 37°C reakcję zatrzymano poprzez dodanie 1 ml izporopanolu zawierającego 3% HCl (POCh, Gliwice). Płytke wytrząsano na wytrząsarce (Elpan, Poland) przez 30 min. Następnie mierzono gęstość optyczną (OD) dla długości fali 570 nm za pomocą spektrofotometru Export Plus (Asys Hitach, Austria).

Wyniki i dyskusja

208

Na RYS.1a, b i c przedstawiono morfologię polisiloksanu przed i po zabiegu trawienia plazmowego w plazmie CF₄+O₂ lub SF_+O_. Stwierdzono, że obie stosowane plazmy fluorowe wpływają istotnie na morfologię polimeru. Powierzchnia próbki trawionej w plazmie SF₆+O₂ (rys. 1b) charakteryzuje się zwartą morfologią, niemniej zmienioną istotnie w porównaniu do wyjściowej (RYS.1a). Z kolei na powierzchni polimeru eksponowanego na działanie plazmy CF₄+O₂ stwierdzono obecność nieregularnych struktur (RYS.1c).

Badania zwilżalności powierzchni wskazują, że powierzchnia polisiloksanu (przed trawieniem plazmowym) jest bardzo jednorodna i hydrofobowa (wartości kąta zwilżania >100°). W przypadku próbek poddanych działaniu plazmy stwierdzono mniejszą jednorodność powierzchni oraz nieco niższe wartości kąta zwilżania. Co więcej, krople kładzione na powierzchnie poddane działaniu plazmy miały asymetryczny kształt. Mimo opisanych powyżej zmian wywołanych działaniem plazmy stwierdzono, że polimer zachowuje hydrofobowe własności powierzchni.

Badania profilu wgłębnego metodą XPS wskazują, że zmiana składu chemicznego polisiloksanu wywołana plazmą fluorową zachodzi wyłącznie w obszarze przypowierzchniowym polimeru. Na powierzchni badanych próbek stwierdzono obecność warstwy zawierającej do 10% fluoru. Stwierdzono również, że stężenie fluoru spada do zera na głębokości kilku nanometrów. Oznacza to, że fluor nie dyfunduje do wnętrza warstwy, ale pozostaje wyłącznie w warstwie przypowierzchniowej polimeru.

Na RYS.2 przedstawiono wyniki testu wchłaniania fioletu krystalicznego i testu MTT. Badanie wchłaniania fioletu krystalicznego jest metodą oceniającą zdolność przylegania komórek do powierzchni [2], podczas gdy żywotność komórek określa się na podstawie aktywności dehydrogenaz mitochondrialnych [3]. Badania wykazały, że adhezja komórek do badanych materiałów jest statystycznie niższa niż do materiału kontrolnego (szkło). Zastosowana modyfikacja plazmą poprawia znacznie przyleganie komórek do podłoża w porównaniu z niemodyfikowanym materiałem polisiloksanowym. Żywotność komórek na wszystkich badanych materiałach jest bardzo wysoka i porównywalna z kontrolą.

24-well dishes and absorbed stain was extracted in 1 ml of 100% methanol (POCh, Gliwice, Poland). Finally, the optical density (OD) was measured at 570 nm with Expert Plus spectrophotometer (Asys Hitach, Austria). The viability of cells was estimated by MTT assay method. For each wells 100 µl of 5mg/ml MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide; Sigma, Germany) water solution was added. After 1 h incubation in the dark at 37°C the reaction was stopped by pouring 1 ml of isopropanol containing 3% HCI (POCh, Gliwice, Poland) and the dish was put on a shaker (Elpan, Poland) for 30 min. Finally, the optical density (OD) of formazan in the solution was measured at 570 nm with an Expert Plus spectrophotometer (Asys Hitach, Austria).

Results and discussion

FIGs.1 a, b, c show the morphology of the polysiloxane prior to and after etching in CF_4+O_2 or SF_6+O_2 plasma. It was found that both fluorine-based plasmas strongly affect the initial morphology of the polysiloxane. The surface exposed to SF_a+O₂ plasma exhibits specific post-etch morphology, while the surface etched with CF_4+O_2 plasma is additionally covered with 3d irregular features.

The contact angle measurements show that the raw polysiloxane surface has highly homogenous and hydrophobic characteristic (water contact angles above 100°). Both fluorine-based plasma treatments make the polymer surface less uniform and lead to a decrease in initial contact angle. The contact angle values after the etching are scattered significantly. Furthermore, an asymmetric drop shape is observed in the case of both plasma exposed surfaces. Nevertheless, one may say that the polysiloxane surface preserves its hydrophobic properties after the plasma processing. At the present stage of technology development the SF₆+O₂ plasma treatment appears more promising than CF₄+O₂ one due to better surface uniformity and higher etching rate [1].

The XPS depth profile through successive layers indicates that samples modification under plasma conditions is limited just to the surface layer. The formation of a top layer rich in plasma originated fluorine was detected. It was also found that fluorine concentration drops to zero at the depth of a few nanometers. This indicates that fluorine does not diffuse through the bulk but remains at the surface and in the near-surface region.

FIG.2 presents the result of crystal violet and MTT tests. Crystal violet is a method to evaluate cell adhesion to biomaterial surface [Plytycz et al., 1992], while MTT asses viability of cells by measurement of activity of mitochondrial dehydrogenases [Berg et al., 1990]. The results show that the adhesion of cells to studied materials is considerably lower



RYS.1. Powierzchnia polisiloksanu przed (a), po trawieniu plazmowym w plazmie SF +O, (b) i CF₄+O₂ (c) zobrazowana przy pomocy SEM. FIG.1. SEM pictures of polysiloxane prior to (a), after $CF_4 + O_2$ (b) and $SF_6 + O_2$ (c) plasma treatment.

glass. Applied modification significantly improves adhesion of cells in comparison to raw polysiloxsane material. Viability of cells on polysiloksane materials is very high and comparable to control.

Podziękowania

Praca została częściowo sfinansowana przez Komisję Europejską w ramach projektu Healthy Aims IST-2002-1-001837



Acknowledgements

This work has been partially supported by the European Commission within the Healthy Aims Project IST-2002-1-001837.

RYS.2. Adhezja komórek (fibroblastów L929) oznaczona przez wchłanianie fioletu krystalicznego (a) oraz żywotność komórek określona za pomocą testu MTT (b) hodowanych na materiale kontrolnym (Control), polisiloksanie przed (Raw), po trawieniu w plazmie CF_4+O_2 (CFO) i SF_6+O_2 (SFO); O.D. – gęstość optyczna.

FIG.2. Adhesion by crystal violet (a) and viability by MTT tests (b) of L929 fibroblasts grown on control glass, polysiloksane prior (Raw), and after CF_4+O_2 (CFO) and SF_6+O_2 plasma (SFO); O.D. – optical density.

Piśmiennictwo

[1] Szmigiel D, Domanski K, Prokaryn P, Grabiec P. 2006: Deep etching of biocompatible silicone rubber, Microelectron. Eng. 83: 1178-1181

[2] Plytycz B, Rozanowska M, Seljelid R. 1992: Quantification of neutral red pinocytosis by small numbers of adherent cells: comparative studies. Folia Biol (Krakow). 40: 3-9.

CHARAKTERYSTYKA BIOMECHANICZNA STENTU WIEŃCOWEGO Z TECHNOLOGIĄ OCC

W. WALKE*, Z. PASZENDA*, W. JURKIEWICZ**

*Instytut Materiałów Inżynierskich i Biomedycznych, Politechnika Śląska ul. Konarskiego 18a, 44-100 Gliwice, Polska **DRG MedTek, ul. Wita Stwosza 24, 02-661 Warszawa, Polska

E-MAIL ADRES: WITOLD.WALKE@POLSL.PL

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),209-211]

Wprowadzenie

Z uwagi na fakt, iż nie mamy możliwości badania wzajemnego oddziaływania stentów i naczyń krwionośnych w badaniach in vivo coraz więcej miejsca w literaturze poświęca się badaniom modelowym z wykorzystaniem metody elementów skończonych [1-9]. Dysponując trójwymiarowym modelem zaimplantowanego stentu do naczynia krwionośnego oraz jego parametrami mechanicznymi jesteśmy w stanie oszacować wzajemne relacje pomiędzy tymi obiektami. Prowadzone analizy dotyczą najczęściej rozkładu naprężeń i przemieszczeń poszczególnych elementów zamodelowanego układu oraz problematyki przepływu krwi. Tego rodzaju badania poddawane są również weryfikacji doświadczalnej, która

References

[3] Berg K, Hansen MB, Nielsen SE. 1990: A new sensitive bioassay for precise quantification of interferon activity as measured via the mitochondrial dehydrogenase function in cells (MTT-method). APMIS. 98: 156-62.

BIOMECHANICAL CHARACTERISTIC OF CORONARY STENT DESIGN WITH OFFSET CROWN CONNECTION TECHNOLOGY

W. WALKE*, Z. PASZENDA*, W. JURKIEWICZ**

*NSTITUTE OF ENGINEERING MATERIALS AND BIOMATERIALS, SILESIAN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, UL. KONARSKIEGO 18A, 44-100 GLIWICE, POLAND **DRG MEDTEK, UL. WITA STWOSZA 24, 02-661 WARSZAWA, POLAND E-MAIL ADDRESS: WITOLD.WALKE@POLSL.PL

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),209-211]

Introduction

As there is no possibility to investigate the interaction of stents and coronary vessels in vivo, more and more publications are dedicated to model research using the finite elements method [1-9]. Having the 3D model of stent implanted into the coronary vessel with its mechanical parameters we are able to evaluate interaction of these structures. Analyses carried out refer most often to distributions of stresses and strains of the particular elements of the modeled system and to blood flow problem. The research results are also verified in practice, which makes it possible to develop the approximation of the physiologic conditions of the environ-

umożliwia stworzenie modeli fizycznych i numerycznych
z uwzględnieniem warunków fizjologicznych środowiska [9-11]. Uzyskane z rozważań modelowych informacje są bardzo użyteczne do optymalizacji cech geometrycznych i materiałowych stentów, a jednocześnie dają przesłanki do techniki implantowania oraz prognozowania cech użytkowych tego rodzaju implantów.



RYS.1. Model geometryczny trójwarstwowego stentu wieńcowego. FIG.1. A geometrical model of a three-layer coronary stent.

Metodyka badań

W ramach analizy numerycznej opracowano model geometryczny trójwarstwowego stentu wieńcowego typu Trimaxx, bazując na rozwiązaniu firmy AbbotVascular® Devices – RYS.1. Długość stentu była stała i wynosiła I=13mm, a jego wyjściowa średnica zewnętrzna d₀=2,0 mm. Grubość poszczególnych warstw ścianki stentu wynosiła g=0,025 mm.

Dla potrzeb analizy dla rozpatrywanego stentu przyjęto własności materiałowe odpowiadające:

a) stali Cr-Ni-Mo: E=190 000 MPa, υ =0,33, R_m=470 MPa, R_{_{D0,2}}=195 MPa,

b) tantalu: E =185 000 MPa, υ =0,30, R_m=276 MPa, R_{p,2} =172 MPa,

Dla poszczególnych rodzajów biomateriałów zbudowano charakterystyki bilinearne materiału sprężysto-plastycznego o umocnieniu izotropowym.

Na bazie wykonanego modelu geometrycznego wygenerowano siatkę elementów skończonych do obliczeń MES. Dyskretyzację przeprowadzono za pomocą elementu typu SOLID95. Dobór takiego elementu pozwala na uwzględnienie podczas analizy nieliniowości fizycznej oraz dużych przemieszczeń i rotacji. Ze względu na powtarzalność układu obliczenia prowadzono dla pojedyn-czych segmentów składających się z dwóch ramion z łącznikiem oraz dwóch ramion bez łącznika. Zakres analizy obejmował wyznaczenie stanu naprężeń w elementach stentu rozprężanego promie-niowo w sposób przemieszczeniowy z wartości początkowej d₀=2,0mm do wartości d₁=4,0mm.

Wyniki badań



Pierwszy etap pracy obejmował analizę stanu naprężeń ramion stentu z łącznikiem. Analiza uzyskanych wyników wskazuje na zróżnicowany rozkład naprężeń w poszczególnych warstwach stentu – RYS.2a i b. Na podstawie przeprowadzonych obliczeń stwierdzono, że wartości naprężeń zredukowanych dla warstwy zewnętrznej stentu wykonanej ze stali Cr-Ni-Mo mieściły się w zakresie σ_{red} =47÷201 MPa i osiągała maksimum w obszarze zagięcia ramion stentu – RYS.2c. Z kolei wartości naprężeń zredukowanych dla warstwy wewnętrznej stentu wykonanej z tantalu były mniejsze i wynosiły σ_{red} =15÷181 MPa - RYS.2d.

Drugi etap pracy obejmował analizę stanu naprężeń ramion stentu bez łącznika. Również w tym przypadku ztwierdzono

ment [9-11]. This information is very useful for optimization of geometrical and material structures of the stent, and simultaneously makes possible selection of such implants for their specific conditions of use.

Methods

A geometrical model of a three-layer Trimaxx type (AbbotVascular® Devices – FIG.1) coronary stent was worked out. The length of the stent was constant and equal to I =13mm, the initial outer diameter was equal to d_0 =2,0mm. The thickness of the individual layers of the stent was g=0,025mm.

The following material properties were set:

a) stainless steel: E=190 000 MPa, υ =0,33, R_m=470 MPa, R_{υ 02}=195 MPa,

b) tantalum: E =185 000 MPa, υ =0,30, R_m=276 MPa, R₀₀₂=172 MPa,

For each biomaterial, bilinear characteristics of elastic-plastic material of isotropic hardening were worked out.

On the basis of the geometrical model a finite element mesh was generated. The discretization process was realized with the use of the SOLID95 element. This element allows for physical nonlinearities and large displacements and rotations. Due to the rapeatability of the system, the calculations were carried out for the single segments consisting of two arms with the fitting and two arm without. The aim of the analysis was determination of stresses in the stent expanded radially in the displacement manner from the initial value $d_0=2,0$ up to $d_1=4,0$ mm.

Results

The first stage of the work was the analysis of the stresses in the stent's arms with the fitting. The analysis showed the diverse stress distribution in the individual layers of the stent – FIG.2a and b. On the basis of the analysis it was observed that stresses in the stent's outer layer made of the stainless steel were in the range σ_{red} =47÷201 MPa. Maximum stresses were located in the bent area of the arms – FIG.2 c. The stresses in the inner layer made of tantalum



RYS.2. Wyniki analizy numerycznej trójwarstwowego stentu wieńcowego: a), b) rozkład naprężeń w wramionach z łącznikiem, c) rozkład naprężeń w warstwie zewnętrznej (stal Cr-Ni-Mo), d) rozkład naprężeń w warstwie wewnętrznej (tantal). FIG.2. Results of the analysis of the three-layer coronary stent: a), b) stresses in arms with the fitting, c) stress distribution in the outer layer (stainless steel), d) stress distribution in the inner layer (tantalum).

zróżnicowany rozkład naprężeń w poszczególnych warstwach stentu – RYS.3a i b. Przeprowadzona analiza numeryczna dla warstwy zewnętrznej wykonanej ze stali Cr-Ni-Mo wykazała, że wartości naprężeń zredukowanych mieściły się w zakresie σ_{re} =40÷201 MPa, a dla warstwy wewnętrznej wykonanej z tantalu odpowiednio σ_{red} =40÷205 - RYS.3c i d.

Wnioski

Analizę numeryczną przeprowadzono w celu wyznaczenia stanu naprężeń w elementach trójwarstwowego stentu wieńcowego typu Trimaxx. Wyniki, które uzyskano są istotne dla doboru struktury, własności mechanicznych biomateriałów metalowych przeznaczonych na stenty. Z uwagi na proces implantacji stan naprężeń wywołany przemieszczeniem ma znaczący wpływ na trwałe odkształcenie stentu, a więc zmianę jego



RYS.3. Wyniki analizy numerycznej trójwarstwowego stentu wieńcowego: a), b) rozkład naprężeń w ramionach bez łącznika, c) rozkład naprężeń w warstwie zewnętrznej (stal Cr-Ni-Mo), d) rozkład naprężeń w warstwie wewnętrznej (tantal). FIG.3. Results of the analysis of the three-layer coronary stent: a), b) stresses in arms without the fitting, c) stress distribution in the outer layer (stainless steel), d) stress distribution in the inner layer (tantalum).

cech geometrycznych. Wartości naprężeń występujących w różnych strefach stentu w zależności od wywołanych przemieszczeń są bardzo istotne dla odpowiedniego zaprojektowania jego geometrii, umocnienia biomateriału oraz kształtowania własności fizykochemicznych warstwy na jego powierzchni.

was the analysis of the stresses in the stent's arms without the fitting. Also in this case the analysis showed the diverse stress distribution in the individual layers of the stent – FIG.3a and b. On the basis of the analysis it was observed that stresses in the stent's outer layer made of the stainless steel were in the range $\sigma_{\rm red}$ =40÷201 MPa, and the stresses in the inner layer made of tantalum were in the range $\sigma_{\rm red}$ =40÷205 MPa – FIG.3c and d.

were smaller and were equal to

 σ_{red} =15÷181 MPa - FIG.2d. The second stage of the work

Summary

The numerical analysis was applied to calculate stresses in the three-layer Trimaxx type coronary stent. The obtained results are important for selection of structure and mechanical properties of metallic biomaterials intended for stents.

References

Due to the implantation process, stresses induced by displacement exert an significant influence on permanent strain of stent and so, the change of its geometrical features. The stresses in different parts of the stent are very important for the appropriate design of the geometry, the hardening of the biomaterial and physio-chemical properties of the stent's surface layer.

Piśmiennictwo

[1] Paszenda Z., Marciniak J., Będziński R., Rusiński E., Smolnicki T.: Biomechanical characteristics of the stent – coronary vessel system. Acta of Bioengineering and Biomechanics, 2002, 4, 1, pp. 81-89.

[2] Paszenda Z.: Issues of metal materials used for implants in interventional cardiology. Biomaterials Engineering, 2002, 21, pp. 3-9.
[3] Paszenda Z.: Kształtowanie własności fizykochemicznych stentów wieńcowych ze stali Cr-Ni-Mo do zastosowań w kardiologii zabiegowej. Wydawnictwo. Politechniki Śląskiej, Gliwice 2005 (in Polish).

[4] Walke W.: Własności fizykochemiczne stopu Co-Cr-Mo przeznaczonego na stenty stosowane w angioplastyce wewnątrznaczyniowej. Praca doktorska, Politechnika Śląska, Gliwice 2005 (in Polish).

[5] Marciniak J., Paszenda Z., Walke W., Kaczmarek M., Tyrlik-Held J., Kajzer W.: Stenty w chirurgii małoinwazyjnej. Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice 2006 (in Polish).

[6] Dumoulin C., Cochelin B.: Mechanical behaviour modelling of balloon-expandable stents. Journal of Biomechanics, 2000, 33, pp. 1461-1470.

[7] Wentzel J., Whelan D. et al.: Coronary stent implantation changes 3-D vessel geometry and 3-D shear stress distribution. Journal of Biomechanics, 2000, 33, pp. 1287-1295.

[8] Etave F., Finet G., Boivin M., Boyer J., Rioufol G., Thollet G.: Mechanical properties of coronary stents determined by using finite element analysis. Journal of Biomechanics, 2001, 34, pp. 1065-1075.

[9] Walke W., Paszenda Z., Filipiak J.: Experimental and numerical biomechanical analysis of vascular stent. Journal of Materials Processing Technology, 2005, 164-165, pp. 1263-1268.

[10] Bertolotti C., Deplano V.: Three-dimensional numerical simulations of flow through a stenosed coronary bypass. Journal of Biomechanics, 2000, 33, pp. 1011-1022.

[11] Fabrugues S., Baijens K., Rieu R., Bergeron P.: Hemodynamics of endovascular prostheses. Journal of Biomechanics, 1998, 31, pp. 45-54.

BIOZGODNOŚĆ WARSTWY KOMPOZYTOWEJ TYPU Ti₃P+Ti-Ni Z POWŁOKĄ HYDROKSYAPATYTU

A. ZAJĄCZKOWSKA^{*}, A. SOWIŃSKA^{*}, B. CUKROWSKA^{*}, M.M. GODLEWSKI^{**}, E. SKOŁEK^{***}, W. MRÓZ^{****}, T. WIERZCHOŃ^{***}, E. CZARNOWSKA^{*}

*ZAKŁAD PATOLOGII,

INSTYTUT – POMNIK CENTRUM ZDROWIA DZIECKA, 04-730 WARSZAWA, AL. DZIECI POLSKICH 20, **WYDZIAŁ MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ, SZKOŁA GŁÓWNA GOSPODARSTWA WIEJSKIEGO, 02-787 WARSZAWA, UL. NOWOURSYNOWSKA 166 ***WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ, POLITECHNIKA WARSZAWSKA, 02-507 WARSZAWA, WOŁOSKA 141, ****INSTYTUT OPTOELEKTRONIKI WAT, UL. GEN. S. KALIŃSKIEGO 2, 00-908 WARSZAWA, E-MAIL:CZARNOWSKA@CZD.PL

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),212-214]

Wstęp

Wcześniejsze badania warstwy kompozytowej typu Ti₃P+Ti-Ni na stopie Ti6Al4V wykazały, że warstwa ta poprawia odporność na zużycie przez tarcie i eliminuje uwalnianie składników stopu do środowiska biologicznego [1-3]. Wskazują one również, że zewnętrzna warstwa Ti₃P ma odpowiednio rozwiniętą powierzchnię dla dobrej adhezji komórek i zachowania ich wysokiej aktywności biologicznej.

Wiadomo, że biofunkcyjność powierzchni biomateriałów tytanowych stosowanych na implanty kostne można poprawić poprzez zastosowanie warstwy hydroksypaptytu (HA), o grubości około 50 µm i o określonej topografii powierzchni i zawartości fazy krystalicznej. Jednak słaba adhezja HA do powierzchni biomateriału ogranicza korzyści kliniczne jego zastosowania. Dlatego też celem niniejszej pracy było wytworzenie cienkiej warstwy HA na kompozytowej warstwie typu Ti₃P+Ti-Ni dla poprawy wrastania wszczepu w kość.

Materiały i metody

Na dyskach wykonanych ze stopu tytanu Ti6Al4V o średnicy 8 mm i grubości 0,8 mm wypolerowanych papierem ściernym o gradacji 1000, osadzono metodą bezprądową warstwę niklowo-fosforową. Następnie próbki poddano działaniom wyładowania jarzeniowego [1-3]. Hydroksyapatyt nanoszono na powierzchnie Ti₃P metodą PLD (ang. Pulsed Laser Deposition) przez tytanową siatkę z otworami o średnicy Φ ~ 1 mm. Morfologię wytworzonej warstwy kompozytowej badano w elektronowym mikroskopie skaningowym, topografię za pomocą mikroskopu sił atomowych (AFM, Digital Instruments Multi Mode). Biozgodność wytworzonej warstwy z komórkami linii osteoblastów Saos-2 (ATCC) badano w 48 godz. hodowli zgodnie z wcześniej opisaną procedurą postępowania [4,5]. Aktywność biologiczną, adhezję i rozmieszczenie komórek oraz produkcję fibronektyny i ekspresję receptora fibronektyny (α5β1) analizowano technikami mikroskopii konfokalnej (FV-500 system, Olympus). Ekspresję badanych białek mierzono za pomocą programu morfometrycznego Cell P (Olympus).

BIOCOMPATIBILITY OF COMPOSITE LAYER Ti₃P+Ti-Ni WITH COATING OF HYDROXYAPATITE

A. ZAJĄCZKOWSKA^{*}, A. SOWIŃSKA^{*}, B. CUKROWSKA^{*}, M.M. Godlewski^{**}, E. Skołek^{***}, W. Mróz^{****}, T. Wierzchoń^{***}, E. Czarnowska^{*}

*PATHOLOGY DEPARTMENT,

The Children's Memorial Health Institute, AL. Dzieci Polskich 20, 04-730 Warsaw, **Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw Agricultural University, Nowoursynowska 166, 02-787 Warsaw ***Faculty of Materials Sciences and Engeneering, Warsaw University of Technology, Wołoska 141, 02-507 Warsaw ****Institute of Optoelectronics Military University of Technology, 0 1-489 Warsaw E-mail:czarnowska@czd.pl

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),212-214]

Introduction

In our previous study it was shown, that the composite surface layers $Ti_3P+Ti-Ni$ type produced on Ti6Al4V titanium alloy improves wear resistance of the surface and eliminates release of titanium alloy elements into biological environment [1-3]. The human osteoblast-like cells Saos-2 cultured on the Ti_3P surface showed high cell viability and only single dead cells in the cell population adhered to the material surface were observed.

Actually it is known that thickness (about 50 µm) coatings of hydroxyapatite (HA) produced on titanium alloy improve biocompatibility and tissue ingrowth on bone implants. However, poor adhesion hydroxyapatite to titanium alloy limits its clinical positive out-come.

The aim of this study was production a thin HA coating on composite layer Ti₃P+Ti-Ni type, for improvement titanium alloy implant ingrowth with bone.

Materials and methods

.

The composite surface layers Ti₂P+Ti-Ni type on Ti6Al4V titanium alloy were produced. The method of chemical electroless nickel-phosphorous deposition combined with glow discharge enhanced heat treatment were used [1-3]. Hydroxyapatite coatings were produced by Pulsed Laser Deposition (PLD) method by applying of titanium wire-netting with diameter $\Phi \sim 1$ mm. On the outer zone Ti₃P hydroxyapatite was applied. Morphology and topography of HA composite layer were analysed respectively in scanning electron microscopy (Hitachi s-350), atomic force microscopy (AFM Digital Instruments Multi Mode). The biocompatibility of this surface was examined with the Saos-2 osteoblast-like cells human osteosarcoma cell line, ATTC collection. The 48-hour cell incubations on samples were conducted according to the method described in our previous studies [4,5]. Cell biological activity, adhesion and distribution on the surface, as well as fibronectin production and expression of fibronectin receptor were investigated. Confocal microscopy (Olympus FV-500 System) was applied in this study. Expression of analysed protein was measured by Cell P a morphometric program (Olympus).



RYS.1. Morfologia (A) i topografia (C) powierzchni warstwy Ti₃P+Ti-Ni wytworzonej na stopie tytanu Ti-6AI-4V. Wyspy hydroksyapatytu wytworzone na warstwie Ti₃P+Ti-Ni (B). Morfologia (D) i topografia (E) powłoki hydroksyapatytu wytworzonej na warstwie Ti₃P+Ti-Ni.

FIG.1. Morphology (A) and topography (C) surface layers Ti₃P+Ti-Ni type produced on titanium alloy Ti-6AI-4V. Islands of HA coating produced on layer Ti₃P+Ti-Ni (B). Morphology (D) and topography (E) HA coating produced on layer Ti₃P+Ti-Ni.

Wyniki

Charakterystyka powierzchni

Wytworzona na stopie tytanu warstwa kompozytowa typu Ti3P+Ti-Ni poprawiała właściwości mechaniczne warstwy wierzchniej próbek i jej mikrotwardość wynosi ok. 1200 HV0.05, a stopu Ti6Al4V 500 HV0.05. Hydroksyapatyt (HA) naniesiony metodą PLD na warstwie kompozytowej tworzył wyspy o średnicy ok. 1mm i grubości ok. 1-3µm. Morfologię powierzchni i topografię warstw kompozytowych przedstawiono na RYS.1.

Badania biologiczne

Osteoblasty linii Saos-2 hodowane na badanych powierzchniach dobrze na nich adherowały chociaż szybciej do próbek Ti₃P. Komórki rosnące na HA lokowały się głównie w szczelinach i zagłębieniach. Syntetyzowały one i wydzielały białko wchodzące w skład macierzy pozakomórkowej – fibronektynę, która na powierzchni biomateriału tworzyła biofilm o ziarnistej strukturze (RYS.2A). Formę włókienkową fibronektyny obserwowano sporadycznie. Receptory $\alpha 5\beta 1$ (tj. receptory dla fibronektyny) były głównie rozmieszczone na obwodzie komórek zarówno rosnących na próbkach z warstwą HA jak i na Ti₃P (RYS.2 B, C). Osteoblasty osiedlone na warstwie HA miały kształt okrągły i tworzyły długie nitkowe wypustki, podczas gdy komórki rosnące na Ti₃P były wydłużone i tworzyły krótkie, palczaste wypustki (RYS.2).

Podsumowanie

Osteoblasty linii Saos-2 szybciej adherowały na warstwie Ti₃P niż na HA. Z wcześniejszych badań wynika, że hodowane komórki na Ti₃P cechuje wysoka aktywność cyklu komórkowego [6]. Być może inny kształt komórek zaadherowanych na Ti₃P świadczy o ich zróżnicowanej aktywności biologicznej. Meredith [7] w swoich badaniach zaobserwował, że komórki znajdują się w innych fazach cyklu komórkowego niż faza S mają kształt okrągły.

Nie wiadomo czy ta aktywność była związana z właściwościami wytworzonego HA, tj. stopniem krystalizacji i mikrostruktury. Fakt, że komórki chętniej zakotwiczyły się w szczelinach HA może wskazywać, że jego topografia może wpływać korzystnie na wytworzenie dobrego kontaktu komórka – powierzchnia biomateriału.



RYS.2. Rozmieszczenie fibronektyny na powierzchni próbek z hydroksyapatytem wytworzonym na warstwie Ti₃P (A) oraz receptora α 5 β 1 w błonie komórkowej osteoblastów zadherowanych na hydroksyapatycie (B) i na powierzchni Ti₃P (C) wytworzonego na stopie tytanu Ti6Al4V analizowane w mikroskopie konfokalnym. Powiększenie mikroskopowe 60x.

FIG.2. Distribution of fibronectin on hydroxyapatite coating produced on the Ti₃P layer (A). Receptor α 5 β 1 for fibronectin adhered on HA (B) and on surface layer Ti₃P (C) produced on titanium alloy Ti6Al4V analysised by confocal microscopy. Microscopy magnification 60x.

Results

Surface characteristics

A composite surface layer of the Ti₃P+(Ti-Ni) type on titanium alloy Ti6Al4V was produced. This new layer presented better mechanical properties, than reference titanium alloy and microhardness was respectively 1200 HV0.05 and 500 HV0.05. HA layer formed on Ti₃P "islands" with diameter ~ 1mm and high ~ 1-3 μ m. Morphology and topography of the composite surface layer and HA are presented on the FIG.1.

Biocompatibility

The osteoblast cell line Saos-2 well adhered to the both investigated surfaces, however it higher extend on Ti_3P surface layer at the time. Cells cultured on HA layer were settled mainly in fissures of HA. They synthesised and released fibronectin, which formed a granular biofilm on the material surface (FIG.2A). Fibrillar form of fibronectin was sporadic. Fibronectin receptors (α 5 β 1) were localised mainly at the furthermost points of the cell periphery on HA coating as well as Ti_aP (FIG.2 B, C).

Osteoblasts adhered on the HA coating were round shaped and formed long, thread-like protrusions, while cells on Ti_3P layer were elongated or triangle shaped with short, fingerlike protrusions.

Summary

Osteoblast line cells Saos-2 cultured on biomaterials adhered faster on the Ti₃P layer than on the HA coating. Our previous study showed that cells cultured on Ti₃P were characterized by high activity of cell cycle [6]. It can not be excluded the differences in cell shapes when osteoblasts were adhered on Ti₃P and HA are related to their various biological activity. Meredith et al. [7] observed that cell shape was dependent on cell cycle phase.

It is not known if the cell activity was determined by properties of HAi.e. cristalization and microstructure. The evidence that cells anchoraged mainly in HA fissure may suggest that HA layer expresses adequate topography leading to acquisition of a proper contact between cell and biomaterial surface.

Further studies will allow for better understanding of mechanisms leading to cell adhesion on HA layer.

214 Podziękowania

Badania były finansowane z projektu: 1138-T08-2005-29.

Piśmiennictwo

[1] T. Wierzchoń, E Sikorska. Zgłoszenie patentowe nr P351 835 z dn. 23.01.2002.

[2].T. Wierzchoń, E. Czarnowska i wsp. Proc 15 th Symp on Plasma Chemistry, Orleans, France. 2001; 5:625.

[3] E. Sikorska-Matysiak, E. Czarnowska, T. Wierzchoń. Inżynieria Biomaterialów 2002; 23-25: 17.

WPŁYW MODYFIKACJI BIAŁKOWEJ NA WŁAŚCIWOŚCI HYDROKSYAPATYTU JAKO NOŚNIKA GENTAMYCYNY

Justyna Zalewska^{*}, Grażyna Ginalska^{*}, Anna Ślósarczyk^{**}, Piotr Godlewski^{***}

KATEDRA I ZAKŁAD BIOCHEMII, AKADEMIA MEDYCZNA, 20-093 LUBLIN, UL. CHODŹKI 1, POLSKA
KATEDRA TECHNOLOGII I CERAMIKI AGH,
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW, POLSKA
KATEDRA I KLINIKA ORTOPEDII I TRAUMATOLOGII,
AKADEMIA MEDYCZNA,
20-094 LUBLIN, UL. JACZEWSKIEGO 8, POLSKA

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),214-216]

Wprowadzenie

Hydroksyapatyty złożone z fosforanów wapnia będących naturalnym składnikiem konstrukcyjnym kości, są obecnie jednym z lepszych materiałów implantacyjnych w ortopedii i stomatologii. Są one biokompatybilne i po wszczepieniu nie wywołują znaczącej odpowiedzi immunologicznej [1]. Ze względu na specyfikę zabiegów implantacyjnych, częstość występowania zakażeń miejscowych jest bardzo niska i oscyluje w granicach 1-3%, jednak w obrębie tych przypadków, ryzyko utraty kończyny lub śmierci pacjenta jest bardzo wysokie. Głównymi czynnikami etiologicznymi zakażeń są S. aureus i S. epidermidis. Skutecznym sposobem profilaktyki zakażeń implantu jest stosowanie antybiotykoterapii ogólnej, jednakże mniej szkodliwa dla pacjenta jest ochrona miejscowa wszczepionego materiału. Pozwala ona na zmniejszenie dawki leku dostarczonej do organizmu [2]. Hydroksyapatyt dzięki porowatej strukturze może być potencjalnym nośnikiem leków [3;4] i uwalniając lek in situ może zapobiec infekcjom pooperacyjnym i tworzeniu biofilmu na powierzchni implantu [5].

Celem prezentowanej pracy była modyfikacja materiału hydroksyapatytowego białkami a następnie immobilizacja chemiczna gentamycyny w kierunku wytworzenia biomateriału zdolnego do stopniowego uwalniania leku do otaczającego środowiska.

Metodyka

Granulat hydroksyapatytowy wykonano w Katedrze Technologii i Ceramiki AGH w Krakowie. Parametry HAP

Acknowledgements

This study was financed by project: 1138/T08/2005/29.

References

[4] T. Wierzchoń. Materials Science Forum 2003; 426: 232.
[5] E. Czarnowska, A. Sowinska, B. Cukrowska i wsp. Ann. Transplant. 2004; 9: 72.

[6] E. Czarnowska, A. Zajączkowska, A. Sowińska. CIMTEK 2006:173.

[7] D.O. Meredith et al. Experimental Cell Research. 2004; 293: 58.

THE INFLUENCE OF PROTEIN MODIFICATION ON HYDROKSYAPATITE PROPERTIES AS GENTAMICIN CARRIER

Justyna Zalewska^{*}, Grażyna Ginalska^{*}, Anna Ślósarczyk^{**}, Piotr Godlewski^{***}

*Chair and Departament Biochemistry, Medical University of Lublin, 1 Chodzki Str., 20-930 Lublin, Poland *Faculty of Materials Science and Ceramics, AGH-UST, 30 Mickiewicza Str., 30-059 Cracow, Poland ***Department of Orthopedics and Traumatology, Medical University of Lublin, 8 Jaczewskiego Str., 20-954 Lublin, Poland

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),214-216]

Introduction

Hydroxyapatite ceramics based on calcium phosphates, chemical compounds being natural constructive element of bones is now regarded to be one of better implantation materials in orthopedic surgery and stomatology (1) because it is an unusually biocompatible material and it does not evoke a significant host response. Due to specifics of implantation procedures frequency of local infections is very low, achieving 1-3%. However, among these cases, the risk of limb amputation or patient's death is very high. The main etiological factors of infections are S. epidermidis and S. aureus. An efficient way of implant infections prophylaxis is systemic antibiotic therapy (2); however, local drug delivery is less harmful for organism because it allows for reduction of drug dose. So, porous structure of hydroxyapatite has recently been considered as a potential material for drug delivery system (3,4). This type of drug delivery system can release a therapeutic agent in situ to avoid infections after surgical procedures and formation of biofilm on implant surface (5)

The aim of the present study was modification of hydroxyapatite material by proteins and next chemical gentamicin immobilization to construct a biomaterial with ability to release the drug gradually to surrounding environment.

Methods

Hydroxyapatite was made in Chair of Technology and Ceramics, AGH, Kraków. Hydroxyapatite parameters

wynosiły: średnica 0.3-05 mm, otwarta porowatość 67%, temperatura spiekania 800°C. Otrzymany materiał pokryto dwoma rodzajami białek (żelatyna wieprzowa lub keratyna z włosów ludzkich) uzyskując tym samym 2 typy matryc. W procesie tym wykorzystano metodę aktywacji y-aminopropylotrietoksysilanem Weethala [6] i własną procedurę immobilizacji białek. Ilość przyłączonego białka określano metodą Lowry'ego zmodyfikowaną przez Schacterle i Pollack'a [7]. Gentamycynę łączono z biomateriałem według Zgłoszenia Patentowego [8] i oznaczano ilościowo wg Frutos-Cabanillas [9]. Aktywność biologiczną immobilizowanej formy antybiotyku testowano wobec S. aureus ATCC 25923.

Rezultaty badań

Eksperymentem objęto materiał modyfikowany białkami (żelatyną i keratyną) i bez modyfikacji. Wyniki immobilizacji gentamycyny na granulacie HAP w zależności od rodzaju i ilości białka związanego z materiałem przedstawia TA-BELA 1.

	Na	podstawie	osiagnietych	wyników	zauważono.	że	ilo
--	----	-----------	--------------	---------	------------	----	-----

Rodzaj białka Kind of protein	Ilość białka przed immobili- zacją Amount of protein before immobiliza- tion (mg/ml)	Ilość białka na nośniku Amount of protein on carrier (mg/g)	Wydaj- ność Effi- ciency (%)	Ilość gentamy- cyny na nośniku Amount of genta- micin on carrier (mg/g)	Wydaj- ność Immobi- lization yield (%)	
Koratuna	18.17	40.55	55.8	3.74	33.49	
Relatylia	10.10	24.63	61.6	3.58	32.02	
Keratin	2.5	7.87	76.9	3.86	34.49	
	21.76	26.63	69.4	3.78	33.38	
Zelatyna Gelatin	9.0	11.6	32.2	3.76	33.63	
	2.94	7.24	61.7	3.66	32.70	
Stężenie gentamycyny przed immobilizacją wynosiło 2.795 mg/ml						

TABELA 1. Wpływ rodzaju i ilości białka na immobilizację gentamycyny. TABLE 1. Influence of kind and amount of protein on gentamicin immobilization.

antybiotyku unieruchomionego na biomateriale nie zależy od rodzaju i ilości białka modyfikującego granulat HAP. W związku z tym dalszą część doświadczeń wykonywano z udziałem HAP modyfikowanego 0.3% roztworem białka (roztwór do immobilizacji 3 mg/ml). Stwierdzono, że gentamycyna do białkowanego materiału przyłączana jest w sposób mieszany. Niemodyfikowany białkiem nośnik (kontrola) zdolny jest związać gentamycynę na drodze adsorpcji fizycznej (31 %) i jonowo (21 %); ponadto 48 % antybiotyku pozostaje uwięzione głęboko w porach granulatu. Na nośnikach modyfikowanych białkiem ok. 30% leku było związane na drodze adsorpcji fizycznej, jonowo tylko 3-4 %, natomiast z pozostałej puli 63-68 % antybiotyku część przyłączyła się kowalencyjnie, a część została uwięziona w porach.

W dalszej części pracy testowano wpływ odczynu środowiska na efektywność wiązania białka (TABELA 2). Okazało się, że środowisko zasadowe (pH=9) sprzyja zwiększeniu ilości unieruchomionego białka oraz wydajności procesu immobilizacji.

Następnie badano zależność pomiędzy stosunkiem masy materiału do objętości roztworu antybiotyku a wydajnością procesu immobilizacji i stwierdzono, że należy eksperymenwere: diameter: 0.3-0.5 mm, open porosity: 67 %, sintering temperature: 800°C. This material was chemically covered by two kinds of protein (porcine gelatin or keratin derived from human hair). So, we obtained two types of matrix. HAP was activated by y-aminopropyltriethoxysilane according to Weethal's method (6), keratin and gelatin were covalently immobilized to silanized HAP according to our own procedure. Protein concentration was measured colorometrically by Lowry method modified by Schacterle i Pollack (7). Gentamicin was immobilized according to the Patent pending (8) and its concentration was estimated spectrophotometrically after Frutos-Cabanillas (9). Biological activity of immobilized antibiotic was tested in the presence of S. aureus ATCC 25923.

Results

Our experiments involved the modification of both: the material sealed by proteins (gelatin and keratin) and the non-modified one. Results of gentamicin immobilization on HAP in dependence on a kind and amount of protein are presented in TABLE 1. The data leads to the conclusion that there is not any correlation between a kind and amount of protein on carrier and amount of immobilized gentamicin. So, 0.3 % (3 mg/ml) initial concentration of protein before the matrix activation was chosen for further experiments. It was found that gentamicin was attached to the matrices in mixed way. Non-modified carrier (control) had the ability to bind gentamicin by physical adsorption (31%) and by ionic interaction (21%); however, 48% was entrapped deeply in HAP pores. To protein-modified carriers, about 30% of drug was bound by physical adsorption, only 3-4% by ionic interactions, whereas the remaining amount of 63-68%

Typ białka Type of protein	рН	llość białka związa- nego z HAP	Wydajność Immobilization yield (%)
Karahma	5	8.51	34.88
Keratyna Keratin	7	12.11	47.01
	9	12.42	54.75
Żelatyna Gelatin	5	13.75	36.66
	7	18.19	48.76
	9	22.96	60.07

TABELA 2. Wpływ pH środowiska na efektywność wiazania białka.

TABLE 2. Influence of medium pH on effectiveness of protein attachment process.

Typ nośnika Type of carrier	Stężenie leku przed immobilizacją Concentration of drug before im- mobilization (mg/ml)	llość leku na HAP Amount of drug on HAP (mg/g)	Wydajność Immobilization yield (%)
HAP pokryty	1.13	1.28	56.73
keratyną	2.66	2.75	51.62
Keratin-sealed	5.17	3.54	34.24
HAP	10.47	4.66	22.26
HAP pokryty	1.13	1.17	51.86
żelatvna	2.66	2.17	40.86
celatin sealed	5.17	3.09	29.86
HAP	10.47	4.20	20.05

TABELA 3. Wpływ stężenia gentamycyny na wydainość immobilizacji.

TABLE 3. Influence of gentamicin concentration on immobilization yield.

talnie wyznaczać tę proporcję. W przypadku testowanego
 granulatu HAP optymalna proporcja wynosiła: 1 ml roztworu gentamycyny/ 0.75 g HAP.

Następnie określano wpływ stężenia antybiotyku na wydajność immobilizacji. Stwierdzono, że wraz ze wzrostem stężenia leku wzrasta ilość gentamycyny przyłączonej do białkowanego HAP, jednak łączy się to z obniżeniem wydajności procesu (TABELA 3).

Ostatnim etapem badań było sprawdzenie wpływu modyfikacji chemicznej biomateriału na aktywność biologiczną gentamycyny. W tym celu HAP modyfikowany białkiem i lekiem oraz niemodyfikowany białkiem a tylko impregnowany fizycznie gentamycyną, umieszczono w bulionie bakteryjnym (CFU=1.5x10⁸). Eksperyment prowadzono 7 dni i co 48 godzin wprowadzano do bulionu nową porcję bakterii. W wyniku eksperymentu stwierdzono, że HAP białkowany i połączony z gentamycyną w sposób mieszany (adsorpcja fizyczna, interakcje jonowe, wiązania kowalencyjne) wykazywał właściwości bakteriobójcze. Natomiast w przypadku HAP łączonego biernie z gentamycyną zauważono wzrost bakterii *S. aureus* po 24 godzinnej inkubacji.

Wnioski

 Modyfikacja granulatu HAP białkami wpływa na immobilizację gentamycyny w sposób mieszany. Lek wiązany jest do biomateriału przede wszystkim na drodze adsorpcji fizycznej i kowalencyjnie, choć pewna część pozostaje uwięziona fizycznie w porach granulatu HAP.

2. Środowisko zasadowe jest korzystne dla modyfikacji HAP białkami.

antibiotic was partially attached via covalent bonds and partially entrapped within the pores.

In further part of research the influence of medium pH on effectiveness of protein binding was tested (TABLE 2). It was shown that alkaline medium (pH=9) promoted both an increase of protein amount and immobilization yield. Next, the dependence between a proportion of material mass to antibiotic solution volume and an immobilization yield was examined. In this case the optimal proportion was 1ml gentamicin to 0.75g of HAP. On a base of this experiment we found that there is a need to set this proportion experimentally.

Further experiment concerned the estimation of influence of antibiotic concentration on immobilization yield. It was shown that when drug concentration was increased also the amount of immobilized gentamicin on protein-sealed HAP increased but immobilization yield decreased (TABLE 3).

The last step of this research concerned checking of the influence of chemical biomaterial modification on gentamicin biological activity. Drug-protein-modified HAP and non-modified one soaked in gentamicin solution (control) were placed in bacterial broth. Experiment lasted for 7 days. After every 48 hours, a new portion of bacteria was added. In view of experiment it was shown that protein-sealed HAP bound with gentamicin in mixed way (physical adsorption, ionic interactions and covalent bonds) exerted bactericidal properties. In case of control HAP, the presence of *S. aureus* just after 24 incubation was observed.

Conclusions

1. Modification of HAP carrier by proteins influenced on gentamicin immobilization. Drug was bound to biomaterial mostly by physical adsorption and in covalent mode; remaining part was entrapped in HAP pores.

2. Alkaline medium is advantageous for HAP modification by proteins.

Piśmiennictwo

[1] Dawidowicz A. Pielka S., Paluch D., Kuryszko J., Staniszewska-Kus J., Solski L. Application of elemental microanalysis for estimation of osteoinduction and osteoconduction of hydroxyapatite bone implants. Polim Med. 35(1) (2005), 3-14

[2] Szczepanik A., Gach T., Midura M. Infections in the implant surgery. Zakażenia 3 (2003), 38-44

[3] Guicheux J., Grimandi G., Trecant M., Faivre A., Takahashi S., Daculsi G. Apatite as a carrier for growth hormone:*in vitro* characterization of loading and release. J Biomed Mater Res 34 (1997), 165-170

[4] Sivakumar M., Panduranga Rao K. Preparation, characterization and *in vitro* release of gentamicin from coralline hydroxyapatite-gelatin composite microspheres. Biomaterials 23(2002), 3175-3181

[5] Ragel CV., Vallet-Regi M. *In vitro* bioactivity and gentamicin realase from glass-polymer-antibiotic composites. J Biomed Mater Res 51(2000),424-429

[6] Weethal H. Covalent coupling methods for inorganic support materials. Methods Enzymol., 44 (1976), 134-148

References

[7] Schacterle G.R., Pollack R.L. A simplified method for quantitative assay of small amounts of protein in biologic material. Anal Biochem. 51 (1973), 654-655.

[8] Ginalska G. Uryniak A., Łobarzewski J., Osińska M., A metod of antibiotic immobilization. Polish Patent no P-358934, 2003. Biuletyn Urzędu Patentowego 18 (2004), 801, s.124.

[9] Frutos-Cabanillas P., Dičz Peńa E., Barrales-Rienda I.M. and Frutos G. Validation and *in vitro* characterization of antibiotic-loaded bone cement release. Int. J. Pharm. 209 (2000), 15-26.

WPŁYW OCZEKIWANYCH EFEKTÓW RÓŻNYCH MODYFIKACJI POWIERZCHNI NA WŁASNOŚCI MECHANICZNE, CHEMICZNE I BIOLOGICZNE ENDOPROTEZ

Andrzej Zieliński, Beata Świeczko-żurek, Sylwia Sobieszczyk

Wydział Mechaniczny, Politechnika Gdańska, 80-952 Gdańsk, Narutowicza 11/12, azielins@pg.gda.pl

Streszczenie

Przedstawiono koncepcję nowej endoprotezy o szczególnie wysokiej odporności na zużycie i pękanie. Koncepcja zakłada wytwarzanie wieloetapową obróbkę powierzchniową kompozytu metalowo-ceramicznego.

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),217-219]

Wprowadzenie

Dłuższe użytkowanie endoprotezy nawet z odpornych stopów tytanu prowadzi po pewnym czasie do utraty przez nią właściwości użytkowych, głównie wskutek reakcji immunologicznych, obluzowania lub pęknięcia. Podawaną przyczyną jest długotrwała reakcja alergiczna wywołana stopniowym narastaniem w organizmie stężenia jonów takich, jak np. Al. i V w przypadku stopów Ti6Al4V. Istotną rolę mogą odgrywają czynniki związane ze stopniowym starzeniem się pacjenta i zmianą struktury kości oraz tkanek w pobliżu endoprotezy, jak też obniżenie bariery odpornościowej, w tym także poprzez zażywane leki. Rzadziej występują przypadki pękania endoprotez, w ponad 80% wywołane pękaniem zmęczeniowym w płynach ustrojowych. Wreszcie endoprotezy pracujące jako para tribologiczna mogą ulegać zużyciu tribologicznemu i tribokorozyjnemu; takie przypadki są istotnym zagrożeniem dla szczególnie obciążonych stawów.

Celem rozpoczynanej i prezentowanej tu pracy badawczej jest próba opracowania nowego rozwiązania materiałowego endoprotezy o własnościach bardziej korzystnych od dotychczasowych.

Materiał i metody

Projektując nowe podejście do wytwarzania endoprotez szczególnie narażonych na zużycie i pękanie przyjęto po analizie literatury celowość rozważenia następujących materiałów:

• stop tytanu bezwanadowy (Ti-6Al-7Nb, Ti-Mo) jako osnowa kompozytu,

 hydroksyapatyt jako wzmocnienie kompozytu (faza rozproszona),

 zmodyfikowana warstwa wierzchnia w wyniku złożonej obróbki powierzchniowej,

• warstwa wierzchnia hydroksyapatytu.

Jako techniki wytwarzania przyjęto następujące:

• metalurgia proszków dla wytworzenia kompozytu,

• cykliczna obróbka powierzchniowa w wodorze gazowym lub w elektrolicie,

implantacja jonowa,

ESTIMATION OF THE EXPECTED EFFECTS OF DIFFERENT SURFACE MODIFICATIONS ON MECHANICAL, CHEMICAL AND BIOLOGICAL BEHAVIOUR OF ENDOPROSTHESES

Andrzej Zieliński, Beata Świeczko-żurek, Sylwia Sobieszczyk

Faculty Of Mechanical Engineering, Gdańsk University Of Technology, **80-952** Gdańsk, Narutowicza 11/12, Azielins@pg.gda.pl

Abstract

The conception of new endoprosthesis demonstrating especially high degradation and cracking resistance has been presented. The idea of multi-stage surface treatment of metallic–ceramic composite has been described.

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),217-219]

Introduction

The longer utilization of endoprostheses, even made of resistant Ti alloys, results after some time in loss of their usability, mainly as a consequence of immunological reactions and then their loosening. The important cause is a long term allergic reaction caused by gradual increase in a human body of ions such as AI and V for the Ti6Al4V alloy. The crucial role seems to be played by factors associated with gradual ageing of a patient, and change in a bone structure and tissues in neighborhood of the endoprosthesis, and decrease in immunological barrier. More seldom, the cracking of endoprotheses was observed, in over than 80% recognized as a fatigue damage in body fluids. Finally, the endoprostheses used as a tribological pair may suffer from tribological and tribocorrosion wear, as observed for heavily loaded joints.

The present work is aimed at attempting to elaborate the new material design of endoprostheses that will secure their mechanical, chemical and biological properties better than current ones.

Materials and methods

At the beginning of new approach, to choose upon the base of so far made research the materials and their for endoprostheses, particularly subjected to wear, corrosion and cracking, the following materials have been taken into consideration:

• No-vanadium Ti alloy (Ti-6Al-7Nb, Ti-Mo) as a composite matrix,

• Hydroxyapatite as a composite reinforcement (dispersed phase),

Surface layer modified by complex surface treatment,
External hydroxyapatite coating.

The following fabrication techniques have been assumed as the most convenient:

• Powder metallurgy for fabrication of a composite,

• Cyclic surface treatment in gaseous hydrogen or in an electrolyte,

• Ion implantation,

BIOMATERIALÓW

• przetapianie laserem warstwy wierzchniej,

 utlenianie dwuetapowe w elektrolicie alkalicznym i powietrzu,

• reakcje chemiczne metalu w roztworze symulującym płyny ustrojowe (Simulated Body Fluid – SBF).

Wyniki i dyskusja

Obecny projekt jest w początkowej fazie, trwają badania nad przetapianiem laserowym warstwy wierzchniej stopu Ti-6Al-4V [1]. Nadtapianie to doprowadziło do uzyskania grubej i twardej warstwy, o zróżnicowanej budowie, zawierającej tlenki tytanu (rutyl i anataz) oraz w przypadku przetapiania w

ciekłym azocie – także azotki, o wysokiej odporności na korozję. Przykład budowy takiej warstwy ilustruje RYS.1. Technika ta może być z powodzeniem zastosowana do modyfikacji struktury warstwy wierzchniej w kierunku wytworzenia grubych warstw tlenkowych, uzyskania struktury nanokrystalicznej, wzrostu odporności na zużycie różnego rodzaju.

Względną nowością jest wytworzenie materiału kompozytowego. W projekcie przewiduje się otrzymanie kompozytu metodą metalurgii proszków, w której jako surowce wyjściowe stosuje się proszki metali oraz hydroksyapatytu [2]. Tak wytworzony kompozyt powinien posiadać moduł Younga bliski modułowi kości i wysoką odporność na pekanie.

Poddanie stopu tytanu cyklicznemu nawodorowaniu gazowemu lub elektrolitycznemu prowadzi do tworzenia i dekompozycji wodorku tytanu, a efektem towarzyszącym może być nie tylko znaczne uplastycznienie fazy β [3], ale – co jest przedmiotem innego projektu – przypuszczalnie utworzenie struktury nanokrystalicznej i amorficznej.

Implantacja jonowa powinna doprowadzić do wzrostu biozgodności metalowej osnowy, a także jej odporności na zużycie. Rozważa się zastosowanie azotowania, wytwarzania warstw multipleksowych oraz implantacji jonów tlenu.

Przetapianie laserem warstwy wierzchniej doprowadzi do znacznego zmniejszenia wielkości ziarna oraz wytworzenia grubych warstw tlenkowych, a w ślad za tym do wzrostu odporności na zużycie. Autorzy zakładają zastosowanie do tego celu dwóch różnych technik: nadtapiania laserem ekscymerowym warstwy wierzchniej [4] lub laserem mole-kularnym CO₂ [1]. Alternatywnie przewiduje się utlenianie stopu, elektrolityczne w roztworze NaOH lub w gorącym powietrzu.

Ostatnią operacją będzie otrzymanie hydroksyapatytu na powierzchni za pomocą reakcji biomimetycznych, tj. przez wytrącenie go na powierzchni stopu w kontakcie z SBF [5].

Nowością będzie także ocena wpływu modyfikacji warstwy wierzchniej, prowadzącej do uzyskania struktury i właściwości ceramik, na odporność na kruche pękanie i odporność zmęczeniową, także w płynach ustrojowych. Wymagać będzie to określenia własności mechanicznych warstw, opracowania odpowiedniego modelu dla warstw gradientowych, a następnie analizy metodami numerycznymi.

- Laser melting of the surface layer,
- Two-stage oxidation in an alkaline electrolyte and in air (an alternative),
- Chemical reactions in Simulated Body Fluid.

Results and discussion

The current research project is an initial stage and research of effects of laser melting of the Ti-6Al-4V has been already performed [1]. The laser melting has resulted in creation of thick and hard, corrosion resistant layer of complex structure, possessing titanium oxides (rutile and anataze), and after melting in liquid nitrogen – also nitrides in outer

zone. The example of melted layer is shown in FIG.1. The laser technology can be then successfully applied to modification of surface layer aimed at obtaining the thick oxide layer, nanocrystalline structure, and increase in degradation resistance of different kind.

The relative novelty is a proposal of composite material. In this project the composite material is assumed to be obtained by simple powder metallurgy technique, in which as raw materials the metallic powders and hydroxyapatite will be applied, as already proposed [2]. Such composite material should possess the Young modulus closer to that of a bone, and high brittle cracking resistance.

The cyclic gaseous or electrolytic charging of the Ti alloy

may likely cause not only formation and decomposition of titanium hydrides, accompanied by substantial softening of the β phase [3], but as well – that is an objective of another project – the creation of nanocrystalline and amorphous structure. First of all, the ion implantation should result in increase in biocompatibility, and to a lesser extent wear and corrosion resistance. The ion nitriding, creation of multiplex layers and oxygen implantation are considered as possible procedures.

The laser melting of surface layer should substantially decrease the grain size and create the oxide layer, and in such a manner increase the wear and corrosion resistance. The authors assume to apply for this task two different techniques. The first technique involves a use of excimer (short pulse) laser [4], second – the molecular CO_2 laser [1]. As an alternative, two-stage oxidation of the alloy will be performed, in NaOH electrolyte and in hot air.

The last stage will be the obtaining the hydroxyapatite by biomimetic reactions, i.e. by its chemical precipitation on the alloy surface remaining in contact with the SBF [5].

The novelty will be also an assessment of effects of surface modifications, resulting in surface and properties characteristic of ceramic materials, on resistance to brittle cracking and fatigue resistance, in inert environment and SBF. It will need to determine the mechanical properties of new layers, elaboration of an appropriate model for gradient layers, and further numerical analysis.

M Z Y N L E R J A MATERIAŁÓW



FIG.1. The surface layer caused by laser melting

laserem stopu Ti6Al4V (moc 3000 W).

of the Ti6Al4V alloy (power 3000 W).

Wnioski

W wyniku cyklu proponowanych operacji technologicznych możliwe jest otrzymanie materiału o własnościach optymalnych w stosunku do stopu tytanu i hydroksyapatytu, wysokiej odporności na zużycie i pękanie, niskim module Younga.

Piśmiennictwo

[1] Zieliński A., Jażdżewska M., Narożniak-Łuksza A., Serbiński W.: Surface structure and properties of Ti6Al4V alloy melted At cryogenic conditions. Journal of Materials and Manufacturing Achievements 18 (2006) 423-426.

[2] Dong Z.L., Khor K.A., Quek C.H., White T.J., Cheang P.: TEM and STEM analysis on heat-treated and in vitro plasma-sprayed hydroxyapatite/Ti-6AI-4V composite coatings. Biomaterials 24 (2003) 97-105.

[3] Eliezer D., Eliaz N., Senkov O.N., Froez N.H.: Positive effects of hydrogen in metals. Materials Science and Engineering A280 (2000) 220-224.

SYSTEM EKSPERCKI JAKO METODA KLASYFIKACJI DLA OPTYMALNEGO WYBORU LECZENIA W CHOROBIE LEGG-CALVE-PERTHES

Sylwia Sobieszczyk*, Beata Świeczko-żurek*, Marek Krzemiński**

*Wydział Mechaniczny, Politechnika Gdańska, 80-952 Gdańsk, Narutowicza 11/12, **Oddział Ortopedii i Traumatologii Narządu Ruchu Szpital Specjalistyczny w Kościerzynie, 83-400 Kościerzyna, Piechowskiego 36, ssobiesz@pg.gda.pl

Streszczenie

Zaproponowano utworzenie systemu eksperckiego jako metody klasyfikacji w prognozowaniu dowolnej formy leczenia dzieci z chorobą Legg-Calvé-Perthesa. Obecnie nie ma jednego optymalnego sposobu leczenia choroby Perthes'a i proponowana metoda jest próbą utworzenia wymiernego i uniwersalnego narzędzia, które będzie stanowiło podstawę przy podejmowaniu decyzji o najlepszym sposobie leczenia chorego stawu biodrowego. System ekspercki, oparty o podejście logiki rozmytej i przybliżone wnioskowanie, będzie zdolny do określenia wyników wybranego sposobu leczenia, zachowawczego lub operacyjnego, i jego wpływu na rezultat długoterminowy.

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),219-221]

Wprowadzenie

Choroba Legg-Calvé-Perthesa (LCPD) jest chorobą stawu biodrowego wieku dziecięcego, w wyniku której dochodzi do załamania nasady głowy kości udowej. LCPD reprezentuje idiopatyczną martwicę jałową głowy kości udowej; główną patologiczną nieprawidłowością u pacjentów z tym schorzeniem jest martwica kości, w wyniku której

. . . .

Conclusion

As a result of here proposed technologies it is likely to obtain the composite biomaterial, possessing properties intermediate between those of Ti alloy and hydroxyapatite, and high wear, corrosion, tribocorrosion, fatigue and corrosion fatigue resistance, at low Young modulus.

References

[4] Yue M., Yu J.K., Mei Z., Man H.C.: Excimer laser surface treatment of Ti-6AI-4V alloy for corrosion resistance enhancement. Materials Letters 52 (2002) 206-212.

[5] Jonasova L., Müller F.A., Helebrant A., Strnad J., Greil P.: Biomimetic apatite formation on chemically treated titanium. Biomaterials 25 (2004) 1187-1194.

EXPERT SYSTEM AS A CLASSIFICATION METHOD FOR OPTIMAL LEGG-CALVE-PERTHES DISEASE TREATMENT

Sylwia Sobieszczyk*, Beata Świeczko-żurek*, Marek Krzemiński**

*Faculty of Mechanical Engineering, Gdańsk University of Technology, 80-952 Gdańsk, Narutowicza 11/12, **Trauma and Orthopaedic Department of Specialist Hospital in Kościerzyna, 83-400 Kościerzyna, Piechowskiego 36, ssobiesz@pg.gda.pl

Abstract

An attempt to create the expert system as a classification method for evaluating the prognostic value of any particular form of treatment in childhood hip disorders, the Legg-Calvé-Perthes disease, is proposed. The optimal treatment of Perthes' hip disorders has not been established yet and the proposed method is an attempt to creation of a rational, unique and generalized tool which will give a base for taking decisions regarding to the best recommended treatment of a diseased hip. The expert system, based on fuzzy logic approach and approximate reasoning, will be able to determine the prognosis of a chosen treatment, conservative or operative, and its influence on the long-term outcome.

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),219-221]

Introduction

Legg-Calvé-Perthes disease (LCPD) is a childhood hip disorder that results in infraction of bony epiphysis of the femoral head. LCPD represents idiopathic avascular necrosis of the femoral head and the primary pathologic abnormality in patients with this disease is osteonecrosis that results in flattening and collapse of the femoral head następuje spłaszczenie i zapadnięcie się głowy kości udowej [1,2,3]. Celem leczenia, zachowawczego lub operacyjnego, jest kontrolowanie zaburzeń wzrostu oraz przywrócenie prawidłowego mechanizmu wzrostu szyjki i głowy kości udowej, umożliwiające najlepsze warunki długotrwałej przebudowy głowy kości udowej w celu uzyskania prawidłowej budowy stawu biodrowego. Leczenie powinno zapewnić przywrócenie pełnego zakresu ruchów w stawie biodrowym, korekcję podwichnięcia, pogrążenie martwiczo zmienionej głowy kości udowej w panewce oraz ponowne unaczynienie bliższej nasady kości udowej [4,5].

Pomimo, iż nie można zapobiec chorobie Legg-Calvé-Perthes'a, można zastosować leczenie w celu zminimalizowania jej efektu, dając dziecku możliwość powrotu do

normalnej aktywności. Choroba Perthes'a może powodować poważne uszkodzenie stawu biodrowego prowadzące do zmian zwyrodnieniowych (RYS.).

Obecnie nie jest znane optymalne podejście do leczenia pacjentów z chorobą Perthesa i istnieje potrzeba ustalenia takiego sposobu klasyfikacji, który umożliwiłby wybór najlepszej metody.

Kryteria leczenia choroby Perthesa nie są poprawnie zdefiniowane. Przy danych metodach leczenia i braku ujednolicenia, zarówno w doborze odpowiedniego sposobu, jak i kryterium oszacowania, porównanie wyników podejmowanych

działań jest bardzo trudne. Lekarze opierają się głównie na własnych preferencjach i doświadczeniu [4,5,6].

Sposób leczenia choroby Perthesa zawsze był kontrowersyjny i proponowany system ekspercki mógłby stanowić dobrą podstawę przy wyborze optymalnej metody dla dzieci obarczonych tym schorzeniem.

Metodyka badań

Istnieją różne metody leczenia choroby Legg-Calvé-Perthesa: zachowawcze, takie jak gips odwodzący, włączając rotację wewnętrzną w celu poprawienia redukcji koncentrycznego ustawienia stawu biodrowego [5], oraz leczenie operacyjne, jak osteotomia walgizująca, waryzująca lub kości miedniczej [5]

Proponowany system ekspercki, bazujący na doświadczeniu lekarzy oraz znanych kryteriach klasyfikacji choroby Perthesa, jest w stanie wybrać optymalny sposób leczenia pacjenta, dając najlepsze długoterminowe prognozowanie. System ekspercki opiera się na podejściu logiki rozmytej i rozmytego wnioskowania [7]. Jako wejście do systemu rozważane są następujące parametry klasyfikacyjne:

- wiek pacjenta (4 ÷ 10 lat),

 pokrycie głowy kości udowej przez panewkę (FHC) dla odróżnienia między normalnym i patologicznym stawem biodrowym (70 ÷ 80% w zdrowym stawie biodrowym),

- kąt Wiberga (CE), który opisuje stopień pogrążenia głowy kości udowej w panewce ($14^{\circ} \div 20^{\circ}$),

 lateralizacja nasady (ATD), która opisuje stopień przemieszczenia nasady w kierunku bocznym, z uwzględnieniem przerostu krętarza większego oraz długości szyjki kości udowej (1.5 ÷ 3.5mm),

 stadium choroby na podstawie kryterium Catteralla [8], Salter-Thompsona [4] oraz ocena zajęcia procesem martwiczym bocznej kolumny głowy kości udowej wg Herringa [9]. [1,2,3]. The aim of the treatment, conservative or surgical, is to control the growth disturbance and restore the normal growth mechanism within the femoral neck and head providing the best environment for long-term remodelling of the femoral head, towards obtaining a congruent hip joint. The treatment should give the restoration of movement of the hip, correction of subluxation, containment and revascularization of the necrotic proximal epiphysis of the femur [4,5].

Although Legg-Calvé-Perthes disease cannot be prevented, some treatments can be undertaken towards minimizing its effects, giving a child an opportunity to return to normal activity. Legg-Clavé-Perthes disease may cause severe hip damage, which can lead to permanent arthritis of the hip (FIG.).

> The optimal surgical or conservatory treatments of patients with Perthes' disease has not been decided and there is a need to establish such classification method which can allow to choose the best method of medical course.

> The criteria of Perthes' disease treatment have been ill defined. At a variety of various methods of treatment and lack of uniformity in both *\fractheta* selection of a specific treatment and choice of criteria of its evaluation, it is very difficult to compare the results

of current studies. The treatment approaches are evolved on the basis of preferences, experiences, and training of various surgeons [4,5,6].

The medical course of Perthes' disease has always been controversial and the expert system can give the best advice for -appropriate treatment of the children with Perthes' disease.

Methods and methodology

There are different methods of the Legg-Calvé-Perthes' disease treatments: conservative, like abduction braces or casts, including subcutaneous adduction tenotomy to enhance concentric reduction in hips [5], and operative treatments, like valgus, varus femoral osteotomy and pelvis osteotomy [4].

The proposed expert system, based on experience of the surgeons and known criteria for Perthes' disease classification, will be able to choose the optimal treatment for the patient resulting in the best long-term results. The expert system is based on fuzzy logic approach and fuzzy reasoning system [7]. As an input to the system some classification parameters are considered, like:

- age of patients (4 ÷ 10 years),

- coverage of the femoral head by the acetabulum (FHC) for distinguishing between normal and abnormal hips (70 ÷ 80% in healthy hips);

- the center-edge angle (CE), which describes the degree of containment, measuring the acetabular covering of femoral head $(14^0 \div 20^0)$;

- the articular-trochanteric distance (ATD), which describes the degree of trochanteric overgrowth and length of the femoral neck ($1.5 \div 3.5$ mm);

- the stage of the disease, based on Catterall [8], Salter-Thompson [4], and Herring lateral pillar classification system [9].



MATERIAŁÓ

220

• •

Przestrzeń rozważań dla zbiorów wejściowych została ustalona na podstawie literatury [4,5,10,11,12] a następnie podzielona na trzy wartości rozmyte "mały, średni i duży", dla uproszczenia systemu. Baza reguł jest tworzona na podstawie doświadczenia lekarzy oraz przeglądu literatury [4,6,10,11]. Wynik procesu rozmytego wnioskowania i w następstwie optymalnej metody leczenia choroby Legg-Calvé-Perthesa, który jest wyjściem z systemu eksperckiego, wybierany jest automatycznie.

Wnioski

Proponowana metoda może być bardzo użyteczna, ponieważ jak dotąd nie istnieje uniwersalny i jednolity sposób podejmowania decyzji o planowanym leczeniu choroby Perthesa. Leczenie tego rodzaju schorzenia zawsze było kontrowersyjne i utworzenie systemu eksperckiego umożliwiłoby podjęcie decyzji o odpowiednim leczeniu dzieci z chorobą Perthesa, biorąc pod uwagę najlepsze prognozy długoterminowe i celowość zapewnienia dziecku jak najszybszego powrotu do normalnej aktywności.

Piśmiennictwo

[1] Stulberg D., Cooperman D.R., Wallenstein R.: The natural history of Legg-Calvé-Perthes disease. J Bone Joint Surg (1981); 63: 1095-1108.

[2] Dega W.: Ortopedia i rehabilitacja. Tom I, red. Marciniak W., Szulc A., wyd. lek. PZWL, Warszawa 2003.

[3] Sponseller P., Stephens H.: Ortopedia dziecięca. MEN, Kraków 2000.

[4] Krzemiński M.: Wyniki leczenia choroby Perthesa osteotomią waryzującą kości udowej. Rozprawa doktorska, Klinika Ortopedii Akademii Medycznej w Gdańsku, 1990.

[5] Czapiński J.: Ocena odległych następstw choroby Perthesa leczonej zachowawczo w aspekcie kształtowania się stawu biodrowego. Rozprawa doktorska, Katera i Klinika Ortopedii Akademii Medycznej we Wrocławiu, 1994.

[6] Yrjonen T.: Long-Term Prognosis of Legg-Calve-Perthes Disease: A Meta – Analysis. Journal of Pediatric Orthopaedics, Part B, 8: 169-172, 1999.

[7] Łachwa A.: Rozmyty świat zbiorów, liczb, relacji, faktow, reguł i decyzji. Problemy współczesnej nauki, teoria i zastosowania. Akad. Oficyna Wyd. EXIT, Warszawa, 2001.

SKŁAD FAZOWY WARSTWY WIERZCHNIEJ BIOSTOPU TI-6AI-4V PRZETOPIONEJ LASEREM

Beata Świeczko-Żurek, Magdalena Jaźdżewska, Andrzej Zieliński

Wydział Mechaniczny, Politechnika Gdańska, ul. G. Narutowicza 11/12, 80-952 Gdańsk, e-mail: bswieczko@mech.pg.gda.pl

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),221-223]

Wprowadzenie

Wśród wielu technik poprawy własności powierzchni biostopów Ti proponowana jest także obróbka laserowa. Rezultaty uzyskane po zastosowaniu obróbki laserowej stopów Ti [1-3] wykazały dodatnie strony tej metody. Do tej pory obróbki dokonywano poprzez przetopienie warstwy laserem ekscymerowym. Metoda ta zwiększyła twardość

.

The domain of discourse for the input sets may be established based on the literature [4,5,10,11,12] and divided into fuzzy values: "small, average, large" for the simplicity of the system. Rule base is created based on the experience of the surgeons and the review of the literature [4,6,10,11]. As a result of fuzzy reasoning process, the optimal method for Legg-Calvé-Perthes' disease treatment – the output parameter of the expert system – can be automatically chosen.

Conclusions

The proposed approach would a very substantial help to treat the considered illness as so far there are no uniform and unambiguous methods which can help to take decision about the Perthes' disease treatment. The medical course of Perthes' disease has always been controversional and this system can give the best advice for the appropriate management of the children with Perthes' disease assuring the fast returning to their normal activities.

References

[8] Hardcastle P.H., Ross R., Hamalainen M., Mata A.: The Catterall grouping of Perthes' disease: an assessment of observer error and prognosis using the Catterall classification. J Bone Joint Surg (1980); 62: 428-431.

[9] Farsetti P., Tudisco C., Caterini R., Potenza V., Ippolito E.: The Herring lateral pillar classification for prognosis in Perthes disease. J Bone Joint Surg (1995); 77: 739-742.

[10] Wiig O., Terjesen T., Svenningsen S.: Inter-observer reliability of radiographic classifications and measurements in the assessment of Perthes' disease. Acta Orthop Scand (2002); 73 (5): 523-530.

[11] Podeszwa D.A., Stanitski C.L., Stanitski D.F., Woo R., Mendelow M.J.: The effect of pediatric orthopaedic experience on interobserver and intraobserver reliability of the Herring lateral pillar classification of Perthes disease. Journal of Pediatric Orthopaedics (2000) 20: 562-564.

[12] Broughton N.S., Brougham D.I., Cole W.G., Menelaus M.B.: Reliability of radiological measurements in the assessment of the child's hip. J Bone Joint Surg (1989); 71: 6-8.

THE PHASE COMPOSTION OF THE SURFACE LAYER OF LASER MELTED TI-6AI-4V BIOALLOY

Beata Swieczko-Zurek, Magdalena Jazdzewska, Andrzej Zielinski

GDANSK UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, MECHANICAL DEPARTMENT, FACULTY OF MATERIAL ENGINEERING UL. G. NARUTOWICZA 11/12, 80-952 GDAŃSK, E-MAIL: BSWIECZKO@MECH.PG.GDA.PL

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),221-223]

Introduction

Among different techniques of surface improvement of the Ti bioalloys, the laser surface treatment has been proposed. The results obtained with an use of a laser have revealed as a rule for Ti alloys [1-3] the advantages of this approach. So far results have been obtained by laser melting of a surface layer with an excimer laser. This procedure

i odporność stopu na korozję, ale uzyskane warstwy były
 stosunkowo cienkie. W pracy zastosowano laser o dużej mocy dla stopu schłodzonego w ciekłym azocie, aby uzyskać grubszą warstwę, która w strefie zewnętrznej złożona będzie z tlenku i azotku tytanu, ważnych faz w biostopach.

Materiały i metodyka badań

Próbki zostały wykonane ze stopu Ti6Al4V. Skład chemiczny był następujący: 4,08%V, 6,39%Al., 0,17%Fe, 0,015%C, 0,1850%O, 0,0050%N, 0,0035%H.

Stop został przetopiony poprzez zanurzenie w kąpieli ciekłego azotu, laserem cząsteczkowym CO₂ TRUMPF TLF 6000 Turbo laserem z wiązką o szerokości 1x20 mm. Szerokość przetopionego ściegu wynosiła 22-24 mm. Przetopienie laserowe wykonano w Centrum Techniki Laserowej na Politechnice w Kielcach, przy mocy lasera między 3 i 6 kW oraz prędkości skanowania 0.5 lub 1 m/min.

Badania metalograficzne całej warstwy wierzchniej wykonano za pomocą mikroskopu elektronowego skaningowego Tesla. Stop trawiono odczynnikiem Krolla.

Badania warstwy powierzchniowej przeprowadzono z zastosowaniem dyfraktometrów: APD-3.5B w Instytucie Metalurgii i Inżynierii Materiałowej (IMIM) Polskiej Akademii Nauk w Krakowie oraz i X`Pert na Wydziale Fizyki Technicznej i Matematyki Stosowanej w Politechnice Gdańskiej (PG).

Wyniki badań i dyskusja

W przetopionej laserowo warstwie zaobserwowano liczbę stref różniących się strukturą, twardością i grubością. Zaczynając od powierzchni wyróżniono następujące strefy:

1. grafitowa strefa: dendrytyczna, z powierzchniowymi dendrytami i cienkimi szczelinami;

2. złoto–żółta strefa: strefa azotku tytanu, z maksymalną wielkością ziarna 1.4 μ m i twardością 1660 HV_{0.05} jako przeciętną, zbliżoną 2650 HV_{0.05};

3. srebrno-biała strefa: nasycona azotem z przeciętną twardością 1440 HV $_{\rm 0.05};$

4. ciemna strefa: zawierająca czyste dendryty z przypadkowo skierowanymi osiami i igłami o jasnym kolorze: najcieńsza strefa w całej przetopionej powierzchni, o twardości 850 HV_{0.05};

5. jasna strefa: cienka, płytkowa struktura z licznymi wtrąceniami i twardością 715 HV_{0.05};

6. graniczna linia strefy dyfuzyjnej, obecna tylko w niektórych próbkach i częściach powierzchni;

Moc pobierana	Prędkość	Intensywność Intensity of reflexes					
Power input [W]	Power Skanowania input Scan rate [W]		TiO _x	VO _x	V ₂ Ti ₃ O ₉	Ti _x N	Ti₃O
3000	1	53-	98-	64			
		65	100				
4000				31-	50	0.4	
4000	1		41	100	50	34	
5000	1		20-			26-	100
5000	I		56			43	100
6000	1		39-			38-	100
0000	1		46			42	100
5000	0.5		30-	60-		41-	55-
5000	0.5		100	68		51	81
0000	0.5		32-	05		47	
6000	0.5		100	35		47	

TABELA 1. TABLE 1.

has resulted in hard and corrosion resistant but relatively thin layer. Therefore, the high power laser has been applied in this work for the alloy cooled in liquid nitrogen in order to obtain much thicker layer, composed in outer zone of titanium oxides and nitrides, the phases of great importance for bioalloys.

Materials and methods

The specimens were made of the Ti6Al4V alloy. Its chemical composition was as follows: 4.08%V, 6.39%Al., 0.17%Fe, 0.015%C, 0.1850%O, 0.0050%N, 0.0035%H, et al.

The melting of the alloy was made, after immersion of the specimens in liquid nitrogen bath, with the molecular CO_2 TRUMPF TLF 6000 Turbo laser. The rectangular laser beam 1x20 mm was used. The width of melted band approached 22-24 mm. The laser melting was performed at Kielce University of Technology, Centre of Laser Techniques, at a laser power input between 3 and 6 kW, and a scan rate 0.5 or 1 m/min.

The metallographic examinations of the whole surface layer were made with the Tesla SEM. The etching was carried out with the Kroll reagent.

The phase examinations of the surface zone were made with the Philips X-ray diffractometers: APD-3.5B at the Institute of Metallurgy and Materials Engineering (IMME), Polish Academy of Sciences, Cracow, and X`Pert at the Faculty of Physics and Applied Mathematics, Gdansk University of Technology (GUT).

Results and discussion

In the laser melted layer, the number of zones was observed which differed in color, structure, hardness and thickness. Beginning from the surface, the following important zones were distinguished:

1. black graphite color zone: dendritic zone, with some surface dendrites and thin cracks,

2. gold-yellow color zone: a zone of titanium nitride, maximum grain size 1.4 μm , hardness 1660 HV_{0.05} as average, approaching even 2650 HV_{0.05},

3. silver-white color zone: saturated with nitrogen, average hardness 1440 $\mathrm{HV}_{_{0.05}}$

4. dark zone: containing clear dendrites with randomly oriented axes and bright needle precipitates, the thickest zone in entire melted layer, with hardness 850 $HV_{0.05}$,

5. bright zone: thin, of lamellar structure, with numerous inclusions and hardness 715 $\rm HV_{_{0.05}},$

6. border line of diffusion zone, present only in some specimens and in part of the total layer,

7. zone containing some grain boundaries of the previous β phase in lamellar α phase structure, with microhardness 515 HV $_{\rm opt}$

8. heat affected zone (HAZ), likely only α phase, up to 1.65 mm.

The laser melting at high scan rate resulted in greater discontinuity and inhomogeneity of melted layer. The increase in laser power resulted in more visible particular zones and enhanced their features.

	TiO ₂ Rutyl / rutile	TiO ₂ Anataz / anatase	TiN	TiN _{0.3}	Ti₃O₅	Ti ₂ O
Ti6Al4V	+	+	+	+	+	+

TABELA 2. TABLE 2.

222

7. strefa zawierająca ooddzielone ziarna byłej fazy β i płytkowej struktury fazy α , o mikrotwardości 515 HV_{0,05}; 8. strefa wpływu ciepła (SWC), głębokość 1,65 mm;

Przetopienie laserowe przy dużej prędkości skanowania prowadziło do dużej nieciągłości i niejednorodności. Wzrost mocy lasera spowodował lepsze wykształcenie warstwy i polepszenie jej cech.

Badania składu fazowego strefy bliskiej strefie przetopienia ujawniły obecność różnorodnych tlenków, azotków, złożonych faz, a nawet czystego pierwiastka Ti (TABELA 1). TABELA 2 ukazuje skład fazowy próbki wyznaczony przy użyciu goniometru X-Pert.

Wnioski

Przetapianie laserowe stopu Ti-6Al-4V, schłodzonego w ciekłym azocie, przyniosły efekty w postaci szerokiej i twardej warstwy o bardzo złożonej mikrostrukturze. Strefy bliskie powierzchni wykazały obecność tlenków tytanu rutylu i anatazu oraz azotków przy zmodyfikowanej powierzchni stopu.

Podziękowania

Autorzy są wdzięczni dr M. Gaździe (PG) i mgr R. Majorowi (IMIM) za ich cenny wkład w wykonanie badań. Praca naukowa jest finansowana ze środków na naukę w latach 2005-2007 jako projekt badawczy.

Piśmiennictwo

 Yue T.M., Cheung T.M., Man H.C.: The effects of laser surface treatment on the corrosion properties of Ti-6AI-4V alloy in Hank's solution. Journal of Materials Science Letters 19 (2000) 205-208.
 Yue T.M., Yu J.K., Mei Z., Man H.C.: Excimer laser surface treatment of Ti-6AI-4V alloy for corrosion resistance enhancement. Materials Letters 52 (2002) 206-212.

ADHEZJA I WZROST LUDZKICH CHONDROCYTÓW NA POWIERZCHNI BIORESORBOWALNYCH MATERIAŁÓW POLIMEROWYCH

Arkadiusz Orchel*, Anna Dylla*, Katarzyna Jelonek*, Janusz Kasperczyk*, Piotr Dobrzyński**, Aleksander Owczarek*** Ireneusz Bielecki****, Zofia Dzierżewicz*

*Katedra i Zakład Biofarmacji, Wydział Farmaceutyczny, Śląska Akademia Medyczna,

UL. NARCYZÓW 1, SOSNOWIEC 41-200, POLSKA

POLSKA AKADEMIA NAUK, CENTRUM CHEMII POLIMERÓW, UL. M. SKLODOWSKIEJ-CURIE 34, ZABRZE 41-819, POLSKA **KATEDRA I ZAKŁAD BIONIKI,

ul. Ostrogórska 30, 41-200 Sosnowiec, Poland ****Oddział Laryngologii SPSK Nr 6, Górnośląskie Centrum Zdrowia Dziecka i Matki w Katowicach. ul. Medyków 16, 40-752 Katowice, Polska

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60, (2006), 223-226]

The examinations of the phase composition of zone close to the melted surface showed a variety of oxides, nitrides, complex phases and even pure element, Ti. In TABLE 2 the intensity of X-ray diffraction of reflexes measured by X`Pert goniometer are shown.

Conclusion

The laser melting of the Ti-6Al-4V alloy cooled in liquid nitrogen effects in thick and hard layer of very complex phase microstructure.

The near-surface zone shows a variety of rutile and anatase titanium oxides, and titanium nitrides, which are together of a great potential as surface modification of bioalloy is considered.

Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge the valuable contribution of Dr. Gazda, GUT, and Mr. Major, IMME. This scientific work has been financially supported by scientific funds in 2004-2005 as a research project.

References

[3] Guillemot F., Prima E. *et al.*, Ultraviolet laser surface treatment for biomedical applications of β titanium alloys: morphological and structural characterization. Applied Physics A 77 (2003) 899-904.

GROWTH OF HUMAN CHONDROCYTES ON BIODEGRADABLE SYNTHETIC POLYMERS

Arkadiusz Orchel*, Anna Dylla*, Katarzyna Jelonek*, Janusz Kasperczyk*, Piotr Dobrzyński**, Aleksander Owczarek*** Ireneusz Bielecki****, Zofia Dzierżewicz**

*Department of Biopharmacy, Medical University of Silesia, Narcyzów 1, Sosnowiec 41-200, Poland **Polish Academy of Sciences, Centre of Polymer Chemistry, M. Sklodowskiej-Curie 34, Zabrze 41-819, Poland ***Department of Bionics, Medical University of Silesia, Ostrogórska 30, 41-200 Sosnowiec, Poland ****Department of Otolaryngology, Medical University of Silesia, Medyków 16, Katowice 40-752, Poland

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),223-226]

224 Wstęp

Ograniczona zdolność chrząstki do regeneracji jest głównym czynnikiem utrudniającym opracowanie skutecznych metod terapii ubytków w obrębie tkanki chrzęstnej. Zapotrzebowanie na nowe metody terapeutyczne, które zapewniłyby pełną regenerację uszkodzonej chrząstki jest jedną z przyczyn szybkiego rozwoju, w ostatnich latach, technik inżynierii tkankowej. Kluczowe znaczenie dla rozwoju tej stosunkowo młodej dziedziny ma opracowanie biozgodnych, bioresorbowalnych materiałów, które mogłyby być wykorzystane do wytwarzania trójwymiarowych podłoży, o mikrostrukturze i właściwościach sprzyjających zasiedlaniu ich przez komórki. Najbardziej perspektywicznymi biomateriałami wydaja się być syntetyczne polimery z grupy poliestrów alifatycznych. Kopolimery glikolidu, laktydu, ɛ-kaprolaktonu oraz trimetylenowęglanu (TMC) są szeroko badane pod kątem ich kątem wykorzystania ich do konstrukcji rusztowań dla przeszczepianych komórek [1,2]. Materiały te powinny być biozgodne i posiadać właściwości, które stymulują adhezję, namnażanie oraz różnicowanie wyselekcjonowanych komórek. Jednakże tradycyjne metody syntezy tych biomateriałów wykorzystuja bardzo toksyczne zwiazki cyny jako inicjatory procesu polimeryzacji. Całkowita eliminacja tych związków z polimeru jest praktycznie niemożliwa, co skutkuje ich powolnym przenikaniem do układu krażenia pacjenta [4]. Ponadto obecność omawianych materiałów w organizmie może powodować reakcję zapalną [5].

Celem pracy była ocena procesów adhezji oraz wzrostu ludzkich chondrocytów na powierzchni szeregu biodegradowalnych materiałów polimerowych różniących się składem chemicznym, strukturą łańcucha, masą cząsteczkową oraz strukturą przestrzenną. Jako biodegradowalne materiały polimerowe zostaną zastosowane kopolimery glikolidu, laktydu, ε-kaprolaktonu oraz TMC, otrzymywane metodami wykorzystującymi nietoksyczne inicjatory polimeryzacji.

Materiały i metody

Wszystkie próby kopolimerów (TABELA 1) otrzymano na podstawie wcześniej opisanych procedur kopolimeryzacji [6]. Kopolimeryzację przeprowadzono w masie w atmosferze argonu, umieszczając komonomery z Zr(Acac)₄ w szczelnie zamkniętych szklanych ampułach. Ampuły umieszczono w łaźni olejowej zaopatrzonej w shaker, w temperaturze 120°C.

Masę cząsteczkową (Mn) oraz polidyspersję (D) wyznaczono za pomocą chromatografii żelowej przy użyciu chromatografu Physics SP 8800. Widma H-1 (300MHz) i C-13 (75MHz) NMR kopolimerów wykonano na spektrometrze Varian Unity Inova. Jako rozpuszczalnik zastosowano osuszony DMSO-d₆ lub CDCl₃. Widma protonowe otrzymano przy czasie akwizycji 3.74sek., szerokości impulsu PW = 7 µs, i 4.7 sek. odstępem między impulsami, natomiast węglowe z czasem akwizycji 1.8 sek., szerokością impulsu PW = 9 µs i odstępem między impulsami 3 sek.

Otrzymane kopolimery rozpuszczano w 1,1,1,3,3,3-HFIP (1,1,1,3,3,3-Heksafluoro-2-propanol; Fluka) uzyskując roztwory o jednakowej lepkości, które następnie wprowadzano do studzienek mikropłytek testowych do hodowli komórkowej. Do studzienek kontrolnych wprowadzano sam rozpuszczalnik. Mikropłytki te suszono, najpierw na powietrzu a następnie w próżni w celu całkowitego usunięcia rozpuszczalnika. Następnie płytki sterylizowano promieniowaniem γ. Chondrocyty izolowano z chrzęstnych fragmentów przegrody nosowej pacjentki w wieku 33 lat. Po wypłukaniu fragmentu chrząstki zbuforowanym roztworem soli fizjologicznej był on trawiony przy pomocy 133 U/ml ko-

Introduction

The restricted capacity of articular cartilage for self repair significantly impedes treatment of damaged cartilage. The clinical need for effective method of therapy of cartilage defects is the important reason of the rapid development of tissue engineering techniques. Biodegradable copolymers of glycolide, L-lactide, ɛ-caprolactone and trimethylene carbonate (TMC) have been considered to be useful for tissue engineering and as the carriers for controlled release of drugs [1, 2]. These materials must be biocompatible to be well tolerated by the body as well as must support cell adhesion, growth and differentiation [3]. However, traditional methods of their synthesis employ highly toxic tin compounds as initiators of polymerization. Complete elimination of these compounds from the polymers is practically impossible which results in their slow penetration into patients blood circulation system [4]. Moreover, the implant composed of polymeric material may often induce severe inflammatory reaction [5]. The aim of our study was to examine adhesion and growth of human chondrocytes on a set of novel biodegradable materials from copolymers of L-lactide, glycolide, ε-caprolactone and trimethylene carbonate. Their synthesis was carried out with the use of nontoxic zirconium acetylacetonate as an initiator of polymerization.

Materials and methods

All copolymer samples (TABLE 1) were obtained on the basis of copolymerization procedures described earlier [6]. Briefly, copolymerizations were conducted in bulk in argon atmosphere, comonomers with the $Zr(acac)_4$ as initiator were charged into glass ampoules and sealed. The ampoules were conditioned in an oil bath equipped with shaker at 120°C.

Molecular weights (Mn) and polydispersity (D) of the copolymers were determined by gel permeation chromatography with a Physics SP 8800 chromatograph. The H-1 (300MHz) and C-13 (75MHz) NMR spectra of the copolymers were recorded with a Varian Unity Inova. Dried DMSO-d₆ or CDCl₃ were used as a solvent. The proton spectra were obtained with a 3.74-s acquisition time, 7 μ s pulse width and 4.7s delay time between pulses and the carbon spectra with 1.8s the acquisition time, 9 μ s pulse width, the delay between pulses 3s.

The obtained copolymers were dissolved in 1,1,1,3,3,3 HFIP (Fluka) to obtain polymer solutions with the same viscosity and used as the polymeric film coating the 96well plates. HFIP alone was added to wells in one row that constituted the control. Then the culture plates were dried under the air atmosphere and under reduced pressure to remove solvent completely and sterilized with exposure to γ irradiation. The cells were isolated from the specimen of cartilage from the nasal septum of thirty three year old patient. Harvested cartilage was washed with the chilled balanced salt solution, diced and incubated in MEM (Minimum Essential Medium, Sigma) with 133 U/ml collagenase and 1 mg/ml hyaluronidase. Isolated cells were cultured at 37°C in 5% CO₂, in MEM supplemented with 10% fetal bovine serum, 100 U/ml penicillin and 100 µg/ml streptomycin, 10 mM HEPES buffer. To study the cell adhesion, chondrocytes were plated into 96-well plates coated with the uniform thin polymer films and the cells were allowed to attach to the substrates undisturbed in the incubator for 4 hours. Adherent cell number was quantitated by means of CyQUANT® Cell Proliferation Assay Kit (Molecular Probes). The basis for this assay is the use of the green fluorescent dye (CyQUANT GR dye), which exhibits strong fluorescence

lagenazy oraz 1 mg/ml hialuronidazy. Wyizolowane komórki hodowano w pożywce MEM (Minimum Essential Medium, Sigma) zawierajacej 10% bydlecej surowicy płodowej, 100 U/ml penicylinę, 100 µg/ml streptomycynę i 10 mM HE-PES. Hodowlę prowadzono w temp. 37°C, w atmosferze o składzie 95% powietrze/5% CO, i o wilgotności 95%. Do oceny adhezji chondrocytów do badanych materiałów wykorzystano test CyQUANT Cell Proliferation Assay Kit (Molecular Probes). Podstawowym składnikiem tego testu jest barwnik fluorescencyjny (CyQUANT GR), który emituje promieniowanie λ=520nm po związaniu się z kwasami nukleinowymi i wzbudzeniu promieniowaniem λ = 480nm. Do studzienek mikropłytki wprowadzano po 104 komórek w 100µl pożywki, a następnie płytki inkubowano w inkubatorze przez 4 godziny. Następnie studzienki dwukrotnie płukano PBS, płytki zamrażano i aż do wykonania oznaczenia przechowywano w temp. -70°C. Dla oceny szybkości proliferacji chondrocytów na powierzchni badanych materiałów do poszczególnych studzienek mikropłytki wprowadzano po 2×103 komórek zawieszonych w 200µl pożywki. Komórki te hodowano na powierzchni badanych materiałów 4 doby po czym studzienki płukano PBS i zamrażano w temp.-70°C. Liczbę komórek w poszczególnych dołkach określano przy pomocy testu CyQUANT Cell Proliferation Assay Kit.

Wyniki i dyskusja

Podczas syntezy poliestrów alifatycznych takich jak polilaktydy, poliglikolid i poli-ε-kaprolakton zazwyczaj używa się silnie toksycznych związków cyny jako inicjatorów procesu polimeryzacji [4]. Jednakże, w ostatnich latach podejmowane były próby zastosowania inicjatorów niskotoksycznych takich jak acetyloacetonian cyrkonu [7,8]. Materiały polimerowe syntetyzowane przy pomocy Zr(Acac)₄ charakteryzowały się odpowiednimi właściwościami mechanicznymi oraz szybkością degradacji. Stwierdzono, że na powierzchni kopolimerów L-laktydu, glikolidu i ε-kaprolaktonu możliwy był wzrost osteoblastów, fibroblastów i monocytów, przy czym nie obserwowano cytotoksycznego działania powyższych podłoży na te komórki [9, 10,11].

Badania prowadzono na siedmiu materiałach polimerowych: 1) 90:10 poli(ε -kaprolaktono-ko-glikolid) (PGA10%-PCL90%, Mn = 63.000 Da); 2) 85:15 poli(L-laktydo-ko-glikolid) (LPLA 85% - PGA 15%, Mn = 75.600Da); 3) 70:30 poli(L-laktydo-ko-

ε-kaprolakton) (LPLA 70% -PCL 30%, Mn = 60.300Da); 4) 70:30 poli(L-laktydo-kotrimetylenowęglan) (LPLA 70% - TMC 30%, Mn = 36.000Da); 5) 30:70 poli(Llaktydo-ko-trimetylenowęglan) (LPLA 30% - TMC 70%, Mn = 17.500Da); 6) 30:70 poli(glikolido-ko-trimetylenowęglan) (PGA 30% - TMC 70%, Mn = 6000Da); 7) 50:50 poli(alikolido-ko-trimetylenowęglan) (TMC 50% - PGA 50%, Mn=60000). Ich mikrostrukturę, przedstawiona w TABELI 1, scharakteryzowano na podstawie parametrów wyznaczonych z widm ¹H and ¹³C NMR, takich jak: średnia długość laktydylowych, glikolidylowych, kaproilowych i węglanowych (odpowiednio - L,,

			_			
No	Kind of copolymer	Mn	D	The aver- age length of blocks	R	T"
1	92%ε-caprolactone / 8% glycolide	63000	2.1	L _{GG} = 0.72 L _{Cap} = 4.1	1.6	1,07
2	85%L-lactide/ 15% glycolide	75600	2.0	L _{LL} = 9.24 L _{GG} = 1.63	0.41	0.2
3	75%L-lactide/ 25% ε-caprolactone	60300	2.1	L _{LL} = 7.8 L _{Cap} = 2.6	0.45	-
4	70%L-lactide/ 30% TMC	36000	2.6	L _{LL} = 6.28 L _T = 2.44	0.5	2.78
5	70% TMC/ 30% L-lactide	17500	2.0	L _T = 4.11 L _{LL} = 1.52	0.57	0.63
6	30% glycolide / 70% TMC	6000	1.5	L _{GG} = 2.9 L _T = 7.64	0.3	-
7	50% glycolide / 50% TMC	60000	2.1	L _{GG} = 1.6 L _T = 1.6	0.94	1.1

TABELA 1. Charakterystyka mikrostruktury badanych kopolimerów.

 TABLE 1. Microstructure characteristic of the studied copolymers.



225

RYS.1. Liczba ludzkich chondrocytów zakotwiczonych na różnych materiałach polimerowych po 4 godzinach inkubacji (kolor szary) oraz po 4 dniach hodowli (kolor czarny). n=18, średnia ± SD, *P<0,05; (0. Kontrola; 1. PGA10%-PCL90%; 2. LPLA85%-PGA15%; 3. LPLA70%-PCL30%; 4. LPLA70%-TMC30%; 5. LPLA30%-TMC70%; 6. PGA30%-TMC70%; 7. TMC50%-PGA50%) FIG.1. Number of human chondrocytes adhered to the various polymer films after 4h of incubation (grey) and 4 days of culture (black). n=18, mean ± SD, *P<0,05 compared to control. (0. Control; 1. PGA10%-PCL90%; 2. LPLA85%-PGA15%; 3. LPLA70%-PCL30%; 4. LPLA70%-TMC30%; 5. LPLA30%-TMC70%; 6. PGA30%-TMC70%; 7. TMC50%-PGA50%).

enhancement when bound to cellular nucleic acids. For the assessment of the cell proliferation, cells were seeded into 96-well plates coated with the polymers and cultured for 4 days. Cell number was quantitated using CyQUANT[®] Cell Proliferation Assay Kit

Results and discussion

Synthesis of aliphatic polyesters such as polylactides, polyglycolide and poly- ϵ -caprolactone usually is carried out with the use of highly toxic tin compounds as initiators

[4]. However, several attempts were recently made to use the initiators of lower toxicity such as zirconium acetylacetonate [7,8]. Polymeric materials synthesized using Zr(Acac), displayed appropriate mechanical properties and degradation rate. Copolymers of L-lactide, glycolide, ε-caprolactone produced using $Zr(Acac)_{a}$ appeared to promote the growth and viability of osteoblasts, fibroblasts and monocyte-like cells [9, 10,11]. Different kinds of biodegradable copolymers have been selected to examine their influence to human chondrocytes growth: 1) 90:10 poly(ε-caprolactone-coglycolide) (PGA10%-PCL90%, Mn=63.000); 2) 85:15 poly(L-lactideco-glycolide)(LPLA85%-PGA15%, Mn=75.600); 3) 70:30 poly(L-lactide-co-ɛ-caprolactone)(LPLA70%-PCL30%, Mn=60.300); 4) 70:30 poly(L-lactide-co-trimethylene carbonate) (LPLA70%-TMC30%,

226

L_{GG}, L_{Cap}, L_T) bloków, procentowej zawartości jednostek
 glikolidylowych (F_{GG}) lub laktydylowych (F_{LL}); współczynnika randomizacji (R) lub transestryfikacji (T_{II}).

Jak pokazano na RYS.1, chondrocyty, w ciągu czterogodzinnej inkubacji, ulegały adhezji zarówno do badanych materiałów polimerowych jak i do podłoża kontrolnego (powierzchnia plastiku przepłukana HFIP). Jednakże, liczba komórek na trzech podłożach była istotnie mniejsza niż w kontroli, były to polimery: LPLA 85% - PGA 15%, PGA 30% - TMC 70% i TMC 50% - PGA 50%.

Zwiększona, w stosunku do wyjściowej, liczba komórek po 4 dniach hodowli świadczy o tym, że proliferacja chondrocytów zachodziła na wszystkich badanych podłożach (RYS.1). Generalnie, na powierzchni badanych materiałów komórki wzrastały nieco wolniej niż w kontroli. Istotne statystycznie zahamowanie wzrostu zaobserwowano w przypadku trzech polimerów: LPLA 70% - PCL 30% (3), LPLA 70% - TMC 30% (4), PGA 30% - TMC 70% (7). Interesujacy wydaje się fakt, że szybkość proliferacji chondrocytów na powierzchni materiału o składzie: LPLA 85% - PGA 15% nie różniła się istotnie od kontroli pomimo iż adhezja do tego podłoża zachodziła stosunkowo powoli. Niewykluczone, że zjawisko to jest związane ze zwiększoną ekspresją receptorów integrynowych w komórkach inkubowanych na powierzchni tego polimeru. El-Amin i wsp., zaobserwowali zwiększoną ekspresję podjednostek integryn α2, α3, α4, α5, α6 i β1 w ludzkich osteoblastach inkubowanych na podłożu o zbliżonym składzie chemicznym (50:50 poli(L-laktydo-koglikolid) [12].

Jednakże, biorąc pod uwagę różnicę pomiędzy adhezją i proliferacją komórek na powierzchni polimerowej i standardowej hodowlanej powierzchni plastikowej, stwierdzono iż wszystkie badane kopolimery charakteryzowała dobra tolerancja komórkowa i są odpowiednimi materiałami do hodowli ludzkich chondrocytów. Mn=36.000); 5) 30:70 poly(L-lactide-co-trimethylene carbonate)(LPLA30%-TMC70%, Mn=17.500); 6) 30:70 poly(glycolide-co-trimethylene carbonate)(PGA30%-TMC70%, Mn=6000); 7) 50:50 poly(glycolide-co-trimethylene carbonate) (TMC50%-PGA50%, Mn=60000). Their characteristic, conducted on the basis on the parameters determined from ¹H and ¹³C NMR spectra as the average length of the lactidyl, glycolidyl, carpoyl, carbonate (L_{LL} , L_{GG} , L_{Cap} , L_{T} , respectively)blocks; the percentage content of glycolide (F_{GG}) or lactide (F_{LL}); randomization (R) or transesterification (T_{II}) ratio, is presented in TABLE 1.

As shown in FIG.1, chondrocytes adhered to all the polymer films studied as well as they adhered to the control plastic substrate after 4h of incubation. The number of adherent cells was significantly decreased on solely three polymeric materials: LPLA85%-PGA15%, PGA30%-TMC70% and TMC50%-PGA50%.

The increased cell number on the polymer surfaces at the end of the culture period (4 days) confirmed that proliferation occurred on all the substrates (FIG.1). However, generally on polymer surfaces chondrocytes proliferated slower than on standard cell culture plastic. Significant inhibition of the growth was observed on three materials: LPLA70%-PCL30% (3), LPLA70%-TMC30% (4), PGA30%-TMC70% (7). It could be noted that cell proliferation on LPLA85%-PGA15% did not differ significantly from the control in spite relatively weak adhesion of chondrocytes on that substrate. It could be presumed as a result of increased expression of integrin receptors in cells incubated on that material [12]. However, taking into account the difference between cell adhesion and proliferation on polymer surface and standard cell culture plastic, it should be noted that all of the studied copolymers are well-tolerated and appropriate for human chondrocytes growth.

Piśmiennictwo

 Kasperczyk J., Stokłosa K., Trzepietowska-Stępień K., Wilczok A., Dobrzyński P., Bero M., Sokół M., Przybyszewski W., Jurkowski M.: Chemik 2, 95 (2006)

[2] Athanasiou K.A., Niederauer G.G., Agrawal C.M.: Biomaterials, 17, 93 (1996)

[3] Di Toro R., Betti V., Spampinato S.: Eur. J. Pharm. Sci. 21, (2004), 161-169.

[4] Czajkowska B., Dobrzynski P., Bero M. J.: Biomed. Mater. Res. A., 74, (2005), 591-597.

[5] Rotter N., Ung F., Roy A.K., Vacanti M., Eavey R.D., Vacanti C.A., Bonassar L.J.: Tissue Eng., 11, (2005), 192-200

[6] Dobrzyński P., Kasperczyk J.: J. Polym. Sci., 44 (2006), 98 - 114 [7] Dobrzyński P., Kasperczyk J., Janeczek H., Bero M.: Macromolecules, 34, (2001), 5090-5098.

References

[8] Dobrzyński P., Kasperczyk J.: J.Polym.Sci., 44, (2006), 98-114.

[9] Pamuła E., Bačakova L., Buczyńska J., Filova E., Noskova L., Dobrzyński P., Bero M.: Eng. Biomater., 37, (2004), 11-15

[10] Pamuła E., Błażewicz M., Czajkowska B., Dobrzyński P., Bero M., Kasperczyk J.: Ann.Transplant., 9, (2004), 64-67.

[11] Czajkowska B., Dobrzyński P., Bero M.:J Biomed Mater Res A., 74, (2005), 591-597.

[12] El-Amin S.F., Attawia M., Lu H.H., Shah A.K., Chang R., Hickok N.J., Tuan R.S., Laurencin C.T.: J. Orthop. Res., 20, (2002), 20-28. AKTYWNOŚĆ MAKROFAGÓW I ZMIANY DYSTRYBUCJI I KONCENTRACJI BIAŁEK MORFOGENETYCZNYCH KOŚCI (BMP-4) ORAZ KOLAGENU TYPU II W SĄSIEDZTWIE WSZCZEPÓW BIOAKTYWNEGO SZKŁA SZ2. DONIESIENIE WSTĘPNE.

Niedzielski K.*, Koktysz R.**, Bandurka W.***, Woźniak J.****, Łączka M.*****, Cholewa Kowalska K.*****, Menaszek E.*****

*Klinika Ortopedii i Traumatologii Instytutu "CZMP" w Łodzi,

*Zakład Oropedii i traumatologii Dziecęcej,

UNIWERSYTET MEDYCZNY W ŁODZI

**ZAKŁAD PATOMORFOLOGII CSK MON WIM W WARSZAWIE

***Oddział Ortopedii NZOZ "MEDAB" Łódź

****Oddział Ortopedii Szpitala miejskiego im. Jonschera w Łodzi

*****Katedra Technologii Szkła i Powłok Amorficznych Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie *****Zakład Cytobiologii i Histochemii,

COLLEGIUM MEDICUM UJ W KRAKOWIE

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),227-230]

Wstęp

W ostatnich latach dowiedziono, że procesy proliferacji i ewentualnie przebudowy kostnej w miejscach uszkodzenia kości i/lub w sąsiedztwie wszczepów lub przeszczepów zależą od bardzo licznych czynników regulacyjnych, wśród których najważniejszymi są [1, 2, 3, 4] cytokiny i czynniki wzrostu (fibroblastyczne - FGF, płytkowe - PDGF, insulinopodobne - IGF, transformujące - TGF α , TGF β oraz modelujące kość - BMP). Białka te wydzielane są nie tylko przez osteocyty, osteoblasty, komórki chrząstki i fibrocyty, ale także przez krążące komórki takie jak limfocyty i granulocyty oraz znajdujące się w proliferujących tkankach makrofagi. Istnieje wiele dowodów na to, że prawidłowe gojenie się kości zależy od ścisłego współdziałania komórek wchodzących w skład kości oraz komórek odpowiedzi zapalnej, w której pośredniczą interleukiny, cytokiny, metaloproteinazy oraz liczne proteiny i enzymy wewnątrz i zewnątrzkomórkowe.

Białka BMP jak dotychczas są jedynymi, które wykazują zdolność indukowania kostnienia chrzęstnego *in vivo*. Wysokie stężenia TGF zwiększają wprawdzie włóknienie i syntezę kolagenu (szczególnie kolagenu typu II) w miejscu uszkodzenia, ale nie wpływają na tworzenie się tkanki kostnej *de novo*, zdolność tę posiadają jedynie rekombinowane formy BMP2 i BMP4 [5]. W miejscach tworzenia się kości obserwuje się zwiększoną obecność obu tych białek na powierzchni komórek osteoblastycznych [6].

Celem podjętych badań jest ocena i porównanie zmian składu komórkowego granicy pomiędzy wszczepionym materiałem bioaktywnym Sz2 i wszczepionymi ziarnami nieaktywnej biologicznie krzemionki a otaczajacą tkanką oraz wpływu tych zmian na procesy wypełniania ubytków tkanką kostną.

THE ACTIVITY OF MACROPHAGES, AND BONE MORPHOGENETIC PROTEINS (BMP-4) AND COLLAGEN TYPE II CHANGES OF DISTRIBUTION AND CONCENTRATION IN NEIGHBOURHOOD OF BIOACTIVE SZ2 GLASS IMPLANTS. PRELIMINARY STUDIES

Niedzielski K.*, Koktysz R.**, Bandurka W.***, Woźniak J.****, Łączka M.*****, Cholewa Kowalska K.*****, Menaszek E.******

*Klinika Ortopedii i Traumatologii Instytutu "CZMP" w Łodzi,

*Zakład Oropedii i traumatologii Dziecęcej,

UNIWERSYTET MEDYCZNY W ŁODZI

Zakład Patomorfologii CSK MON WIM w Warszawie *Oddział Ortopedii NZOZ "MEDAB" Łódź

****Oddział Ortopedii Szpitala miejskiego im. Jonschera w Łodzi

*****Katedra Technologii Szkła i Powłok Amorficznych Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie ******Zakład Cytobiologii i Histochemii.

Collegium Medicum UJ w Krakowie

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),227-230]

Introduction

It was proven lately that proliferation and possible bone restructure processes taking place in bone damage places and/or in neighbourhood of implants or transplants depend on numerous regulation factors, the most important of which include [12,3,4]: cytokines and growth factors (fibroblastic - FGF, platelet-derived - PDGF, insulin-like - IGF, transforming - TGF α , TGF β and bone modelling - BMP). The proteins are excreted not only by osteocytes, osteoblasts, cartilage cells and fibrocytes but also by circulating cells, such as lymphocytes and granulocytes and also macrophages present in proliferating tissues. There are numerous evidences that proper bone healing depends on close cooperation between bone building cells and cells of inflammatory response, and the cooperation is mediated by interleukins, cytokins, metaloproteinases and numerous intra- and extracellular proteins and enzymes.

BMP proteins are so far the only ones that show capacity of chondral ossification *in vivo*. Although high TGF concentrations increase fibrosis and collagen synthesis (especially collagen type II) in the place of damage but they do not influence creation osseous tissue *de novo*. Only recombined forms of BMP2 and BMP4 possess this capacity [5]. Increase presence of both of those proteins on surface of osteoblastic cells is observed in places where bone is formed [6].

The aim of this study is assessment and comparison of cellular composition of the interface between implanted bioactive material Sz2 and implanted granules of biologically inactive silica and the surrounding tissue, and influence of those changes on process of defect filling with osseous tissue.

Materials and methods

Bioceramics Sz2 and silica SiO₂ used as control were

777

Materiał i metodyka

Biceramika Sz2 oraz krzemionka SiO₂ były wyproduko-

wane metodą zol-żel w Katedrze Szkła i Ceramiki Akademii
 Górniczo-Hutniczej w Krakowie. Technika operacyjna i metodyka została opisana uprzednio [7].

We wstępnym etapie badań morfologicznych wycinki kostne pobrane z obszaru wszczepu materiału bioceramicznego Sz2 i wszczepu krzemionki SiO, zatapiano wg standardowej metodyki do bloczków parafinowych, z których następnie wykonywano skrawki o grubości od 4 do 6 µm, barwione hematoksyliną i eozyną. Na podstawie wyników oceny mikroskopowej tych preparatów kwalifikowano wycinki do dalszych badań immunohistochemicznych. Ostatecznie do badania otrzymano preparaty pochodzące z trzech okresów obserwacyjnych - w 3., 7. i 21. dobie. Badania immunohistochemiczne przeprowadzono z użyciem monoklonalnych przeciwciał mysich skierowanych przeciw antygenom króliczym (producenci: NovoCastra, R&D, SeroTec). Obecność odczynów ujawniano zestawem wizualizacyjnym ABC NovoCastra z przeciwciałem wtórnym przeciw globulinom mysim, co zapobiegało powstawaniu odczynów krzyżowych. We wstępnym etapie badań, będącym przedmiotem tego doniesienia, skoncentrowano się na badaniu obecności kolagenu II, białka morfogenetycznego kości (BMP-4) i obecności makrofagów (CD 68).

Wyniki obserwacji po 3 dobach od dokonania wszczepu

W tej grupie obserwacji nie stwierdzano zasadniczych różnic w składzie komórkowym nacieku zapalnego, mniej lub bardziej nasilonym krwiakom towarzyszyły odczyny zapalne granulocytarne i limfocytarne z pojawieniem się utkania typowej młodej tkanki ziarninowej. Metodami immunohistochemicznymi wykazano w sąsiedztwie biomateriału Sz2 zwiększoną w stosunku do krzemionki SiO, koncentrację białka BMP4 i nieco obfitsze występowanie kolagenu typu II. Zarówno w grupie Sz2, jak i w grupie z wszczepionym SiO₂ stwierdzono nieliczne rozproszone wokół tych materiałów komórki tuczne. Liczba makrofagów, zmienna w różnych polach widzenia, nie wykazała we wstępnej ocenie znamiennych różnic pomiędzy badanymi materiałami. W dalszych etapach oceny przeprowadzone zostaną badania składu komórkowego nacieku zapalnego w szczególności identyfikacja limfocytów wchodzących w skład nacieku. W wybranych przypadkach, w których stwierdzono w sąsiedztwie wszczepionego materiału obecność włókien mięśniowych, zastosowano barwienie immunohistochemiczne na obecność dystrofiny 1, 2 i 3. Badanie to wykazało, że w sąsiedztwie obu wszczepionych materiałów dochodzi do zaniku włókien mięśniowych, które to zjawisko należy raczej wiazać z powstałymi podczas zabiegu operacyjnego uszkodzeniami nerwów i samych włókien mięśniowych, aniżeli ze swoistym działaniem zastosowanych do wszczepu materiałów.

Wyniki obserwacji po 7 dobach

MATERIAŁÓW

W tej grupie zwierząt obserwowano dalsze organizowanie się ziarniny z pomnożeniem włókien kolagenowych (ze znacznym udziałem kolagenu typu II) – przy czym ekspresja kolagenu była znacznie wyraźniejsza w grupie z wszczepionym materiałem Sz2, aniżeli z wszczepionym zwykłym szkłem. Ponadto zaobserwowano ogniska proliferacji chrzęstnej wokół ziaren wszczepów, przy czym i w tym przypadku nasilenie zmian proliferacyjnych było znacznie większe w przypadku bioszkła Sz2, aniżeli w przypadku "czystej" krzemionki. Ogniska tkanki łącznej i obszary proliferacji chrzęstnych wykazywały znaczącą ekspresję BMP-4, której nasilenie odpowiadało nasileniu procesów tworzenia chrząstki. Ogniska wapnienia chrząstki były wyraźniejsze produced with sol-gel technique in the Dept. of Glass Technology and Amorphous Coatings AGH - University of Science and Technology in Cracow. Operative technique and methods was described previously [7].

Study was performed in follow-up periods 3, 7 and 21 days after the date of surgical preparation of bone defect sized 0.2 cm x 0.04 cm x 0.04 cm. In all rabbits a defect in radial bone of forearm of both front legs was performed. A defect in right arm was filled with bioglass Sz2, and in left one with silica SiO₂ in form of granules with grain size from 315 μ m to 800 μ m. A permission from the Committee of Bioethics no. ŁB190 was obtained for the study.

After the end of the experiment the rabbits were sacrificed and collected bone sections with implant were transferred for his-topathological study.

At the preliminary stage of morphological study bone sections collected from bioceramic material Sz2 implantation area and SiO, silica implants were embeded according to standard methods in paraffin blocks. Then 4 to 6 µm-thick specimens stained with hematoxyline and eosine were made. Basin on results of microscopic assessment of those specimen sections were qualified for further immunohistochemical tests. Finally specimen originating from three follow-up periods - in 3rd, 7th, and 21st day - were obtained for study. Immunohistochemical tests were performed with use of mice monoclonal antibodies directed against rabbit antigens (producers: NovoCastra, R&D, SeroTec). Presence of reactions was revealed with ABC visualization set by NovoCastra with secondary antibody against mice globulins which prevented creation of cross-reactions. In the preliminary stage of the study described in this communication presence of collagen II, Bone Morphogenetic Protein 4 (BMP-4) and macrophages (CD 68) was the main issue.

Observation results in 3 days after implantation

In studied group there were no significant differences found in cellular composition of inflammatory infiltration. Less or more intensified haematomas were accompanied by granulocyte and lymphocyte inflammatory reactions with occurrence of typical network of young granulation tissue. In neighbourhood of biomaterial Sz2 larger concentration of BMP-4 and slightly more abundant presence of collagen type II in comparison to silica SiO₂ were found with immunohistochemical methods. Both in Sz2 group and in the group with implanted SiO, several mast cells scattered around the materials were found. Upon preliminary assessment the number of macrophages, variable in different visual fields, did not show significant differences between the studied materials. On further assessment stages cellular composition of inflammatory infiltration will be studied and especially identification of lymphocytes present in the infiltration will be performed. In selected cases where presence of muscle fibres was found in neighbourhood of the implanted material immunohistochemical staining was performed to detect distrophin 1, 2 and 3. The test revealed that in neighbourhood of both implanted materials the dystrophy of muscular fibres is occured. This phenomenon should be rather connected with injuries of nerves and muscular fibres themselves happened during surgery than with specific action of materials used for implants.

Observation results after 7 days

In this group of animals further organisation of granular tissue and proliferation of collagen fibres (with significant participation of collagen type II) were observed - and expression of collagen was much more clear in the group w przypadku bioceramiki Sz2, niż w przypadku szkła biologicznie nieaktywnego. Podobnie jak w poprzedniej grupie stwierdzano w sąsiedztwie wszczepionych materiałów pojedyncze rozproszone komórki tuczne i liczne, często leżące w skupiskach, makrofagi. Nasilenie odczynu makrofagowego było znacznie większe w 7 dobie obserwacji wokół drobin szkła, aniżeli wokół drobin bioceramiki Sz2. W przypadku szkła stwierdzano ponadto pojedyncze komórki olbrzymie typu około ciała obcego. W dotychczas przebadanych wycinkach pochodzących z grupy Sz2 takich komórek nie stwierdzano.

Wyniki obserwacji po 21 dniach

W wycinkach pochodzacych z obserwacji po 3 tygodniach od daty zabiegu, stwierdzano wokół drobin obu materiałów zmiany odczynowe o różnym nasileniu - od niewielkiego włóknienia z niezbyt nasilonym odczynem zapalnym monocytarnym z domieszką makrofagów, aż do rozległych odczynów zbudowanych z wiotkiej tkanki łącznej z licznymi makrofagami i niewielką ilością komórek wielojądrowych typu około ciała obcego. Jak już wspomniano wcześniej, odczyny olbrzymiokomórkowe i makrofagowe przeważały w przypadkach z wszczepionym szkłem, podczas gdy proliferacje chrzęstne i proliferacje tkanki łącznej bogatej w BMP-4 i kolagen typu II, układające się głównie na obwodzie ognisk proliferującej tkanki chrzęstnej, dominowały w przypadkach ze wszczepem biomateriału Sz2. W przypadku biomateriału zaobserwowano także rozległe proliferacje beleczek kostnych z mniejszą aktywnością makrofagów i niemal brakiem komórek tucznych.

Wnioski

Przeprowadzone badania histopatologiczne i immunohistochemiczne pozwalają na sformułowanie następujących wniosków:

1. W pierwszych fazach wgajania się wszczepu materiału bioceramicznego (3 i 7 doba po zabiegu) jego właściwości biologiczne powodują zwiększenie koncentracji BMP-4 i obfitszą syntezę kolagenu typu II, przy jednoczesnym zmniejszeniu odczynów typu alergicznego (zmniejszenie liczby komórek tucznych i niewielka aktywność makrofagów). Skład komórkowy nacieku zapalnego oceniany jedynie metodami histologicznymi nie wykazuje zasadniczych różnic pomiędzy obydwoma materiałami.

2. W 21 dobie po zabiegu zarysowuje się wyraźniejsze zróżnicowanie odczynów biologicznych – wokół szkła SiO₂ pojawiają się odczyny olbrzymiokomórkowe typu około ciała obcego, aktywność makrofagów i komórek tucznych jest nadal wysoka, a drobiny szkła otoczone są tkanką łączną uboższą w kolagen typu II i wykazującą znacznie mniejszą ekspresję BMP-4. Proliferacje chrząstki częściowo ulegającej kostnieniu są znacznie obfitsze w sąsiedztwie biomateriału aniżeli szkła SiO₂.

Podziękowania

Praca została wykonana w ramach projektu UM w Łodzi Nr Tematu 502-11-262 with Sz2 material implanted than in the group with plain glass implanted. Moreover, foci of cartilage proliferation around implant granules were observed. Also in this case the intensity of proliferative changes was much bigger in the case of Sz2 bio-glass than in the case of "pure" silica. Connective tissue foci and areas of cartilage proliferation showed significant BMP-4 expression, and its intensity corresponded to intensity of cartilage formation processes. Cartilage calcification areas were more clear in the case of Sz2 bioceramics than they were in the case of biologically inactive glass. Similarly to the previous group single mast cells scattered in neighbourhood of implanted materials and numerous, usually clustered macrophages were found. The intensity of macrophage reaction was much higher on 7th day of observation around particles of glass than it was around particles of Sz2 bioceramic material. In the case of glass single foreign body giant cells were found. In sections collected from the Sz2 group studied so far no such cells were found.

Observation results after 21 days

In specimens collected in three weeks after the surgery around particles of both materials reaction changes of various intensity were found - from a small fibrosis with not very intensive monocyte reaction and admixture of macrophages, to extensive reactions built of flaccid connective tissue with numerous macrophages and small number of foreign body multinuclear giant cells cells. As it was indicated earlier, giant cell and macrophage reactions prevailed in the case of implanted SiO₂ glass. Cartilage and connective tissue proliferation rich with BMP-4 and collagen type II located mainly in peripheral part of proliferating cartilage were predominant in the cases with Sz2 biomaterial implant. In the case of the bioglass also extensive proliferations of osseous trabecula, lower activity of macrophages, and lack of mast cells were observed.

Conclusions

Performed histopathological and immunohistochemical tests enable us to formulate the following preliminary conclusions:

1. During first stages of the bioceramic material implants healing (in 3rd and 7th day after surgery) its biological features cause increase of BMP-4 concentration and more abundant synthesis of collagen type II, with simultaneous decrease of allergic-type reactions (decrease in mast cells number and small activity of macrophages). Cellular composition of the inflammatory infiltration assessed only with histological methods does not exhibit significant differences between both materials.

2. On 21st day after surgery more clear differences between biological reactions occur – around SiO₂ glass there are giant cell reactions of foreign body type, activity of macrophages and mast cells is still high, and particles of glass are surrounded with connective tissue poor in collagen type II and with much lower BMP-4 expression. Proliferations of cartilage undergoing partial ossification are much more abundant in neighbourhood of the biomaterial Sz2 compared to SiO₂ glass.

Acknowledgements

This investigations are financial supported by UM project No: 502-11-262

230



RYS.1. Ekspresja BMP-4 w osteoblastach i osteocytach (zaznaczone strzałkami). Dodatnią ekspresję stwierdza się zarówno w osteoblastach na powierzchni beleczek kostnych (OC) jak i w osteocytach systemów Haversa (BK). Zdjęcie z 7 doby obserwacji, zwierzę z wszczepionym biomateriałem Sz2.

FIG.1. BMP-4 expression in osteoblasts and osteocytes (marked with arrows). Positive expression is found both in osteocytes on surface of osseous trabecula (OC) and in Havers systems (BK). Photograph taken on 7th day of observation, animal with implanted Sz2 biomaterial.



RYS.3. Fragment tkanki łącznej włóknistej z sąsiedztwa wszczepu biomateriału Sz2. Bardzo silna ekspresja kolagenu typu II. Odczyn rozlany obejmujący niemal całą powierzchnię obszaru. Obserwacja po 7 dobach.

FIG.3. Fragment of connective tissue collected from the neighbourhood of Sz2 biomaterial implant. Very strong expression of collagen type II. Extensive reaction covering almost the whole area. Observation after 7 days.



RYS.2. Ekspresja antygenu CD68 (makrofagi) – skupisko makrofagów (MCC) o wyraźnej ekspresji CD68 w sąsiedztwie blaszki kostnej pozostawionej podczas operacji. Przypadek z wszczepionym szkłem nieaktywnym biologicznie, 7 doba obserwacji.

FIG. 2. Antigen CD68 expression (macrophages) – cluster of macrophages (MCC) with clear CD68 expression in neighbourhood of the osseous trabecula left during surgery. Case with implanted biologically inactive glass, 7th day of observation.



RYS.4. Obszar proliferującej w sąsiedztwie biomateriału Sz2 chrząstki. Duża aktywność proliferacyjna (strzałki jaśniejsze) i ekspresja BMP-4 w podścielisku i części komórek (oznaczona strzałkami ciemniejszymi.

FIG.4. Area of cartilage proliferating in neighbourhood of Sz2 biomaterial. Large proliferative activity (lighter arrows) and BMP-4 expression within stroma and part of cells (marked with darker arrows).

Piśmiennictwo

[1] Goldring MB & Goldring SR: Skeletal tissue response to cytokines. Clin. Orthop.,258,(1990), 245 - 278.

[2] Canalis E, Centrella M & McCarthy T: Effects of fibroblast growth factor on bone formation in vitro. J. Clin. Invest.,81,(1988), 1572-1580.

[3] Price JS & Russell RGG: Bone remodelling: regulation by systemic and local factors. In *Bone biology and skeletal disorders in poultry*, ed. CC Whitehead, (1992) pp. 39-61. Carfax, Abingdon, UK.

[4] Martin TJ, Ng KW & Suda T: Bone cell physiology. Endocr. Metab. Clin. North. Am., 18(1989), 833- 859.

References

[5] Bentz H, Armstrong R & Seyedin SM: Cartilage induction and differentiation: The role of bone derived cartilage inducing factor (CIF-A). In Developmental diseases of cartilage and bone matrix, ed. T Thornhill, (1987), pp. 137. New York: Alan R. Liss.

[6] Paralkar VM, Hammonds GG & Reddi AH (1991): Identification and characterisation of cellular binding proteins (receptors) for recombinant bone morphogenetic protein 2B, an initiator of the bone differentiation cascade. Proc. Natl. Acad Sci. USA 88, 3397-3401.

[7] Kryspin Niedzielski.: Właściwości biologiczne i przydatność bioceramiki nowej generacji Sz2 w zabiegach rekonstrukcyjnych kości. Badania doświadczalne. Rozprawa habilitacajna. Uniwersytet Medyczny w Łodzi 2004.

BIOMATERIAŁÓW

WSTĘPNA OCENA MIESZANINY BIOCERAMIKI NOWEJ GENERACJI Z ALLOGENNYMI PRZESZCZEPAMI KOSTNYMI W BADANIACH RADIOLOGICZNYCH, DENSYTOMETRYCZNYCH I WYTRZYMAŁOŚCIOWYCH. BADANIA IN VIVO

Niedzielski K.,*,**, Koktysz R.,*** Woźniak J.,**** Mazurkiewicz M.,***** Cholewa-Kowalska K.,***** Łączka M.***** Domżalski M.*****

* Klinika Ortopedii i Traumatologii Instytutu "CZMP" w Łodzi

** Zakład Ortopedii i Traumatologii Dziecięcej I Katedry Ortopedii i Traumatologii UM w Łodzi

***CENTRALNY SZPITAL KLINICZNY MON WIM. ZAKŁAD PATO-MORFOLOGII WARSZAWA

****Szpital Miejski im Karola Jonschera. Oddział Ortopedii, Łódź

*****Katedra Mechaniki Doświadczalnej i Biomechaniki Politechniki Krakowskiej

******AGH, KATEDRA TECHNOLOGII SZKŁA I POWŁOK AMORFICZ-NYCH, KRAKÓW

****** Klinika Ortopedii i Ortopedii Dziecięcej UM w Łodzi

Streszczenie

Autorzy w opisywanych badaniach przedstawiają ocenę wyników radiologicznych i biomechanicznych wgajania się mieszaniny biokomponentów składających się z bioceramiki nowej generacji symbolizowanej jako "S2" wraz z allogennymi przeszczepami kostnymi w proporcjach 1/3 ,1/2, / 2/3 użytej bioceramiki w stosunku do wiórów kostnych. Badania radiologiczne przeprowadzono w Pracowni Radiologii Stomatologicznej Instytutu Stomatologii Akademii Medycznej w Łodzi, wykorzystując nowoczesną metodę obrazowania w oparciu o "Zestaw Radioiografii Cyfrowej Digora". Badania wytrzymałościowe przeprowadzono w Katedrze Mechaniki Doświadczalnej i Biomechaniki Politechniki Krakowskiej na maszynie wytrzymałościowej "Instron" model 4465. Na podstawie wstępnych obserwacji autorzy konkludują, że zastosowana mieszanina biokomponentów jakimi jest bioceramika nowej generacji wraz z użytymi allogennymi przeszczepami kostnymi w różnych proporcjach prowadzi do wygojenia sztucznie wytworzonego ubytku kostnego kości promieniowej królika i potencjalnej przebudowy kości.

Słowa kluczowe: bioceramika nowej generacji, przeszczepy kostne, ubytki kostne, badania doświadczalne, densytometryczne, wytrzymałościowe, radiologiczne, zwierzęta

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),231-235]

Wstęp

Zabiegi rekonstrukcyjne ubytków kostnych są jedną z dawniejszych dziedzin transplantologii. Używane do tego celu przeszczepy allogenne pomimo wielu zalet niosą niewielkie ryzyko przeniesienia chorób wirusowych zwłaszcza HBV, HCV, HIV. Natomiast przeszczepy autogenne mogą nie wystarczyć do pokrycia ubytku kostnego, a ponadto

....

PRELIMINARY EVALUATION OF A NEW GENERATION BIO-CERAMICS BLEND WITH ALLOGENOUS BONE GRAFTS IN RADIOGRAPHIC, DENSITOMETRIC AND STRENGTH TESTS. AN /// V/V/O STUDY

Niedzielski K.,*,**, Koktysz R.,*** Woźniak J.,**** Mazurkiewicz M.,***** Cholewa-Kowalska K.,***** Łączka M.***** Domżalski M.******

* CLINICS OF ORTHOPAEDICS AND TRAUMATOLOGY OF THE POLISH MOTHER MEMORIAL INSTITUTE IN LODZ

** Unit of the Children Orthopaedics and Traumatology in the Medical University in Łódź

***Central Clinical Hospital of the Ministry of Defence WIM. Unit of Pathomorphology, Warsaw

****"Karol Jonscher" Municipal Hospital. Department of Orthopaedics, Łódź

*****CHAIR OF EXPERIMENTAL MECHANICS AND BIOMECHANICS IN THE TECHNICAL UNIVERSITY IN CRACOW

*******UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, CHAIR OF GLASS TECHNOLOGY AND AMORPHOUS COATINGS, KRAKOW ******* CLINICS OF ORTHOPAEDICS AND CHILDREN ORTHOPAEDICS IN THE MEDICAL UNIVERSITY IN ŁÓDŹ

Abstract

In the described study authors present evaluation of radiographic and biomechanic results of healing of a blend of bio-compounds consisting of a new generation bio-ceramics, marked as "S2" with allogenous bone grafts in proportion of 1/3, 1/2, 2/3 (bio-ceramics / bone chips), into a bone. Radiographic tests have been performed in the Laboratory of Stomatological Radiography in the Institute of Stomatology in the Medical Academy in Łódź, using a modern imaging method based on the "Set of Digital Radiography - Digora". Strength tests have been performed in the Chair of Experimental Mechanics and Biomechanics in the Technical University in Cracow, using the equipment "Instron" model 4465. Basing on the preliminary observations the authors conclude that the applied blend of biocomponents in form of a new generation bio-ceramics and allogenous bone grafts used in various ratios, leads to healing of an artificially prepared bone defect of the rabbit radial bone, and to potential reconstruction of bone.

Keywords: new generation bio-ceramics, bone grafts, bone defects, experimental study, densitometric, strength, radiographic, animals.

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),231-235]

Introduction

Reconstruction procedures of bone defects belong to the oldest fields of transplantology. The allogenous grafts used for this purpose, despite numerous advantages, are connected with a minor risk of transmission of viral diseases, especially of HBV, HCV, and HIV. Autogenous grafts, on the other hand, may be insufficient to fill a bone defect, and moreover, expose a patient to an additional surgical procedure and possibility of additional infection. This is why the authors decided to find out, how would allogenous bone MATERIALOW

232

narażają pacjenta na dodatkowy zabieg operacyjny i możliwość dodatkowej infekcji. Z tego powodu postanowiono sprawdzić jak zachowuje się wgajanie przeszczepów kostnych allogennych w mieszaninie z ceramiką nowej generacji w różnych proporcjach [1,2,3].

Materiał, cele pracy i metody

Założeniem pracy było opracowanie doświadczalnego modelu uzupełniania sztucznie wytworzonego ubytku kostnego kości promieniowej królika mieszaniną przeszczepów kostnych allogennych z biomateriałem nowej generacji symbolizowanym "S2". Bioceramika nowej generacji została wytworzona w formie granul o składzie chemicznym 80SiO₂.4P₂O₅ 16CaO w (molach) o wymiarach granul od 500µm do 800µm. Bioceramikę nowej generacji wyprodukowano w AGH, Katedra Technologii Szkła i Powłok Amorficznych w Krakowie. W badaniach zaplanowano ocenę aktywności biologicznej mieszaniny biokomponentów w oparciu o badania radiologiczne w systemie cyfrowej obróbki obrazu "Digora", wytrzymałościowe w oparciu o badania tensytometrczne. Porównanie zdolności przebudowy allogennych przeszczepów kostnych królika z grupą badawczą w której zastosowano biomateriał nowej generacji S2 z wymieszanymi wiórami kostnymi w proporcjach 1/3, 1/2, 2/3 użytego biomateriału w stosunku do przeszczepów kostnych jako mieszaniny implantacyjnej w odniesieniu do zaplanowanych dwóch okresów obserwacji 3 oraz 6 miesięcy po implantacji stosowanych biokomponentów. W pracy analizie poddano wyniki z 6 miesięcznego okresu obserwacji

Badania doświadczalne przeprowadzono w Zwierzętarni Uniwersytetu Medycznego w Łodzi zgodnie z zezwoleniem komisji bioetycznej do badań nad zwierzętami Nr zezwolenia ŁBD 190. Badania przeprowadzono na królikach rasy B-New-Zeland po 6 zwierząt w każdej grupie. Metoda i



RYS.1. Technika obliczania pomiaru optycznej gęstości kości mierzona polem powierzchni w obszarze standaryzowanego ubytku kostnego- z obrazu komputerowego. Fotografia ekranu komputera pokazuje aktywne okno i narzędzia pomiarowe oraz dostępne opcje programu "Digora for Windows 1,51".

FIG.1. Technique of calculation of the bone optical density measured with area in the field of the standardized bone defect – on a computer image. Computer screen shows an active window and measurement tools, and available "Digora for Windows 1.51" software options. grafts blended with a new generation ceramics in various ratios heal into [1,2,3].

Material, aims and methods

The assumption of the study was development of an experimental model of filling of an artificially produced bone defect of rabbit radial bone with blend of allogenous bone grafts with a new generation bio-material marked as "S2". The new generation bio-ceramics has been produced in form of granules with chemical composition 80SiO₂.4P₂O₅ 16CaO (in moles), and granule size ranging from 500µm through 800µm. The new generation bio-ceramics was produced in the University of Science and Technology, in the Chair of Glass Technology and Amorphous Coatings in Krakow. The study included evaluation of biological activity of the bio-component blend basing on radiographic tests in the system of digital image processing "Digora", and strength tests based on extensometric tests. Reconstruction ability of rabbit allogenous bone grafts comparing to the study group, in which a new generation bio-material S2 was blended with bone chips in ratios of 1/3, 1/2 and 2/3 (bio-material / bone grafts) was evaluated in 3 and 6 months after the implantation. Results after 6 months of observation are taken into account in this study.

Experimental study was performed in the Animal Laboratory in the Medical University in Łódź, according to the permission obtained from the Commission of Bioethics for tests on animals, permission no. ŁBD 190. The tests were conducted on rabbits of the B-New-Zeland breed, 6 animals in each group. The method and surgical technique have been described in previous reports [4].

Radiographic tests have been performed in standard conditions in the setting of the Stomatological Radiographic Laboratory in the Institute of Stomatology in the Medical



RYS.2. Technika obliczania pomiaru optycznej gęstości kości mierzona linią warstwę kości korowej- z obrazu komputerowego. Fotografia ekranu komputera pokazuje aktywne okno i narzędzia pomiarowe oraz dostępne opcje programu "Digora for Windows 1,51".

FIG.2. Technique of bone optical density calculation measured with a line of cortical bone layer – in the computer image. The computer screen shows an active window and measuring tools and available options of the "Digora for Windows 1.51" software.

² Y N F E R V

technika operacyjna została opisana w wcześniejszych doniesieniach [4].

Badania radiologiczne przeprowadzono w standardowych warunkach w Pracowni Radiologii Stomatologicznej Instytutu Stomatologii Akademii Medycznej w Łodzi, wykorzystując nowoczesną metodę obrazowania w oparciu o "Zestaw Radioiografii Cyfrowej Digora". Zestaw ten składa się z: aparatu RTG zębowego SATELEC X – MIND, płytek rejestrujących obraz, skanera i współpracującego komputera PC. Obraz radiologiczny rejestrowano na płytkach fosforanowych wielokrotnego użycia. Uzyskiwany obraz cyfrowy poddawano działaniom korekcji programowych ujętych w systemie Rozdzielczość obrazu wynosiła 512 x 460 pixeli przy wielkości zdjęcia 30 x 40 mm [5].

Na RYS.1. przedstawiono technikę obliczania gęstości optycznej mierzonej polem powierzchni pola powierzchni w obszarze standaryzowanego ubytku kości w okresie 6 miesięcy od implantowanego biomateriału. Natomiast na RYS.2. przedstawiono technikę obliczania gęstości optycznej kości zbitej (warstwy korowej) mierzonej linią.

Badania wytrzymałości kości króliczych na zginanie przeprowadzono w Katedrze Mechaniki Doświadczalnej i Biomechaniki Politechniki Krakowskiej na maszynie wytrzymałościowej "Instron" model 4465. Kość podpierano na podporach o rozstawie 50 mm i obciążano ją z prędkością 200 mm/min, w kierunku jej naturalnego ugięcia. Badania przeprowadzono w pomieszczeniu o temperaturze 21°C, i wilgotności 50%. Dane rejestrowano głowicą pomiarową siły z zakresem do 5000 N i dokładnością do 0,1 N.[6,7]

W badaniach zastosowano model z podparciem dwupunktowym i obciążonym siłą skupioną w środku pomiędzy podporami określając następujące funkcje:

D/Y - ugięcie kości przy maksymalnej sile w [mm],

L/Y - maksymalna siła w badanej próbie w [kN],

 E/Y - energia potrzebna do uzyskania maksymalnej siły w [J],

E - energia zużyta do złamania kości w [J],

 S -(Slope) funkcja określająca, jak dużą siłę należy przyłożyć do kości aby jej ugięcie wynosiło 1 mm w [N/mm].
 Wyniki

W ocenie radiologicznej po 6 miesiącach obserwacji uzyskano podobne obserwacje we wszystkich grupach badawczych z minimalnymi różnicami. Przebudowa kostna w grupie przeszczepów kostnych jest niejednorodna przebiega chaotycznie obserwuje się zjawiska resorpcji przeszczepu bez odbudowy loży kostnej. Natomiast we wszystkich grupach gdzie stosowano mieszaninę biomateriału z przeszczepami kostnymi z zastosowaną w różnych proporcjach składu mieszanki stwierdzono, że odbudowa jest bardziej harmonijna. Nie stwierdzono istotnych różnic z przewagą dla którejkolwiek grupy badawczej w odbudowie kostnej sztucznie wytworzonego ubytku kostnego. W tych grupach również stwierdzono obecność resorpcji zastosowanego implantu mieszaniny ale jest ona niepełna przeciwnie jak w grupie z przeszczepami kostnymi.

Jedną z nowocześniejszych technik obrazowych oceny radiogramów i określenia przebudowy kostnej są badania denzytometryczne. W przedstawianych badaniach posłużono się jednym z systemów cyfrowego pomiaru gęstości kości "Digora".

Analizę badań optycznego pomiaru gęstości kości zaplanowano wykonując pomiar liniowy warstwy korowej kości nieoperowanej w stosunku do pomiaru polem powierzchni obszaru z loży kostnej wypełnionej w różnych proporcjach mieszaniną biomateriału z allogennymi przeszczepami kostnymi. Na podstawie analizy statystycznej nie zaobserwowano pomiędzy grupami badawczymi istotnych różnic statystycznych wg testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa przy p=0.81 dla grup gdzie stosowano implant kości allogennej i Academy in Łódź, using a modern imaging method based on the "Set of Digital Radiography - Digora". The set consists of: a stomatological X-ray apparatus SATELEC X – MIND, image registration plates, scanner and a PC computer. Radiographic images were registered on multiply-use phosphate plates. The obtained digital images were corrected by the system operating software. Resolution of images was 512 x 460 pixels, with image size 30 x 40 mm [5].

FIG.1 presents optical density calculation technique measured with area of the standardised bone defect after 6 months from the bio-material implantation. And the FIG.2 presents technique of optical density calculation of a compact bone (cortical bone) measured with a line.

Rabbit bone flexural strength tests have been performed in the Chair of Experimental Mechanics and Biomechanics in the Technical University in Krakow using the testing equipment "Instron" model 4465. A bone was supported on supports with spacing on 50 mm and load was applied with rate of 200 mm/min, in the direction of the bone natural compression. The tests have been performed in a room with temperature of 21°C, and relative humidity of 50%. Data have been registered with a 5000 N capacity measuring head and accuracy of up to 0.1 N.[6,7]

The study utilised a model with double point of support and loaded with a force focused in the middle, between the supports, determining the following functions:

D/Y - bone compression with maximal force [mm],

L/Y – maximal force in the study sample [kN],

E/Y - energy required to obtain the maximal force [J],

E - energy used for bone breaking [J],

S -(Slope) a function defining, what force has to be applied to obtain a bone compression of 1 mm [N/mm]. Results

Radiographic evaluation after 6 months of follow-up brought similar observations in all study groups, with minimal differences. Bone reconstruction in the group of bone grafts is not uniform, chaotic and there are phenomena of the graft resorption observed without reconstruction of a bone site. However, in all groups where a blend of bio-material with bone grafts was used with various ratios it was found that reconstruction id more harmonious. No significant differences were found that would indicate advantage of one study group in bone reconstruction of an artificially produced bone defect. In those groups also presence of resorption of the blend used for the implant was found, but it is no complete, contrary to the group with bone grafts.

One of the most modern imaging techniques used for evaluation of radiographs and determination of bone reconstruction is densitometry. In this study one of the systems of digital bone density measurement – "Digora", was used.

Analysis of bone density optical measurement was planned performing a linear measurement of not treated cortical bone layer comparing to the measurement of the area of a bone site filled with the blend of biomaterial with allogenous bone grafts in various ratios. No significant statistical differences were observed basing on the statistical analysis according to the ANOVA tests, Kruskal-Wallis rang, with p=0.81 for groups in which implant with allogenous bone and blend of bio-material with allogenous bone were used; and p=0.44 for the group where measurement of the cortical layer of intact (not operated) bone was performed. However, very significant features for bone reconstruction were found taking into account analysis of arithmetic means of optical densities for individual groups of implants in comparison to the cortical layer. In the group with blend of bone grafts with bio-ceramics in 1/2 ratio, and in the group with 2/3 of bio-ceramics and 1/3 of bone grafts approximately 15% lower optical density was found comparing to the optical density of cortical layer of the intact bone. An in the group,

234

.

Grupa badawcza Study group	Średnia Mean	Mediana Median	Min	Max	SD	
K50%	163	163	150	179	8.28	
KP	151	171	74	184	39.9	
K70%	163	183	123	191	32.5	
K30% 160 160 146 181 12.9						
ANOVA [df 27] F 0.32 p=0.81						

K50% - mieszanina w proporcji po \H przeszczepów kostnych jak i biomateria
ůu

blend in ratio of 50/50 bone grafts to bio-material

KP – przeszczepy kostne allogenne

allogenous bone grafts

K70% - mieszanina w proporcji 2/3 biomateriału i 1/3 przeszczepów kostnych

blend of 2/3 of bio-material and 1/3 of bone grafts

K30% - mieszanina w proporcji 1/3 biomateriału i 2/3 przeszczepów kostnych blend of 1/3 of bio-material and 2/3 of bone grafts

blend of 1/3 of bio-material and 2/3 of bone grafts

TABELA 1. Wartości gęstości optycznej mierzonej polem powierzchni implantu w analizowanych grupach pomiarowych.

TABLE 1. Optical density values measured with area of the implant in the analysed study groups.

mieszaniny biomateriału z kością allogenną; i p=0.44 ocenianą dla grupy gdzie stosowano pomiar warstwy korowej kości nienaruszonej (nieoperowanej). Natomiast biorąc pod uwagę analizę średnich arytmetycznych gęstości optycznej z poszczególnych grup implantów w porównaniu do warstwy korowej stwierdzono bardzo istotne cechy dla odbudowy/ przebudowy kości. W grupie z mieszaniną przeszczepów kostnych i bioceramiki w stosunku 1/2 oraz w grupie symbolizowanej jako 2/3 bioceramiki do 1/3 przeszczepów kostnych stwierdzono tylko o ok. 15% mniejszą gęstość optyczną w stosunku do gęstości optycznej warstwy korowej kości nienaruszonej. Natomiast w grupie gdzie zastosowano tylko przeszczepy kostne oraz mieszaninę 1/3 bioceramiki i 2/3 przeszczepów kostnych wartość ta była mniejsza o ok. 25% . Wyniki badań densytometrycznych dla poszczególnych grup wraz z podstawowymi statystykami przedstawiono w TABELACH 1 i 2.

W przeprowadzonych badaniach wytrzymałościowych analiza statystyczna wykazała, że znamienne statystycznie tylko są dwie funkcje (L/Y) - maksymalna siła w badanej próbie oraz funkcja (Slope) określająca jak dużą siłę należy przyłożyć do kości aby jej ugięcie wynosiło 1mm w [N/mm]. W porównaniu do przeprowadzonych wcześniejszych badań doświadczalnych ta funkcja jest prawdopodobnie najbardziej przydatną do analizy doświadczalnych badań wytrzymałościowych na zwierzętach w modelu z dwupunktowym podparciem [6, 7].

Na podstawie analizy statystycznej dla funkcji (Slope) przeprowadzonej testem ANOVA rang wg Kruskala-Wallisa stwierdzono statystycznie znamienne różnice pomiędzy kością z wytworzonym ubytkiem kostnym bez implantacji, w porównaniu do wszczepów mieszaniny biomateriału z przeszczepami kostnymi jak i samymi przeszczepami kostnymi p=0.001. Na podstawie analizy średnich arytmetycznych stwierdzono przyrost parametru Slope dla wszystkich grup badawczych w porównaniu do grupy z ubytkiem kostnym. Z przeprowadzonych badań wytrzymałościowych analiza statystyczna średnich arytmetycznych wykazała, ze w przypadku tego parametru określającego jak dużą siłę w[N/mm] należy przyłożyć do kości aby jej ugięcie wynosiło 1mm jest prawie 2,8 razy większa w grupach kości z implantami w stosunku do grupy kości z wytworzonym tylko ubytkiem kostnym. Pośrednio świadczy to o przebudowie implantu kostnego (mieszaniny kostnej z biomateriałem) i zwiększe-

Grupa badawcza Study group	Średnia Mediana Min Max SI Mean Median						
K50%	163	163	150	179	8.28		
KP	151	171	74	184	39.9		
K70%	163	163 183 123 191 32.5					
K30%	K30% 160 160 146 181 12.9						
ANOVA [df 27] F 0.32 p=0.81 K50% - mieszanina w proporcji po " przeszczepów kostnych jak i biomateriaůu blend in ratio of 50/50 bone grafts to bio-material KP – przeszczepy kostne allogenne							
allogenous bone grafts							
K70% - mieszanina w proporcji 2/3 biomateriału i 1/3 przeszczepów kostnych							
blend of 2/3 of bio-material and 1/3 of bone grafts							
K30% - mieszanina w proporcji 1/3 biomateriału i 2/3 przeszczepów kostnych							
blend of 1/3 of bio-material and 2/3 of bone grafts							

TABELA 2. Wartości gęstości optycznej korówkowej mierzonej pomiarem liniowym w analizowanych grupach pomiarów.

TABLE 2. Cortical optical density values measured with linear measurement in the analysed groups of measurements.

where only bone grafts and the blend of 1/3 bio-ceramics with 2/3 bone grafts were used, this value was app. 25% lower. Results of densitometric tests for individual groups, along with the basic statistical analysis are presented in TABLES 1 and 2.

In the performed strength tests the statistical analysis showed that just two functions are statistically significant: (L/Y) – maximal force in the study sample, and the (Slope)function defining the force to be applied to the bone to obtain a 1 mm compression [N/mm]. Comparing to the previous experimental studies, this function is probably the most useful for analysis of experimental strength tests on animals, utilising a model with double-point support [6, 7]. Basing on the statistical analysis for the (Slope) function performed with the ANOVA test with Kruskal-Wallis rang, statistically significant differences were found between a bone with produced bone defect and without implantation, comparing to the implants of biomaterial blend with bone grafts and the bone grafts alone, p=0.001. Basing on the

Grupa	Grupa						
badawcza	Średnia Mediana Mia May SD						
Study	Mean	Median	IVIIN	Max	50		
group							
K50/50	206	211	147	243	32.8		
KP	198	210	139	257	48.3		
K70	209	234	95	269	66.8		
K30	209	226	130	271	52.5		
Defect	74.6	78.6	51.7	83	11.6		
ANOVA [df 27] F 9,92 p=0.0	01					
K50% - miesz	K50% - mieszanina w proporcji po " przeszczepów kostnych jak i biomateriaůu						
blend in ratio of 50/50 bone grafts to bio-material							
KP – przeszczepy kostne allogenne							
allogenous bone grafts							
K70% - mieszanina w proporcji 2/3 biomateriału i 1/3 przeszczepów kostnych							
blend of 2/3 of bio-material and 1/3 of bone grafts							
K30% - mieszanina w proporcji 1/3 biomateriału i 2/3 przeszczepów kostnych							
blend of 1/3 of bio-material and 2/3 of bone grafts							
Ubytek- kość z wytworzonym ubytkiem kostnym bez implantowanych przeszczepów							
kostnych jak mieszaniny przeszczepów kostnych z biomateriałem							
Defect - bone with a produced bone defect, without implanted bone grafts nor blend							
of bone grafts with a bio-material							

TABELA 3. Wartości zmiennej SLOPE w zależności od grup badawczych.

TABLE 3. SLOPE variable values depending onthe study group.

niu odporności na zniszczenie kości.

Podsumowanie

Przedstawiane badania są nowatorskie, w napotkanej literaturze nie znaleziono podobnych badań doświadczalnych zarówno ocenie radiologicznej i biomechanicznej a przede wszystkim zastosowania mieszaniny biokomponentów jakim jest bioceramika nowej generacji wraz z allogennymi przeszczepami kostnymi.

Przedstawiane badania oraz wstępna ocena demonstrowanych wyników radiologicznych, densytometrycznych i biomechanicznych z okresu 6 miesięcznej obserwacji nie upoważniają nas do wyciągania ostatecznych wniosków. Badanie wymagają między innymi weryfikacji histopatologicznej, która jest w toku.

Natomiast można wstępnie konkludować, że zastosowana mieszanina biokomponentów jakimi jest bioceramika nowej generacji wraz z użytymi allogennymi przeszczepami kostnymi w różnych proporcjach prowadzi do wygojenia sztucznie wytworzonego ubytku kostnego kości promieniowej królika i potencjalnej przebudowy kości. analysis of arithmetic means, increase of the Slope parameter was found for all study groups, comparing to the group with bone defect. In the performed strength tests, the statistical analysis of arithmetic means showed that in case of this parameter defining what force, expressed in [N/mm] should be applied to the bone to achieve 1 mm compression, the force is almost 2.8-times larger in the groups of bones with implants comparing to the group of bones with bone defect produced. Indirectly the fact testifies for reconstruction of the bone implant (blend of bone with bio-material) and increased resistance to bone destruction.

Conclusion

The presented study is innovative. There are no similar experimental studies involving radiographic and biomechanical evaluation available in literature, and – what most important – there are nor previous studies on using the blend of bio-components in form of a new generation bio-ceramics with allogenous bone grafts.

The presented study and a preliminary evaluation of the presented radiographic, densitometric and biomechamical tests obtained after 6 months of follow-up do not authorise us to draw any final conclusions. The results have to be, among others, confirmed with histopathological methods, and those studies are under way.

We can, however, draw a preliminary conclusion that the applied blend of bio-components in form of the new generation bio-ceramics with allogenous bone grafts in various ratios leads to healing of an artificially produced bone defect of the rabbit radial bone and to potential bone reconstruction.

Piśmiennictwo

[1] Glancy G. L., Brugioni R. E., Eilert R. E., Chang F. M.: Autograft versus allograft for benign lesions in children. Clin. Orthop. Rel. Res. 1991; 262: 28 – 33.

[2] Laurie S. W., Kaban L. B., Mulliken J. B., Murray J. E. Donor - site morbidity after harvesting rib and iliac bone. Plast. Reconstr. Surg. 1984; 73: 933 – 938.

[3] Schwartz Z., Somers A., Mellonig J. T., Chapa J., Luna M., Carnes J. R. D. L., Cochran D. L., Dean D. D., Boyan B. D.: Ability of commercial demineralized bone allograft to induce bone formation is donor age – dependent but not gender – dependent. Trans. Orthop. Res. Soc. 1997; 22: 230.

[4] Niedzielski Kryspin.: Właściwości biologiczne i przydatność bioceramiki nowej generacji Sz2 w zabiegach rekonstrukcyjnych kości. Badania doświadczalne. Rozprawa habilitacyjna. UM w Łodzi 2004. ISBN 83-88940-81-3.

References

[5] Niedzielski K., Wilamski M., Synder M.: Bioceramika pochodzenia żelowego jako substytut kości (badania in vivo) – doniesienie wstępne. Część I. Badania histopatologiczne i radiologiczne. Chir. Narz. Ruchu i Ortop. Pol. 2002; 67 (4): 385 – 394.

[6] Niedzielski K., Synder M., Mazurkiewicz S., Łączka M., Cholewa-Kowalska K., Koktysz R.: Badania biomechaniczne nowej generacji ceramiki Sz2 jako materiałów kościozastępczych stosowanych w wypełnieniu ubytków kostnych wytworzonych doświadczalnie. Inżynieria Biomateriałów 2003; (28): 3 - 8.

[7] Niedzielski K., Synder M., Mazurkiewicz M.: The strenght test analyzis of bone filed with new generation bioceramics S2. SICOT/ SIROT 2002 XXII World Congress – San-Diego, CA, USA – 23 - 30 Sierpnia 2002: 11.

[8] Kryspin Niedzielski.: Właściwości biologiczne i przydatność bioceramiki nowej generacji Sz2 w zabiegach rekonstrukcyjnych kości. Badania doświadczalne. Rozprawa habilitacajna. Uniwersytet Medyczny w Łodzi 2004.

MATERIAŁÓW

236 WSPÓŁCZESNE KIEUNKI ROZWOJU KONSTRUKCJI ENDOPROTEZ STAWU BIODROWEGO

M. Gierzyńska-Dolna*, P. Lacki* J. Szyprowski**, H. Wiśniewska-Weinert***

* Politechnika Częstochowska

** WOJEWÓDZKI SZPITAL ZESPOLONY W CZĘSTOCHOWIE

*** Instytut Obróbki Plastycznej, Poznań

Streszczenie

W pracy podano podział panewek według różnych kryteriów. Omówiono ewolucję rozwiązań konstrukcyjnych i materiałowych układu ruchowego: głowapanewka. Zwrócono uwagę na nowe rozwiązania panewek endoprotez. Podano wyniki badań oporów tarcia występujące w różnych typach endoprotez oraz wyniki pomiarów tarcia na symulatorach.

Słowa kluczowe: endoprotezy stawu biodrowego, pary trące, biomateriały

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),236-241]

Wprowadzenie

Alloplastyka stawu biodrowego jest powszechnie stosowanym zabiegiem na Oddziałach Ortopedii i Chirurgii Urazowej. Rosnące zapotrzebowanie na zabiegi implantacji endoprotez stawu biodrowego jest spowodowane następującymi czynnikami:

- wydłużającym się okresem życia człowieka,

 niewłaściwym odżywianiem i rosnącą ilością osób z zaawansowaną osteoporozą.

PRESENT-DAY DIRECTIONS IN DEVELOPMENT OF THE HIP ENDOPROSTHESIS CONSTRUCTION

M. GIERZYŃSKA-DOLNA*, P. LACKI*

J. SZYPROWSKI**, H. WIŚNIEWSKA-WEINERT***

* CZĘSTOCHOWA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

- ** PROVINCE SPECIALISTIC HOSPITAL IN CZĘSTOCHOWA
- *** METAL FORMING INSTITUTE, POZNAŃ

Abstract

In the paper a division of acetabular cups according to the different criteria were given. Evolution in material and construction solutions of the motor system: head-acetabular cup was discussed. An attention was paid into the new solutions of endoprostheses cups. The test results of frictional resistance occurring in the different endoprostheses types and results of the tests carried out on the simulators were given.

Keywords: hip endoprostyheses, frictional pairs, biomaterials

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),236-241]

Introduction

Hip joint arthroplasty is a common operation at the Orthopaedic Surgery Departments. An increasing demand for implantation of the hip joints results from:

- longer and longer life span,

- improper nutrition and increasing amount of the people with advanced osteoporosis,

- growing amount of the car collisions, which result in bone-



 rosnącą ilością kolizji samochodowych, powodujących bardzo często urazy układu kostno-stawowego,

 niekorzystnymi warunkami klimatycznymi (długie zimy z opadami śniegu) i złym stanem dróg i chodników.

Przytoczone okoliczności sprawiają, iż z każdym rokiem rośnie ilość pacjentów wymagających implantacji endoprotezy. Wydłuża się także kolejka osób oczekujących na ten zabieg. Nie bez znaczenia jest także rosnąca ilość pacjentów wymagających zabiegu reimplantacji endoprotezy, po okresie 10-15 lat jej użytkowania.

Głównym powodem wykonywania zabiegu reimplantacji jest obluzowanie się komponenty endoprotezy (najczęściej panewki) bądź też jej zużycia.

Rosnące zapotrzebowanie na endoprotezy stawu biodrowego inspiruje ośrodki naukowo-badawcze do intensyfikacji prac mających na celu poprawienie jakości produkowanych endoprotez.

Podstawowe problemy, na których koncentrują się prace badawcze to:

- zwiększenie trwałości endoprotez,

 poprawienie funkcjonalności endoprotezy poprzez minimalizację oporów tarcia, i zmniejszenie "przesztywnienie" układu: "implant-kość",

- ograniczenie ilości powstających produktów zużycia,

- ułatwienie zabiegu implantacji i zapewnienie większej stabilności mocowania elementów endoprotez.

Ewolucja rozwiązań konstrukcyjnych układu ruchowego "głowa-panewka"

Układ ruchowy "głowa-panewka" stanowi podstawowy ele i trwałość endoprotezy. Dlatego też na tym węźle tarcia koncentrują się prace dotyczące endoprotez stawu biodrowego.

W okresie ponad 50-ciu lat stosowania endoprotez stawu biodrowego nastąpił znaczny postęp zarówno w konstrukcji układu ruchowego "głowa-panewka" jak też w konstrukcji trzpieni. Znacznie udoskonalony został także sposób mocowania elementów endoprotez, polegający na zastępowaniu mocowania cementowego przez mocowanie bezcementowe, tam gdzie to jest możliwe. Bezcementowy sposób mocowania elementów endoprotezy (obudowy panewki i trzpienia) wymaga odpowiedniego przygotowania powierzchni, poprzez wytworzenie warstwy porowatej ułatwiającej przerost tkanki kostnej. Najczęściej jest to natryskiwanie tytanu lub hydroksyapatytu.

Wieloletnie, również negatywne doświadczenia w stosowaniu panewek polietylenowych, odznaczających się małą odpornością na zużycie, spowodowały ukierunkowanie prac badawczych na optymalizację węzła tarcia. Jednym z powodów było stwierdzenie w badaniach klinicznych negatywnego oddziaływania produktów zużycia, głównie cząstek polietylenu, na zmiany występujące w obszarze okołowszczepowym. Problemy te omówiono m.in. w pracach [1,2,3,8,9]. Modyfikacja układu ruchowego "głowa-panewka" prowadzona jest w dwóch kierunkach:

- poszukiwania materiałów na elementy trące, zapewniających niskie opory tarcia i małe zużycie,

 - opracowaniu rozwiązań konstrukcyjnych, zapewniających łatwy i pewny sposób mocowania panewek endoprotez w miednicy kości biodrowej.

Na RYS.1. podano propozycję podziału panewek endoprotez stawu biodrowego ze względu na:

- cechy konstrukcyjne,

- sposób mocowania,

- rodzaj materiału.

Od wielu lat panewki endoprotez są wykonywane z polietylenu. Z biegiem czasu ulegała modyfikacji zarówno struktura articular injuries,

- adverse weather conditions (long snowy winter). In addition, the amount of people who need reimplantation of the endoprostheses, which have been used for 10-15 years, grows significantly. Loosening of the endoprosthesis

years, grows significantly. Loosening of the endoprosthesis elements (mostly acetabular cup) or their wear are the main reason for reimplantation.

The growing demand for hip endoprostheses inspires many scientific and research centres to work for improvement in endoprosthesis quality. The works concentrate on following problems:

- increase in endoprostheses durability,

- improvement in endoprosthesis functionalities by minimisation the frictional resistance and decrease in over-rigidity of the "implant-bone" system,

- limitation of the wear products,

- making reimplantation easier and assurance the better stability of endoprostheses clamping.

Evolution of construction of the motor system "head- acetabular cup"

The motor system "head-acetabular cup" is the basic element of the hip endoprosthesis. Frictional and wear resistance and in consequence endoprosthesis durability depend on construction of the frictional pair and material selection. Therefore many works on the hip endoprostheses concentrate on this frictional pair. In 50 years, when endoprostheses have been applied, a significant development in construction both the motor system "head- acetabular cup" and stems appeared. The way of fixation of the endoprosthesis elements was improved significantly. Cement fixation was replaced with cementless one, of course, if only it was possible. Cementless fixation of the endoprosthesis elements (cup casing and stem) needs a special preparation of the surfaces i.e. creation of the porous layer, which makes easier overgrowth of the bone tissue. It is made by spraying of the titanium or hydroksyapatite layers.

Many-years-long, also negative, experiences in application of the polyethylene cups cause that research are orientated at optimization of the frictional pair "head-acetabular cup". Polyethylene characterises low wear resistance. Unfortunately, polyethylene wear products very often affect inflammatory states in the implant surroundings. Such problems are discussed in [1,2,3,8,9]. Therefore, modification of the motor system: "head-acetabular cup" is headed for:

- search for materials characterising low frictional resistance and low wear,

- design such constructions, which gives easy but stable fixation of the cups in the pelvis.

FIGURE 1 presents a division of the acetabular cups according to:

- cup construction,
- fixation method,
- material kind.

Acetabular cups have been made of polyethylene for many years. In the course of time polyethylene structure and its properties were modified. At present ultrahigh density polyethylene UHMWPE (Chirulen, Durasul etc.) is applied commonly.

Endoprostheses heads are made as:

- metal heads (CoCrMo),
- ceramic heads (Al₂O₃).

The oldest polyethylene Weller's cups are mounted directly in the pelvis with bone cement. This kind of acetabular cups is still implanted at many orthopaedic divisions.

In FIGURE 2 two kinds of the polyethylene cups with and without (an older kind) a flange are shown [10].

238 polietylenu jak też jego własności. Obecnie powszechnie stosowany jest polietylen o dużej masie cząsteczkowej o symbolu UHMWPE znany pod nazwami firmowymi: Chirulen, Durasul, itp.

> Głowy endoprotez są wykonywane w dwóch wersjach materiałowych:

- jako głowy metalowe ze stopu CoCrMo,

- jako głowy ceramiczne (z ceramiki korundowej Al₂O₂)

Najstarsze panewki polietylenowe typu Wellera (jednolite) były mocowane za pomocą cementu kostnego, bezpośrednio w miednicy kości biodrowej. Ten typ panewek, implantowany jest jeszcze obecnie w wielu oddziałach ortopedycznych. Na RYS.2a,b pokazano dwa typy panewek polietylenowych bez kołnierza (starszy typ) i z kołnierzem [10].

Kolejne prace dotyczące modernizacji układu ruchowego "głowa – panewka" doprowadziły do zastosowania panewek tzw. modułowych, składających się z metalowej obudowy i wymiennych wkładek. Wkładki stanowiące element pary trącej wykonywane są z polietylenu, lub ceramiki korundowej Al₂O₂. Istotną zaletą tego rozwiązania jest bezcementowe mocowanie panewki endoprotezy. W tym celu metalowe obudowy wykonywane są najczęściej ze stopu tytanu z powierzchnią porowatą. Stosowane są dwa rozwiązania mocowania tytanowych obudów panewek: z gwintowaną powierzchnią bądź też obudową mocowaną na wcisk (tzw. press-fit). Na RYS. 3 i 4 pokazano najczęściej stosowane rozwiazania panewek modułowych: firmy Asculap [11,12] oraz firmy BIOMET[13].

Ciekawym rozwiązaniem panewek modułowych firmy BIO-MET jest to, iż ceramiczna wkładka jest mocowana w metalowej obudowie poprzez pośrednią wkładkę polietylenową. Polietylenowa wkładka pośrednia spełnia w tym przypadku rolę "amortyzatora" obciążeń.

Panewki modułowe współpracują z głowami metalowymi (CoCrMo) lub ceramicznymi. Mamy tu, zatem parę trącą typu: polietylen - CoCrMo lub "ceramika-ceramika". Główną zaletą pary trącej "ceramika-ceramika" jest to, iż zostały tu wyeliminowane cząsteczki polietylenu jako produkty zużycia. Zużycie pary trącej "ceramika-ceramika" jest znacznie niższe od zużycia występującego w parze trącej typu: "polietylen-metal". Natomiast wadą układu "ceramika-ceramika" jest większa sztywność układu, co wynika z faktu, iż moduł Younga ceramiki Al₂O₃ wynoszący 3.8 GPa jest wielokrotnie wyższy od modułu Younga kości. Duża różnica modułów sprężystości implantów i kości może mieć wpływ na wartość naprężeń występujących w układzie "implant-kość"

W rozwiązaniach panewek modułowych spotyka się również propozycję wkładek metalowych, jak np. panewka firmy



RYS.3. Panewka modułowa firmy Aesculap z wkładką ceramiczną [11,12].

MATERIALOV

FIG. 3. The modular cup with a ceramic insert of Aesculap firm [11,12].

RYS 4. Panewka modułowa firmy Biomet Merck z wkładką ceramiczną i polietylenowa [13].

FIG.4. The modular cup with the ceramic and polyethylene inserts of Biomet Merck firm[13].



RYS.2. Panewki polietylenowe typu Wellera, a) bez kołnierza, b) z kołnierzem [10]. FIG.2. Polyethylene Weller's cups with and without a flange [10].

Successive works on modernisation of the motor system "head-acetabular cup" result in application of the modular cups, which consist of the metal casing and replaceable inserts. The inserts are made of polyethylene and Al₂O₃ corundum ceramics. Cementless fixation of the cups is the essential advantage of this solution. To that end metal casings are mostly made of titanium alloy having porous layer. Two fixation methods of titanium casings are used: with a screwed surface or with negative allowance (socalled press-fit). FIGURES 3 and 4 show the most often applied solutions of the modular cups. The ceramic insert fixed in metal casing by the intermediate polyethylene insert (modular cups - BIOMET [13]) seems to be a very interesting solution as the polyethylene insert plays a role of the shock absorber.

Modular cups collaborate with the metal (CoCrMo) or ceramic heads so we deal with the following frictional pairs: "polyethylene - CoCrMo" or "ceramics-ceramics". Elimination of polyethylene debris is the main advantage of the "ceramics-ceramics" pair. Wear of such a pair is much less than wear occurring in the "polyethylene-metal" pair. However higher ridigity of the "ceramic-ceramic" pair is a significant disadvategeous. Young's modulus of Al₂O₂ ceramics is 3,8GPa and is much higher than the bone one. High difference between Young's modulus of the implant and bone can affect stresses in 'implant-bone" system.

Among the modular cups there are also metal inserts i.e. cups of the METALOCK or BIOMET MERCK firms. The metal insert is fixed directly in metal casing via the polyethylene insert. The inner part of the metal cup, which is made of CoCrMo alloy, collaborates with metal head, which is also made of CoCrMo alloy. In FIG.5, for example, "headacetabular cup" system of "metal-metal" type is shown.

Similar solutions basing on the "metal-metal" pair are also proposed by the other firms. Now it is difficult to answer in clear-cut way which solution: "ceramics-ceramics" or "metalmetal" is more favourable. Only results of the distant clinical tests can give the answer.

Striving for decrease in frictional resistance and increase in mobility of the joints some firms crate new solutions of the cup construction so called "double mobility acetabular cups". FIG.6 illustrates the double mobility acetabular cup of the BIOMET firm.



FIG.6. Double mobility acetabular cup of the BIO-MET firm [16].

METALOCK lub panewki firmy BIOMET MERCK. W tym ostatnim rozwiązaniu metalowa wkładka jest mocowana w obudowie metalowej za pośrednictwem wkładki polietylenowej. Metalowa panewka wewnętrzna wykonana ze stopu CoCrMo współpracuje z głową metalową wykonaną również ze stopu CoCrMo. Mamy wówczas parę trącą typu "metal-metal".

Przykłady rozwiązań układu głowa-panewka typu "metalmetal" pokazano na RYS.5.

Podobne rozwiązania bazujące na parze trącej typu "metalmetal" proponują również inne firmy.

Na obecnym etapie trudno jest dać jednoznaczną odpowiedź na pytanie które z proponowanych rozwiązań par trących: ceramika-ceramika, czy też "metal-metal" jest bardziej korzystne. Wykażą to dopiero odległe wyniki badań klinicznych.

W dążeniu do obniżenia oporów tarcia i zwiększenia ruchomości stawów kilka firm opracowało nowe rozwiązania panewek pod nazwą "głowo-panewki". Są to panewki o tzw. podwójnej ruchomości. Przykład głowo-panewki firmy BIOMET ilustruje RYS.6.

Zaletą tego rozwiązania panewek jest nie tylko zwiększenie ruchomości stawu i zmniejszenie zużycia, ale także większą łatwość przeprowadzenia zabiegów rewizyjnych. Głowo-panewki, o różnych rozwiązaniach konstrukcyjnych są produkowane w wersji cementowej i bezcementowej.

Nowe rozwiązania panewek endoprotez stawu biodrowego

Nowym kierunkiem badań, realizowanych również w kraju jest zastosowanie panewek z proszków spiekanych. Badania prowadzone przez zespół na Politechnice Białostockiej [6] miały na celu opracowanie panewek spiekanych z proszku CoCrMo. Badano wytworzone materiały kompozytowe na bazie spieków z proszków CoCrMo typu Vitalium z 10% udziałem modyfikatora. Stwierdzono, że dobre własności mechaniczne posiada kompozyt na bazie stopu CoCrMo z 10% dodatkiem pirofosforanu wapnia. Wprowadzenie jako dodatku: węglika boru i azotku krzemu nie dało oczekiwanych wyników w sensie obniżenia współczynnika tarcia. Należy

sądzić, iż prace te będą dalej kontynuowane. Innym kierunkiem badań mającym na celu poprawę warunków tarcia i smarowania w węźle trącym "głowa-panewka" była modyfikacja chropowatości wewnętrznej powierzchni Apart from the increase in joint mobility and decrease in wear, such a cup makes the revision operation much easier. Double mobility acetabular cups with different construction are produced as the cement and cementless versions.

New solutions of the acetabular cups

An application of the cups made of sintered powder is a new direction in research (also in our country).

Research carried out at the Technical University of Białystok [6] aimed at elaboration of the sintered acetabular cups made from CoCrMo powder. Composite materials basing on the sinters made from CoCrMo (Vitalium) with 10% of modifier. It was stated that composite basing on CoCrMo alloy with 10% of calcium pyrophosphate characterised good mechanical properties. Additives such as: boron carbide and silicon nitride did not decrease the frictional coefficient. It seems that research should be carried on.

Another attempt to improve frictional conditions in the frictional pair "head-acetabular cup" is modification in roughness of the inner surface of the polyethylene cup by heat treatment. The authors [7] carried out the heat treatment of UHMWPE polyethylene in medical oil at temperature of 125 – 150°C. As a result a porous structure of the polyethylene surface was obtained, what improved tribological conditions significantly. On the other hand polyethylene mechanical properties (compression strength) decreased.

The research carried out at Częstochowa University of Technology, within the framework of research project No7T08C03809 [5], showed that ion implantation into UH-MWPE surface caused the decrease in frictional coefficient and increase in wear resistance. In FIGs. 7 and 8 the test results of tribological properties of the polyethylene which



RYS.7. Wpływ implantacji jonów na wsp. tarcia polietylenu UHMWPE [5]. FIG.7. An influence of ion implantation into UHMW-

PE polyethylene on frictional coefficient [5].



RYS.8. Wpływ implantacji jonów na zmniejszenie polietylenu UHMWPE [5]. FIG.8. An influence of ion implantation into UHMW-PE polyethylene on decrease in wear [5].



panewki polietylenowej poprzez obróbkę cieplną. Autorzy pracy [7] przeprowadzili obróbkę cieplną polietylenu UHMW-PE w oleju medycznym w temperaturze 125–150°C W wyniku tej obróbki uzyskano porowatą strukturę powierzchni polietylenu, co poprawiło warunki tribologiczne w węźle tarcia. Obniżyły się natomiast własności mechaniczne (wy-trzymałość na ściskanie) polietylenu.

Badania prowadzone w Politechnice Częstochowskiej [5] nad implantacją jonów w powierzchnię UHMWPE dały korzystny efekt w sensie obniżenia współczynnika tarcia i odporności na zużycie. Na RYS.7,8 przedstawiono wyniki badań prowadzonych w Politechnice Częstochowskiej nad modyfikacją własności tribologicznych polietylenu poprzez implantację jonów B, N, C, Ar. Implantację jonów przeprowadzono w Instytucie Fizyki Jądrowej w Krakowie.

Jak to wynika z przeprowadzonych badań, najlepsze efektu uzyskano poprzez implantację UHMWPE jonami boru.

Wyniki badań tribologicznych biomateriałów prowadzonych przez różne ośrodki

Dużo informacji o proponowanych rozwiązaniach układu "głowa-panewka" mogą dostarczyć badania na symulatorach. Na RYS.9 zestawiono wartości współczynników tarcia dla różnych typów endoprotez wg. badań R.M. Halla i A. Unswortha [8].

Z przeprowadzonych badań wynika, iż wartości współczynnika tarcia w endoprotezach z panewkami polietylenowymi zawarte są w granicach μ = 0.03-0.069. Najwyższe opory tarcia zarejestrowano w endoprotezach Mc Kee-Farrary, dla których μ =0.08-0.25. Pomimo wysokich oporów tarcia ten typ endoprotez oceniany był przez wielu lekarzy pozytywnie. Na RYS.10 zestawiono wyniki pomiarów współczynnika tarcia dla układu "głowa-panewka", prowadzonych przez różne ośrodki.

Z dokonanego zestawienia wynika, iż do korzystnych par trących można zaliczyć:

- CoCrMo – UHMWPE,

 $- Al_2O_3 - Al_2O_3$

Nowe propozycje zastosowania porowatych materiałów spiekanych wymagają jeszcze dalszych badań.

Wnioski

1. O trwałości endoprotez decydują procesy zużycia występujące w układzie: głowa-panewka oraz stabilność mocowania panewki i trzpienia.

2. Korzystną parą trącą jest układ Al₂O₃-Al₂O₃ pod warunkiem zastosowania amortyzującej wkładki z polietylenu.

3. Za przyszłościowy kierunek badań należy uznać pracę nad zastosowaniem porowatych materiałów spiekanych na jeden z elementów pary trącej.





was implanted with B,N,C,Ar ions are presented. Ion implantation was carried out at Institute of Nuclear Physics, Kraków.

According to the tests the best results were obtained for the implantation with boron ions.

The results of tribological tests carried out with biomaterials at different research centres

It is possible to obtain much information on the proposed solutions of the "head-accetabular cup" system from the tests carried out on the simulators. In FIG.9 values of the frictional coefficients for different type of endoprostheses according to the tests carried out by R.M. Hall and A. Unsworth [8] are presented.

According to the tests frictional coefficient for the endoprostheses with polyethylene cups is μ =0.03-0.069. The highest frictional resistance were registered for Mc Kee-Farrary endoprostheses i.e. μ =0.08-0.25. Despite this fact many doctors assessed these endoprostheses positively. In FIG. 10 the frictional coefficients measured for the "head-acetabular cup" system by different canters are put together.

According to the FIGURE it can be stated that good results were obtained for the: CoCrMo – UHMWPE, $AI_2O_3 - AI_2O_3$ pairs.

The proposal of application of sintered porous materials for frictional elements of endoprostheses needs further tests.

Results

1. Both wear processes occurring in "head - acetabular cup" system and stability of fixation of the acetabular cups and stems affect endoprostheses durability.

2. Al_2O_3 - Al_2O_3 system seems to be a favourable frictional pair on condition that the absorbing polyethylene insert will be applied.

3. Works on the application of porous sintering materials as one element of the frictional pair seems to be a very interesting and future direction of the research.

References

Piśmiennictwo

[1] Gierzyńska-Dolna M.: Biotribologia. Wyd. Polit. Częst. Czestochowa, Poland, 2002

[2] Gierzyńska-Dolna M.: Tribological problems in natural and artificial humans' joints. Inżynieria Biomateriałów 1997, No1

[3] Chmielewski D., Górecki A.: Immunologiczne i mechaniczne aspekty obluzowania endoprotez stawu biodrowego. Inżynieria Ortopedyczna i Protetyczna 1999, Białystok

[4] Lacki P., Adamus J., Jałbrzykowski M.: Charakterystyki tribologiczne par kinematycznych stosowanych w endoprotezach stawu biodrowego. Tribologia 2005, No 3

[5] Multi-author work edited by Gierzyńska-Dolna M.: Optymalizacja doboru materiałów i obróbki powierzchniowej niektórych endoprotez narządów ruchu człowieka w oparciu o badania tarciowo-zużyciowe. Report of the research projekt 7T08C03809 (unpublished material)

[6] Grądzka-Dahlke M., Dąbrowski J. R.: Ocena własności kompozytu na bazie stopu implantacyjnego CoCrMo. Inżynieria Biomateriałów 2004, No 38-42

WPŁYW ZASTOSOWANYCH PŁYNÓW DO ZARABIANIA PROSZKU O SKŁADZIE: αTCP-DCPD NA WŁAŚCIWOŚCI FIZYCZNE I BIOZGODNOŚĆ OTRZYMYWANYCH CEMENTÓW KOSTNYCH

Joanna Karaś*, Stanisław Pielka*, Danuta Paluch*, Lidia Ciołek*, Stanisław Traczyk*

^{*}Instytut Szkła i Ceramiki, Zakład Bioceramiki ^{**}Zakład Chirurgii Eksperymentalnej i Badania Biomateria-Łów, Akademia Medyczna we Wrocławiu e-mail: bioceramika@neostrada.pl

Streszczenie

Praca przedstawia wyniki badań cementów wapniowofosforanowych otrzymanych z komponentu o składzie αTCP-DCPD i płynów do jego zarabiania w postaci wody lub wodnych roztworów polimerów naturalnych lub innych substancji organicznych. Określono właściwości fizyczne cementów jak czas wiązania, wytrzymałość na ściskanie, jak i oceniono ich zarabialność, podatność na iniekcję i integralność w SBF. Przeprowadzono badania cytotoksyczności w bezpośrednim kontakcie z fibroblastami mysimi. Wykazano istotny wpływ płynów na właściwości fizyczne i biozgodność otrzymanych cementów. [Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),241-245]

Wprowadzenie

Konieczność zastąpienia utraconej tkanki kostnej z powodu chorób układu kostnego takich jak reumatyzm i osteoporoza oraz tworzenia się cyst i nowotworów lub też urazów, wymaga stosowania materiałów syntetycznych. Przedmiotem szczególnego zastosowania są cementy wapniowofosforanowe, które łączą wysoką biozgodność i bioaktywność z możliwością szczelnego wypełnienia ubytków o nieregularnych kształtach [1,2,3].

W ISiC opracowano szereg cementów wapniowofosforanowych otrzymanych na bazie fosforanów krystalicznych

....

[7] Pincuk L.S., Tsvetkowa J.A. et.al.: A frictional material for endoprostheses with cartilage – simulating structure. Friction and Wear, 1995, No16

[8] Hall R.M., Unsworth A.: Review Frictional in hip prostheses. Biomaterials, 1997, No 18 pp. 1017-1026

[9] Unsworth A., Hall R.M. et.al.: Frictional resistance of new and explanted artificial hip joints. Wear, 1995, No 190 pp. 226-231

[10] Charnley acetabular componets of the THACKRAY Firm [11] Aesculap: The modular ceramic bearing No 0-132-02

[12] Aesculap: Plasmacup SC No 0-147

[13] Modular cup system RingLoc, Firm BIOMET-MERCK, 2000 [14] Metal on metal articulation firm BIOMET-MERCK FLH 094 [15] http://www.mathysmedical.com

[16] AVANTAGE ACETABULUM SYSTEM, Firma BIOMED, www. biomet.fr

INFLUENCE OF LIQUIDS USED IN MIXING αTCP-DCPD POWDER ON PHYSICAL PROPERTIES AND BIOCOMPATIBILITY OF THE OBTAINED BONE CEMENTS

JOANNA KARAŚ', STANISŁAW PIELKA", DANUTA PALUCH", LIDIA CIOŁEK', STANISŁAW TRACZYK'

*INSTITUTE OF GLASS AND CERAMICS, DEPARTAMENT OF BIOCER-AMICS,

[™] DEPARTMENT OF EXPERIMENTAL SURGERY AND BIOMATERIALS RESEARCH, MEDICAL UNIVERSITY IN WROCŁAW BIOCERAMIKA@NEOSTRADA.PL

Abstract

The paper presents results of research on calcium-phosphate cements obtained from α TCP-DCPD component and liquids used in cement mixing, such as water or aqueous solutions of natural polymers or other organic substances. Physical properties of cements such as: setting time, compressive strength have been determined and also their workability, injectability and integrity in SBF. Analysis of cytotoxicity in immediate contact with mouse fibroblasts has been performed. It was demonstrated that liquids significantly affect physical properties and biocompatibility of the obtained cements.

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),241-245]

Introduction

In case of replacement of tissue lost as a result of the skeletal system illnesses, such as rheumatism and osteoporosis, and in case of cysts and tumours or injuries, it is necessary to use synthetic materials. Application of calcium phosphate cements is of significant importance as they combine biocompatibility and bioactivity with the possibility to fill tightly irregularly shaped defects [1,2,3]. In ISiC many calcium-phosphate cements were obtained on the basis of crystalline phosphates, produced in high-temperature processes, as well as in precipitation from aqueous solutions. From among many cements developed from various powder components and with different liquids applied, we have chouzyskanych w procesach wysokotemperaturowych, jak i w procesach strącania z roztworów wodnych. Spośród wielu cementów opracowanych z różnych komponentów proszkowych, jak i przy zastosowaniu różnych płynów wybrano osiem, które zostały poddane badaniom cytotoksyczności w Akademii Medycznej we Wrocławiu. Większość badanych cementów nie wykazywała działania cytotoksycznego na fibroblasty mysie3T3 Balb/C zarówno po 24 h, 48h, jak po 72h. Natomiast cement C otrzymany z komponentu aTCP-DCPD zarabianego roztworem wodnym cytrynianu sodu wykazywał po 72h słabe do umiarkowanego działanie cytotoksyczne. Celem prezentowanych badań była ocena możliwości poprawy biozgodności cementu uzyskanego z w/w komponentu poprzez zastosowanie jako płynu do jego zarabiania wody lub wodnych roztworów polimerów naturalnych jak i wodnych roztworów innych substancji organicznych pochodzenia naturalnego.

Materiał

Przygotowano komponent proszkowy o składzie α-TCP 90%wag. i DCPD 10%wag. Głównym składnikiem była więc odmiana wysokotemperaturowa trójwapniowego fosforanu /αTCP/ otrzymana w warunkach ISiC w wyniku spiekania mieszaniny CaHPO₄ i CaCO₃ w stosunku molowym Ca/ P=1,5. W celu identyfikacji faz otrzymanego produktu spiekania wykonano badania dyfrakcji rentgenowskiej. Ponadto komponent proszkowy cementu zawierał dwuwapniowy fosforan dwuwodny /DCPD/.

Do zarabiania komponentu α TCP-DCPD w proporcji 3g proszku/1ml płynu zostały zastosowane płyny przedstawione w Tabeli 1.

Metody

Czas wiązania cementów

Końcowy czas wiązania był mierzony techniką igłową w temperaturze 37°C.

Wytrzymałość na ściskanie cementów

Po związaniu cementy były przetrzymywane w roztworze Ringera. Po upływie 24 h próbki cementów o średnicy 4 mm i wysokości 6 mm poddano ściskaniu przy użyciu uniwersalnej maszyny wytrzymałościowej (Lloyd LR 10K) z szybkością posuwu głowicy 0,7mm/min aż do zniszczenia. Wytrzymałość na ściskanie, *C*, w megapaskalach, obliczono

Wytrzymałość na ściskanie, *C*, w megapaskalach, obliczon stosując równanie:

$$C = \frac{4P}{\pi d^2}$$

gdzie: *P* - maksymalna przyłożona siła, w niutonach; *d* - zmierzona średnica próbki, w milimetrach.

Ocena zarabialności cementów oraz ich podatność na iniekcję i integralność w środowisku symulowanego płynu fizjologicznego (SBF)

Ocenę podatności na podawanie iniekcyjne cementów wykonywano bezpośrednio po ich zarobieniu. Cementy przenoszono z płytki szklanej do odpowiednich strzykawek, z których wytłaczano je pod naciskiem ręcznym. Każdorazowo wyjściowa objętość cementów poddawanych iniekcji wynosiła 2 ml. Świeżo zarobione cementy podawano iniekcyjnie do szalek Petriego z płynem SBF i poddawano materiał ocenie wizualnej pod kątem integralności.

Badania cytotoksyczności metodą bezpośredniego kontaktu cementów z fibroblastami mysimi

Próbki do badania cytotoksyczności były przygotowane w formie krążków o średnicy 10mm i wysokości 1,5 mm

sen eight, which were subjected to cytotoxic evaluation in the Medical University in Wrocław. Most of the investigated cements did not show cytotoxic effect on 3T3 Balb/C mouse fibroblasts after 24, 48 and 72 hours. However, cement C, obtained from α TCP-DCPD component mixed with aqueous solution of sodium citrate, showed after 72 hours weak to moderate cytotoxicity.

The aim of the presented research was to assess possibilities of improving biocompatibility of cement obtained from the above mentioned component, mixed with water or aqueous solutions of natural polymers and other organic substances.

Materials

A powder component was prepared, for which mass fraction of α -TCP was 90% and of DCPD - 10%. Thus, the main component was a high-temperature form of tricalcium phosphate / α -TCP/, obtained in ISiC conditions as a result of sintering of CaHPO₄ and CaCO₃ in a Ca/P=1.5 mole ratio. To identify phases of the obtained product of sintering, an X-ray diffraction has been performed. In addition, the powder component of cement contained dicalcium phosphate dihydrate /DCPD/.

The liquids, which are presented in Table 1, have been used to mix component α TCP-DCPD in 3g powder/1 ml liquid ratio.

Methods

Setting times of cements

The final setting time was measured by needle technique at a temperature of 37°C.

Compressive strength of cements

After setting, cements have been stored in Ringer's solution. After 24 hours cement samples of 4 mm in diameter and 6 mm high were compressed with mechanical testing apparatus (Lloyd LR 10K) with head feed rate of 0.7mm/min until fracture. Compressive strength, C in megapascals, has been calculated using the equation:

$$C = \frac{4P}{\pi d^2}$$

tres

where: P - maximum applied force, in newtons

d - measured diameter of the sample, in millime-

Evaluation of cement workability and injectability and integrity in simulated body fluid (SBF)

Evaluation of cement injectability was performed immediately after mixing them. Cements have been transferred from glass plates to appropriate syringes, from which they have been pumped out by hand. Every time, the initial volume of cements injected was 2 ml. Freshly mixed cements have been injected onto Petrie plates with SBF liquid and the integrity of the material was visually evaluated.

Test for cytotoxicity by means of immediate contact of cements with mouse fibroblasts

Samples for analysis of cytotoxicity were prepared as disks of 10 mm in diameter and 1.5 mm high and were subjected to radiation sterilization. Test was carried out in the Department of Experimental Surgery and Biomaterials Research MU in Wrocław in accordance with PN-EN ISO 10993 "Biological evaluation of medical products" Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. Test was carried out by means of immediate contact of cement samples with monolayer culture of cells, on 3T3/ Balb mouse fibroblasts received form the Bank of Tissues of the Institute of Immunology and Experimental Therapy in

i poddane sterylizacji radiacyjnej. Badania wykonano w Zakładzie Chirurgii Eksperymentalnej i Badania Biomateriałów AM we Wrocławiu zgodnie z PN-EN ISO 10993 "Biologiczna ocena wyrobów medycznych. Part 5: Badania in vitro cytotoksyczności". Badania przeprowadzono przez bezpośredni kontakt próbek cementów z jednowarstwową hodowla komórek fibroblastów mysich 3T3/Balb otrzymanych z Banku Tkanek, Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu. Hodowlę komórek prowadzono w płynie hodowlanym Eagle'a z dodatkiem 10% inaktywowanej (30 min, 56°C) surowicy cielęcej oraz 100 j/ml penicyliny, 100µg/ml streptomycyny i 2mM/ml Lglutaminy w temp. 37°C, w atmosferze 5% CO₂. Komórki przeszczepiano stosując roztwór 0,05% trypsyny z 0,02% EDTA w PBS, o pH 7,2. Komórki fibroblastów mysich zostały założone na płytkach Petriego, w ilości 0,5 x 106 na każdej. Po 24 godzinach komórki przykleiły się do podłoża i podzieliły, pokrywając około 60% powierzchni płytki. Po tym czasie pożywkę hodowlaną usunięto, a do każdego z naczyń dodano nowe medium. Na hodowle komórkowe nałożono próbki materiałów i inkubowano w temp. 37°C, w atmosferze 5% CO₂. Każdy materiał oceniano w 3 powtórzeniach.

Zmiany ilościowe i morfologiczne, po kontakcie z badanymi materiałami oceniono po 24, 48 i 72 h w odwróconym mikroskopie kontrastowo-fazowym. W celu określenia ilości martwych komórek zastosowano barwienie błękitem trypanu. Stopień toksyczności badanych cementów oceniono na podstawie zmian w morfologii komórek, ich przeżywalności i zdolności do proliferacji.

Wyniki i dyskusja

Wyniki oznaczania czasu wiązania, wytrzymałości na ściskanie i ocenę zarabialności, podatności na iniekcję cementów otrzymanych na bazie komponentu proszkowego aTCP-DCPD do płynu SBF oraz integralności w tym środowisku przedstawia TABELA 1.

Na ich podstawie można stwierdzić, że zastosowanie roztworów wodnych alginianu sodu znacząco wydłuża czas wiązania otrzymanych cementów, co notuje się szczególnie dla tych zarabianych roztworami 0,3 - 0,5% m/m alginianu sodu. Jednocześnie notuje się spadek wytrzymałości na ściskanie. Podobną zależność, jeśli chodzi o wytrzymałość na ściskanie, zauważa się dla cementów zarabianych wodnymi roztworami dekstranu sodu. Im wyższe jest stężenie dekstranu sodu, tym niższa jest wytrzymałość na ściskanie. Tym Wrocław. The cells had been kept in Eagle's medium with additional 10% of inactivated (30 min, 56°C) calf serum and 100j/ml of penicillin, 100 µg/ml of streptomycin and 2 mM/ml of L-glutamine at 37°C, in 5% concentration of CO₂. Cells had been grafted using 0.05% solution of trypsin with 0.02% EDTA in PBS, 7.2 pH. The cells of mouse fibroblasts had been put on Petrie plates, 0,5 x 10⁶ on each. After 24 hours cells sticked to the substrate and divided, covering approximately 60% of plate surface. After this time, culture medium was removed, and new medium was added to each plate. Samples of material were put on cells cultures and incubated at 37°C, in 5% concentration of CO₂. Evaluation of each material was performed 3 times.

Changes in quantity and morphology, after contact with the investigated materials, were evaluated after 24, 48 and 72 hours by reversed contrast phase microscope. To determine quantity of dead cells, we used trypan blue. Determination of toxicity level of the investigated cements was based on changes in cell morphology, their survival rate and proliferation abilities.

Results and discussion

Results of determination of setting time, compressive strength and evaluation of workability, injectability and integrity of cements based on powder component α TCP-DCPD in SBF liquid are presented in TABLE 1.

On the basis of the above results, it can be concluded that application of solutions of sodium alginate considerably extends setting time of the obtained cements, which was noted especially in case of these obtained from 0.3 - 0.5% m/m solutions of sodium alginate. At the same time, decrease in compressive strength is observed. A similar relation, in regard to compressive strength, was noticed for cements mixed with aqueous solutions of sodium dextrane. The higher the concentration of sodium dextrane, the lower compressive strength. This time, however, the setting time is shorter. Comparable correlations, as with solutions of sodium alginate, were noted for cements mixed with aqueous solutions of chitosan lactate. Along with higher concentration of this substance in solution, longer setting time of cement and lower compressive strength is observed. Particular attention was given to cements obtained from 0.1% m/m aqueous solution of glycerine. Longer setting time was noted in comparison to cement mixed with water, and at the same time compressive strength stayed on the same level.

Rodzaj płynu Type of liquid	Stężenie, Concen- tration, [% m/m]	Czas wiązania Setting time, [min]	Wytrzymałość na ściskanie Compression resistance, [MPa]	Uwagi o zarabianiu i podawaniu iniekcyjnym cementu do SBF Remarks to mixing and injection of cement into SBF.
Roztwór wodny cytrynianu	30.0	17'10"	40.18	Łatwa zarabialność i podatność na iniekcję
Aqueous solution of sodium citrate	00,0		10110	Easy workability, after pumping out, washes out in SBF
H ₂ O		11'00"	53.50	Easy workability and injectability
	0.50	> 60'	44.70	Po wymieszaniu składników bardzo płynny cement
	0.50	>00	41.70	After mixing of components, very easily flowing cement
Roztwory wodne alginianu sodu	0.30	33'00"	46.01	Po wymieszaniu składników bardzo płynny cement
Aqueous solution of sodium alginate		00.00	40.01	After mixing of components very easily flowing cement
	0.05	25'10"	47.22	Cement nie rozlewa się / After mixing of components does not spread
	0.01	22'00"	54.75	Łatwa zarabialność / Easy workability
Roztwory wodne dekstranu sodu	10,0	17'40"	40.70	Cement zbyt płynny / Very easy workability
	2,0	19'00"	48.84	Bardzo łatwa zarabialność / Easily flowing cement
Aqueous solution of sodium dextrane	0.01	20'30"	61.50	Bardzo łatwa zarabialność i podatność na iniekcję / Very easy workability and injectability
Roztwory wodne mleczanu chitozanu	0.050	45'00"	47.47	Łatwa zarabialność / Easy workability
	0.025	40'00''	57.90	Łatwa zarabialność / Easy workability
Aqueous solution of chilosali lactate	0.010	25'20"	52.92	Łatwa zarabialność / Easy workability
Roztwory wodne gliceryny	1.0	34'00"	59.10	Łatwa zarabialność / Easy workability
Aqueous solution of alvcerine	0.1	21'20"	54.93	Łatwa zarabialność i podatność na iniekcję / Easy workability and injectability

TABELA 1: Właściwości fizyczne cementów otrzymanych z komponentu α TCP-DCPD z różnymi płynami. TABLE 1: Physical properties of cements obtained from α TCP-DCPD with different liquids. MATERIAŁÓW
744

)	•	•	•	۰	

Doromote	Czas badania,	Symbol badanego materiału Tested material symbol					
Parametr Parameter		Cement	Control	Cement		Cement	Control
	Test time, h	C -w	Control	C – 0,1 gl	Control	С	Control
	24	n. f.*	n. f.*	n. f.*	n. f.*	n. f.*	n. f.*
Zmiany morfo- logiczne Changes in morphology	48	n. f.*	n. f.*	strefa zahamowania wzrostu, komórki obkurczone wokół próbki Zone of inhibited growth, contracted cells around the sample	n. f.*	n. f.*	n. f.*
	72	n. f.*	n. f.*	strefa zahamowania wzrostu, komórki obkurczone wokół próbki Zone of inhibited growth, contracted cells around the sample	n. f.*	 15% komórek obkurczonych, odkle- jonych od podłoża, aglutynacja 15% of cells contracted, coming unstuck off substrate, agglutination 	n. f.*
	24	0,7±0,03	0,72±0,01	0,66±0,04	0,72±0,01	0,74±0,03	0,76±0,03
Gęstość	48	0,86±0,02	1,1±0,17	0,76±0,01#	1,1±0,17	1,2±0,1	1,24±0,15
komórek Cell density ml x 10 ⁶	72	1,1±0,1	1,3±0,1	0,98±0,04**	1,3±0,1	1,9±0,05	2,0±0,07
Komórki	24	0	0	0	0	0	0
martwe Dead cells %	48	1	0	5	0	2	0
	72	2	0	12	0	7	2
Stania 4	24	0	0	0	0	0	0
Stopień toksy- czności Cytotoxicity	48	0	0	1	0	0	0
	72	0	0	2	0	1/2	0

TABELA 2. Zmiany cytotoksyczne w hodowli fibroblastów mysich 3T3Balb/C – po 24, 48 i 72 h w kontakcie z próbkami cementów C -w, C-0,1 gl i C n.s. *- nie stwierdzono, # - istotna różnica dla p<0.05, # - istotna różnica dla p<0.01 TABLE 2. Cytotoxic changes in 3T3Balb/C mouse fibroblasts culture – after 24, 48 and 72 hours in contact with cement C, C-w and C-0,1 gl samples. n. f.' - not found, # - significant difference for p<0.05, ## - significant difference for p<0.01

razem jednakże skraca się czas wiązania. Podobne korelacje jak z roztworami alginianu sodu stwierdzono dla cementów zarabianych roztworami wodnymi mleczanu chitozanu. Wraz ze wzrostem stężenia tej substancji w roztworze notuje się wydłużenie czasu wiązania cementów i spadek wytrzymałości na ściskanie. Szczególną uwagę zwrócono na cementy uzyskane z 0,1% m/m roztworem wodnym gliceryny. Zanotowano dłuższy czas wiązania w stosunku do cementu zarabianego wodą, a jednocześnie wytrzymałość na ściskanie utrzymuje się na wysokim poziomie.

Badaniom cytotoksyczności poddano cement zarabiany wodą oznaczony jako C-w i cement zarabiany wodnym roztworem gliceryny oznaczony jako C-0,1 gl. Istotnym czynnikiem decydującym o wyborze cementów do badań cytotoksyczności spośród wszystkich otrzymanych cementów

był fakt uzyskania cementów o czasie wiązania akceptowalnym przez klinicystów, jak i o stosunkowo wysokiej wytrzymałości na ściskanie oraz akceptowalnym zachowaniu się tych cementów podczas zarabiania i iniekcji.

TABELA 2 i RYSUNKI 1-4 przedstawiają zmiany cytotoksyczne w hodowli fibroblastów mysich 3T3Balb/C - po 24, 48 i 72 h w kontakcie z próbkami cementów C -w, C-0,1 gl i C.

W hodowlach po kontakcie 24h z cementem C- w, C-0,1 gl i C oraz w hodowlach kontrolnych komórki przylegały do podłoża i miały prawidłowe cechy morfologiczne. Nie stwierdzono aglutynacji, wakuolizacji, oddzielania od podłoża ani lizy błon komórkowych. Proliferacja



RYS.1. Kontrola hodowli RYS.2. Hodowla fibrofibroblastów mysich 3T3 blastów mysich 3T3 Balb/C po 48 h. 3T3 Balb/C mouse fibro- bezpośrednim kontakblasts after 48 h.

Balb/C po kontakcie FIG.1. Control culture of 48 h z cementem C w cie z próbką. Widoczne drobiny cementu.

> FIG.2. Culture of 3T3 Balb/C mouse fibroblasts after contact 48 h with cement C in proximity of sample. Sample particles were visible.

Test for cytotoxicity was performed on cement mixed with water, labelled C-w, cement mixed with aqueous solution of glycerine 0,1% m/m labelled C-0,1 gl and cement C mixed with aqueous solution of sodium citrate 30 % m/m. The crucial factor, taken into account in choosing cements for cytotoxic test from among all the obtained cements, was the fact that we obtained cements with setting time acceptable to clinicians as well as with relatively high compression strength and acceptable workability and injectability.

TAB.2 and FIG.1-4 presented cytotoxic changes in 3T3Balb/ C mouse fibroblasts culture – after 24, 48 and 72 hours in contact with cement C, C-w and C-0,1 gl samples.

In cultures after 24 hour contact with the C-w, C-0,1 gl and C cements, and in control cultures, cells sticked to the substrate and their morphology was proper. No agglutina-

> tion, vacuolization, detachment from the substrate nor lysis of cell membranes was observed. Cell proliferation in cultures after contact with the examined cements, at all investigation times, was insignificantly lower than when compared to control cultures.

> In cultures with the C cement. after 72 hours, contracted, detached from the substrate, agglutinated cells and higher percent of dead cells, when compared to the culture with the C-w cement, were found. Cytotoxicity after 72 hours was 1/2 for the cement C, whereas it was 0 for the cement C-w. Taking into account the above, it can be stated it was sensible to use distilled water - instead of sodium citrate solution - to mix powder consisting of α TCP-DCPD.

komórek w hodowlach po kontakcie z badanymi cementami, we wszystkich czasach badania, była nieistotnie niższa w porównaniu do hodowli kontrolnych.

W hodowlach z cementem C po 72 h stwierdzono komórki obkurczone, odklejone od podłoża, które uległy aglutynacji oraz wyższy odsetek komórek martwych w porównaniu do hodowli z cementem C-w. Stopień toksyczności po 72 h dla cementu C wyniósł 1/2, zaś dla cementu C-w 0. Na tej podstawie można stwierdzić, że celowe było zastosowanie - zamiast roztworu cytrynianu sodu - wody destylowanej do zarabiania proszku o składzie αTCP-DCPD.

W przypadku cementu C - 0,1 gl w hodowlach po 24 h nie stwierdzono zmian morfologicznych komórek. Jednak po 48 i 72 h, w bezpośrednim kontakcie z próbką, stwierdzono toksyczne oddziaływanie cementu. Nieliczne komórki w sąsiedztwie materiału były obkurczone i odklejone od podłoża. Komórki w dalszej odległości od próbki nie wykazywały zmian morfologicznych. W płynie hodowlanym stwierdzono bardzo dużo drobin materiału. Proliferacja komórek w hodowlach po kontakcie z badanymi próbkami, we wszystkich czasach badania była niższa w porównaniu do kontroli, a gęstość komórek po 48 i 72 h była istotnie mniejsza od gęstości komórek w hodowlach kontrolnych. Po 48 h kontaktu z badanymi próbami stwierdzono 5% komórek martwych, a 12% po 72 h. Na podstawie przedstawionych danych można stwierdzić, że zastosowanie roztworu gliceryny jako płynu do zarabiania cementu spowodowało nasilenie zmian cytotoksycznych.

Podsumowanie

Przedstawione wyniki wykazują jak istotny wpływ poza składem komponentu proszkowego na właściwości uzyskiwanych cementów wapniowofosforanowych mają zastosowane płyny do ich zarabiania. Przeprowadzone badania cytotoksyczności wykazały, że zastosowanie dla cementu C-w, zamiast roztworu wodnego cytrynianu sodu 30% wag. jako płynu do zarabiania komponentu aTCP-DCPD wody ogranicza jego cytotoksyczność. Natomiast z roztworem wodnym gliceryny uzyskano cement C-0,1 gl o wyższej kohezji, lecz stwierdzono po 72 h kontaktu tego cementu z fibroblastami mysimi toksyczność stopnia 2. Poza poddanymi badaniom cementami C, C-w i C-0,1 gl. na szczególną uwagę zasługują cementy otrzymane z αTCP-DCPD z roztworami wodnymi alginianu sodu, dekstranu sodu lub mleczanu chitozanu. Celowe jest wiec dalsze kontynuowanie tych badań dla wyboru cementów wapniowofosforanowych spełniających różne wymogi w zależności od ich przeznaczenia klinicznego.

Podziękowanie

Praca sfinansowana przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego (projekt nr 4 T08D 024 25).

Piśmiennictwo

[1] Polesiński Z., karaś J. - Cementy kostne i stomatologiczne. Monografia PAN. Biocybernetyka i inżynieria biomedyczna 2000, Tom 4, 2003, 179-209.

[2] Karaś J., Ciołek L. - Badania cementów wapniowofosforanowych do wypełniania ubytków kości. Ortopedia Traumatologia Rehabilitacja, vol. 7, supl. 1, 2005, 198.



blastów mysich 3T3 blastów mysich 3T3 Balb/C po kontakcie 48 Balb/C po kontakcie 48 h z cementem C-w. FIG.3. Culture of 3T3 bezpośrednim kontak-Balb/C mouse fibro- cie z próbka. blasts after contact 48 FIG.4. Culture of 3T3 h with cement C-w.

RYS.3. Hodowla fibro- RYS.4. Hodowla fibroh z cementem C-0,1 gl w Balb/C mouse fibroblasts after contact 48 h with cement C-0,1 gl in proximity of sample.

245

In case of the C-0,1 gl cement, no changes in morphology were observed in cultures after 24 hours. However, after 48 and 72 hours in immediate contact with the sample, the cement was found toxic. Few cells in proximity of material were contracted and detached from the substrate. More distant cells from the sample did not change their morphology. A lot of material particles were found in the nutrient mixture. Cell proliferation in cultures after contact with the investigated samples, at all investigation times, was lower when compared to control, and cell density after 48 and 72 hours was vitally lower than cell density in control cultures. After 48 hour contact with the examined sample, 5% of cells were dead, and 12% after 72 hours. Based on the presented data, it can be stated that application of glycerine solution as the mixing liquid, increased cytotoxic changes.

Summary

The presented results show how important, apart form composition of the powder component, is the influence of mixing liquids on properties of the obtained calcium phosphate cements. The conducted test for cytotoxicity showed that replacing 30% by mass aqueous solution of sodium citrate as mixing liquid for the α TCP-DCPD component with water, induces limited cytotoxicity of cement C-w. With an aqueous solution of glycerine, however, we obtained cement of higher cohesion, but of 2nd degree cytotoxicity, which was observed after 72 hour long contact of this cement with mouse fibroblasts. Apart from the examined C, C-w and C-0,1 gl cements, aTCP-DCPD based cements obtained with aqueous solutions of sodium alginate, sodium dextrane or chitosan lactate deserve special attention. Thus, further research for selection of calcium phosphate cements, meeting different requirements, which depend on their clinical intended use, are worth continuing.

Acknowledgement

Research financed by the Ministry of Science and Higher Education (project no. 4 T08D 024 25)

References

[3] Wróbel E., Lewandowska-Szumieł M., Karaś J., Ciołek L. - New bone cements - preliminary biocompatibility studies in vitro, XV Conference on Biomaterials in Medicine and Veterinary Medicine, Rytro 2005, p. 43.

246 WSTĘPNE BADANIA NAD WŁÓKNAMI POLIAKRYLONITRYLOWYMI MODYFIKOWANYMI NANOCZĄSTECZKAMI MAGNETYTU DO ZASTOSOWAŃ W INŻYNIERII BIOMATERIAŁÓW

M. Wójcik^{*}, K. Nowicka^{*}, T. Mikołajczyk^{**}, J. Chmist^{***}, H. Figiel^{***}, S. Błażewicz^{*}

 *AGH, Wydział Inzynierii Materiałowej i Ceramiki, Katedra Biomateriałów, Kraków, Polska
 **Politechnika Łódzka, Wydział Inżynierii i Marketingu Tekstyliów, Katedra Włókien Stucznych, Łódź, Polska
 ***AGH, Wydział Fizyki i Informatyki Stosowanej, Zakład Fizyki Ciała Stałego, Kraków, Polska
 [Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),246-248]

Wstęp

Nanocząsteczki magnetytu [Fe₂O₄] dzięki swoim rozmiarom i właściwościom należą obecnie do bardziej interesujących materiałów mogących znaleźć zastosowanie w medycynie i biotechnologii. Nanocząsteczki są porównywalne do wirusów (20-500 nm), białek (5-10 nm) i genów (2 nm szerokości i 10-100 nm długości). Cząsteczki o wymiarach rzędu kilku nanometrów mają duże rozwinięcie powierzchni, co pozwala na łatwą ich modyfikacje, a to w połączeniu z właściwościami magnetycznymi daje duże możliwości zastosowania w medycynie. Wykorzystywane są między innymi do wzmocnienia kontrastu w obrazowaniu przy pomocy rezonansu magnetycznego (MRI) [1,2, 3]. Dzieki właściwościom magnetycznym nanoczasteczki tlenku żelaza mogą być manipulowane zewnętrznym gradientem pola magnetycznego. Daje to możliwość wykorzystania ich do rozprowadzania leków. W konwencjonalnej terapii leki podawane dożylnie rozprowadzane są przez układ krwionośny po całym organizmie. Kiedy konieczne jest zastosowanie terapii miejscowej podawane są duże dawki leku (często toksyczne). Wiążąc leki z małymi biokompatybilnymi nanoczasteczkami magnetycznymi mamy możliwość precyzyjnego przemieszczania ich gradientem zewnętrznego pola magnetycznego [4,5]. Innym zastosowaniem nanocząsteczek magnetytu jest ich wykorzystanie do diagnozowania i leczenia nowotworów mózgu umiejscowionych w rejonie nie operacyjnym. Badania nad tą metodą prowadzi firma MagForce Nanotechnologies AG [6]. Polega ona na wprowadzeniu zawiesiny nanoczasteczek w obszar nowotworu. Po wchłonięciu przez chore komórki magnetytu, pacjent umieszczony zostaje w zewnętrznym polu magnetycznym. Poprzez interferencje promieniowania tlenek żelaza zostaje podgrzany do temperatury 40-70°C, co powoduje niszczenie komórek nowotworowych. Innym potencjalnym obszarem zastosowania magnetytu jest wprowadzenie nanocząsteczek do osnowy polimerowej, stanowiącej materiał implantacyjny. Jednym z możliwych rozwiązań jest wprowadzenie nanoczasteczek do roztworu polimeru, z którego można otrzymywać włókna.

W pracy niniejszej przedstawiono wstępne wyniki badań nad możliwością otrzymywania włókien poliakrylonitrylowych zawierających nanoczasteczki magnetytu. Włókna takie będą prekursorem do wytwarzania w dalszych badaniach biozgodnych włókien węglowych modyfikowanych nanocząsteczkami.

PRELIMINARY STUDY ON POLYACRYLONITRILE-BASED FIBRES MODIFIED WITH MAGNETITE NANOPARTICLES FOR BIOMATERIALS ENGINEERING

M. Wójcik^{*}, K. Nowicka^{*}, T. Mikołajczyk^{**},

J. CHMIST***, H. FIGIEL***, S. BŁAŻEWICZ* *AGH–UST, FACULTY OF MATERIAL SCIENCE AND CERAMICS, DEPARTMENT OF BIOMATERIAL, KRAKOW, POLAND **TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ, FACULTY OF TECHNICAL ENGINEERING AND MARKETING, DEPARTMENT OF MAN-MADE FIBRES, LODZ, POLAND *** AGH-LIST FACULTY OF PHYSICS AND APPLIED COMPLITER

*** AGH-UST, FACULTY OF PHYSICS AND APPLIED COMPUTER SCIENCE, DEPARTMENT OF SOLID STATE PHYSICS, KRAKOW, POLAND

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),246-248]

Introduction

Nowaday magnetite nanoparticles $[Fe_30_4]$ due to their size and properties belong to interesting materials considered be used in medicine and biotechnology. Their size is comparable to viruses (20-500nm), protein (5-10 nm) or genes (2 nm wide and 10-100 nm long). Particles of the size of several nanometers have a large surface area which allows for their easy modification. Such features, combined with their magnetic properties allow for their broad use in medicine.

They are used, among other things, to enhance contrast in magnetic resonance imaging (MRI) [1,2,3]. Thanks to magnetic properties of iron oxide, such nanoparticles can be manipulated by external magnetic field gradient. Thus, they can be used in drug delivery. In conventional treatment, drugs which are administered intravenously are spread through circulatory system all over the organism. When local therapy is necessary, big doses of drug are administered (often toxic). Fixing drugs with small, biocompatible magnetic nanoparticles allows for their safe transportation through external magnetic field gradient [4,5]. Magnetite nanoparticles can be also used in diagnosis and treatment of brain tumours placed in inoperable areas. Research on this method is conducted by MagForce Nanotechnologies AG [6]. In this method, fluid of nanoparticles is injected into tumour area. When cancerous cells absorb magnetite particles the patient is placed in external magnetic field. Through magnetic interference iron oxide is heated up to 40-70°C which leads to destruction of cancerous cells. Magnetite can also potentially used to introduce nanoparticles into polymer matrix of implantation materials. One of the possible methods is to introduce nanoparticles into polymer solution from which fibres can be obtained.

This work presents preliminary study on the possibility to obtain polyacrylonitrile fibres modified with magnetite nanoparticles. Such fibres will constitute basis for further research on biocompatible carbon fibres modified by nanoparticles.

Materials and methods

Magnetite nanoparticles were obtained at the Department of Biomaterials of the University of Science and Technology in Krakow. The fibres were spun by the wet process from solution of a laboratory machine at the Faculty of Textile Engineering and Marketing of Technical University in Łódź with

Materiały i surowce

Nanocząsteczki magnetytu zostały otrzymane w Katedrze Bomateriałów, Akademii Górniczo – Hutniczej w Krakowie. Włókna formowano laboratoryjne na Wydziale Inżynierii i Marketingu Tekstyliów Politechniki Łódzkiej metodą z roztworu na mokro przy użyciu jako rozpuszczalnika dimetyloformamidu (DMF). Proszek magnetytu został dodany do roztworu poli(akrylonitrylu) (PAN) i DMF w ilości 5% lub 10% w stosunku do masy polimeru. Otrzymano w ten sposób włókna:

 \bullet Włókna kompozytowe PAN/Fe $_{\rm 3}{\rm O}_{\rm 4}$ (5%wag./na polimer magnetytu w 22% roztworze PAN w

DMF), oznaczone jako F1

• Włókna kompozytowe PAN/Fe₃O₄ (10%wag./na polimer magnetytu w 22% roztworze PAN w DMF), oznaczone jako F2

Tak otrzymane włókna PAN poddane zostały obróbce termicznej mającej na celu ustabilizowanie i zkarbonizowania struktury. Utlenianie włókien prowadzone było w temperaturze 220°C przez 8 godzin. W następnym etapie już ustabilizowane włókna poddano karbonizacji w atmosferze ochronnej argonu przez 3 godziny, przy średniej szybkości ogrzewania 5,5°C/min, do temperatury końcowej 1000°C. Właściwości mechaniczne określono przy użyciu maszyny Zwick model-1435. Wykonane zostały także pomiary właściwości magnetycznych przy wykorzystaniu magnetometru wibracyjnego firmy Lake Shore. W artykule przedstawiono tylko wyniki badań właściwości magnetycznych włókiem wyjściowych (prekursorów).

Wyniki i dyskusja

Wyniki pomiarów magnetycznych dla włókien poliakrylonitrylowych z dodatkiem magnetytu przedstawiono w postaci histerezy w układzie natężenie zewnętrznego pola magnetycznego – namagnesowanie względne (RYS.1). Czysty magnetyt stanowił próbkę odniesienia. Na podstawie otrzymanych wyników można powiedzieć, że właściwości magnetyczne włókien (superparamagnetyzm) PAN z 5 i 10 % zawartością magnetytu są bardzo podobne. Kształt

krzywych namagnesowania tych włókien jest identyczny z

Rodzaje włókien Type of fibre	M [emu/g]	Zawartość magnetytu, [%wag.] Magnetite amount, [wt%]	
F1	1,7	3,5	
F2	3,4	7,1	

TABELA 1. Wartość namagnesowania i szacowana zawartość magnetytu we włóknach F1 i F2 . TABLE 1. Magnetization value and estimated amount of magnetite in fibres F1 and F2. dimethylformamide (DMF) as the solvent. Magnetite powder was added into polyacrylonitrile (PAN) and DMF solution in order to obtain 5% or 10% concentration of additive in the fibres. In this way the following fibres were obtained:

 \bullet composite fibre PAN/Fe $_{\rm 3}{\rm O}_{\rm 4}$ (5%weight of magnetite/polymer in 22% solution of PAN was solved in DMF solution) named F1;

• composite fibre PAN/Fe $_{3}O_{4}$ (10%weight of magnetite/polymer in 22% solution of PAN was solved in DMF solution) named F2;

Such obtained PAN fibres were subjected to thermal processing in order to stabilize and carbonize them. Fibres were stabilized in the temperature of 220°C for 8 hours in air atmosphere. In the next stage already stabilized fibres

were subjected to the process of carbonization in argon protective atmosphere for 3 hours, up to 1000°C, with the mean heating rate of 5.5 °C/minute. Mechanical properties were assessed with the use of Zwick machine, model 1435. Magnetic properties were measured with the use of Lake Shore vibratory magnetometer.

Results and discussion

Results of magnetic measurement for PAN fibres doped with magnetite are presented in the form of hysteresis in the external magnetic field intensity layout relative magnetization (FIG.1). Pure magnetite was the sample of reference. The results indicate that magnetic properties of PAN fibres (superparamagnetism) with 5 and 10% of magnetite are very similar. The shape of magnetic curves of these fibres is identical with magnetic

Rodzaje włókien Type of fibre	Wytrzymałość Tensile strength [MPa]	Moduł Younga Young's modu- lus [GPa]	Wydłużenie przy zerwaniu Elongation at break [%]
PAN	490±20	9,5±0,2	12,9±0,3
F1	477±49	11±1,6	10,31±1,3
F2	379±39	9,5±0,8	11,28±0,95
F2	379±39	9,5±0,8	11,28±1,0

TABELA 2: Właściwości mechaniczne włókien PAN, F1 i F2. TABLE 2: Mechanical properties of PAN, F1 and

F2 fibres.

s were obtained: ght of magnetite/polylved in DMF solution) ight of magnetite/polylved in DMF solution) 247



RYS.1. Porównanie wyników pomiarów magne-

tycznych dla włókien poliakrylonitrylowych z 5%

(F1) i 10% (F2) dodatkiem magnetytu oraz dla

magnetytu wprowadzonego do tych włókien, w

układzie natężenie zewnetrznego pola magnetycz-

FIG.1. Comparison of the results of the magnetic

measurements for PAN with 5% (F1) and 10% (F2)

of magnetite and magnetite added to these fibres

in the external magnetic field intensity layout -

nego - namagnesowanie względne.

relative magnetization.

krzywą magnesowania otrzymaną dla proszku magnetytu dodawanego do włókien. Pozwala to sądzić, że proszek ten • • nie ulega przemianom chemicznym na etapie wytwarzania włókien polimerowych. Dzięki temu na podstawie wartości nasycenia namagnesowania dla tego materiału można ocenić zawartość proszku magnetytu we włóknach. Rozbieżności zmierzonej zawartości nanododatku we włóknach w porównaniu do ilości wprowadzonej do roztworu przędzalniczego może sugerować jego częściowe usuwanie w procesie formowania włókien. W TABELI 1 zestawiono otrzymane wyniki. Właściwości mechaniczne włókien PAN oraz włókien F1 i F2 zostały przedstawione w TABELI 2. Jak wynika z TABELI większa koncentracja nanododatku magnetytu powoduje obniżenie wytrzymałości mechanicznej włókien natomiast nieznacznie wpływa na moduł Younga i odkształcenie włókien przy zerwaniu.

Wnioski

1. Włókna z większą ilością nanododatku (10% w roztworze przędzqalniczym-F2)) wykazywały spadek wytrzymałości mechanicznej.

 Ilość zastosowanego nanododatku ma niewielki wpływ na moduł Younga i odkształcenie włokien podczas zerwania.
 Właściwości magnetyczne zastosowanego tlenku żelaza nie uległy zmianie podczas formowania włókien i mogą one stanowić w dalszych badaniach prekursor do otrzymywania włókien węglowych modyfikowanych nanocząsteczkami magnetytu.

Podziękowania

Praca była realizowana w ramach projektu badawczego finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego (projekt nr: 3T08D0328)

Piśmiennictwo

[1] Tartaj P., Gonzales–Correno T., Sereba CJ., *Adv Mater* 2001; 13; 1620-4

[2] Harisinghani MG., Jhaveri KS., Weissleder r., Schima W. Saini S., Hahn PF., Mueller R., *Clin Radial* 2001; 56; 714-24

[3] Earls JP., Bluemke DA., *MRI Clin North Am* 1999; 7(2); 255-73 curve of the magnetite powder added. Thus, it may be assume, that the powder does not undergo disintegration in the process of polymer fibres' spinning. On the basis of magnetization saturation for this material the content of magnetite powder in the fibres can be assessed. Differences between the amount of nanomagnetite in fibres in comparison to the amount of magnetite added into the spinning solution suggest on the washing away during in the spinning process. TABLE 1 presents the results obtained.

Mechanical properties of PAN as well as F1 and F2 fibres are presented in TABLE 2. It can be observed that addition of magnetite results in decrease of mechanical properties of the fibres.

Conclusion

1. The fibres with higher concentration of nanoparticles (10%weight in spinning solution-F2), exhibited a decrease of mechanical strength in comparison with pure carbon fibres.

2. The influence of nanoparticles addition on Young's modulus and elongation break values were not observed.

3. Magnetic properties of applied ferrite oxide did not alterduring fibres spinning and may be applied in the future as a precursor for production of carbon fibres modified by magnetic nanoparticles.

Acknowledgements

This work was financed by the Polish Ministry of Science and Higher Education, project no: 3T08D03428.

References

[4] S. Goodwin, et al., *J. Magn. Magn. Mater.* 194 (1999) 132
[5] Lübbe, C. Alexiou, C. Bergemann, *J. Surg. Res.* 95 (2001) 200

[6] MagForce Nanotechnologies database: www.magforce.de

LADUNEK POWIERZCHNIOWY INDUKOWANY NA BIOAKTYWNYCH KOMPOZYTACH

S.Szarska, S.Niemczyk INSTYTUT FIZYKI, Politechnika Wrocławska 50-370 Wrocław, wyb. Wyspianskiego 27, EMAIL: stanislawa.szarska@pwr.wroc.pl [Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),248-250]

Wstęp

W ostatnich latach burzliwie rozwija się technologia materiałów kompozytowych, zawierających w swoim składzie bioaktywna osnowę. Wykorzystanie szkieł pozwoliło na wytworzenie implantów aktywnych powierzchniowo, co oznacza, że materiał ten wchodząc w reakcje biochemiczne w środowisku fizjologicznym, tworzy bezpośrednie wiązanie z żywą tkanką kostna. Rozpuszczanie się jonów wapnia z bioszkieł, jak rów-

SURFACE CHARGE INDUCED ON BIOACTIVE COMPOSITE

S.Szarska, S.Niemczyk

INSTITUTE OF PHYSICS WROCŁAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY 50-370 WROCŁAW, WYB. WYSPIANSKIEGO 27, EMAIL: STANISLAWA.SZARSKA@PWR.WROC.PL [Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),248-250]

Introduction

In recent years, a distinct development in technology of composite materials containing the bioactive phase is observed. The application of bioglasses allows us to produce surface active implants. These materials react biochemically in physiological solution, creating bone bonding with the living tissue. Dissolving of calcium ion from bioglasses, as well as silica leaching from the glass surface, play an essential role in forming the bone-like hydroxyapatite layer on the

Ładunek generowany na powierzchniach cząstek kompozytowych, rozproszonych w ośrodku elektrolitycznym, jakim niewątpliwie jest płyn fizjologiczny, powoduje przyciąganie z roztworów wodnych jonów o przeciwnym znaku. Powstaje w ten sposób charakterystyczna podwójna warstwa elektryczna, a konsekwencją jej jest występowanie potencjału elektrokinetycznego. Powstawanie i rodzaj ładunku elektrycznego w implantach odgrywa znacząca rolę w procesie wzrastania i przebudowy tkanki kostnej [2].

Wzbudzona emisja elektronów jest jedną z metod badań zjawisk powierzchniowych, w której proces uwalniania elektronów na zewnątrz ciała jest wynikiem różnych oddziaływań powodujących stan wzbudzenia jego powierzchni. Jest to metoda bardzo czuła na różne defekty strukturalne [4].

Część doświadczalna i dyskusja wyników

Przedmiotem badań był kompozyt, którego osnowę stanowi bioszkło otrzymane metodą zol-żel z układu CaO-P₂O₅-SiO₂ wytworzone w instytucie Fizyki Politechniki Wrocławskiej o składzie zaproponowanym przez grupę Hencha SiO₂:CaO: P₂O₅=58:33:9 [% mol] [3,5]. Warstwy żelu zostały nałożone na szkło k9, a następnie domieszkowane cubitronem (submikrokrystaliczny, syntetyczny korund), bądź KKW (buble alumina) lub tlenkiem srebra, albo włóknami węglowymi. Wysuszone kompozyty poddane zostały obróbce termicznej do 600 C i przetrzymane w tej temperaturze przez 1 godzinę.

W celu zbadania wartości potencjału ξ , bioaktywne materiały kompozytowe zostały rozdrobnione i zanurzone w rozcieńczonym płynie fizjologicznym, który jest doskonałym elektrolitem. Pomiary wykonano za pomocą urządzenia znajdującego się w Laboratorium Biofizyki Politechniki Wrocławskiej. Pomiary potencjału ξ , (TAB.1) wskazują na powstanie niewielkiego dodatniego ładunku na wszystkich rodzajach przebadanych kompozytów.

Przyczyną wytwarzania ładunków na powierzchni ziaren ceramicznych mogą być podstawienia izomorficzne w ich sieciach, co prowadzi do obecności jonów wymiennych. W zawiesinie wodnej jony wymienne (H₃O⁺, K⁺, Ca²⁺) częściowo oddalają się od powierzchni ziaren, która przybiera wtedy ładunek ujemny. Ładunek zjawiający się na powierzchniach ziaren ceramicznych, rozproszonych w ośrodkach ciekłych, powoduje przyciąganie z roztworów wodnych jonów o przeciwnym znaku, które obniżają działanie pola elektrycznego w miarę oddalania od tych powierzchni. Powstaje charaktery-styczna podwójna warstwa elektryczna, a konsekwencją jej jest występowanie potencjału elektrokinetycznego [6].

Pomiary optycznie stymulowanej emisji elektronów (OSEE) wykonano w próżni rzędu 10⁴ Pa w temperaturze pokojowej. Elektrony były emitowane z powierzchni szkieł pod wpływem światła ultrafioletowego (stymulacja) emitowanego przez lampę deuterową przy użyciu filtrów interferencyjnych z zakresu 225-325nm. elektrony były skupiane za pomocą soczewki elektrostatycznej i rejestrowane przez powielacz elektronowy.

Oddziaływanie chemiczne między roztworem fizjologicznym i bioszkłem prowadzi do lokalnej deformacji i powstawania mikropęknięć w rezultacie, czego następuje emisja ładunku. implant surface. In the relevant literature we could find much information connected to the properties of ceramic composites materials such as biodegradation, biocompatibility and mechanical resistivity [1-3]. Relatively little information exists concerning the electric charge which is created on the biocomposite surface layer either by physiologial solution or by mechanical deformation [4].

The charge generated on the surface of the composite particles dispersed in the electrolytic solution, causes the ions of the opposite sign to be attracted from the water solution. This process results in the formation of an electric double layer in the glass-solution system, thus the electrokinetic (ζ) potential is created. The layer formation and the type of the electrical charge in implants plays significant role in the generation and remodeling of a bone tissue [2].

One of the most sensitive methods of examining the surface properties is excited electron emission method. Low energy electrons are emitted from the surface layer due to different interactions causing surface excitation. The method is very sensitive to different surface defects [4].

Experimental results and discussion

The objects of investigations were composites, whose active phase was a bioglass obtained by sol-gel method for the CaO- P_2O_5 -SiO₂ system, prepared in the Institute of Physics at Wroclaw University of Technology. The following oxide composition, proposed by Hench group, was applied: CaO- P_2O_5 -SiO₂ = 58:33:9 [% mol] [3, 5]. The gel layer was coated on k9 glass substrate and then doped by cubitron (submicrocrystalline, synthetic corundum), or KKW (bubble alumina) or silver oxide or carbon fiber. The composites were dried at ambient conditions and then heated up to 600 °C and were kept at this temperature for 1 h.

For investigation of ζ potential, the bioactive composite materials were powdered and soaked in dilute of physiological solution, which is the perfect electrolyte. Measurements were performed using the experimental setup made in the Biophysics Laboratory of Physics Institute at Wroclaw University of Technology. The results of ζ potential measurement (TAB.1) point at the rising of small positive charge on the whole type of obtained composites.

The reason for creation of charges on the surface of ceramic grain could be the isomorphic substitution in their structure, which leads to the presence of exchange ions. In the water suspension the exchange ions (H_3O^+ , K^+ , Ca^{2+}) partly run away from the grain surface, which results in the creation of a negative charge on it. The charge which appears on the ceramic grain surfaces, causes the attraction of the ions of opposite sign from the water solution. This causes the lowering of the electric field with the distance from these surfaces. Characteristic double layer is formed and in consequence the electrokinetic potential appears [6].

The optical stimulated electron emission (OSEE) measurements were performed at pressure of 10^4 Pa in the room temperature. The electrons were emitted from the glass surface as a result of the ultraviolet light stimulation, by deuterium lamp, using the interference filters of the 225-325 nm range. The electrons were focused with an electrostatic lens and registered with the electron multiplier.

The chemical reaction between physiological solution (SBF) and bioglass leads to the local deformations and the formation of the microcracs which, in turn, causes the emission of charge. The area under the OSEE curve, representing the change of electron emission intensity versus time, is proportional to the surface charge collected on the sample. At the same time this value is proportional to the number of the stresses on the glass surface. In FIG.1a the decay curve of excited electron emission from bioglass doped by carbon fiber MATERIAŁÓW

Pole pod krzywą obrazującą zmiany natężenia emisji elektronów w czasie jest proporcjonalne do ładunku powierzchniowego zgromadzonego na próbce. Jednocześnie wielkość ta jest proporcjonalna do ilości naprężeń na powierzchni szkła. Na RYS.1a przedstawiono krzywą zaniku wzbudzonej emisji elektronów z bioszkła zbrojonego włóknem węglowym. Przedstawiony na RYS.1, dla modyfikowanego bioszkła

przebieg emisji elektronów ma charakter zanikający i stanowi sumę zaników natężenia emisji elektronów z różnych poziomów pułapkowych.

Analiza zależności ładunku od energii fotonów wskazuje, na maksymalną wartość ładunku przy energii fotonów światła stymulującego wynoszącej 4,5eV. Wartość ta jest zbliżona do energii wiaza-

nia Ca-O, równej 4,45 eV. Analizując rozkład krzywych eksperymentalnych bioaktywnego szkła oraz kompozytów bioaktywnych zbrojonych KKW, Cubitronem oraz tlenkiem srebra (rys.1b) na pojedyncze krzywe zaniku można wnioskować, że w tych próbkach pobudzonych falą elektromagnetyczną o długości 225 nm zostały uwolnione elektrony z dwóch



Próbki kompozytowe/Composite sample

Composite doped by KKW

Composite doped by Cubitron

Composite doped by silver oxide Ag₂O

TABELA 1.

TABLE 1.

RYS.1. Krzywe zaniku exoemisji elektronów a)Sygnał emisyjny bioaktywnego kompozytu zbrojonego włóknem węglowym b) Krzywe zaniku wzbudzonej emisji elektronów bioaktywnych kompozytów.

FIG.1. Emission signal from bioactive composite doped by carbon fiber b)Decay curve of exoelectron emission from bioactive composite.

poziomów pułapkowych. Natomiast rozkład krzywej eksperymentalnej bioaktywnego kompozytu zbrojonego włóknem węglowym (RYS.1a) świadczy, iż w próbce tej, elektrony zostały uwolnione z trzech poziomów pułapkowych.

Z przeprowadzonych badań egzoemisji wynika, że wartość natężenia początkowego emisji I_o zależy od rodzaju badanego materiału kompozytowego. I_{o1} = 2,0011 (bioszkło); I_{o1} = 0,4392 (KKW); I_{o1} = 0,3953(cubitron); I_{o1} =0,7778 (tlenek srebra); I_{o1} = 0,6535 (włókno węglowe).

Zarówno w bioszkłach jak i biokompozytach powstaja na powierzchni nierównowagowe warstwy zawierające bądź żel krzemionkowy bądź obszar zawierający HA.. Występują, więc w nich zarówno procesy dyfuzyjne jak i relaksacyjne. W próbkach szkła poddanego wymianie jonowej występuje polaryzacja ładunku przestrzennego na granicy faz o różnej zdolności przewodzenia prądu.

Piśmiennictwo

References

 Hench, L.L., Jones, J.J., (2005) Biomaterials, artificial organs and tissue engineering, CRC, Woodhead Publishing limited, Cambridge

 [2] Święcki Z., Rosiek G., Wala D., Biokompozyty, Prace Naukowe Instytutu Budownictwa Politechniki Wrocławskiej, 75, 187-196, 1999
 [3] Pereira, M.M., Clark, A.E., Hench, L.L., (1994), J.Biomed.Mater. Res., 28, 693-698

[4] Szarska.S., Kawaguchi Y., Acta of Bioenergeering and Biomechanics, 6,1,213-217, 2004

[5] Łączka M., Jaegarmann Z., Cholewa K., Ciołek L., Szkło i ceramika, 47, 14-19, 1996

[6] Zbomirska-Wnukiewicz B., Nieorganiczne nośniki o modyfikowanej powierzchni do immobilizacji drobnoustrojow, Dyser.doktorska, Politechnika Wrocławska, 2003 is presented. For the modified bioglass, the electron emission has

Wartość potencjału ξ Value of ξ

potential [mV]

Ścianka tylna

3.40

2,61

4 31

Ścianka

3,32

2,55

4 21

bioglass, the electron emission has a decaying character and the curve is the sum of the decay of electron emission intensity from different trap levels.

The charge emission on photon energy dependence show the maximum at the photon energy of 4,5 eV. This value is close to band energy Ca-O, equal 4,45 eV.

The decomposition of the decay experimental curves of bioactive glass and composites doped by KKW, cubitron and silver oxide (FIG.1b) leads to the conclusion that in these samples, excited by 225 nm electromagnetic wave, the electrons are emitted from two trap levels.

However, the decay experimental curve for bioactive composite doped by carbon fiber (FIG.1a) indicates that in this sample, the electrons were emitted from three trap levels.

From experiments described above one can conclude that the value of initial intensity I_0 depends on the type of composite material: I_{01} =2,0011 (bioglass); I_{01} =0,4392 (KKW); I_{01} =0,3953 (cubitron); I_{01} =0,7778 (silver oxide); I_{01} =0,6535 (carbon fiber).

Both in the bioglasses and in the biocomposites the disequilibrium layers are formed, which contain either the silica gel or hydroxyapatite (in some areas). In these layers the diffusion as well as the relaxation processes take place. In the glass samples treated by the ion-exchange process, because of different current conductivity of phase borders, the polarization of space charge on the border occurs.

MATERIAŁÓW

WHAT DRIVES BONE GROWTH?

SYED A. M. TOFAIL*, MARIUSZ WOJCIK**

*MATERIALS AND SURFACE SCIENCE INSTITUTE (MSSI), UNIVERSI-TY OF LIMERICK, LIMERICK, IRELAND

**BIOMATERIALS DEPARTMENT, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND TECHNOLOGY, UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, CRACOW, POLAND

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),251-254]

The structure, property and functionality of bone have attracted considerable attention in the past and researchers from a number of disciplines have contributed to our understanding of bone. We now know that, in addition to providing a mechanical support to vertebrae, the complex architecture of bone also hosts cells, proteins and enzymes, which participate in the dynamic process of bone growth and resorption. We also know that at least part of this dynamic process is related to the mechanical environment that the bone is subjected to and surrounded by. Above all, bone serves a metabolic purpose by acting as a reservoir for ondemand supply of minerals, most notably Ca²⁺ ions.

Since the 1990s, biomimetic synthesis strategy has become an active area of research. The intention was to learn from nature's own way of creating different biological tissues and to use this teaching in the synthesis of biomaterials artificially. One important aspect of the research has been the endeavour towards biomimetic mineralisation. The impetus was based on the understanding that biomineralisation takes place by the process of precipitation of inorganic crystalline or amorphous materials into an organic matrix, the nature of which controls the form of the precipitate. Two important examples of such extra cellular biomineralisation are hydroxyapatite in bone and aragonite in coral.

In bone, according to Calvert [1], the collageneous matrix is associated with the nucleation and growth of the mineral, as well as soluble proteins, mucopolysaccharides, cells and vesicles. It is commonly believed that spaces within collagen fibrils provide the active nucleation sites for hydroxyapatite. On the other hand, coral forms by nucleation and growth from the outer surface of a cell into a sea-water medium, that possibly contains some mucopolysaccharides. The mineralisation here is apparently through nucleation at a site on a surface and results in crystals growing away from that surface.

However, one point that might have been missed out in this simplistic interpretation of biomineralisation is that the inorganic layer in mineralised tissue is highly organised and in turn participate in a hierarchical structure. There is ample evidence to suggest that the inorganic layer adopts one or two specific crystallographic orientation with respect to the organic surface. For example, in bone, the bimodal distribution of hydroxyapatite crystals exhibits orientation of the crystallographic c-axis along and perpendicular with the collagen fibril axis. The popular answer to this, as Mann [2] has identified, is that this is an epitaxial effect to the extent that the atomic spacings in the substrate induce the growth of mineral layer for which the atomic spacings almost match across the interface.

This concept however does not do a good job in explaining what actually works. For example, both hydroxyapatite and calcium carbonate can nucleate on surfaces that have been treated with anionic proteins from shells, surfaces with high roughness, surfaces that has been electrically polarised and surfaces that has permanent polarisation. So, in addition to epitaxy, stereochemistry and charge matching mechanisms need also to be considered as contributing factors [3,4]. In this article, we provide a critical review of literature to highlight the role of surface charge in the growth of bone with particular reference to biomineralisation. We discuss the phenomena of bone growth during the healing process in this regard, as bone healing constitutes the field where the phenomena of biomimetic mineralisation will find its immediate application.

Bone is a vascularised tissue consisting of cells and a mineralised extracellular matrix. Bone is deposited by bone forming cells *osteoblasts* and by *osteocytes*. Osteoblasts cease dividing when they transform into osteocytes. Bone is modelled, remodelled and/or removed by primarily *osteoclasts* and sometimes by osteocytes [5]. Type I collagen, composed of two α -I chains and one α -II chain is the major extracellular matrix component and osteocalcin, osteopontin and osteonectin are the major non-collageneous proteins. Bone matrix is highly permeable due to the canals, *canaliculi* that contain osteocyte processes. The canaliculi work as an interconnected transport system to connect osteocytes to other osteocytes, osteoblasts and osteogenic cells on the surface via gap junctions.

The first bone matrix deposited is unmineralised and known as *osteoids*, which is then impregnated with hydroxyapatite to form

bone, the *mineralised* tissue. Histological section of *Haversian* bone (FIGURE 1) reveals the hollow nature of bone, some of the holes containing nerves. The majority of holes represent tubules, *Haversian canals*, or canaliculi. There are also irregular canals, *lacuna* that represents sites of bone absorption and resorption.

Bone healing is essentially a cell-mediated phenomenon although factors that activates or stimulates such activity are expected to influence the healing process. Healing in a primary bone wound involves the initial formation of haematoma, followed by an inflammatory reaction and polymorphonuclear leucocytes (PMNs) infiltration [6]. Macrophages invade the clot and chemotactic agents attract marrow stormal cells that contain a small number of Mesenchymal stem cells (MSCs), which in a favourable environment can differentiate into a variety of cell types such as osteoblasts, chondrocytes and fibroblasts. In wound sites that are mechanically stable and vascularised, most of the cells will become osteoblasts, whereas in mechanically unstable and less vascularised sites cells form chondrocytes to form



FIG.1. Three and two-dimensional views of Haversian bone [5]: (A) the lamellar structure of mammalian long bone. Haversian Canals (Hc) make up the bulk of the lamellar bone. Peripheral lamella (PI) are found in periosteal surface; (B) histological section of a human femur showing Haversian canals (Hc) in cross-section, interstitial lamellae (Int) between more mature Haversian systems, and Lacunae (La) in which osteocytes would have been housed.

MATERIALÓW

cartilage. If conditions are not optimal for bone or cartilage formation, cells may differentiate along a default pathway to become fibroblasts and non-union results.

When the ends of the wounded bone are in close approximation and the bone is mechanically stable, osteoblasts synthesise and *calcify* osteoids. Osteoblasts that are surrounded by calcified osteoids become osteocytes. This rapidly forming bone is termed *woven bone* because it lacks structural organisation. Woven bone after *remodelling*, is replaced by lamellar bone (FIGURE 1), including Haversian canals. This process takes varying lengths of time depending on the wound site and whether the bone is in mechanical function. Generally, bone healing and remodelling takes about 24 weeks and this may be longer in complicated or larger wounds.

If the wound is mechanically unstable, due to the chondroblastic activities that synthesise cartilage matrix, callous forms. The cartilage matrix undergoes endochondral differentiation, resulting in calcified cartilage, which is then remodelled by chondroclasts (osteoclasts that resorb calcified cartilage), leaving the newly formed underlying bone. The calcified cartilage thus serves as a natural scaffold for new bone formation and acts as an internal fixation device. As a result, wounds and defects that heal by callous formation are mechanically stiffer during healing than those heal by primary bone formation.

In the healing of a fractured bone four basic processes can be identified: the formation of a vascular haematoma; the formation of an early soft callous followed by a hard, mineralised callous; tissue transformation as the blood clot or cartilage of soft callous is replaced by bone and bone remodelling as the new bone adapts to local conditions of existence [5]. A number of factors play role in the process of bone healing and these factors can be judiciously applied to aide bone healing process. Bone growth factors such as TGF- β , PDGF, IGFs and FGFs are released by platelets aggregating at the wound site and by the injured bone itself [5,6]. For example, subperiosteal injection of TGF- β -1 or -2 has been found to enhance chondrogenesis and osteogenesis, the ratio of cartilage to bone varying with the dose administered.

The role of mechanical loading in helping bone repair is also known. For example, Rooij *et al.* [7] have found that cartilage has failed to form in a mechanically unloaded long bone fracture. In another interesting study, O'Driscoll and Salter [8] have found that *continuous passive motion* permits healing with hyaline cartilage in 80 percent rabbits in only 4 weeks, while *complete immobilisation* developed fibrous scar tissue and *normal motion* initiated repair in 20 percent of rabbits after 6 months. Also, under the constant passive motion, much more hexosamine, chondroitinin, keratin sulphates (markers of deposition of cartilaginous extracellular matrix) and type II collagen, were deposited. Moelcular studies reinforce and extend these findings. For example, IHH, Gli-3 and BMP-6 appear earlier in mobile tibial fractures than in immobile tibila fractures in mice [5].

The effect of mechanical loading at the microenvironment can by no means be taken as a verification of the so-called Wolff's law, which relates bone structure to bone function in terms of the forces and loads imposed on living active bone although mechanical loading can initiate bone formation in situations where no cartilage was present. Also, more recent studies provide evidence that the effects of pressure on bone growth can vary with the magnitude and type of mechanical loading. Stress beyond certain physiological threshold *inhibits* bone growth [5], while stress relaxation can stimulate growth. More importantly, clinical studies suggest that bone is adapted to *intermittent* loading: rapid transformation from quiescence to bone formation and increased synthetic activity can be recorded in osteocytes following a single brief period of bone healing.

How this mechanical loading is transducted in cellular activities put forward a perennial problem. One explanation can be sought from the polarisation response of bone when mechanically stressed, a property known as piezoelectricity. Fukada and Yasuda [9] demonstrated that application of a shearing stress along the long axis of bone caused a voltage to appear on bone surfaces parallel to the axis. Later on, in 1962, Bassett and Becker [10] independently found that bone produces electrical signal under the application of a mechanical stress [11]. Based on the Becker's previous works on electrical regeneration phenomenon, Bassett and Becker [10] conjectured that electrical potentials might be linked with the clinically observed adaptive response that occurs in children with healed malaligned fractures. Later, Shamos and Lavine [12] have reaffirmed that the observed bioelectric effect in bone is of a piezoelectric origin and they explained the importance of physiological functions of such electrical potentials in bone remodelling.

Piezoelectricity is fundamentally related to the crystal structure, order and polarisation as a result of mechanical stress. Piezoelectricity has been experimentally observed both in dry and wet state. The methods used include inter alia static, quasi static and low frequency dynamic methods using direct piezoelectric effect. Converse piezoelectric effect was also observed. Samples from different origins: human, bovine and horse have been tested. Most of these samples were obtained from femur, for the compactness of sample and convenience in handling. Piezoelectricity is represented by a third order tensor and known as piezoelectric strain coefficients popularly known in units of pC N⁻¹, which is a direct measure of generated charge (measured in Coulomb, C) as a function of applied force (measured in Newton, N). The value of piezoelectric polarisation can be directly found from the piezoelectric stress coefficient e, which is the product of the strain coefficient and the material's stiffness (a fourth-rank tensor) and measured by the amount of charge generated over a given area (C m⁻²). Lang [13] proved that bone and tendon (predominantly made of collagen fibres with no apatite) both showed pyroeletricity, a subset of piezoelectric crystals. A pyroelectric crystal has at least one direction along which a spontaneous polarisation exists. As a result of this spontaneous polarisation surface charge exists in a pyroelectric crystal. In the case of bone, the direction of the spontaneous polarisation is along the bone fibre axis, in the case of tendon, it is the long fibrillar axis of collagen.

The effect of hydration, however, showed considerable effect on collagen as practically no piezoelectricity was found in tendon at 100% relative humidity. It has been suggested that the bound water in the material may change the symmetry to the point where no piezoelectricity can be observed [14, 15]. To the contrary, wet bone exhibited higher piezoelectric coefficients and some of the shear coefficients were over 50 times higher than those of dry bone [15].

The nature of electricity in bone is a steady-state potential measured as dc-potentials on the surface of living tissue and therefore relates to mechanically induced charge separation (i.e. piezoelectric polarisation) or to a concentration gradient between cations and anions at a surface giving rise to a surface potential called zeta (ζ -) potential [16]. Under an electric field across the bone/body fluid interface, electrokinetic phenomenon (streaming potential) results when one phase moves with respect to the other. Recent theories [17,18] suggest that, when considered in non-classical sense, both piezoelectric polarisation and electrokinetic potential can be responsible for the electromechanical response of bone.

As bone is pyroelectric, it has permanent dipoles. Atehe-



FIG.2. Directional natural healing in an empty bone defect, adapted from [21].

nstaedt [19] has demonstrated electric polarisation pattern in the lower extremity of an infant and explained the role of polarisation in ossification process. When a human reaches a certain age, radial polarisation disappears but longitudinal polarisation remains. So, if one creates an artificial radial polarisation vector in an area in the proximity of bone, then bone growth and regeneration can be induced locally in the radial direction [19,20].

One interesting phenomenon is revealed in radiographs shown in FIGURE 2c that shows the advancing plane in a naturally healing empty bone defect in the [001] direction, which happen to be the bone fibre axis along which bone pyroelectricity exist [21]. Despite evidence that bone morphogenesis and growth are polarised processes [5], little attention has been paid to analysing how polarity and axial symmetry are expressed during differentiation. Many authors have attempted a correlation between bone piezoelectricity and its physiological significance through the translation of mechanical stimuli into bioelectrical activity to which skeletal cells can respond. From the empirical evidence of artificial electrical osteogenesis induced, it can be surmised that enhanced chondrogenesis and acceleration of the growth of epiphyseal cartilage and bone occurs following direct application of an electrical field that the applied electric current in the µA range influence proliferation, differentiation and activity of skeletal cells. Analytical treatment of the correlation between a mechanical stimulus and concomitant bone growth is however rare as this empirical range of µA current does not tell much about the current or charge density that is available as a result of electrical stimulation. Based on piezoelectric polarisation in shear, Guzelsu calculated that, in wet bone, time required for deposition of an apatite layer having the same thickness (~ 10 μ m), as that of an osteon, was about 12 days [20]. Guzelsu concluded that a bone, which is subjected to shear stress, adopts its functional shape in a relatively short time. In other words, the remodelling process is faster under shear stress than under normal stress condition with no stress gradient.

A Japanese group led by E. Fukada and I. Yasuda was first to demonstrate that surface charge from a bone graft could artificially induce bone growth [22-23]. They placed electrically polarised electret films (teflon) to induce callus formation in a rabbit and a rat. At first, the electret was thought to have permanent electrical polarisation *in vivo* as in air. However, the poled Teflon film was found to suffer from capacitive discharge to lose electrical surface charge completely by day 5. However, even this charge caused sufficient stimulation in undifferentiated mesenchymal cells to differentiate into bone forming cells and enhance bone growth. In later studies, Fukada used piezoelectric films of poly-γ-methyl-L-glutamate (PMLG) [24] and poly vinyledene fluoride (PVDF) [25] to stimulate bone growth. Two interesting findings were revealed in these studies. Firstly, the current produced by poled Teflon film and PMLG film was in the order of pA, which is of the same order of natural piezoelectricity of bone. Such a low level of current is six orders lower than the direct current that produces electrical osteogenesis. Secondly, it was found during the resorption study that after about eleven months, the newly formed bone near the Teflon film almost disappeared, but the bone near the PMLG film continued to grow. Fukada explained the observation considering the transient nature of piezoelectric polarisation.

Electret polarisation of hydroxyapatite has shown enhanced apatite growth in vitro and accelerated osteobonding in vitro [26-30]. For a long time it has been observed that bone grows preferentially on the negatively polarised surface. Another Japanese group led by K. Yamshita in recent years has demonstrated that electret polarisation can be induced in hydroxyapatite, which can be used to selective growth of apatite on the negatively polarise surface. Yamashita and colleagues have found that electrical polarisation of piezoelectric (CaTiO₃, and BaTiO₃) and electret (hydroxyapatite) ceramic substrates can induce bone like apatite growth from a simulated body fluid. Most importantly, they found approximately 6 times higher growth of bone-like apatite on the negatively polarised surface of a hydroxyapatite ceramic polarised by a dc – electric field of 120 V mm⁻¹ at 300 °C as compared to a control hydroxyapatite that has not been polarised. There was no growth of apatite on the positively polarised surface.

This finding along with the clinical results of better bone bonding and growth on the surface of polarised hydroxyapatite surface strengthens our earlier discussion on the role of polarisation in stimulating cellular activity and bone growth. Preliminary results from one of the author's (Tofail) own laboratory has confirmed the ability of hydroxyapatite to store electrical charge and exhibit polarisation. Whether the enhanced apatite growth due to the induced polarisation in hydroxyapatite is a bulk phenomenon or a local effect due to dipole orientation is currently under investigation.

Acknowledgement

The authors duly acknowledge financial assistance from Enterprise Ireland International Collaboration Grant 2006 on 'Nanomechanics of Bone' as well as from Polish Ministry of Education Grant No 3 T08D 034 28.

MATERIAŁÓW

Piśmiennictwo

References

[1] Calvert, P. Mater. Sci. Eng., 1994, C1, 69.

[2] Calvert, P. and Mann S. Nature, 1997, 386, 127.

[3] Mann, S. Nature, 1988, 332, 119.

[4] Jona F. and Shirane, G. *Ferroelectric Crystals,* Dover: New York, 1993.

[5]Hall, B.K., Bones and Cartilage: Developmental and Evolutionary Skeletal Biology, 2005 Elsevier Academic Press: Amsterdam

[6] Boyan, B.D., McMillan, J., Lohman, C.H., Ranly, D.M. and Schwartz, Z., Bone graft substitutes: Basic Information for successful clinical use with special focus on synthetic graft substitutes in *Bone Graft Substitutes*, C. T. Laurencin (ed.), 2003, ASTM: West Conshohocken, p. 231-259.

[7] de Rooij, P.P., Siebrecht, M.A.N., Tagil, M., Aspenberg, P., Journal of Biomechanics, 2001,

34, 961.

[8] O'Driscoll, S.W. and Salter, R.B. Clin Orthop 1986, 208: 131.

[9] Fukada, E.andYasuda, I., *J. Phys. Soc. Japan*, 1957, **12**, 1158.

[10] Bassett, C.A.L.and Becker, R.O., *Science*, 1962, **137**, 1063.
[11] Becker, R.O., Bassett, C.A.L. and Bachman, C.H., The bioelectric factors controlling bone structure, in *Bone Biodynamics*, H.M. Frost (ed.) Editor. 1964, Little Brown and Co. p. 209-232.

[12] Shamos, M.H.and Lavine, L.S., *Clinical Orthopaedics*, 1964, **35**, 177.

[13] Lang, S.B., Pyroelectric effect in bone and tendon. Nature, 1966. 212: p. 704-705.

[14] Anderson, J.C.and Eriksson, C., Nature, 1968. 218, 166.

[15] Anderson, J.C.and Eriksson., C., 1970, Nature, 227, 491.

[16] Wai-hong, Y., *Bull. HKMA*, 1982, **34**, 137. [17] Hastings, G.and Mahmood, F., *J. Biomed. Engg.*, 1991, **10**, 515.

[18] Uklejewski, R., J. Biomechanics, 1994. 27, 991-992.

[19] Athenstaedt, H., Z. Anat. entw. Gesch, 1970, 131, 21.

[20] Guzelsu, N., *J. Biomechanics*, 1978, **11**, 257. [21] Attawia, M., Fitzgerald K. nad Bruder S.P., Cell-based approaches for Bone Graft Substitutes in *Bone Graft Substitutes*, C. T. Laurencin (ed.), 2003, ASTM: West Conshohocken, pp. 126-141.

[22] Inoue, S., Ohashi, T., Yasuda, I. and Fukada, E., *Clin. Orthop.*, 1977. **124**. 57.

[23] Yasuda I., Clin. Orthop., 1977, 124, 53.

[24] Inoue, S., Ohashi, T., Fukada, E. and Ashihara, T. Electric stimulation of osteogenesis in the rat: Amperage of three different stimulation methods in *Electrical Properties of Bone and Catilage: Experimental Effects and Clinical Applications*, C.T. Brighton, J. Black and S.R. Pollack (eds.), 1979, Grune and Straton: New York, pp. 199-213.

[25] Fukada, E. Piezoelectricity of Bone and Osteogenesis by Piezoelectric Films in *Mechanisms of Growth Control*, R.O. Becker (ed.), 1981, Charkes C Thomas Publisher: Springfield, pp.192-210.

[26] Itoh, S., Nakamura, S., Kobayashi, T., Shinomiya K., Yamashita, K. and Itoh, S., *Calcif. Tissues Int.*, 2006, **78**, 133.

[27] Nakamura, S., Takeda H. and Yamashita K., J. Appl. Phys., 2001, **89**, 5386.

[28] Yamashita, K., Oikawa, N. Umegaki, T. *Chem. Mater.*1996, 8, 2697.

[29] Kobayashi, T., Nakamura S., and Yamashita, K. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2001, **57**, 477.

[30] Kobayashi, T., Nakamura S., and Yamashita, K. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2002, **61**, 593.

MATERIAŁÓW

STUDIA PODYPLOMOWE 2006/2007

Nazwa studiów podyplomowych:

Biomateriały – Materiały dla Medycyny

Organizator studiów podyplomowych:

Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki Katedra Biomateriałów

Adres, telefon, fax, e-mail organizatora:

30 -059 Kraków, Al. Mickiewicza 30 tel. 12 617 44 48, 12 617 34 41, 12 617 47 38 email: <u>epamula@agh.edu.pl</u> <u>stodolak@agh.edu.pl</u> <u>mblazew@agh.edu.pl</u>

Charakterystyka studiów:

Zajęcia obejmujące wykłady i seminaria dotyczyć będą kluczowych zagadnień z dziedziny inżynierii biomateriałów. Program studiów obejmować będzie charakterystykę tworzyw wykorzystywanych w medycynie: metali, stopów, polimerów, ceramiki, węgla syntetycznego i kompozytów. Omówione zostaną przykłady zastosowań tworzyw syntetycznych w różnych dziedzinach medycyny a mianowicie ortopedii, chirurgii kostnej, laryngologii, kardiologii, okulistyce, stomatologii i innych. Przedstawione zostaną metody projektowania i wytwarzania materiałów spełniających wymagania stawiane przez medycynę. Wykłady dotyczyć będą badania biozgodności 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 studiów zapoznani zostaną z najnowszymi osiągnięciami inżynierii tkankowej, metodami wytwarzania podłoży tkankowych i konstrukcją bioreaktorów.

Na zajęciach laboratoryjnych prezentowane będą (w oparciu o konkretne przykłady) metody: FTIR, SEM, mikroskopia optyczna, mikroskopia AFM oraz badania mechaniczne z uwzględnieniem badań parametrów mechanicznych naturalnych tkanek a także metody analizy powierzchni (energia powierzchniowa, twardość, chropowatość). Słuchaczom studiów 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.

Kierownik: Dr inż. Elżbieta Pamuła

Czas trwania: **Jeden semestr (letni 2006/2007)**

Zasady naboru: **Zgłoszenie pisemne z deklaracją opłaty za studium.**

Termin zgłoszeń: Najpóźniej do 02.02. 2007

Opłaty: 1800 PLN

(I rata - 1000 PLN do 03.03.2007, II rata - 800 PLN do 30.04.2007)

Informacje dodatkowe: Zajęcia – 7 zjazdów (soboty-niedziele)

Przewidywana liczba godzin - 120. Przewidywana data rozpoczęcia 03.03. 2007.

BIOMATERIAŁÓW

Wskazówki dla autorów

Manuskrypt powinien być napisany poprawną polszczyzną w edycji komputerowej. Na adres redakcji należy przesłać jeden egzemplarz artykułu oraz CD. Praca powinna być przygotowana w edytorze Word (czcionka Arial). Marginesy dla strony A4: prawy, lewy, górny i dolny 2 cm. Objętość manuskryptu (tekst, rysunki, tabele) nie powinna przekraczać łącznie dziesięciu stron w przypadku artykułu przeglądowego i pięciu stron w przypadku artykułu standardowego.

Praca powinna zawierać kolejno:

- Tytuł artykułu (12 pkt., pogrubiony, wyśrodkowany, dużymi literami)
- Pełne imiona i nazwiska autorów (11 pkt.,)
- Pełne dane miejsca pracy autorów (11 pkt.)
- adresy e-mail głównego autora (11 pkt.)
- Streszczenie (11 pkt.)
- Słowa (11 pkt.)
- Wprowadzenie (11 pkt.)
- Materiały i metodyka (11 pkt.)
- Wyniki i dyskusja (11 pkt.)
- Wnioski (11 pkt.)
- Piśmiennictwo wg. systemu Harvard (11 pkt.)
- L.L. Hench, Bioactive materials: The potential for tissue regeneration, J Biomed Mater Research 41, (1998), 511-518

 [2] T. Kokubo, A/W glass-ceramic: processing and properties, in: L.L. Hench, J. Wilson (Eds.), An Introduction to Bioceramics, World Scientific, Singapore, 1993, 75–88
 [3] Szmelter J. i in., Programy metody elementów skończonych, Arkady, Warszawa 1973, 6-17

- Tytuły rozdziałów (11 pkt., pogrubiony)
- Tekst zasadniczy (11 pkt., odstęp 1,5 linii)

Rysunki, mikrofotografie i tabele powinny być zamieszczone na końcu manuskryptu.

Rysunki, mikrofotografie powinny być dobrej jakości w odcieniach szarości.

Maksymalna szerokość rysunków i tabel wynosi 8 cm (wyjątkowo 17 cm). Tekst w tabelach 9 pkt., wyśrodkowany. Tabele i rysunki powinny być numerowane konsekwentnie. Tekst w tabelach i podpisy rysunków powinny być dwujęzyczne (w językach polskim i angielskim: 9 pkt..).

Literatura powinna być numerowana [1, 2] i cytowana konsekwentnie w kolejności powołania w tekście (11 pkt., nie stosować kursywy, pogrubienia czy innych wyróżnień), np.:

Wszystkie artykuły zostaną wydrukowane po uzyskaniu pozytywnej recenzji.

Redakcja zastrzega sobie prawo do nanoszenia poprawek językowych, stylistycznych, redakcyjnych itp.

Nie przewiduje się wypłacania honorariów autorskich.

Prace należy nadsyłać na adres: Redakcja "Inżynierii Biomateriałów" Akademia Górniczo-Hutnicza Katedra Biomateriałów Al.Mickiewicza 30/A3; 30-059 Kraków fax: (4812) 617 33 71 tel. (4812) 617 22 39

e-mail: apowroz@agh.edu.pl

Warunki prenumeraty

Zamówienia na prenumeratę prosimy przesyułać na powyższy adres e-mailowy.

Konto

Polskie Stowarzyszenie Biomateriałów 30-059 Kraków, al. Mickiewicza 30/A3 Bank Śląski S.A., O/Kraków

nr rachunku 63 1050 1445 1000 0012 0085 6001 Opłaty:

Cena 1 kwartalnika wynosi 20 PLN Cena nr 58-60 wynosi 150 PLN

Instructions for authors

The articles should be written in concise and correct English. One hard copies (printouts) accompanied by the computer version on CD disks should be sent to the Editorial Office. Use Microsoft Word text editor (fonts Arial). Margins for A4 sheet size: right, bottom, left and top 2 cm. Papers are limited to ten pages in total, including figures, tables, a list of references, and abstracts in care of review manuscripts and up to five pages in case of standard manuscripts.

- The text should contain the following:
- Title of the paper (12 pt, bold, centered)
- Authors' full names (11 pt,)
- Authors' affiliation(s), address(es)
- e-mail(s) of corresponding authors (11 pt)
- Abstract (11 pt,)
- Key words (11 pt,)
- Introduction (11 pt,)
- Materials and methods (11 pt,)
- Results and discussion (11 pt,)
- Conclusions (11 pt,)
- References according to Harvard system (11 pt,)

[1] L.L. Hench, Bioactive materials: The potential for tissue regeneration, J Biomed Mater Research 41, (1998), 511-518

 [2] T. Kokubo, AW glass-ceramic: processing and properties, in: L.L. Hench, J. Wilson (Eds.), An Introduction to Bioceramics, World Scientific, Singapore, 1993, 75–88
 [3] Szmelter J. i in., Programy metody elementów skończonych, Arkady, Warszawa 1973. 6-17

- Possible headings (11 pt, bold,)
- The main text (11 pt, justified, 1.5 line spacing)

Figures, microphotographs and tables should be given in the end of manuscript. The manuscript can contain high quality, gray-scale figures and micrographs. Figures and tables are recommended to be of 8 cm maximum width (exceptionally 17 cm). Text within tables: 9 pt, centered. Figures and tables numbered consecutively. Titles of figures and tables: 9 pt, bold.

References should be arranged and numbered [1, 2] in the order they are recalled in the paper (11 pt, do not use italics, bolded, or underlined fonts), e.g.:

All papers will be reviewed and - if positively qualified - published. The Editorial Office reserve the right of introducing editorial and language corrections, etc.

No honoraries are foreseen for the authors of manuscripts.

Contribution version should be submitted to: Editorial Office "Engineering of Biomaterials" AGH University of Science and Technology Department of Biomaterials fax: (4812) 617 33 71 tel. (4812) 617 22 39 e-mail: apowroz@agh.edu.pl

Subscription terms

Subscription rates:

Cost of one number - 20 PLN Cost Nr 58-60 - 150 PLN

Payment should be made to:

Polish Society for Biomaterials 30-059 Kraków, al. Mickiewicza 30/A3 Bank Śląski S.A., O/Kraków account no. 63 1050 1445 1000 0012 0085 6001